

Continguts: <http://www.acclc.cat/volumen/vol-18/>*In vitro veritas*Pàgina web de la revista: <http://www.acclc.cat/invitro/>**Actes-resums****Resum de la primera sessió del V Curs d'actualització en ciències de Laboratori Clínic: “Monitorització de la immunoteràpia antitumoral”**

Manel Juan Otero

Laboratori d'Immunologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

El 26 d'octubre de 2016 va tenir lloc, a la seu del Col·legi Oficial de Farmacèutics de Barcelona, la primera sessió del V Curs d'actualització en ciències de Laboratori Clínic: “Monitorització de la immunoteràpia antitumoral” impartida per Manel Juan Otero, Laboratori d'Immunologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

2017 © Publicat per l'Associació catalana de ciències de Laboratori Clínic

Tot i que la capacitat terapèutica de la resposta immunitària antitumoral és coneguda des de fa més d'un segle, en els darrers anys la immunoteràpia antitumoral ha emergit com una opció de tractament efectiu contra el càncer. El cirurgià William B. Coley (1862-1936) a Nova York va arribar a desenvolupar un producte derivat de bacteris per injectar en els tumors que obtenia uns resultats respectables però que no van tenir l'esperable continuïtat. Posteriorment els treballs dirigits per Steven A. Rosenberg (1940-), un altre cirurgià cap de departament en l'Institut nacional del Càncer (*National Cancer Institute*) a Bethesda, basats en teràpia cel·lular, han demostrat resultats terapèutics ressenyables, encara que les diferents aproximacions basades en estimular el sistema immunitari han mostrat percentatges de resposta que majoritàriament els oncòlegs consideraven inferiors als que s'assolien amb la teràpies més “convencionals” (cirurgia, quimioteràpia i radioteràpia). Però podem dir que és en els darrers 8 anys quan la immunoteràpia antitumoral ha arribat a destacar com a eina efectiva, fins al punt que farà just 3 anys (el desembre del 2013) la prestigiosa revista *Science* va considerar oportú considerar la immunoteràpia l'avenç revelació d'aquell 2013 (1). Si bé la immunoteràpia antitumoral és un concepte que engloba metodologies molt diverses, des de les “vacunes” amb extractes de tumors (autòlegs o heteròlegs), fins a procediments que combinen modificació gènica del sistema immunitari o del tumor, dues són les propostes que més han destacat darrerament: el trencament de la inhibició de la tolerància induïda pel tumor mitjançant anticossos monoclonals i la introducció dels CARTs (acrònim de l'anglès *chimeric antigen receptors T-cell*, limfòcits T amb receptors antigènics quimèrics).

Tot i que la repercussió en els medis de comunicació d'aquestes dues aproximacions ha estat per sobre d'altres propostes, convé citar com a mínim alguna d'aquestes “segones

opcions” que porten molt més anys intentant implantar-se com a immunoteràpies antitumorals.

La vacunació genèrica (injecció en l'individu de cèl·lules tumorals pròpies inactivades o de mescles —*pools* en anglès— de línies tumorals inactivades) o vacunació peptídica han demostrat una eficàcia reduïda per sí soles, tot i que també són eficaces en determinats pacients. S'assoleix entre el 5 i el 25 % de respostes segons els treballs i sempre en els tumors més immunogènics, principalment el melanoma. Les possibilitats de produir aquests productes per a ser injectats està afavorint que moltes empreses estiguin ja oferint aquesta alternativa amb finalitat comercial, tot i que queda per veure la seva eficàcia amb assajos clínics ben dissenyats.

La vacunació amb cèl·lules dendrítiques polsades amb antígens o pèptids són estratègies força esteses en les aproximacions antitumorals (2) de molts centres en especial dels Estats Units, tot i que s'han desenvolupat assajos a l'Hospital Clínic (Barcelona) i al Centre d'Investigació Mèdica Aplicada o CIMA (Pamplona). De nou, els resultats són modestos i depenents dels centres i el tipus de tumor (les respostes en tumors també van del 10 al 30 % dels pacients tractats).

A mig camí d'ambdues aproximacions es troba la inducció de cèl·lules dendrítiques amb l'antigen tumoral. En aquesta via cal destacar Provenge[®] de Dendreon[®] que és la primera immunoteràpia cel·lular autòloga en rebre l'aprovació de l'Administració d'Aliments i Fàrmacs dels Estats Units (FDA) i l'Agència Europea de Medicaments (EMA), per al tractament de càncer metastàtic de pròstata resistent a tractaments hormonals. Provenge[®] (nom comercial del producte Sipuleucel-T) també ha mostrat resultats modestos pels pacients, però obre la via a un sistema d'immunoteràpia cel·lular acceptat com a medicament de manera oficial (3).

<http://www.acclc.cat/invitro/resum-de-la-primera-sessio-del-v-curs-dactualitzacio-en-ciencies-de-laboratori-clinic-monitoritzacio-de-la-immunoterapia-antitumoral/>

2017 © ACCLC. Tots els drets reservats.

La infusió de limfòcits T infiltrants de tumor (TILs) amb diferents variants d'estimulació d'aquestes cèl·lules és una opció clàssica que per alguns grups segueix tenint un potencial antitumoral clar (4), tot i que són pocs els centres que segueixen apostant per aquesta opció que, en general, sembla tècnicament complexa.

Totes aquestes aproximacions molt sovint reben la crítica d'aconseguir efectes transitoris, parcials i, en general, modestos però també moltes vegades s'oblida que aquestes teràpies s'han estudiat en casos de càncer molt avançats, en els que no hi ha més opcions terapèutiques, i on habitualment la quimioteràpia i la radioteràpia no només han eliminat cèl·lules tumorals sinó que també han lesionat el sistema immunitari, un dels sistemes fisiològics més sensibles als tractaments anticancerosos. Per no dir que la majoria d'aproximacions d'immunoteràpia antitumoral són en general pràcticament innòcues, amb molt pocs efectes secundaris i ben tolerats, fet que contrasta amb la important afectació que sol produir en els pacients tant la radioteràpia com sobretot la quimioteràpia. En l'horitzó tots els que treballem en immunoteràpia veiem que pot arribar a ser una gran opció terapèutica en els estadis menys evolucionats del càncer, tot i que és difícil renunciar a tractaments protocol·litzats (amb la cirurgia, la quimioteràpia o la radioteràpia habituals) que en situacions normals tenen també una eficàcia alta i contrastada.

De tot el coneixement disponible al voltant de la immunoteràpia antitumoral, si bé se sap que diversos elements del sistema immunitari (des dels macròfags als anticossos) tenen el seu paper, és clar que la capacitat antitumoral principal prové de la funció citotòxica, i si cal escollir entre la citotoxicitat de les cèl·lules NKs i la dels limfòcits T, és la d'aquests darrers la que pel moment té una major eficàcia en l'eliminació de les cèl·lules tumorals.

Com ja s'ha comentat, el reconeixement de la importància de la immunoteràpia en els darrers temps ha arribat de la mà de dues aproximacions ben diferents al voltant dels limfòcits T citotòxics: el trencament de la inhibició de la tolerància induïda pel tumor mitjançant biològics i la introducció dels CARTs.

Trencament de la inhibició de la tolerància induïda pel tumor amb biològics

Entre els mecanismes de pèrdua de la resposta immunitària T, sobresurten dos fenòmens, la inhibició de l'activació dels limfòcits a través de la via CTLA-4 (CD152) / B7.1 (CD80) i B7.2 (CD86) (bàsicament en la interacció entre limfòcit T i la cèl·lula presentadora d'antigen, APC) i el bloqueig de la resposta per la interacció de PD-1 (CD279) i els seus lligands PD-L1 (CD274) i PD-L2 (CD273). La sortida al mercat com a fàrmac biològic de bloquejants de CTLA-4 (Ipilimumab) (5) va ser la primera aproximació aprovada com a terapèutica efectiva en el melanoma metastàtic; com en casos anteriors ja comentats, els resultats poden ser considerats moderats (10 % dels pacients), però evidencien que una resposta antitumoral de limfòcits T podria ser eficaç. Més recentment s'han desenvolupat fàrmacs biològics contra PD-1 (Nivolumab o Pembrolizumab) (6) i contra PD-L1 (MDX-1105, aquest últim està avançant ràpidament en les seves fases d'estudi pels bons resultats obtinguts en la fase I; no es considera encara en fase III (7)). Amb algunes diferències quant a eficàcia i efectes secundaris, el "bloqueig del bloqueig" tant amb els anti-PD-1 com els anti-PD-L1 s'ha demostrat una de les estratègies terapèutiques més potents en l'actualitat per al tractament de diversos tumors on es desenvolupa una resposta antitumoral que no arriba a ser efectiva per raó d'aquest mecanisme d'escapament del tumor (l'expressió de PD-L1 en la superfície de les cèl·lules tumorals). El nivell d'eficàcia final d'aquestes aproximacions encara està pendent d'avaluar, però les dades apunten a un nivell d'èxit remarcable (fins a un 40 % de respostes objectives en alguns dels càncers estudiats per PD-1).

De fet ha estat la consolidació d'aquestes opcions terapèutiques la que ha portat a variar els mètodes d'avaluació de la resposta, i a més de permetre evidenciar l'eficàcia d'aquests tractaments, suposa poder començar a valoritzar moltes de les respostes que la immunoteràpia induïx i quins són els criteris clàssics de resposta de la teràpia oncològica (per ex. reducció de la massa tumoral als 1-3 mesos), deixava com ineficaç aquestes aproximacions.

Teràpia cel·lular amb limfòcits T manipulats genèticament amb receptors antigènics quimèrics, CARTs

Sorprement una de les propostes més complexes metodològicament parlant (doncs combina teràpia cel·lular amb teràpia gènica) ha arribat a ser una de les aproximacions més eficaces de la immunoteràpia antitumoral (8). Mitjançant la infusió de limfòcits T (immunoteràpia cel·lular) dirigits contra un determinat tumor mercès a presentar un receptor contra un antigen tumoral que s'ha introduït en el genoma limfocitari mitjançant un vector viral (teràpia gènica), s'aconsegueix una resposta antitumoral ràpida i eficaç. El receptor antigènec s'anomena quimèric (CAR, acrònim de l'anglès *chimeric antigen receptors*) perquè és una construcció molecular que combina extracel·lularment els dominis de reconeixement derivats d'un anticòs específic contra un antigen tumoral (de fet una modificació de cadena única de les regions variables de l'anticòs, scFv, que combinant-les permeten el reconeixement), amb dominis de senyalització de les molècules que aporten la primera (CD3) i segona senyal (CD28 o CD137/4-1BB) necessàries per induir la funció citotòxica, la proliferació limfocitària acompanyada de síntesi de citocines i la supervivència cel·lular, tres característiques que semblen imprescindibles per a que l'efecte citotòxic antitumoral dels limfòcits T sigui eficient. El DNA codificant d'aquest CAR s'introdueix gràcies al vector viral (*lentivirus* o *retrovirus* segons el protocol) en els limfòcits T extrets principalment de l'individu a tractar i, un cop les cèl·lules T transduïdes expressen el CAR (CARTs), s'expandeixen *in vivo* i s'infonen en el pacient amb càncer tot esperant que *in vivo* produeixin un fenomen antitumoral ràpid i eficient, alhora que es mantinguin els limfòcits T al llarg del temps (9). Si bé existeixen un ampli grup d'assajos clínics en marxa amb diferents CARTs contra distints antigens tumorals de distints tumors, de moment el que amb més rotunditat ha demostrat la seva eficàcia és el que es coneix com a CART19, doncs els CARTs van dirigits contra CD19, una molècula dels limfòcits B que es considera antigen tumoral de diverses malalties limfoproliferatives de l'estirp B. A aquesta aproximació per tractar leucèmies i limfomes B que s'han demostrat quimioresistents i on no hi ha més opcions terapèutiques, es van afegir amb petites variants cada cop més centres arreu del món on hi ha més d'un centenar d'assajos clínics i on els pacients ja tractats es compten per centenars. Els resultats en conjunt són espectaculars: al voltant de 50 % de respostes (la meitat respostes complertes, és a dir que els pacients no tenen tumor detectable) en leucèmia limfàtica crònica (10) on ja s'han tractat més de 50 pacients, però és el 80 % de respostes complertes en leucèmia limfoblàstica aguda en adults i nens (11) on els resultats destaquen. Malgrat alguns efectes secundaris importants (síndrome d'alliberament de citocines i agammaglobulinèmia), la teràpia amb CART19 hauria de ser ja considerada una opció terapèutica de primer ordre en el tractament d'uns quadres que d'altra manera condueixen a la mort del pacient en un breu període de temps. El proper repte principal dels CARTs és estendre aquesta proposta a altres càncers, especialment tumors sòlids, en els que, si bé existeixen condicionants clarament diferenciadors que fan més complex les opcions d'èxit, cada cop s'acumulen més dades experimentals que fan que s'estigui més a prop com a via de tractament específic i eficaç.

La complexitat d'aquests tractaments i els costos de poder-los oferir de manera eficient fan necessària la monitorització de la resposta immunitària en busca de biomarcadors que permetin racionalitzar el seu ús, fent possible definir els elements peculiars de cada pacient i el seu tumor (i elements com la microbiota que és definitiva), així com l'estat del sistema immunitari a nivell basal i postmanipulació terapèutica. La personalització d'aquests aspectes és un dels reptes a abordar pels immunòlegs que han de liderar tant la introducció d'aquests procediments terapèutics com la seva monitorització. Patòlegs analitzant l'expressió en els teixits dels elements implicats (infiltrat limfocitari, expressió de molècules claus del sistema immunitari), citometristes avaluant les subpoblacions limfocitàries, estudis funcionals *in vitro* sobre producció de respostes i secreció de biomolècules com les citocines, seqüenciació massiva dels TcR i BcR junt a la recerca dels neopeptòps, definibles per la tipificació HLA, etc., han de requerir de la implicació dels immunòlegs en aquestes tasques, així com en el maneig dels productes cel·lulars que s'empraran com a teràpies dirigides. La integració és doncs fonamental, més quan es preveu que la combinació de teràpies serà l'element definitori de la màxima efectivitat sobre el pacient oncològic.

Referències

- (1) Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy. *Science* 2013;342(6165):1432-3.
- (2) Vacchelli E, Vitale I, Eggermont A, Fridman WH, Fučíková J, Cremer I, *et al.* Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy. *Oncoimmunology* 2013; 2(10):e25771.
- (3) Sheikh NA, Petrylak D, Kantoff PW, Dela Rosa C, Stewart FP, Kuan LY, *et al.* Sipuleucel-T immune parameters correlate with survival: an analysis of the randomized phase 3 clinical trials in men with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2013;62(1):137-4.
- (4) Jiang J, Wu C, Lu B. Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity. *J Transl Med* 2013;11:83.
- (5) 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(8):711-23.
- (6) Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, *et al.* Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366(26): 2443-54.
- (7) Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian S., Hwu P, *et al.* Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012;366(26):2455-65.
- (8) Kochenderfer JN, Rosenberg SA. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10(5):267-76.
- (9) Kalos M, Levine BL, Porter DL, Katz S, Grupp SA, Bagg A, June CH. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011; 3(95):95ra73.
- (10) Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011;365(8):725-33.
- (11) Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2013;368(16):1509-18.

Bibliografia adicional

- Ruella M, Barrett DM, Kenderian SS, Shestova O, Hofmann TJ, Perazzelli J, *et al.* Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest* 2016;126(10):3814-3826.
- Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, *et al.* Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015;350(6264):1079-84.
- Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, Postow MA, Rizvi NA, Lesokhin AM, *et al.* Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013;369(2):122-33.
- Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hu-Lieskovan S, *et al.* Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med* 2016;375(9):819-29.