

Afinando el Sistema Inmune en la inmunoterapia antitumoral (ITAT) para tratar el cáncer

ANA BORONAT^{*2}, E. AZUCENA GONZÁLEZ-NAVARRO^{*1,2}, MANEL JUAN^{1,2,3}

* Estos autores han contribuido de forma equivalente al desarrollo de este trabajo.

¹Servicio de Inmunología CDB Hospital Clínic Barcelona.

²Institut d'investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).

³Universitat de Barcelona.

mjuan@clinic.ub.es

RESUMEN

La inmunoterapia antitumoral (ITAT) es una opción terapéutica basada en la capacidad intrínseca del sistema inmunitario de reconocer y eliminar las células neoplásicas. A diferencia de otras terapias como la cirugía, la radioterapia o la quimioterapia en las que el objetivo es actuar directamente sobre las células tumorales, la ITAT focaliza el objetivo en las células del sistema inmunitario para que ellas hagan su función sobre el tumor. Por tanto se trata de "afinar" una respuesta existente para que actúe. En los últimos años distintas estrategias han surgido como alternativas inmunoterapéuticas que han demostrado eficacia como tratamientos antitumorales y que a pesar de ser específicas, por sus características tienen la potencialidad de ser iguales con independencia del tumor. En el caso de los tumores del sistema respiratorio, la inmunoterapia también está aportando nuevos enfoques de tratamiento y revolucionando las expectativas de los pacientes.

Palabras claves: Inmunoterapia, sistema inmune, cáncer, tratamiento.

Abreviaturas: RI: respuesta inmunitaria; SI: sistema inmune; CTL: linfocitos T citotóxicos; AT: antitumoral; ITAT: inmunoterapia antitumoral.

Introducción

La principal característica que ha convertido a la inmunoterapia en una de las terapias más prometedoras para el tratamiento del cáncer ha sido el manejo del microambiente tumoral para potenciar la respuesta frente al tumor, a diferencia de las terapias clásicas en el tratamiento antitumoral (AT) como la quimioterapia o la radioterapia, que centraban su mecanismo de acción en la histología del

tumor. Desde hace años se sabe que existe una respuesta inmunitaria (RI) contra las células cancerosas; aun así cuando la masa tumoral prolifera, es porque los mecanismos ATs del Sistema Inmune (SI) sobre la masa tumoral han fracasado; de alguna manera (y por lo que sabemos ahora esto puede ocurrir a distintos niveles de la RI) la función de control que tiene el SI (inmunovigilancia), "está fallando". Como en toda RI normal (y el paradigma por su similitud con la RI AT es la RI antiviral), ésta se inicia por señales

de peligro producidas por el desarrollo tumoral; las señales activan células del SI innato. Estos eventos producen la maduración de células presentadoras de antígeno, lo que culmina con la generación de una respuesta adaptativa específica mediada por linfocitos T CD4+ y sobre todo CD8+. Sin embargo el microambiente tumoral, que suele ser inmunosupresor, favorece la aceptación inmunitaria respecto al tumor. Por ello, la mayoría de los tratamientos ATs actuales pretenden potenciar los mecanismos inmunitarios. Uno de los inconvenientes que tienen lugar en el desarrollo tumoral es la prevalencia de un ambiente inmunosupresor; por ello la inmunoterapia ha explorado y debe seguir valorando propuestas de terapias en las que se tengan en cuenta los siguientes aspectos característicos del tumor y de los tratamientos concomitantes (previos, simultáneos o posteriores): a) proliferación y resistencia a la muerte (apoptosis), b) efectos adversos de las terapias clásicas; a pesar de que en algunos pacientes se genera una respuesta autoinmune como efecto adverso por la potenciación de la RI (algo que de por sí puede ser negativo para el paciente, pero que puede ayudar a la inmunoterapia). En el fondo, la inmunoterapia es como devolver la eficacia de la inmunovigilancia normal, "afinando de nuevo" los instrumentos del sistema inmune que en algún momento del proceso oncogénico se han visto superados por el desarrollo del tumor.

Respuesta inmune en el cáncer

El análisis histológico de tumores humanos ha mostrado la presencia de infiltrados inmunitarios muy heterogéneos entre varios tipos de tumores y entre distintos pacientes. Estos infiltrados incluyen macrófagos, células dendríticas (DC), polimorfonucleares, natural killer (NK), y en menor medida células B y diferentes subpoblaciones de células T (linfocitos T Citotóxicos [CTL], células T helper [Th1, Th2] y células T reguladoras [Treg]). De hecho, precisamente, el infiltrado linfocitario es una de las variables más relevantes en la progresión del tumor y por supuesto para las opciones de inmunoterapia. Por tanto, la idea de incrementar la respuesta inmunitaria (base de las vacunas) es un objetivo principal de la inmunoterapia antitumoral (ITAT).

Algunas de las células de la inmunidad innata y adaptativa de este infiltrado constituyen un intento del hospedador por detectar y destruir células tumorales emergentes. La teoría

de la *inmunoedición* propone que durante la fase 1 (eliminación) los efectores de la inmunidad ejercen una vigilancia tumoral, suprimiendo el crecimiento del tumor en las etapas más tempranas. En la fase 2 (equilibrio), el sistema inmunitario del hospedador y las células tumorales que han sobrevivido a la fase de eliminación, entran en un estado temporal de equilibrio dinámico, durante el cual se cree que las células tumorales permanecen latentes o acumulan cambios (mutaciones en el ADN o cambios en la expresión génica) que alteran su fenotipo; finalmente, durante la fase 3 (escape), las variantes tumorales que han sobrevivido comienzan a expandirse progresivamente, eludiendo el control inmunitario¹.

La inmunidad AT celular se lleva a cabo principalmente por los linfocitos T citotóxicos (CTL) y las células NK. Las NK (cuya función AT se centra en intentar controlar las células tumorales durante la diseminación sanguínea hasta los tejidos distantes y las consiguientes metástasis^{2,3}, quizás constituyen la población de la inmunidad innata mejor estudiada en la respuesta AT. Pero la mayoría de los cánceres humanos presentan antígenos capaces de activar, vía HLA, una RI por linfocitos T. Los CTL pueden mediar la destrucción específica de células tumorales a través de la liberación de componentes líticos, constituyendo una parte esencial de la RI encargada de la inhibición del crecimiento y del desarrollo tumoral. En la actualidad los CTLs se consideran el mecanismo efector clave para conseguir la eliminación eficaz de un tumor. En todo caso, los linfocitos T CD4+ Th1 contribuyen a organizar y mantener la RI adaptativa frente al tumor y por tanto también son esenciales; esta RI de los linfocitos T CD4+ se vehiculiza mediante la secreción de citocinas que en general y como objetivo pretenden potenciar la proliferación y la actividad citotóxica de los CTL.

Tipos de inmunoterapia (Tabla I)

Anticuerpos frente a inhibidores de los puntos de control o Checkpoint inhibitors y Anticuerpos inmunoestimuladores

El SI tiene múltiples moléculas cuya función es regular la RI para asegurar un equilibrio en la homeostasis corporal y evitar una activación excesiva, prolongada y crónica. Al-

Tipo	Ejemplos
Inmunoterapia con biológicos Anticuerpos frente a inhibidores de los puntos de control	Anti-PD-1 Anti-PD-L1 Anti-CTLA-4
Coestimuladores	Anti-CD137
Vacunas genéricas y con células dendríticas	Vacunas con: Células tumorales propias inactivadas Baterías de líneas tumorales inactivadas o peptídicas Estimulación con cél. dendríticas con: Lisados de células tumorales propias o alogénicas Péptidos antigénicos
Linfocitos T infiltrantes de tumor (TILs)	Expansión linfocitos T específicos de tumor
Linfocitos T Con receptores de antígeno quiméricos (CAR) Con TCR (de TILs o modificados)	CART-CD19 CARs duales CARs "armados" (armored CARs) TCR (con afinidad ajustada)
Otras Fragmentos de complementariedad Liposomas	Apo2L/TRAIL Apo2L/TRAIL Granulicina recombinante Granzima B
Virus oncolíticos	

Tabla I: Grupos y ejemplos de ITAT

gunos tumores evitan la respuesta anti-tumoral mediante la expresión de antígenos capaces de modular la RI⁴. La inmunoterapia se ha centrado principalmente en estas moléculas para "recuperar" la acción tumoral. De entre todas ellas, los ensayos con anticuerpos monoclonales (AcMos) frente a PD-1 (junto con su ligando PD-L1) y CTLA-4 han obtenido resultados concluyentes, ya que impiden la desactivación de la respuesta mediada por linfocitos T⁵⁻⁷ y consiguen regresiones completas de los tumores. Así mismo, el tratamiento con AcMos anti-PD-1, anti-PD-L1 y anti-CTLA4 al mostrar eficacia en diversos tipos de tumores, in-

cluido el cáncer no microcítico de pulmón (CPCNP) avanzado, sitúa estos tratamientos como opción generalizable de tratamiento AT. Queda por demostrar en qué tumores y situaciones estos AcMos aportan mejoras en los resultados de las terapias consolidadas. Además, junto a otras dianas similares (anti-puntos de control, como anti-LAG3 o anti-TIM3) se están llevando a cabo ensayos clínicos utilizando otros AcMos directamente inmunoestimuladores (como anticuerpos anti-CD27, anti-OX40L o CD137) con resultados prometedores; este es el caso del AcMo anti-CD137 urelumab⁸ (Figura 1).

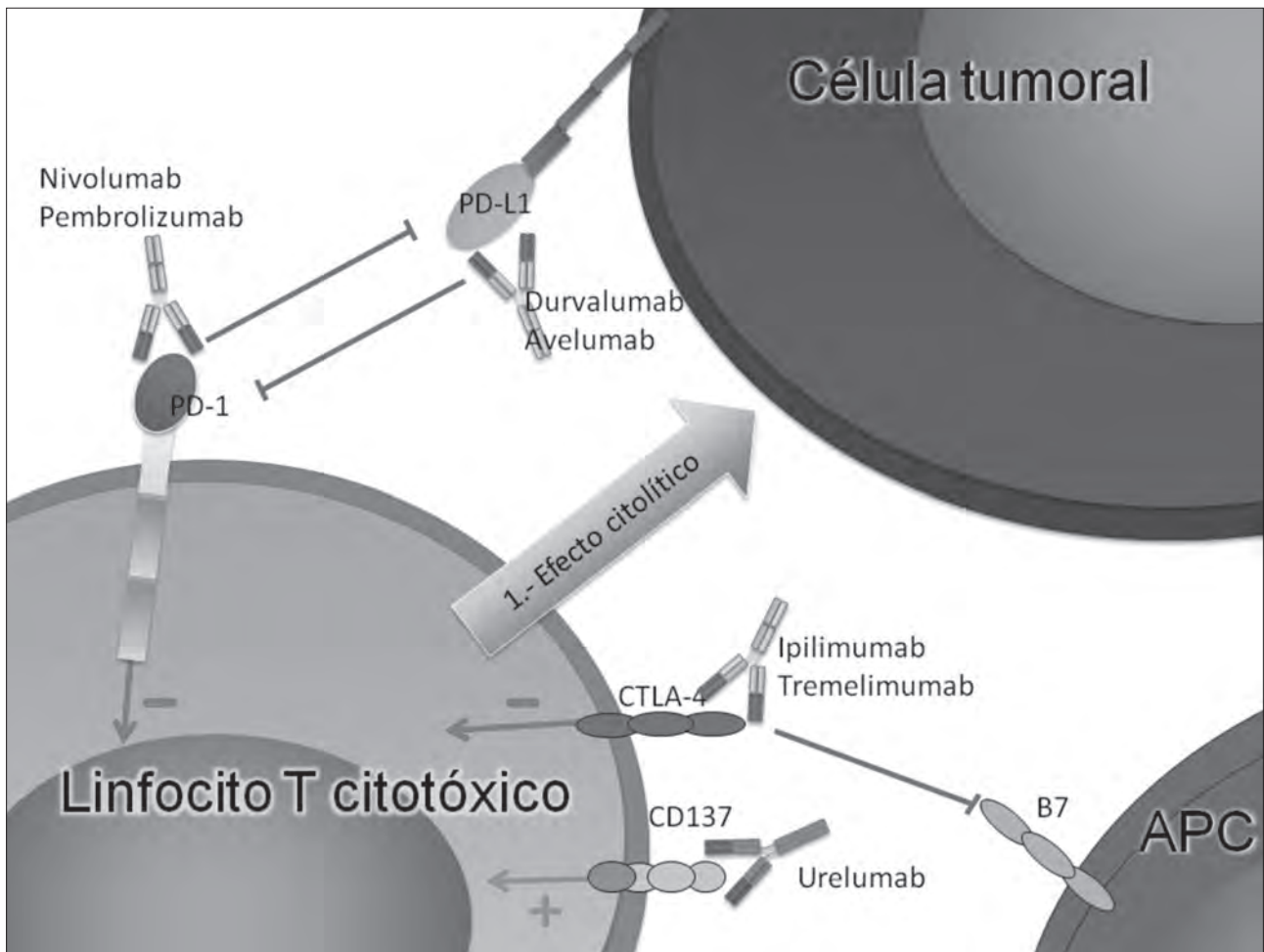


Figura 1. Esquema de acción de los anticuerpos frente a inhibidores de los puntos de control (*Checkpoint inhibitors*) y Anticuerpos inmunoestimuladores. (Azul: *Checkpoint inhibitor*; Verde: Coestimuladores). La línea con final romo indica bloqueo de la interacción molecular; las moléculas dan señales intracelulares bloqueadoras (flecha, símbolo “-”) o activadoras (flecha, símbolo “+”).

Vacunas genéricas y con células dendríticas

La inyección en el individuo de células tumorales propias inactivadas o de colecciones de líneas tumorales inactivadas o peptídicas se ha evaluado durante años y ha demostrado una eficacia reducida, aunque cabe remarcar que sí son eficaces en determinados pacientes (entre el 5-25% de respuesta según los trabajos).

Por su parte la vacunación con lisados tumorales o péptidos, con células dendríticas expuestas a antígenos o péptidos, sigue siendo una estrategia ampliamente usada en las aproximaciones ATs como adyuvantes inmunitarios (el concepto inmunológico de adyuvante no tiene nada que ver con el de adyuvancia AT) en la generación de una respuesta AT

eficaz⁹. Los resultados actuales después de más de 20 años de estudios siguen siendo modestos, con respuestas que van del 10 al 30 % de los pacientes tratados, pero se prevé un aumento de esta eficacia tras la combinación de tratamientos que incluyan el control de diversas vías supresoras.

Linfocitos T infiltrantes de tumor (TILs)

La infusión de linfocitos T infiltrantes de tumor (TILs) tras su expansión *in vivo*, genera una respuesta con alta especificidad frente al antígeno (favorecida por la identificación de los mejores antígenos tumorales, como los neoantígenos) y la persistencia de células T de memoria. La preparación del paciente antes de la infusión mediante el acondicionamien-

to por quimioterapia y radiación para inducir una linfodeplección es de gran importancia para favorecer la expansión de los linfocitos administrados¹⁰.

Linfocitos T con receptores de antígeno quiméricos (CAR)

Entre las terapias celulares, cabe destacar los resultados espectaculares que se están consiguiendo en varios tipos de neoplasias hematológicas usando los llamados receptores de antígeno quiméricos (CAR)^{11,12}, que están impulsando la creación de nuevos CAR también contra tumores sólidos. Su base es la modificación genética de los linfocitos T (estos linfocitos T con el CAR se llaman CART) de los pacientes, mediante lentivirus o retrovirus, para que expresen en su membrana un receptor quimérico, el cual se compone de una fracción extracelular (el más utilizado hasta el momento es un anticuerpo anti-CD19), una fracción transmembrana y una intracelular compuesta por un dominio de señalización (CD3- ζ) y un dominio de coestimulación (los más utilizados son CD28 o CD137). Estos linfocitos, una vez transducidos son expandidos *ex vivo* e infundidos al paciente.

Otra aproximación basada en dirigir una RI específica consiste en la utilización de linfocitos T específicos en los que se ha modificado la afinidad de su receptor antigénico (TCR) frente a un antígeno específico del tumor¹³; la activación de la célula T ocurrirá por los mecanismos naturales; por tanto, se constata una correcta respuesta efectora del linfocito T. Hasta el momento esta aproximación no ha demostrado los resultados espectaculares de los CARTs.

Otras

- Fragmentos de complementariedad; otro desarrollo de gran futuro lo traerá la producción de fragmentos que codifican las regiones de complementariedad en una secuencia peptídica mucho más corta, conocidos como fragmentos variables de cadena sencilla (-Fv, single chain fraction).
- Liposomas decorados con el ligando mortal Apo2L/TRAIL, la granulicina recombinante y la granzima B unida a fragmentos scFv frente a diferentes antígenos,

como CD64, MEL, HER2, CD30 y EGFR. Estas proteínas de fusión son internalizadas e inducen la muerte en las células tumorales de forma independiente de la perforina¹⁴. Algunas de ellas han mostrado eficacia y baja toxicidad en modelos animales.

- La terapia con virus oncolíticos es un área de investigación activa en varios tipos de tumores, aunque todavía deben superarse muchos retos que limitan su eficacia como la baja carga viral, la carencia de tropismo viral por las células de cáncer, etc. Un estudio en fase I en tumores neuroendocrinos (incluido el CPCNP) ha obtenido resultados prometedores¹⁵. Se incluyen como inmunoterapia pues la terapia oncolítica parece que funciona de manera importante induciendo RIs ATs.

Biomarcadores tumorales de pronóstico

El cáncer de pulmón es una de las causas principales de mortalidad por cáncer en todo el mundo y responsable de casi 1 de cada 5 muertes por cáncer¹⁶. Clásicamente, las decisiones de tratamiento han sido empíricas y guiadas por la histología del tumor. La quimioterapia basada en derivados con platino sigue siendo la piedra angular del tratamiento. Sin embargo, las tasas de supervivencia siguen siendo bajas, por lo que se necesitan nuevas terapias y estrategias de tratamiento.

El cáncer de pulmón se compone de dos subtipos histológicos principales: el CPCNP, que comprende alrededor del 85% de todos los cánceres de pulmón, y el de células pequeñas (CPCP)¹⁶. El CPCNP (adenocarcinoma y carcinoma escamoso) puede ser definido según las mutaciones recurrentes que ocurren en múltiples oncogenes incluyendo: AKT1, ALK, BRAF, EGFR, HER2, KRAS, MEK1, MET, NRAS, PIK3CA, RET y ROS1 responsables de inducir la tumorigénesis. Rara vez se encuentran estas mutaciones simultáneamente en el mismo tumor.

Los biomarcadores descritos actualmente asociados a cáncer de pulmón incluyen los síntomas del paciente, el historial médico, la histología, las mutaciones, los niveles de expresión de determinadas proteínas, etc. y es interesante valorarlos individualmente y en conjunto, es decir, como

un biomarcador más. Actualmente los dos biomarcadores predictivos para el cáncer CPCNP con un tratamiento indicado son la detección de mutaciones en el gen del EGFR y ALK¹⁷.

Existen diferentes organizaciones reguladoras como la FDA (que es la que tiene mayor peso), la EMA o la PMDA, entre otras, cuya finalidad es mejorar la regulación de los fármacos y sus procedimientos de desarrollo. A pesar de la eficacia de estos dos biomarcadores, hay subtipos de tumores que carecen de biomarcadores de pronóstico, de modo que la investigación y el desarrollo de nuevos marcadores todavía son necesarios^{18,19}. El marcador tumoral ideal debe ser específico de tumor o diferir significativamente de los niveles en pacientes sanos, cuantificable, preciso, reproducible, biológicamente plausible, barato, ser fácil de medir (localización y cantidad) y preferiblemente su nivel de expresión se debe incrementar con la presencia de micrometástasis.

Actualmente existen seis grandes tipos de biomarcadores: (A) Biomoléculas: incluyen principalmente metabolitos o proteínas procedentes de saliva, sangre u orina o tejidos, y suelen ser predictivos de riesgo. (B) Genómicos: procedentes de tejido tumoral, importantes para determinar el diagnóstico, los factores de riesgo, las respuestas o el pronóstico. La clave para su incorporación habitual han sido las nuevas técnicas de secuenciación de ADN (next-generation DNA sequencing) y la propagación del conocimiento (por parte de bases de datos como Cancer Genome Atlas)¹⁷. (C) Transcriptómicos: incluyen metilaciones, modificaciones proteicas, microRNAs y fragmentos largos de RNA no-codificante. Podrían llegar a identificar subclases de cánceres y el pronóstico¹⁷. (D) Proteómicos: mediante espectrometría de masas se ha identificado y validado recientemente 17 proteínas circulantes potencialmente predictivas del CPCNP, clínicamente útiles para el pronóstico del cáncer de pulmón¹⁷. (E) Autoanticuerpos asociados a antígenos tumorales; se han detectado en etapas iniciales del cáncer, incluso antes de la aparición de los primeros síntomas clínicos, aunque su sensibilidad es del 40 % y sólo están presentes en algunos cánceres. Por contra, la gran especificidad los hace muy útiles en el diagnóstico y pronóstico del riesgo^{20,21}. Entre ellos destacamos los anticuerpos que causan síndromes paraneoplásicos y en especial neurológicos. (F) Biomarcadores inflamatorios: la mayoría de tumores provocan un estado inflamatorio, ya sea porque

la inflamación crónica puede promover oncogénesis o bien porque el propio tumor y el microambiente tumoral producen una respuesta inflamatoria²².

Lamentablemente, la falta de una reproducibilidad analítica (la evolución en el tiempo es un factor decisivo) o la gran variabilidad biológica son un claro obstáculo. Por ello varias investigaciones van dirigidas a obtener modelos estadísticos que puedan determinar la habilidad de los diferentes biomarcadores y complementarlos unos con otros con el fin de determinar qué combinación proporcionará una información suficientemente amplia y eficaz²³.

Inmunodiagnóstico (biomarcadores de la itat)

Como hemos comentado, el microambiente tumoral influye en el desarrollo, progresión y metástasis del cáncer. Por este hecho, varios grupos han demostrado que la fracción inmune del microambiente tumoral tiene valor pronóstico en el cáncer de pulmón. Un número elevado de células supresoras de origen mielóide (MDSC) se ha asociado con malos resultados clínicos^{24,25}. De forma similar, los infiltrados de leucocitos, particularmente el aumento del número de neutrófilos, se han asociado significativamente con peor resultado en pacientes con carcinoma broncoalveolar²⁶⁻²⁸. Las células dendríticas maduras del infiltrado celular también se han utilizado para identificar pacientes en la etapa temprana del CPCNP y alto riesgo de recaída^{29,30}. Por otro lado, el número de macrófagos en el estroma en pacientes con CPCNP es un predictor de tiempo de supervivencia³¹. De manera similar, los mastocitos³², las células T citotóxicas³³, y los linfocitos T colaboradores³⁴ han sido identificados como potenciales factores pronósticos después de la resección en pacientes con CPCNP. Por todo ello, se ha definido una metodología llamada Immunoscore para cuantificar in situ el infiltrado inmune y con él establecer estadios inmunológicos relacionados con el pronóstico del cuadro neoplásico.

Otro aspecto relevante en el estudio de biomarcadores para el tratamiento con inhibidores de puntos de control (en concreto en la vía de PD-1/PD-L1) es la expresión "operativa" de las moléculas implicadas (en este caso la expresión por parte del tumor de PD-L1 o PD-L2). Aunque la

expresión intratumoral de PD-L1 se ha instaurado como biomarcador, definiendo que, como parece lógico, el éxito de los bloqueantes se incrementa cuando los tumores expresan PD-L1, la realidad es que entre algunos pacientes sin expresión de la molécula también aparecen respondedores, posiblemente porque puede cambiar esta expresión con el tiempo, y en cambio el biomarcador se basa en el estudio sobre la muestra disponible.

Por otro lado, la firma de expresión de 11 genes en los fibroblastos asociados a cáncer (CAF) estratifica a los pa-

cientes con CPCNP en grupos de alto y bajo riesgo, asociándolos con la supervivencia³⁵. Para ayudar al estudio de expresión de genes asociados a diferentes cánceres también se ha desarrollado una herramienta, Nanostring®, que identifica la firma de expresión de los diferentes tumores mediante sondas específicas.

En conjunto, cabe tener presente que los biomarcadores son factores dinámicos que cambian con la evolución del tumor (incluyendo en ella la evolución del SI).

Nombre genérico	Diana	Tipo de anticuerpo	Aprobado cáncer pulmón. EE.UU (UE)
Bevacizumab	VEGF	Hu IgG1	2015 (2016)
Ramucirumab	VEGFR2	Hu IgG1	2014 (2016)
Bavituximab	PS	Hu IgG1	Fase III CPCNP
Patritumab	HER3	Hu IgG1	Fase III CPCNP
Rilotumumab	HGF	Hu IgG2	Fase I-II/II-III CPCNP
Cetuximab	EGFR	Qui IgG1	Fase III CPCNP
Sacituzumab	TROP-2	Hu /ADC	Fase I-II CPCNP/CPCP
Demcizumab	DDL4	Hu IgG2	Fase I-II CPCP
Nivolumab	PD1	Hu IgG4	2015 (2015)
Pembrolizumab	PD1	Hu IgG4	2016 (2016)
Atezolizumab	PD1	Hu IgG1	Fase III CPCNP
Durvalumab	PD-L1	Hu IgG1	Fase III CPCNP
Avelumab	PD-L1	Hu IgG1	Fase III CPCNP
Ipilimumab	CTLA-4	Hu IgG1	Fase II CPCP
Tremelimumab	CTLA-4	Hu IgG2	Fase III CPCNP

ADC, conjugado de anticuerpo y fármaco (*antibody-drug conjugate*); CPCNP, cáncer no microcítico de pulmón; CPCP cáncer de pulmón de células pequeñas; CTLA-4, antígeno 4 asociado al linfocito T citotóxico; DDL4, ligando tipo delta 4; EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico; HER3 receptor 3 del factor de crecimiento epidérmico humano; HGF, factor de crecimiento de hepatocitos; Hu humano; Hz, humanizado; IgG Inmunoglobulina G; PD-1 Proteína de muerte celular programada; PD-L1, Ligando para la proteína de muerte celular programada 1; PS, fosfatidilserina; Qui, quimérico; TROP-2, traductor de señal de calcio asociado al tumor 2; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular; VEGFR2, receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular.

Tabla II: Principales anticuerpos monoclonales que están siendo utilizados en distintas indicaciones de los diversos tipos de cáncer de pulmón.

Tratar el cáncer de pulmón con anticuerpos monoclonales

(Tabla II)

Los pacientes con CPCNP avanzado han sido tratados principalmente con quimioterapia basada en platino y otros agentes citotóxicos que incrementaron la supervivencia, pero más recientemente la combinación de la quimioterapia con anticuerpos específicos ha mejorado esos resultados en los diferentes tipos de cáncer de pulmón.

Los anticuerpos monoclonales (AcMos) son moléculas, generadas en el laboratorio que pretenden reequilibrar la compleja red de interacciones moleculares y celulares que componen la respuesta inmunitaria, a partir de su alta especificidad y variable afinidad frente a antígenos encontrados en el tumor, pudiendo producir acciones bloqueadoras o inhibidoras.

El nombre genérico de los biológicos se ha intentado estandarizar con codificación a través de prefijos, infijos y sufijos sobre una raíz identificadora, generando nombres que nos informan sobre su origen y modificaciones (aunque a veces parecen impronunciables y son más complicados que los comerciales).

Las terapias más clásicas y que llevan más tiempo dando buenos resultados con el uso de anticuerpos son, entre otras: los anti-EGFR (cetuximab, necitumumab); usados en el tratamiento de primera línea contra el cáncer de colon, los anti-CD20 (rituximab) usados en el linfoma no Hodgkin³⁶ o los anti-CD52 (alemtuzumab) en la leucemia linfática crónica.

Varios AcMos contra dianas tumorales concretas han sido aprobados por la FDA para tratar el cáncer de pulmón, incluyendo bevacizumab, anticuerpo monoclonal dirigido frente al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)³⁷, impidiendo así la angiogénesis y ramucirumab, otro inhibidor de la angiogénesis (VEGFR2) que puede utilizarse para el tratamiento del CPCNP.

Otros AcMos que actualmente se están probando en ensayos clínicos para los pacientes con cáncer de pulmón³⁸, son: (a) Baviximab, frente a la fosfatidil-serina, con docetaxel en el CPCNP no escamoso. (b) Patritumab, frente al factor de crecimiento epidérmico humano receptor-3 (HER3), se

administra en combinación con erlotinib; en CPCNP localmente avanzado o metastásico. (c) Rilotumumab, frente al factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), en células escamosas de CPCNP, sólo y junto con erlotinib para CPCNP recurrente o progresivo (tratado con quimioterapia previa). (d) Cetuximab, anti-EGFR, en CPCNP en estadio IIIB eliminables mediante cirugía. (e) Sacituzumab, un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC), anti Trop-2, en cánceres epiteliales, incluyendo CPCNP y CPCP. (f) Demcizumab, contra DLL4, un activador de la vía de señalización de Notch (que se sabe que es importante en las células madre de cáncer y el cáncer), en combinación con quimioterapia en CPCP en etapa extensiva.

Pero hablando de inmunoterapia, lo que cabe resaltar es la reciente estrategia basada en los inhibidores de punto de control para "revertir el cansancio celular". Esta propuesta representa un extraordinario avance terapéutico y constituye "un antes y un después" en el tratamiento oncológico: (A) La administración intravenosa de anticuerpos monoclonales IgG anti-PD-1 ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del CPCNP, y de hecho, dos anticuerpos monoclonales anti-PD1, como nivolumab y pembrolizumab, fueron aprobados por la EMA y la FDA en 2015 para su uso en el tratamiento del CPCNP en estado avanzado (metastásico) y en los refractarios o no respondedores a la quimioterapia basada en platino. Otros inhibidores de punto de control PD-1 / PD-L1 (atezolizumab, durvalumab, avelumab) también están en las últimas etapas de los ensayos clínicos³⁸. (B) Bloqueando la señal inhibidora de CTLA-4, está el Ipilimumab, que actúa estimulando la proliferación y activación de los linfocitos T frente a las células tumorales, fue el primer tratamiento de ITAT con AcMos que demostró ser capaz de prolongar la supervivencia en pacientes con melanoma metastásico. En la actualidad se está probando en ensayos clínicos para el cáncer de pulmón³⁸. Tremelimumab, es otro anticuerpo inhibidor de CTLA-4 en desarrollo.

Un aspecto a tener en cuenta es que si bien el uso de monoclonales se ha centrado en la monoterapia, parece bastante madura la idea de que una gran parte de cánceres necesitan de la combinación de diversas estrategias de actuación para ser eficaces³⁹. Dos combinaciones diferentes (nivolumab + ipilimumab y durvalumab + tremelimumab) se están probando en ensayos clínicos de fase III en com-

paración con la quimioterapia estándar como tratamiento de primera línea para CPCNP tanto PD-L1-positivo como PD-L1-negativas³⁸. No es aventurado pensar que pueda ser necesario definir pautas para concretar los tiempos en que cada aproximación pueda añadir sus efectos con el máximo sinergismo.

Cabe destacar que para una evaluación correcta de los efectos de todos estos tratamientos de inmunoterapia, se modificaron hace unos pocos años los criterios de evaluación para tumores sólidos introduciendo los criterios iRECIST (Immune-RECIST; RECIST: Response Evaluation Criteria In Solid Tumors), y resultaron definitivos para la valoración positiva de la ITAT.

Estrategias de inmunoterapia y ensayos clínicos

Se están desarrollando múltiples ensayos clínicos que incluyen el uso de vacunas para el tratamiento de CPCNP, tanto en estadio inicial como avanzado. Esta estrategia se basa en la estimulación de la RI contra antígenos tumorales, y actualmente existen dos vacunas en desarrollo clínico con mucho potencial para curar el CPCNP: la vacuna MAGE-A3, indicada para estadios I-IIIa y el liposoma BLP25 indicado en el estadio III²³. BLP25 es un liposoma con 25 aminoácidos de la región variable de MUC1 combinada con el adyuvante monofosforil lípido A. MUC1 está sobre-expresada y contiene una glicosilación aberrante en algunos tumores (incluido el CPCNP). En un ensayo clínico fase II (todavía no concluido) el 38% de los pacientes en estadio IIIB y un 62% en estadio IV con CPCNP mejoraban o permanecían estables después del tratamiento con quimioterapia de primera línea y BLP25 o radioterapia y BLP25. La toxicidad fue bien tolerada y no se reportó ningún efecto adverso grave^{23, 40, 41}.

Otra propuesta es la de Belagenpumatucel-L; basada en la molécula TGF- β modificada. El TGF- β está implicado en promover la diferenciación celular e inhibir el crecimiento y en algunos tumores se expresa mucho más, lo que conlleva inmunodepresión, proporcionando una ventaja para el tumor. En un ensayo clínico en CPCNP avanzado (61 pacientes, estadio IIIB-IV) un 15% tuvo una respuesta parcial y un 59% respuesta completa en un seguimiento de 4

meses (aunque en una fase II del estudio con 20 pacientes en estadio IV no se observaron respuestas parciales o completas, pero sí se estabilizó la enfermedad). No se describieron efectos adversos graves^{23, 42}.

También se plantea la vacuna EGR (CIMAvax EGF) que es una forma recombinada de EGF con una proteína derivada de *Neisseria meningitidis* como adyuvante, que actúa estimulando la producción de anticuerpos específicos contra EGF, evitando así la unión del receptor y por lo tanto inhibiendo el crecimiento celular. En un estudio de fase II con CPCNP en estadio avanzado y previa quimioterapia, observaron que los pacientes que incrementaron los niveles de anticuerpo anti-EGF presentaban mejor pronóstico. No se describieron efectos adversos graves^{23, 43}.

TG4010 es un vector viral recombinante que consiste en el virus Ankara atenuado y genéticamente modificado para expresar MUC1 y la IL-2. En un estudio en fase IIB en 1480 pacientes con CPCNP avanzado y expresión de MUC1, observaron mejores resultados (40%) en el grupo que había recibido la terapia combinada respecto al grupo que solamente había recibido la quimioterapia. La combinación de dicho tratamiento no causó un incremento significativo de la toxicidad y el 43% de los pacientes experimentaron remisión completa (seguimiento de 6 meses), aunque el análisis celular de la respuesta inmune contra MUC1 no mostró diferencia entre los pacientes vacunados y los no vacunados^{44, 45}.

Últimos avances en inmunoterapia

Actualmente hay varios ensayos clínicos en curso centrados en el uso de células dendríticas, TILs y CARs combinados con las terapias convencionales para tratar el CPCNP.

Entre las propuestas con CAR destacamos dos ensayos clínicos de fase I, todavía en fase de reclutamiento de pacientes, el NCT02862028, centrado en un CART anti-HER+, con secreción de anti-PD1 para pacientes con tumor sólido (pulmón, hígado o estómago) en fase avanzada EGFR/HER2/HER4 positivos, y el NCT02876978, un CART anti-GPC3 (CARs dirigidos contra Glypican-3) dirigido a pacientes con carcinoma de pulmón de células escamosas refractario o recurrente.

Basados en la terapia de los TILs, encontramos en curso por ejemplo el ensayo clínico en fase II, NCT01820754, en el cuál se evalúa si la combinación de quimioterapia neoadyuvante (quimioterapia previa a la cirugía) más ipilimumab incrementa el número de TILs circulantes en un perfil concreto de pacientes con CPCNP (TILs específicos de antígenos tumorales con niveles de entre 0-20%).

Con células dendríticas encontramos ensayos clínicos ya finalizados, como el NCT00442754, basado en una vacuna con células dendríticas autólogas pulsadas con lisados celulares de melanoma alogénicos combinados con el inhibidor Cox-2 (celecoxib) para el tratamiento de pacientes en estado avanzado o metastásico de CPCNP.

Estos ensayos se encuentran en curso y sus resultados todavía no se han publicado.

Conclusiones

La ITAT como tratamiento para CPCNP es ya mucho más que un tratamiento con mucho futuro: diversos estudios clínicos que incluyen la administración de vacunas y anticuerpos monoclonales aportan resultados definitivos muy positivos. Aun así, hay aspectos todavía pendientes de resolver; entre ellos y uno de los más necesarios, la validación de biomarcadores de respuesta. PD-L1 es un buen candidato como marcador de respuesta; sin embargo, estudios recientes sugieren que en pacientes en los que sus tumores han perdido la expresión de PD-L1 también podrían tener una respuesta favorable, posiblemente por su acción sobre la RI. Urge también el desarrollo de un protocolo de tratamiento óptimo que incluya una guía de terapia combinada. Estas cuestiones junto con otras que vayan apareciendo se irán resolviendo con los resultados obtenidos de los ensayos clínicos que todavía están en desarrollo.

Agradecimientos: Los autores quieren agradecer las ayudas del Instituto de Salud Carlos III (PI13/00676, PIE13/0033 y PIC14/000) y del Hospital Clínic (Ajut Josep Font 2015).

BIBLIOGRAFÍA

1. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3: 991 - 8.

2. Algarra I, Ohlén C, Pérez M, Ljunggren HG, Klein G, Garrido F, et al. NK sensitivity and lung clearance of MHC-class-I-deficient cells within a heterogeneous fibrosarcoma. *Int J Cancer* 1989;44:675 - 80.

3. Ericsson C, Seregard S, Bartolazzi A, Levitskaya E, Ferrone S, Kiessling R, et al. Association of HLA class I and class II antigen expression and mortality in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2153 - 6.

4. Creelan BC. Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Control* 2014;21:80-89.

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;363:711 - 23.

6. Ribas A. Tumor immunotherapy directed at PD-1. *N Engl J Med* 2012;366: 2517 - 9.

7. 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: 2443 - 54.

8. Melero I, Hirschhorn-Cymerman D, Morales-Kastresana A, Sanmamed MF, Wolchok JD. Agonist antibodies to TNFR molecules that costimulate T and NK cells. *Clin Cancer Res* 2013;19:1044 - 53.

9. Vacchelli E et al. Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy. *Oncoimmunology* 2013;2(10): e25771.

10. Jiang J, et al. Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity. *J Transl Medicine* 2013;11:83.

11. 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; 365:725 - 33.

12. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, Park J, Wang X, Coewill LG et al. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Science Transl Med* 2013;5:177ra38.

13. Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol* 2012;12:269 - 81.

14. De Miguel D, Basáñez G, Sánchez D, Galán P, Marzo I, Larrad L, et al. Tethering Apo2L/TRAIL to liposomes overcomes chemoresistance of human hematological tumor cells. *Mol Pharm* 2013;10:893 - 904.

15. Rudin CM, Poirier JT, Senzer NN et al) Phase I clinical study of Seneca Valley Virus (SVV-001), a replication-competent picornavirus, in advanced solid tumors with neuroendocrine features. *Clin Cancer Res* 2011;17:888-895.

16. Ramalingam SS, Owonikoko TK, Khuri FR. Lung cancer: new biological insights and recent therapeutic advances. *CA Cancer J Clin* 2011;61(2):91-112.

17. Vargas AJ, Harris CC. Biomarker development in the precision medicine era: lung cancer as a case study. *Nat Rev Cancer*. 2016 Aug;16(8):525-37.

18. US Food and Drug Administration (FDA). URL: www.fda.gov/
19. Leigh NB, Rekhman N, Biermann WA, et al. Molecular Testing Guideline for Selection of Lung Cancer Patients for EGFR and ALK Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Clin Oncol*. 2014 Nov 10;32(32):3673-9.
20. Atwater T, Massion PP. Biomarkers of risk to develop lung cancer in the new screening era. *Ann Transl Med*. 2016 Apr;4(8):158.
21. Zhong L, Coe SP, Stromberg AJ, et al. Profiling tumor-associated antibodies for early detection of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2006 Jul;1(6):513-9.
22. Inflammation and cancer. Coussens LM et al. *Zena Werb Nature*. 2002, December 19; 420(6917): 860-867.
23. Forde PM, Reiss KA, Zeidan AM, Brahmer JR. What lies within: novel strategies in IT for NSCLC. *Oncologist*. 2013;18(11):1203-13.
24. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, Garrett-Mayer E, Cole DJ, Montero AJ. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:49-59.
25. Sharma S, Dubinett S, Salgia R. CD14(+)/S100A9(+) myeloid-derived suppressor cells portend decreased survival in patients with advanced lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:940-941.
26. Belloq A, Antoine M, Flahault A, Philippe C, Crestani B, Bernaudin JF, Mayaud C, Milleron B, Baud L, Cadranel J. Neutrophil alveolitis in bronchioloalveolar carcinoma: induction by tumor-derived interleukin-8 and relation to clinical outcome. *Am J Pathol* 1998;52:83-92.
27. Eck M, Schmausser B, Scheller K, Brändlein S, Müller-Hermelink HK. Pleiotropic effects of CXCL chemokines in gastric carcinoma: differences in CXCL8 and CXCL1 expression between diffuse and intestinal types of gastric carcinoma. *Clin Exp Immunol* 2003;134:508-515.
28. Kimura YN, Watari K, Fotovati A, Hosoi F, Yasumoto K, Izumi H, Kohno K, Umezawa K, Iguchi H, Shirouzu K et al. Inflammatory stimuli from macrophages and cancer cells synergistically promote tumor growth and angiogenesis. *Cancer Sci* 2007;98:2009-2018.
29. Al-Shibli K, Al-Saad S, Donnem T, Persson M, Bremnes RM, Busund LT. The prognostic value of intraepithelial and stromal innate immune system cells in non-small cell lung carcinoma. *Histopathology* 2009;55:301-312.
30. Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel C, Heudes D, Wislez M, Poulot V, Rabbe N, Laurans L, Tartour E, de Chaisemartin L et al. Long-term survival for patients with non-small cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. *J Clin Oncol* 2008;26:4410-4417.
31. Dai F, Liu L, Che G, Yu N, Pu Q, Zhang S, Ma J, Ma L, You Z. The number and microlocalization of tumor-associated immune cells are associated with patient's survival time in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2010;10:220.
32. Takanami I, Takeuchi K, Naruke M. Mast cell density is associated with angiogenesis and poor prognosis in pulmonary adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88:2686-2692.
33. Al-Shibli KI, Donnem T, Al-Saad S, Persson M, Bremnes RM, Busund LT. Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:5220-5227.
34. Wakabayashi O, Yamazaki K, Oizumi S, Hommura F, Kinoshita I, Ogura S, Dosaka-Akita H, Nishimura M. CD4+ T cells in cancer stroma, not CD8+ T cells in cancer cell nests are associated with favorable prognosis in human non-small cell lung cancers. *Cancer Sci* 2003;94:1003-1009.
35. Navab R, Strumpf D, Bandarchi B, Zhu CQ, Pintilie M, Ramnarine VR, Ibrahimov E, Radulovich N, Leung L, Barczyk M et al. Prognostic gene-expression signature of carcinoma-associated fibroblasts in non-small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:7160-7165.
36. McLaughlin P, Grillo-López AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998;16:2825 - 33.
37. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W. nDiscovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:391 - 400.
38. www.ClinicalTrials.gov
39. Wolchok J.D. et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J. Med*. 2013;362(2):122-133.
40. Decoster L, Wauters I, Vansteenkiste JF. Vaccination therapy for non-small-cell lung cancer: review of agents in phase III development. *Ann Oncol* 2012 Jun;23(6):1387-93.
41. Butts C, Maksymiuk A, Goss G, et al. Updated survival analysis in patients with stage IIB or IV non-small-cell lung cancer receiving BLP25 liposome vaccine (L-BLP25): phase IIB randomized, multicenter, open-label trial. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011 Sep;137(9):1337-42.
42. Nemunaitis J, Nemunaitis M, Senzer N, et al. Phase II trial of Belagenpumatucel-L, a TGF-beta2 antisense gene modified allogenic tumor vaccine in advanced non small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Cancer Gene Ther*. 2009 Aug;16(8):620-4.
43. Gonzalez Marinello GM, Santos ES, Raez LE. Epidermal growth factor vaccine in non-small-cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012;12: 439-45.
44. Ramlau R, Quoix E, Rolski J et al. A phase II study of Tg4010 (Mva-Muc1-II2) in association with chemotherapy in patients with stage III/IV non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008;3:735-44.
45. ClinicalTrials.gov. Phase IIB/III Of TG4010 immunotherapy in patients with stage IV non-small cell lung cancer. Available at: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=NCT01383148&Search> Search. Accessed September 11, 2013.

