

Inmunosupresión en terapia celular: péptidos, células dendríticas y células T reguladoras

Daniel Benítez-Ribas

Departamento de Inmunología, Sección de Inmunoterapia, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona

Resumen

Las consecuencias clínicas de las respuestas generadas por determinados componentes del sistema inmunitario desempeñan un papel clave en el origen y la expansión de enfermedades autoinmunitarias y de enfermedades inflamatorias crónicas. Estas se caracterizan principalmente por una pérdida de tolerancia a antígenos propios del organismo que no son patogénicos y que conlleva una activación inadecuada del sistema inmunitario. Tal activación inapropiada ocasiona con frecuencia daño a uno o varios órganos, afectando su función. No están plenamente establecidas las causas que originan y mantienen estas respuestas inmunitarias anómalas. La aproximación terapéutica para estas enfermedades se basa, en general, en la administración sistémica de medicamentos inmunomoduladores con efectos inespecíficos generales y de medicamentos biológicos. Una modulación más dirigida y específica, en el tejido afectado, del tipo de respuesta inmunitaria patogénica, mediante citocinas, anticuerpos monoclonales o terapia celular, lo que se denomina «terapias avanzadas», representa una aproximación terapéutica muy atractiva y con gran potencial. Las células dendríticas son las células presentadoras de antígenos más potentes descritas y tienen la propiedad de regular la generación de la respuesta, ya sea inflamatoria o tolerogénica, dependiendo del contexto en que se produce la interacción del antígeno y la célula presentadora, entre otros factores. Debido a la plasticidad funcional de los precursores celulares, la capacidad de generar respuestas inmunitarias altamente específicas y la posibilidad de obtener células dendríticas *in vitro*, en condiciones adecuadas para su aplicación clínica, estas células están siendo utilizadas para el tratamiento de tumores o infecciones con resultados esperanzadores. La obtención de células dendríticas con actividad tolerogénica, los resultados de su uso en modelos experimentales y los datos

obtenidos en ensayos clínicos en fases iniciales sugieren que las células dendríticas tolerogénicas podrían representar una alternativa para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias crónicas de base inmunitaria.

Palabras clave: inmunoterapia, terapia celular, células dendríticas, linfocitos T reguladores, enfermedades autoinmunitarias, tolerancia, enfermedades inflamatorias crónicas.

Células T reguladoras

Las células T reguladoras (Treg) son linfocitos T especializados en el mantenimiento de la tolerancia inmunitaria y están implicadas en el control de otros linfocitos T autorreactivos que no hayan sido eliminados durante la maduración tímica. Las Treg se caracterizan por la expresión de un factor de transcripción selectivo (Foxp3) y una expresión variable en la membrana de la molécula CD45RA en los linfocitos T CD4+. Las Treg están implicadas también en el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria y de la tolerancia contra antígenos o tejidos propios no patogénicos. Para el funcionamiento eficiente de las Treg, aparte del factor de transcripción Foxp3, se requiere la expresión de otras moléculas relacionadas con la función supresora, como son los receptores CD25 (IL-2R α)

y CTLA-4). Actualmente, la expresión de CD4 y CD25, y la ausencia de CD127 (IL-7Ra), se consideran marcadores adecuados para la purificación de estas células.

En los humanos se han identificado dos tipos de células Treg en función de su origen: 1) células originadas durante la diferenciación tímica (nTreg) y 2) células de origen extratímico inducidas en la periferia (iTreg). Estas últimas pueden ser generadas bajo la influencia de citocinas específicas, como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y la interleucina (IL) 10.

Mecanismos de inmunosupresión mediada por Treg

La inmunosupresión generada por las células Treg se basa en diferentes mecanismos inmunosupresores que incluyen la expresión de la molécula CTLA-4 en la membrana celular,

el consumo de IL-2 disponible en el medio, mediante la expresión del receptor de alta afinidad CD25 y la producción de citocinas y metabolitos con actividad inmunosupresora (IL-10, IL-35 y TGF-β) (Tabla 1). La interacción de las células presentadoras de antígeno con las Treg a través del receptor de linfocitos T provoca su actividad supresora.

Aplicación clínica de los linfocitos T reguladores

La aplicación clínica de células Treg se ha focalizado en reducir los procesos autoinmunitarios y como una aproximación terapéutica alternativa a los fármacos antiinflamatorios. La primera aplicación de Treg se

documentó en el año 2009 en la enfermedad del injerto contra el huésped en el trasplante de progenitores hematopoyéticos, y desde entonces se ha mostrado como una aproximación terapéutica segura en los diferentes ensayos realizados en humanos. Las células Treg, para llevar a cabo ensayos clínicos, se pueden purificar a partir de sangre periférica u obtener a partir de células de cordón o del timo (en ensayos clínicos concretos), que contine una elevada proporción de Treg. Una vez que las células han sido purificadas, es necesario un proceso de expansión celular para disponer de la concentración celular óptima. Esta expansión requiere la activación policlonal de las Treg

Tabla 1. Mecanismos de inmunosupresión por células T reguladoras.

- Secreción de citocinas antiinflamatorias: IL-10, IL35, TGF-β.
- Actividad metabólica: expresión de CD39/CD73, producción de adenosina.
- Expresión de receptores con actividad inhibidora: CTLA-4, LAG3.
- Expresión del receptor IL-2 (CD25).
- Secreción de granzimas y de perforina.

mediante anti-CD3/CD28 y la presencia de IL-2 en el medio de cultivo. Otras opciones de expansión de las células Treg incluyen rapamicina, ácido retinoico y TGF-β.

En la actualidad se están evaluando la seguridad y los efectos clínicos de la aplicación de Treg en enfermedades autoinmunitarias o de base inmunitaria, tales como la enfermedad de Crohn, la diabetes tipo 1, el lupus cutáneo activo, el pénfigo vulgar, la artritis reumatoide, la hepatitis autoinmunitaria, el rechazo en el trasplante, etc.

Para la producción de este tipo de terapia es obligatorio que el producto celular cumpla con una serie de requerimientos y características establecidos por las agencias reguladoras (Food and Drug Administration, Agencia Europea de Medicamentos) para productos de terapias avanzadas. Se incluyen entre estas características la identidad, la pureza, la potencia y la esterilidad (bacteriana, vírica y fúngica) del producto.

Células dendríticas: introducción

Las células dendríticas (CD) son un grupo heterogéneo de células mononucleadas con actividad funcional de presentadoras de antígenos que están involucradas en la regulación de los fenómenos de inmunidad y de tolerancia. Defectos en la regulación en la inducción de tolerancia resultan en situaciones patológicas tales como el rechazo en trasplantes, la aparición de enfermedades autoinmunitarias o mediadas por la inmunidad, o el desarrollo de alergias. Una vez que las CD han reconocido y fagocitado los potenciales antígenos, sufren una serie de transformaciones fenotípicas y funcionales en un proceso de maduración. La maduración induce la migración de las CD desde los tejidos periféricos, tales como la mucosa, la dermis o los órganos, hacia los ganglios linfáticos que drenan el tejido, y la presentación de antígenos fagocitados y procesados a los linfocitos T específicos, la interacción con linfocitos B y otros tipos de CD residentes en los ganglios. Así mismo, durante su proceso de maduración las CD expresan en su membrana

moléculas implicadas en la interacción y la activación/inhibición de los linfocitos T (moléculas presentadoras de antígeno y moléculas coestimuladoras), así como la secreción de citocinas proinflamatorias del tipo IL-12 y factor de necrosis tumoral alfa. Por lo tanto, las CD desempeñan un papel crucial en el inicio y el tipo de respuesta inmunitaria desencadenada.

Debido a las propiedades fisiológicas de las CD, que las hacen únicas, y a la posibilidad de su generación *in vitro*

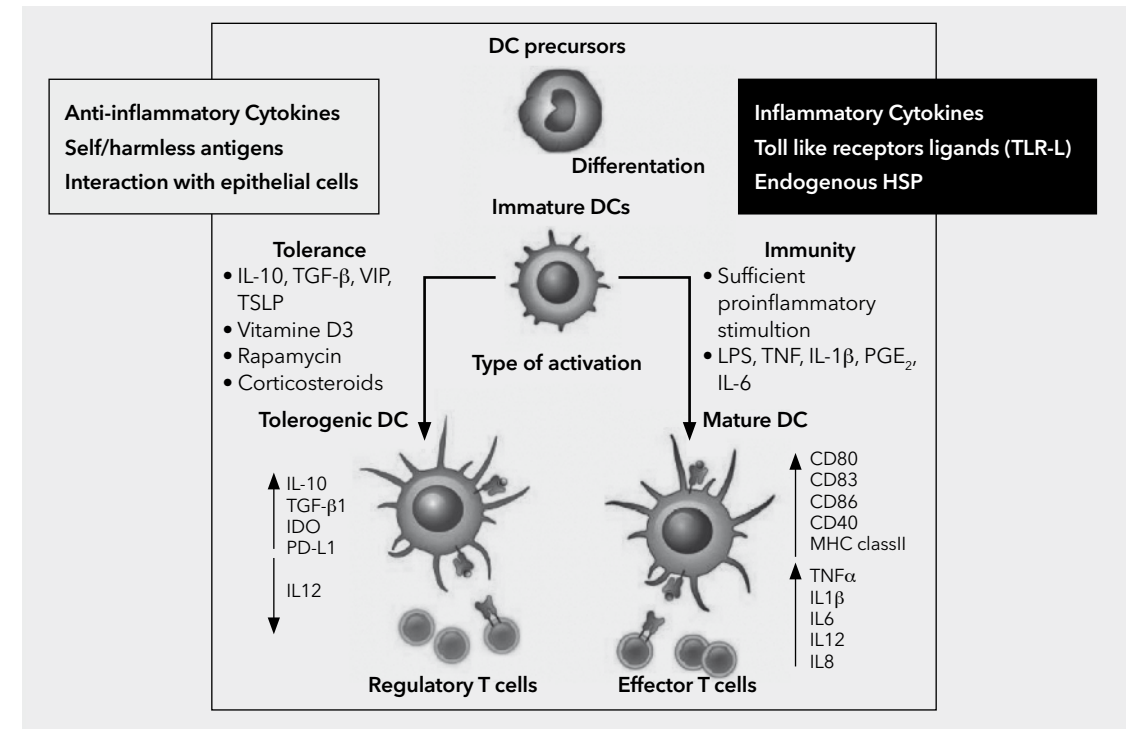
Tabla 2. Uso (o potencial) clínico de las células dendríticas y las células T reguladoras en los humanos.

- Alergia.
- Rechazos en trasplantes.
- Autoinmunidad:
 - Diabetes tipo 1.
 - Artritis reumatoide.
- Enfermedades de base inmunitaria:
 - Enfermedad inflamatoria intestinal.
 - Psoriasis.
 - Lupus.
 - Esclerosis múltiple.

mediante el uso de reactivos manufacturados en grado clínico, han sido utilizadas en ensayos clínicos en humanos con el objetivo de generar respuestas inmunogénicas contra tumores o infecciones (Tabla 2). A pesar de las posibilidades que ofrecen las terapias celulares con CD en los pacientes con cáncer, en la actualidad la capacidad tolerogénica de las CD en ensayos clínicos en pacientes se ha explorado muy poco y los ensayos clínicos no son frecuentes.

En la mayor parte de los ensayos clínicos con CD se han utilizado los monocitos (CD14+) como células precursoras de las CD, por la relativa facilidad de su obtención a partir de sangre periférica respecto a otro tipo de CD y el elevado número de células obtenidas en comparación con la purificación directa de CD circulantes (Fig. 1). Algunos ensayos han utilizado CD circulantes para el tratamiento de tumores, lo que supone una mayor complejidad de manipulación al tener que partir de un volumen muy elevado de sangre periférica, o bien se han utilizado CD generadas a partir de precursores CD34+. La selección de las

Figura 1. Plasticidad funcional de las células dendríticas.



diferentes poblaciones de CD en terapias celulares podría ser de gran relevancia dependiendo del tipo de respuesta inmunitaria que se desee obtener, y que se basa en las diferencias funcionales existentes entre las subpoblaciones.

Células dendríticas tolerogénicas

El silenciamiento de las repuestas inmunitarias contra antígenos propios o no patogénicos viene mediado principalmente por las CD. Existen cada vez más evidencias que apuntan hacia una plasticidad funcional de las CD

dependiendo del contexto en que tiene lugar la respuesta más que de la presencia específica de una población de CD con una función tolerogénica predeterminada y única. La aplicación terapéutica de CD requiere la generación *in vitro* de estas células con un fenotipo tolerogénico estable, en un proceso que sea reproducible y que permita la obtención de células con alta pureza y viabilidad. Una alternativa para la generación de CD tolerogénicas es el proceso que consiste en tratar las CD con agentes tolerogénicos durante su cultivo en el laboratorio y posteriormente la maduración mediante estímulos.

Para la obtención *in vitro* de CD tolerogénicas se han descrito diversos agentes inmunosupresores (Tabla 3), como corticosteroides (principalmente dexametasona), vitamina D3, rapamicina, micofenolato, neuropéptidos y rhIL-10. Todos estos agentes se han implicado en la generación de CD resistentes a la maduración inmunogénica. Los protocolos de obtención de CD tolerogénicas se basan, en general, en la purificación de monocitos de sangre periférica y su posterior cultivo en

Tabla 3. Compuestos utilizados en la generación de células dendríticas tolerogénicas.

- Agentes inmunosupresores o antiinflamatorios:
 - Corticosteroides (dexametasona).
 - Vitamina D3.
 - Ácido micofenólico.
 - Rapamicina.
- Compuestos químicos:
 - Monofosfato de adenosina cíclico
 - Prostaglandinas.
 - Histamina.
 - Neuropéptidos.
- Citocinas antiinflamatorias:
 - rhIL-10.
 - TGF-β.

presencia de citocinas de diferenciación y crecimiento, IL-4 y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF, *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor*), con la presencia de uno o de la combinación de varios agentes inmunosupresores.

La identificación del fenotipo de las células, expresión moderada de moléculas asociadas a la maduración (moléculas coestimuladoras, CD80, CD83 y CD86), también nos proporciona información sobre el perfil tolerogénico de las células. Un estudio exhaustivo de las propiedades tolerogénicas de las CD obtenidas constituirá una garantía de calidad para la utilización de estas células en pacientes.

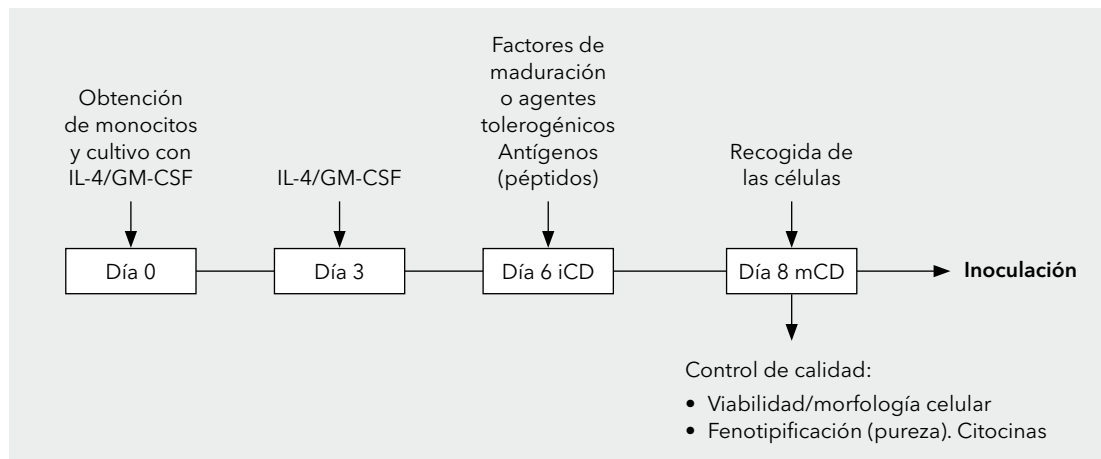
Aplicación terapéutica de las células dendríticas tolerogénicas

Las propiedades tolerogénicas de las CD fueron inicialmente documentadas en humanos, utilizando voluntarios sanos, en un estudio que proporcionó la prueba de concepto de que es posible la inducción de tolerancia específica antigénica sistémica de los linfocitos T. Sin embargo, un punto crítico en el diseño de terapias basadas en CD inmaduras es la estabilidad de estas células en un ambiente proinflamatorio como el que existe en las enfermedades inflamatorias. Por consiguiente, las CD inmaduras no serían lo bastante seguras para su uso terapéutico en las enfermedades que cursan con

inflamación crónica, principalmente debido a la capacidad de estas células de responder a los estímulos inflamatorios. La respuesta inmunitaria inapropiada a autoantígenos, en pacientes genéticamente predispuestos, puede derivar en enfermedades autoinmunitarias o mediadas por la inmunidad. Se acepta que uno de los aspectos fundamentales que dan lugar a fenómenos de autoinmunidad es la producción aumentada de una o varias citocinas específicas, en cuyo proceso intervienen las CD. Las CD plasmacitoides y el interferón tipo I se han propuesto como patogénicos en otras enfermedades como el lupus, la psoriasis, la dermatomiositis y el síndrome de Sjögren. Además de inducir autoinmunidad, las CD son dianas y están implicadas también en la respuesta terapéutica a distintos fármacos:

- Los corticosteroides inhiben la función y el número de CD inmunogénicas.
- La azatioprina y la mercaptopurina modulan la respuesta inmunitaria derivándola hacia una respuesta tolerogénica.

Figura 2. Esquema general de la obtención de células dendríticas a partir de monocitos. IL-4: interleucina 4; GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor; iCD: células dendríticas inmaduras; mCD: células dendríticas maduras.



- Las terapias que activan la formación de células Treg pueden suprimir también la activación de CD inmunogénicas.

La aplicación clínica de CD tolerogénicas se ha centrado principalmente en enfermedades como la diabetes tipo 1, la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide y la

esclerosis múltiple, y en la prevención del rechazo agudo en el trasplante renal de donantes vivos.

En el Hospital Clínic de Barcelona se ha evaluado la seguridad de la aplicación de CD tolerogénicas en la enfermedad de Crohn y en la esclerosis múltiple. En ambos casos, la aplicación de las células, sistémica en pacientes

con esclerosis múltiple y local intralesional en pacientes con enfermedad de Crohn, ha sido segura y bien tolerada por los pacientes, sin evidenciar efectos adversos.

La eficacia clínica de las CD tolerogénicas está siendo evaluada en un ensayo clínico en el que pacientes con esclerosis múltiple son aleatorizados para recibir el tratamiento celular o placebo más el tratamiento estándar de elección. Los resultados que se obtengan de este estudio que está en marcha permitirán clarificar y estudiar su papel en el control del proceso inflamatorio, así como establecer la relevancia clínica de su aplicación.

Discusión

Las células Treg y las CD son las células del sistema inmunitario implicadas en la generación y el mantenimiento de la tolerancia. Debido a sus propiedades funcionales para generar o modificar el curso de la respuesta inmunitaria han

sido aplicadas terapéuticamente. En la enfermedad inflamatoria intestinal y la esclerosis múltiple, las herramientas terapéuticas, incluyendo los agentes biológicos más recientes, han sido ineficaces o incapaces de mejorar el pronóstico a largo plazo en una gran proporción de pacientes. La necesidad de nuevas terapias para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas de base inmunitaria abre el camino para el desarrollo de innovadoras aproximaciones terapéuticas. Aunque hasta la actualidad se han llevado a cabo pocos estudios clínicos encaminados a evaluar la eficacia de estas células en pacientes, los resultados obtenidos *in vitro* y en modelos animales, y los ensayos clínicos de fase Ib que han demostrado la seguridad para los pacientes de esta aproximación, nos impulsan a explorar esta vía terapéutica novedosa en pacientes con esclerosis múltiple para demostrar su eficacia clínica.

Bibliografía

1. Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J, Dobyszek A, Krzystyniak A, Marek N, et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127- T regulatory cells. *Clin Immunol.* 2009;133:22-6.
2. Goswami TK, Singh M, Dhawan M, Mitra S, Emran TB, Rabaan AA, et al. Regulatory T cells (Tregs) and their therapeutic potential against autoimmune disorders – advances and challenges. *Hum Vaccin Immunother.* 2022;18:2035117.
3. Kvedaraite E, Ginhoux F. Human dendritic cells in cancer. *Sci Immunol.* 2022;7:eabm9409.
4. Passeri L, Marta F, Bassi V, Gregori S. Tolerogenic dendritic cell-based approaches in autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2021;22:8415.
5. Zubizarreta I, Flórez-Grau G, Vila G, Cabezón R, España C, Andorra M, et al. Immune tolerance in multiple sclerosis and neuromyelitis optica with peptide-loaded tolerogenic dendritic cells in a phase 1b trial. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116:8463-8470.
6. Schuler G. Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Eur J Immunol.* 2010;40:2123-30.
7. Iliev ID, Mileti E, Matteoli G, Chieppa M, Rescigno M. Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning. *Mucosal Immunol.* 2009;2:340-50.
8. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:685-711.
9. Nikolic T, Suwandi JS, Wesselius J, Laban S, Joosten AM, Sonneveld P, et al. Tolerogenic dendritic cells pulsed with islet antigen induce long-term reduction in T-cell autoreactivity in type 1 diabetes patients. *Front Immunol.* 2022;13:1054968.
10. Moreau A, Kervella D, Bouchet-Delbos L, Braudeau C, Saïagh S, Guérif P, et al.; DIVAT consortium. A phase I/IIa study of autologous tolerogenic dendritic cells immunotherapy in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2023;103:627-37.