
Inmunoterapia contra el cáncer en melanoma

A. Ribas

Department of Medicine - Hematology/Oncology, University of California Los Angeles
and Jonsson Comprehensive Cancer Center, Los Angeles, CA, USA

Resumen: *Distintas formas de inmunoterapia para el cáncer resultan en respuestas objetivas y muy duraderas en los pacientes con melanoma metastático. Sin embargo, la frecuencia de respuestas tumorales es muy baja cuando se usan vacunas tumorales, vacunas de células dendríticas, citocinas o anticuerpos inmunomoduladores como el bloqueante del CTLA4. La frecuencia de la respuesta tumoral puede aumentar de manera espectacular con el uso de la transferencia adoptiva de linfocitos específicos para el cáncer. Al introducir genéticamente en los linfocitos de un paciente los dos genes de un receptor de linfocitos T con alta afinidad para un antígeno de melanoma, se genera una población de linfocitos específicos para dicho melanoma. Al transferirlos a pacientes que han recibido previamente un condicionamiento con quimioterapia, estos linfocitos transgénicos proliferan rápido e inducen respuestas tumorales. Pero las respuestas no suelen ser duraderas. Para conseguir un aumento de la respuesta tumoral y de su duración puede recurrirse al empleo de combinaciones de nuevos fármacos específicos para oncogenes mutados en el melanoma sin efectos adversos en la función de los linfocitos. Esto puede lograrse con inhibidores específicos del BRAF. Esta combinación aumenta las respuestas en estudios preclínicos y será probada en clínica en un futuro inmediato.*

Palabras clave: Inmunoterapia – Melanoma – CTLA4 – Receptor de células T – Terapia celular adoptiva.

Introducción

Durante las últimas décadas se han hecho grandes avances en la inmunoterapia contra el cáncer. Los mayores avances se han producido con el mejor conocimiento de los mecanismos que permiten estimular respuestas inmunitarias antitumorales, el conocimiento de las limitaciones que el sistema inmunitario utiliza para evitar respuestas contra antígenos propios, y el desarrollo de técnicas para cultivar células inmunitarias y usarlas para terapéutica humana.¹ Una de las áreas donde el avance es más evidente es el melanoma metastático, un cáncer del cual desde hace

muchos años se sabe que en algunos casos puede responder a la inmunoterapia. Actualmente, con el desarrollo clínico de los anticuerpos bloqueantes del CTLA4 y la terapia celular adoptiva, en estos pacientes se obtienen beneficios clínicos evidentes.^{2,3}

Limitaciones a la inmunoterapia del cáncer

El sistema inmunitario humano ha desarrollado numerosos mecanismos para evitar que se produzcan respuestas autoinmunitarias. Estos

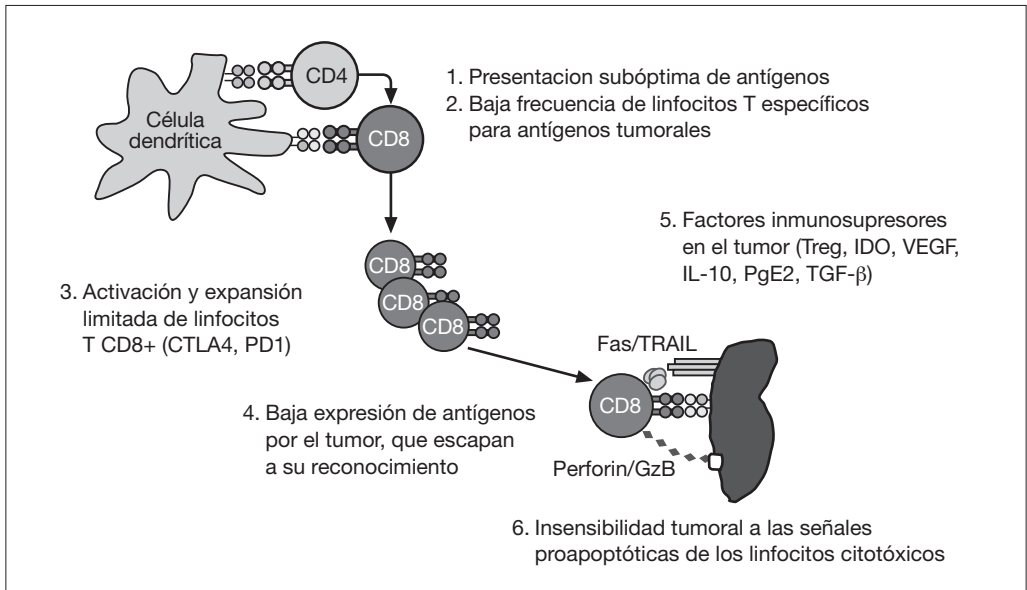


Figura 1. Limitaciones del sistema inmunitario para una inmunoterapia antitumoral efectiva.

mecanismos son explotados por los cánceres para evitar la inmunosupervisión, lo que les permite crecer progresivamente en un huésped con un sistema inmunitario intacto. Una respuesta inmunitaria adaptativa celular empieza con la presentación de antígenos por una célula dendrítica a los linfocitos CD4 (*helper*) y CD8 (citotóxicos). La mayoría de los cánceres presentan primariamente antígenos autóctonos, con lo que el sistema inmunitario no está preparado para reaccionar contra ellos. Además, el desarrollo del sistema inmunitario prioriza la formación en el timo de linfocitos específicos contra antígenos foráneos, eliminando los que tienen alta capacidad para reconocer antígenos autóctonos. Si unos linfocitos específicos para antígenos del cáncer logran escapar de estas limitaciones, tendrán que proliferar y escapar de los mecanismos intrínsecos de regulación de la respuesta inmunitaria, circular y llegar al tumor, encontrar a su antígeno presentado por una molécula del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), y ejercer su función citotóxica. Las limitaciones en este proceso son múlti-

ples, empezando por la presencia de señales coinhibidoras (como el CTLA4 o el PD-1), la producción de citocinas inmunosupresoras en el tumor (como la interleucina 10 o el factor de crecimiento tumoral beta), la atracción de células T supresoras (Treg) o simplemente la baja presentación de antígenos por el tumor o la resistencia del tumor a la muerte por apoptosis, que es el resultado final de la acción de los linfocitos citotóxicos (Fig. 1).

Progreso en el tratamiento del melanoma con inmunoterapia: anticuerpos anti-CTLA4

Un avance significativo en el tratamiento del melanoma metastático ha sido el desarrollo clínico de anticuerpos bloqueantes del CTLA4, un receptor coinhibidor que tiene un efecto dominante para inhibir respuestas contra antígenos autóctonos. El anticuerpo ipilimumab ha sido aprobado recientemente por la Food and Drug Administration de Estados Unidos basándose en los resultados de dos

estudios aleatorizados que demostraron un aumento de la supervivencia en los pacientes que recibieron este fármaco en comparación con otros tratamientos.⁴ Sin embargo, el beneficio está limitado a un pequeño grupo que tienen respuestas duraderas, alrededor del 10% al 20% de los pacientes. Estas respuestas tumorales están mediadas por una infiltración intratumoral principalmente de linfocitos CD8 citotóxicos.

Terapia celular adoptiva: generar grandes cantidades de linfocitos antitumorales para el tratamiento del melanoma

Conceptualmente, el efector del tratamiento con anticuerpos anti-CTLA4 es el linfocito CD8 citotóxico. Este linfocito tiene un receptor de superficie, el receptor de células T, que le permite reconocer de manera muy específica un antígeno (un péptido de 9 aminoácidos) presentado por el MHC de clase I. Si se generan en el laboratorio grandes cantidades de linfocitos con un receptor de células T específico para un antígeno presentado por la célula tumoral, pueden administrarse de vuelta a los pacientes como una terapia celular adoptiva.³ Es posible obtener estos linfocitos al procesar lesiones tumorales y expandir los linfocitos intratumorales en interleucina-2, o introduciendo los dos genes del receptor de células T específico (cadena alfa y beta del receptor) en linfocitos usando vectores retrovirales o lentivirales. La eficacia terapéutica de este procedimiento ha sido demostrada por investigadores del National Institute of Cancer en Bethesda, Estados Unidos.^{5,6}

Es importante entender la biología de la infusión de estos linfocitos. Al poner un gen que permita el marcado genético de estos linfocitos y detectarlos con técnicas de imagen molecular basadas en la tomografía de emisión de positrones, puede estudiarse cómo se distribuyen en el huésped y de qué manera atacan al tumor.⁷ Estudios en modelos murinos han permitido definir las distintas fases que estos linfocitos transferidos adoptivamente

siguen en el huésped.⁸ Durante el primer día se distribuyen en el pulmón, y entre los días 2 y 4 se acumulan en los órganos linfoides, donde empiezan a proliferar y a migrar a los tumores que expresan su antígeno específico. La proliferación de estas células en el huésped es notable entre los días 5 y 7, cuando consiguen la máxima actividad antitumoral, y luego se distribuyen más promiscuamente por el cuerpo del ratón.

Estos estudios pueden extrapolarse a la clínica.⁹ En estudios piloto, la transferencia adoptiva de grandes cantidades de linfocitos que expresan un receptor de células T transgénico con especificidad para el antígeno de melanoma MART-1 inducen respuestas antitumorales en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, este efecto no está siendo duradero en casi todos los casos, principalmente porque los linfocitos pierden su funcionalidad antitumoral. En el plazo de 1 o 2 meses después de la transferencia adoptiva han perdido la capacidad de proliferar, cambian su fenotipo y muestran marcadores de agotamiento inmunitario, y modifican el repertorio de citocinas que producen al ser expuestos al antígeno para el cual son específicos.

Combinación de inmunoterapia con terapias dirigidas

Aparte de los importantes avances en la inmunoterapia para el melanoma, el desarrollo de nuevos fármacos que bloquean específicamente oncogenes conductores del cáncer, como el BRAF, está resultando en una frecuencia antes inalcanzable de respuestas objetivas en este cáncer.¹⁰ Con vemurafenib (PLX4032) se obtienen respuestas en la mayoría de los pacientes que tienen un melanoma con la mutación BRAF^{V600E}, pero suelen ser de duración restringida.¹¹ Mientras se elucidan los mecanismos de resistencia adquirida a los inhibidores específicos de BRAF,¹²⁻¹⁴ esta experiencia permite planear estudios en combinación con inmunoterapia. El concepto científico es la inmunosensibilización, según el cual un fármaco específico para un oncógeno

mutado en el cáncer que no sea importante para el funcionamiento de los linfocitos puede alterar a la célula cancerígena y hacerla más sensible a la inmunoterapia.¹⁵ El primer paso es demostrar que los linfocitos pueden funcionar adecuadamente a las concentraciones terapéuticas del inhibidor del oncogén,¹⁶ lo que permite planificar estudios en modelos animales y en clínica.

Conclusiones

La inmunoterapia para el melanoma ha hecho grandes progresos desde las descripciones de respuestas espontáneas anecdóticas en algunos pacientes, la inducción de respuestas con vacunas o citocinas también con una baja frecuencia, la más alta frecuencia de respuestas tumorales con la terapia celular adoptiva, y la posibilidad de combinar la inmunoterapia con nuevos fármacos específicos para oncogenes mutados en este cáncer.

Bibliografía

- Ribas A, Butterfield LH, Glaspy JA, Economou JS. Current developments in cancer vaccines and cellular immunotherapy. *J Clin Oncol.* 2003;21:2415-32.
- Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363:711-23.
- Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, Morgan RA, Dudley ME. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2008;8:299-308.
- Krieg AM, Matson S, Fisher E. Oligodeoxynucleotide modifications determine the magnitude of B cell stimulation by CpG motifs. *Antisense and Nucleic Acid Drug Development.* 1996;6:133-9.
- Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science.* 2006;314:126-9.
- Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, Yang JC, Hwu P, Schwartzentruber DJ, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science.* 2002;298:850-4.
- Singh AS, Radu CG, Ribas A. PET imaging of the immune system: immune monitoring at the whole body level. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;54:281-90.
- Koya RC, Mok S, Comin-Anduix B, Chodon T, Radu CG, Nishimura MI, et al. Kinetic phases of distribution and tumor targeting by T cell receptor engineered lymphocytes inducing robust antitumor responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:14286-91.
- Baltimore D, Witte ON, Yang L, Economou J, Ribas A. Overcoming barriers to programming a therapeutic cellular immune response to fight melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2010;23:288-9.
- Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, et al. Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. *Nature.* 2010;467:596-9.
- Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363:809-19.
- Nazarian R, Shi H, Wang Q, Kong X, Koya RC, Lee H, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS up-regulation. *Nature.* 2010;468:973-7.
- Johannessen CM, Boehm JS, Kim SY, Thomas SR, Wardwell L, Johnson LA, et al. COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. *Nature.* 2010;468:968-72.
- Villanueva J, Vultur A, Lee JT, Somasundaram R, Fukunaga-Kalabis M, Cipolla AK, et al. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell.* 2010;18:683-95.
- Begley J, Ribas A. Targeted therapies to improve tumor immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2008;14:4385-91.
- Comin-Anduix B, Chodon T, Sazegar H, Matsunaga D, Mock S, Jalil J, et al. The oncogenic BRAF kinase inhibitor PLX4032/RG7204 does not affect the viability or function of human lymphocytes across a wide range of concentrations. *Clin Cancer Res.* 2010;16:6040-8.

DISCUSIÓN

R. VILELLA: A excepción de que el número de respuestas es muy alto, en el estudio que has presentado ocurre lo mismo que en el tratamiento con células dendríticas cargadas con un péptido: el tumor genera variantes que dejan de expresar el antígeno, y por lo tanto continúa su proliferación. Para solucionar este problema, se recomienda cargar las células con distintos péptidos de distintos antígenos, pero a su vez también limita sus posibilidades de actuación. ¿Os habéis planteado redireccionar con varios péptidos distintos?

A. RIBAS: Estamos iniciando un estudio con un nuevo retrovirus que expresa el antígeno carcinoembrionario NY ESO-1. Para intentar solucionar el problema, en él utilizaremos dos antígenos sin relación (un antígeno expresado en melanosomas de melanocitos y un antígeno embrionario que no se expresa en tejidos adultos a no ser que sea un cáncer). Por otro lado, discrepo de lo que has dicho sobre las células dendríticas, ya que nosotros tenemos pacientes que hace 10 años sí respondieron al tratamiento con ellas y no han tenido recaídas. Sin embargo, son muy pocos pacientes. Lo que vemos con este estudio es que al puentear todo el control aferente de sistema inmunitario y crear linfocitos que tienen una alta actividad citotóxica, las respuestas iniciales son muy altas, pero cuando estos linfocitos T pierden su función reaparece el tumor. En comparación, lo que hacemos es muy distinto a las técnicas con células dendríticas, con las cuales teníamos muy poca respuesta, aunque duradera, con CTLA4.

F. RUIZ-CABELLO: Has explicado que la pérdida de respuesta se debe exclusivamente a un problema funcional de los linfocitos T, pero está bastante bien contrastado que ante la pérdida de respuesta no sólo hay que considerar la pérdida funcional de los linfocitos T sino también el escape inmunitario por selección de variantes no inmunógenas

por pérdida del antígeno tumoral o de moléculas HLA. Por otro lado, para comprobar si el problema es sólo por pérdida funcional, podría modificarse el protocolo de vacunación; por ejemplo, se podrían reinfundir los linfocitos y observar si se vuelve a producir la misma cinética de destrucción del tumor.

A. RIBAS: La idea de reinfundir los linfocitos está limitada por todos los procesos a que sometemos a los linfocitos T, como la linfocitopenia, y el factor limitante es la toxicidad del tratamiento, ya que este procedimiento equivaldría a realizar dos trasplantes de médula ósea en un paciente en poco tiempo. Aunque el tratamiento se ha realizado con pocos pacientes, estamos seguros de que la pérdida de expresión de antígenos en células cancerígenas no es tan importante como la pérdida de funcionalidad de los linfocitos, basándonos en datos biológicos, en el desarrollo cronológico y por los resultados que vamos acumulando. Tienes razón en que la pérdida de MHC, de transportadores TAP o de antígeno conduciría a que nada de esto funcionara, pero no parece que el tumor tenga esta capacidad de una forma tan rápida. Aquí tenemos respuestas en los primeros 2 a 3 meses, y los 3 meses siguientes todos los pacientes presentaron múltiples recidivas. No es un clon que empieza a crecer, sino que crecen en diferentes sitios, lo que indica que la respuesta inicial no se ha mantenido, pero estamos abiertos a varias posibilidades.

D. JARAQUEMADA: En el caso de que este tratamiento sea estable y seguro, ¿os habéis planteado alguna estrategia para poder tratar poblaciones reales, en las que la mayoría de las personas no son idénticas en HLA? Aunque en vuestro estudio uséis A2 (a pesar de que es muy común) y en los que además el TCR es específico del MHC, además del péptido.

A. RIBAS: El objetivo del estudio no es conseguir un tratamiento para pacientes sino entender conceptos concretos. Tal y como has dicho,

obviamente, cuando usas un TCR estás limitado por un HLA. Por otro lado, ahora que este estudio está en marcha, hemos planeado hacer TIL (*tumor infiltrated lymphocytes*), que no dependen de TCR debido a que son autólogos y pueden expandirse, y conceptualmente su manipulación y su aplicación son mucho más sencillas. No obstante, esta última opción está limitada por quién paga el tratamiento. Con terapias como las que he comentado pueden controlarse mucho más las variables y aplicar más ciencia, por lo que se conseguirían más becas, tanto de los National Institutes of Health como de fundaciones privadas. Pero para poder obtenerlas hay que plantear objetivos y preguntas concretas, y no pretender encontrar un tratamiento para todo el mundo.

N. PRATS: ¿A qué atribuí la pérdida de pigmentación de la piel y del pelo? ¿También observasteis el mismo efecto en ratones de capa oscura?

A. RIBAS: Es interesante que en los ratones sólo observamos vitíligo en la zona del tumor, y en los pacientes, aunque no en todos, se da casi albinismo completo debido a que MART-1 se expresa en melanocitos normales. El sistema inmunitario ve tanto las células normales como las malignas.

L. ÁLVAREZ-VALLINA: En primer lugar, ¿crees que el apareamiento que puede ocurrir entre los TCR y los receptores endógenos puede tener algo que ver con lo que has comentado? Por otro lado, ¿crees que una aproximación con los CAR (*chimeric activation receptor*), que ahora están muy en boga y dan buenos resultados, podría ser aplicable? Y finalmente, ¿nos podrías decir o perfilar qué ideas tenéis para intentar restaurar o mantener la funcionalidad de los linfocitos T?

A. RIBAS: En relación con la primera pregunta, el apareamiento es un problema muy importante. Nosotros usamos un receptor tisular que tiene preferencia de apareamiento endógeno; el alfa y el beta se aparean muy bien. Pero hemos tenido que descartar muchos receptores porque cuando se ponen en sus linfocitos, que tienen sus receptores alfa y beta endógenos, se produce un desacoplamiento y la especificidad se reduce por debajo del 25%, porque es preferencial con el endógeno. Sin embargo, el que seleccionamos para llevar a la fase clínica era dominante. En cuanto a la segunda pregunta, tenemos interés en los CAR, pero el problema es que su margen terapéutico es muy estrecho en los humanos, y desaparecen debido a su inmunogenicidad. Dan una señalización a través de moléculas coestimuladoras y el problema es que no existe control fisiológico, ya que cuando ven al antígeno producen una señalización muy fuerte, y ha habido dos pacientes que murieron debido a toxicidad por una respuesta exagerada de efectos secundarios. Y en relación con la tercera pregunta, para mantener la funcionalidad de los linfocitos T tenemos pensado realizar varias cosas. Primero, dar oligoclonalidad al receptor tisular, ya que no se le puede dar multiclonalidad. Segundo, dar CTLA4 para mantener la funcionalidad in vivo. Tercero, basándonos en los estudios de Davis Baltimore, poner los TCR en células madre hematopoyéticas, en las cuales hay una formación endógena de linfocitos transgénicos y dominantes, que se seleccionan en el timo. Para lograrlo, hay que conseguir linfocitos maduros para que tengan un efecto antitumoral, y posteriormente, al cabo de 2 o 3 meses, estas células se expandirán, por lo que cuando los linfocitos T (que tienen una funcionalidad y una vida media limitada) dejen de funcionar habrá un tratamiento endógeno.