

# Immunoteràpia, un concepte clàssic amb novetats rellevants: els biològics i la immunoteràpia antitumoral com a exemples concrets

Manel Juan, Miguel Caballero Baños, E. Azucena González i Jordi Yagüe

Servei d'Immunologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS)

Adreça per a la correspondència: Manel Juan. Servei d'Immunologia, Hospital Clínic. C. de Villarroel, 170, escala 4, planta 0. 08036 Barcelona. Tel.: 932 275 463. Adreça electrònica: [mjuan@clinic.cat](mailto:mjuan@clinic.cat).

DOI: 10.2436/20.1501.02.150

ISSN (ed. impresa): 0212-3037

ISSN (electrònic): 2013-9802

<http://revistes.iec.cat/index.php/TSCB>

Rebut: 02/02/2014 Acceptat: 15/03/2014

## Resum

De la inducció de memòria immunitària de les vacunes antiinfeccioses, a la immunoteràpia cel·lular i genètica per al tractament de tumors, el ventall de teràpies potencials a través de la modulació del sistema immunitari és una de les aproximacions més prometedores que el coneixement basat en la immunologia ha fet, fa i farà realitat. Els avenços són constants i els resultats obtinguts en aquests primers anys del segle XXI situen la immunoteràpia entre les àrees mèdiques amb més potencialitat de tractament. En aquesta revisió ens centrarem en alguns dels avenços més rellevants dels tractaments basats en fàrmacs biològics (principalment anticossos), així com en els canvis introduïts en el tractament del càncer a través de la manipulació de la resposta immunitària.

**Paraules clau:** immunoteràpia, biològics, teràpia cel·lular, antitumoral.

## Introducció

Que el sistema immunitari té un potencial terapèutic és un fet ben conegut des dels temps de l'empirisme d'Edward Jenner; de fet, sovint se situa el naixement de la immunologia científica amb Jenner i la seva vacuna contra la verola (finals del segle XVIII), i per tant situa la immunoteràpia en el bressol de la immunologia científica (Greenberg, 2013). En tot cas el que és segur és que la «bona reputació» com a disciplina biomèdica de la immunologia té a veure amb el fet que l'única malaltia eradicada per la medicina és aquesta, la infecció pel *Variola virus*, i ho és mercès a la inducció deliberada de la resposta immunitària, el que coneixem com a vacunació. Parlar d'aquestes vacunacions clàssiques (antiinfeccioses) mereixeria sens dubte una revisió particular, però en aquest article ens centrarem a definir els conceptes generals més importants de la immunoteràpia i, dins d'aquesta, remarcarem els avenços i conceptes més especials que l'ús de fàrmacs biològics ha comportat en la farmacologia actual, i discutirem finalment algunes de les aportacions més «espectaculars» de la immunoteràpia antitumoral. En tot cas convé almenys esmentar aquí que també les vacunes antiinfeccioses, la immunosupressió en els transplantaments i les malalties autoimmunitàries o la modulació de la resposta al·lèrgica són aspectes d'immunoteràpia rellevants que estan «madurant» a passes gegants, i han convertit les opcions d'immunoteràpia en un element essencial en la medicina actual i futura.

## Immunotherapy: a classic concept with many new developments. Two specific examples: biologics and antitumour immunotherapy

### Summary

From the induction of immunological memory with anti-infectious vaccines through cell and gene immunotherapy to tumour treatments, the range of potential therapies stemming from modulation of the immune system is one of the most promising areas of immunology-based knowledge. Developments are constant and the results obtained during the early 21st century have placed immunotherapy among the areas with the greatest potential for clinical treatment. In this review, we focus on some of the biggest developments in treatment based on biological drugs (mainly antibodies) and, particularly, the progress made in the treatment of cancer by manipulating immune responses against tumour.

**Key words:** immunotherapy, biologics, cell therapy, antitumor.

## Conceptes generals a revalorar

El coneixement de la immunologia és, com la majoria de la biomedicina, un coneixement canviant, i la modulació terapèutica del sistema immunitari ha anat evolucionant amb aquests canvis. En tot cas hi ha nous condicionants que defineixen uns quants conceptes clàssics.

**Immunopotenciació.** La idea d'incrementar la resposta immunitària ha estat en la base de les vacunacions. El sistema immunitari és un sistema de reconeixement que ha evolucionat sobreposant «capes de més eficiència» en la seva funció de manteniment de la integritat de l'organisme enfront d'agents lesius per a l'individu, especialment els microbiològics. Si bé la immunitat adaptativa (sobretot la producció d'anticossos) amb les seves característiques d'altíssima especificitat i memòria immunitària, ha estat l'objectiu perseguit per les immunopotenciacions clàssiques, en les darreres dècades la immunitat innata ha viscut una revaloració evident, com demostra que el darrer premi Nobel en el camp de la immunologia (2011) s'hagi atorgat a investigadors en aquesta branca de la resposta immunitària, en concret els receptors de tipus Toll (TLR; Jules A. Hoffmann i Bruce A. Beutler) i les cèl·lules dendrítiques (DC; Ralph M. Steinman) (Juan i Otero, 2012). Així, ara és impossible plantejar opcions d'immunopotenciació sense involucrar els TLR, les DC i en general elements definitoris de la resposta innata. En tot cas, segueixen apareixent elements fonamentals

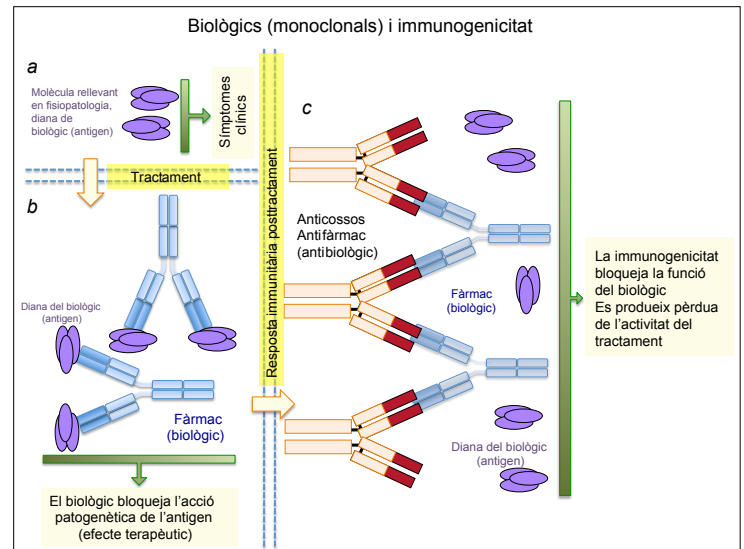
per a la immunopotenciació centrats encara en la immunitat adaptativa, com el bloqueig d'elements inhibidors com les cèl·lules T reguladores (Treg) o les vies de senyalització de «l'esgotament» (*exhaustion*) (Werry, 2011), com el bloqueig del reconeixement entre les molècules PD-1 / PD-L1 en el càncer (vegeu el tercer apartat d'aquest mateix article).

**Immunosupressió i tolerització.** Quan el sistema immunitari, fent la seva funció «s'excideix» i genera malaltia, l'eliminació/disminució de la funció immunitària ha estat el principi terapèutic a aplicar. Així, l'aplicació d'immunosupressors farmacològics ha estat l'element definitiu del rotund èxit dels transplants en què és clar que reemplaçant l'òrgan es recupera la funció perduda causant de la malaltia, però en què l'al·loreconeixement del sistema immunitari que determina el rebuig havia estat una barrera que només aquests immunosupressors han permès superar. Tot i que aquests immunodepressors (de fet, no podem parlar de procediments supressors «totals», ja que afortunadament no generen immunodeficiències completes) generals també han esdevingut una opció terapèutica eficient per al maneig de malalties autoimmunitàries (de l'artritis reumatoide a la psoriasi, passant per quadres com el lupus eritematos sistèmic o l'esclerosi múltiple), l'objectiu de les immunoteràpies és la tolerització, la inducció en el sistema immunitari d'una no-resposta activa (Pujol-Borell, 2012). De fet, el concepte de tolerància és ben diferent al d'immunodeficiència, ja que mentre que en el segon no hi ha capacitat de resposta per manca d'un o diversos components, en el primer hi ha una «reprogramació» activa (i habitualment específica) del sistema que aprèn a no respondre malgrat reconèixer. En aquest sentit han aparegut immunoteràpies altament prometedores que busquen aquesta tolerització, i la inducció (Saadoun *et al.*, 2011) o infusió (Tang i Bluestone, 2013) de limfòcits Treg (limfòcits T amb capacitat anomenada *reguladora*, però que a escala pràctica és principalment bloquejant d'una resposta immunitària) és la diana terapèutica més buscada.

**Immunomodulació.** Aquest és el concepte més habitual en la immunoteràpia, ja que quan potenciem o suprimim en general no ho fem de manera absoluta (ni ho volem) i molt sovint hi intervenen components d'una opció en l'altra; per exemple, en induir Treg amb IL-2, si bé busquem una reducció d'una resposta no volguda, ho aconseguim potenciant també altres components com els limfòcits activats, les cèl·lules NK, i fins i tot els limfòcits B que responen participant en el modulació global de la immunitat, i s'aconsegueix (o no) l'efecte desitjat. Quan parlem de moltes aproximacions immunoterapèutiques més actuals, la modulació de la resposta és el que deliberadament es pretén obtenir; per exemple, en les aproximacions actuals d'immunoteràpia contra l'al·lèrgia mitjançada per IgE s'intenta que la resposta canviï envers la no-producció d'IgE a través de modificar la resposta Th2 necessària per a aquesta producció (Smaar *et al.*, 2013), moltes vegades fins i tot fent modificacions (introducció simultània d'immunomoduladors innats) a la clàssica injecció dessensibilitzant de la immunoteràpia amb els al·lèrgens. Cal remarcar aquí que la introducció de fàrmacs biològics (vegeu el segon apartat d'aquest mateix article) en l'armament immunoteràpic ja s'està produint sota aquest concepte d'immunomoduladors, ja que l'administració de citocines o la infusió de monoclonals el que pretén és reequilibrar la complexa xarxa d'interaccions moleculars i cel·lulars que componen la resposta immunitària.

### Conceptes i novetats en l'ús de fàrmacs biològics

Citocines, altres molècules solubles (per exemple, factors de complement recombinant) o solubilitzades (com receptors de membrana fets solubles), més o menys modificades molecularment i anticossos (generalment monoclonals)



↑ **Figura 1.** Esquema de la immunogenicitat dels biològics. Es presenta un diagrama en tres fases consecutives: a) la diana del biològic (l'antigen que volem tractar amb l'anticòs) com a responsable de part del quadre clínic del pacient, i que és la diana terapèutica; b) la infusió del fàrmac «biològic» monoclonal que bloquejant la seva diana terapèutica (l'antigen) aconsegueix l'efecte terapèutic desitjat; i conseqüentment en alguns casos c) la resposta immunitària desenvolupa anticossos antifàrmac que bloquegen el tractament i reapareixen els símptomes, fins i tot malgrat que la dosi de fàrmac s'incrementi.

están «inundant» la farmacopea actual sota el terme genèric de *fàrmacs biològics*, o més freqüentment *biològics* (un terme que per als autors d'aquesta revisió no és gaire afortunat, tot i que és l'habitual, ja que *biològic* és un adjectiu segurament massa genèric, tot i que és l'habitual per a aquest grup de fàrmacs). El paper modulador de les citocines (bàsicament interferons, interleucines i factors de creixement) és part important de la immunoteràpia des de fa anys, i tot i que s'està incrementant en els darrers anys especialment d'acord amb modificacions bioquímiques, es pot pensar que té un llindar d'opcions amb un esperable ventall limitat de possibilitats. En canvi, el que està clar és que els anticossos monoclonals tenen unes possibilitats d'expansió que fan difícil veure'n els límits: l'altíssima especificitat i la variable afinitat en el reconeixement enfront de les seves dianes moleculars, la possibilitat de produir accions blocadores (les més) o inhibidores (les menys), amb regions (epítops) diverses en la molècula diana amb la qual s'uneixen, capacitats efectores diverses per a zones constants, opcions d'unió a altres molècules directament efectores (per exemple, toxines o enzims), estructures moleculars múltiples, modificables i combinables (per exemple, regions variables en cadena senzilla o scFv, tandems de scFv, estructures bi/tri o multispecífiques com els *dia/tri/multi-bodies*...) fan que els possibles biològics que empren les característiques dels anticossos siguin una aposta de llarg recorregut per a les empreses farmacèutiques, que han trobat actualment un cert topall en el desenvolupament o descobriment de nous fàrmacs convencionals (Grabenstein, 2012).

En el món dels biològics la nomenclatura ja és per si una font de complexitat. Més enllà dels noms comercials que posen les empreses (com sempre han fet en tots els productes), el nom genèric dels biològics s'ha intentat estandarditzar amb codificació a través de prefixos, infixos i sufixos sobre una arrel identificadora; així, en el cas dels anticossos monoclonals, la nomenclatura es concreta en el sufix *-mab*, que va precedir per infixos segons l'origen (*u* = humà, *e* = hàmtier, *o* = ratolí, *i* = primat, *xi* = quimera i *zu* = humanitzat; així, per exemple infliximab és un anti-TNF quimèric, mentre que eculizumab

és un anti-C5 humanitzat o canakinumab és un anti-IL1 $\beta$  humà). Aquesta estandardització és un element important davant de la irrupció gairebé exponencial del nombre d'aquests fàrmacs (vegeu la taula 1), que sent fàrmacs molt cars (el 2012, dels onze productes farmacèutics més cars, nou eren biològics, i de fet el més car era l'eculizumab!), ara està tot just entrant en l'època del final de la protecció per patents. D'aquesta manera apareix el concepte de *biosimilars*, en produir-se biològics que, reproduint la funció dels inicialment introduïts en la farmacopea, poden ser inclosos com a biològics (per exemple, BI-695500, biosimilar de rituximab; BI-695501, biosimilar d'adalimumab); en aquests casos no es parla de fàrmacs genèrics, ja que els biològics, per les seves característiques (producció recombinant de proteïnes llargues, fins i tot amb seqüències proteiques diferents) no es considera que puguin ser idèntics a un altre, si la font o qualsevol element de la producció els fa diferents. En tot cas la introducció de biosimilars s'espera que serà un canvi important en l'àrea, especialment per la davallada de costos en la farmàcia, i l'abaratiment esperable per la competència entre productors.

Un altre dels aspectes a tenir en compte és que si bé fins ara l'ús de biològics s'ha centrat en la monoteràpia (ús de només un determinat biològic), en la qual un biològic substitueix l'anterior només si el primer no és eficaç (ús seqüencial), sembla ja prou madura la idea que en gran part de malalties es necessitaran diverses dianes d'actuació per ser efectives, per la qual cosa la politeràpia amb biològics es pot considerar a punt d'irrompre en la pràctica assistencial (per ara només és una proposta experimental). Sens dubte haurà d'imperar la cautela enfront d'aquestes situacions complexes, tot i que l'esperable reducció de costos comentada ajudarà a tirar endavant la lògica que si hi ha diferents alteracions simultànies en la majoria de les malalties immunomediades, l'acció sobre diverses d'aquestes disfuncions serà l'única via per aconseguir un tractament efectiu. Cal tenir en compte, però, que si bé la monoteràpia en biològics ja ha demostrat fenòmens indesitjables associats, molts, amb la immunodepressió que produeixen (amb mecanismes similar en molts casos al que podem veure en pacients amb immunodeficiències) (Marodi, 2011), la situació pot ser més crítica si en fer politeràpia amb biològics actuem sobre diversos punts d'una determinada via fisiopatogènica; la redundància biològica natural pot explicar que els tractaments fins ara no siguin causants d'immunodeficiències greus, però la combinació de productes pot canviar radicalment l'escenari dels efectes no desitjats. De nou, la immunoteràpia antitumoral, amb la seva relació amb la transcendència vital dels pacients, possiblement serà «la punta de llança» en aquesta politeràpia amb biològics (Wolchok *et al.*, 2013).

L'àmplia utilització de biològics ha condicionat també l'aparició d'un concepte que per als immunòlegs era esperable, però que no s'havia tingut gaire en compte fins al moment: la immunogenicitat dels biològics (Vincent *et al.*, 2013; Chamberlain, 2013). Si bé els esforços per a la humanització d'aquests anticossos (o fins i tot partir d'anticossos provinents de gens humans) han estat la base de gran part de l'èxit d'aquestes teràpies, la infusió de seqüències estranyes per a l'organisme (encara que siguin només la zona de reconeixement o idiotip) fa que el sistema immunitari del pacient pugui acabar desenvolupant una resposta immunitària contra el biològic (vegeu la figura 1). La constatació que poden aparèixer anticossos contra els biològics (anticossos «antianticossos», tot i que tothom els anomena *anticossos antifàrmac*), i que aquests poden provocar la pèrdua d'eficàcia del tractament, ha portat al

→ **Taula 1.** Selecció de «biològics» (anticossos monoclonals, AcMo).

Es mostren els biològics que es troben en fase III d'ús o desenvolupament, i s'exclouen aquells antitumorals directes que no afecten de manera evident el sistema immunitari; a partir de dades de PhRMA (Pharmaceutical Research and Manufacturers of America).

| AcMo                             | Diana                          | Producte comercial              | Indicació  |
|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--|
| adalimumab                       | TNF $\alpha$                   | AbbVie                          | Artritis reumatoide / malaltia de Crohn / uveïtis / espondiloartritis / hidradenitis supurativa / cistitis intersticial                            |
| belimumab                        | BAFF                           | GlaxoSmithKline                 | Lupus eritematos sistèmic / Esclerodèrmia sistèmica / Rebuig   |
| BI-695500 (biosimilar rituximab) | CD20                           | Boehringer-Ingelheim            | Artritis reumatoide  |
| canakinumab                      | IL-1 $\beta$                   | Novartis                        | Artritis idiopàtica juvenil sistèmica / prevenció d'efectes cardiovasculars secundaris   |
| certolizumab                     | TNF $\alpha$                   | UCB                             | Espondilitis anquilosant, artritis reumatoide juvenil  |
| daclizumab                       | CD25                           | AbbVie / Biogen Idec            | Esclerosi múltiple   |
| eculizumab                       | C5                             | Alexion Pharmaceuticals         | Hemoglobinúria paroxística nocturna / síndrome hemolítica urèmica / (rebuig, fase II)  |
| elotuzumab                       | SLAMF7 (CD319)                 | Bristol-Myers Squibb / AbbVie   | Mieloma múltiple   |
| eprotuzumab                      | CD22                           | Immunomedics / UCB              | Lupus eritematos sistèmic  |
| gevokizumab                      | IL-1 $\beta$                   | XOMA                            | Uveïtis  |
| golimumab                        | TNF $\alpha$                   | Janssen Biotech                 | Artritis reumatoide juvenil  |
| ibritumomab                      | CD20                           | Spectrum Pharmaceuticals        | Limfoma difús de cèl·lules B grans   |
| infliximab                       | TNF $\alpha$                   | Janssen Biotech                 | Artritis reumatoide / malaltia de Crohn  |
| ipilimumab                       | CTLA-4                         | Bristol-Myers Squibb            | Melanoma, carcinoma renal i carcinoma microcític de pulmó, i altres  |
| ixekizumab                       | IL-17                          | Eli Lilly                       | Psoriasis / artritis psoriàtica  |
| lebrikizumab                     | IL-13                          | Genentech                       | Asma   |
| mepolizumab                      | IL-5                           | GlaxoSmithKline                 | Asma   |
| natalizumab                      | VLA-4 (CD49d)                  | Biogen Idec                     | Esclerosi múltiple   |
| nivolumab                        | PD-1 (CD279)                   | Bristol-Myers Squibb            | Melanoma, carcinoma renal i carcinoma microcític de pulmó.   |
| ocrelizumab                      | CD20                           | Biogen Idec / Roche / Genentech | Esclerosi múltiple   |
| ofatumumab                       | CD20                           | GlaxoSmithKline                 | Síndrome limfoproliferativa B  |
| omalizumab                       | IgE                            | Genentech                       | Asma / urticària crònica idiopàtica  |
| reslizumab                       | IL-5                           | Cephalon                        | Asma / esofagitis eosinofílica.  |
| rituximab                        | CD20                           | Genentech                       | Síndrome limfoproliferativa B i immunomodulació de resposta  |
| sarilumab                        | IL-6R                          | Regeneron Pharm / Sanofi        | Artritis reumatoide  |
| secukinumab                      | IL-17A                         | Novartis                        | Espondilitis anquilosant / uveïtis / artritis reumatoide / artritis psoriàtica / psoriasis / (polimiàlgia reumàtica / esclerosi múltiple, fase II) |
| sirukumab                        | IL-6                           | Janssen Biotech                 | Artritis reumatoide  |
| tabalumab                        | BAFF                           | Eli Lilly                       | Lupus eritematos sistèmic / mieloma múltiple   |
| tildrakizumab                    | IL-23                          | Merck                           | Psoriasis  |
| tocilizumab                      | IL-6R                          | Genentech                       | Artritis reumatoide (esclerosi sistèmica, fase II)   |
| ustekinumab                      | IL-12 / IL-23                  | Janssen Biotech                 | Malaltia de Crohn / artritis psoriàtica  |
| vedolizumab                      | a4/b7 integrina (CD49d+/CD103) | Takeda Pharmaceuticals          | Malaltia de Crohn  |

fet que en els darrers anys s'hagi fet evident que cal monitorar el tractament immunoteràpic, tant pel que fa a la immunogenicitat com a l'element primari de l'efectivitat, els nivells del biològic mateix. Així, la mesura dels nivells sèrics del fàrmac, juntament amb la mesura dels nivells d'anticossos antifàrmac, està portant a la racionalització d'aquestes teràpies a la cerca de nivells d'eficàcia terapèutica suficients que evitin la sobredosificació i es garanteixi un bon tractament al mínim cost. Nivells de fàrmac i nivells d'anticossos en sèrum (un tipus de mostra de fàcil accés) són la base d'aquest monitoratge, que està arribant als laboratoris assistencials, tot i que el coneixement complet dels mecanismes implicats només s'assoleix quan es pot mesurar la diana del biològic (la citocina o la cèl·lula). En alguns casos és perfectament possible (per exemple, nivells de limfòcits B amb biològics anti-CD20), però en molts aquest punt és el més complex, ja que la mesura de la diana només té sentit terapèutic si es fa sobre el lloc d'acció del factor bloquejat, i això en molts casos no és possible i la mesura a escala sèrica no reflecteix la realitat del que passa en el teixit afectat; per exemple, en aquest sentit, els nivells de TNF- $\alpha$  en el sèrum no serveixen per mesurar l'eficàcia dels tractaments amb anti-TNF de malalties com l'artritis reumatoide o la malaltia inflamatòria intestinal.

Així doncs, en parlar de biològics estem davant d'un present immunoteràpic que encara està en plena evolució envers un futur que pot permetre obtenir resultats impensables amb altres eines com els fàrmacs de síntesi química clàssics; l'especificitat i diversitat funcional dels anticossos són la base de l'èxit d'aquest futur; saber gestionar els problemes potencials que hi pot haver és sens dubte la clau d'aquest èxit.

### Avenços en immunoteràpia antitumoral

La capacitat terapèutica de la resposta immunitària antitumoral és coneguda des de fa més d'un segle: des del cirurgià William B. Coley (1862-1936) a Nova York (que va arribar a desenvolupar un producte derivat de bacteris per injectar en els tumors que obtenia uns resultats respectables però que no va tenir l'esperable continuïtat) fins als treballs dirigits del doctor Steven A. Rosenberg (un altre cirurgià cap de departament en el National Cancer Institute a Bethesda; 1940-), que, basats en teràpia cel·lular, han demostrat resultats terapèutics ressenyables, les diferents aproximacions basades a estimular el sistema immunitari han mostrat percentatges de resposta que majoritàriament els oncòlegs consideraven inferiors als que s'assolien amb les teràpies més «convencionals» (cirurgia, quimioteràpia i radioteràpia). Però podem dir que és en els darrers cinc anys quan la immunoteràpia antitumoral ha arribat a destacar com a eina efectiva, fins al punt que el passat desembre del 2013 la prestigiosa revista *Science* va considerar oportú considerar la immunoteràpia l'avenç revelació del 2013 (Couzin-Frankel, 2013), alhora que *Nature* també ho remarcava editant un suplement (*NatureOutlook, Cancer Immunotherapy*, 2013) que a la pàgina web disposa fins i tot d'un atractiu vídeo sobre el tema. Si bé la immunoteràpia antitumoral és un concepte que engloba metodologies molt diverses (vegeu la taula 2), des de les «vacunes» amb extractes de tumors (autòlegs o heteròlegs), fins a mètodes que combinen modificació gènica del sistema immunitari o del tumor, dues són les propostes que més han destacat en el darrer any: el trencament de la inhibició de la tolerància induïda pel tumor mitjançant anticossos monoclonals i la introducció dels CART (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 esmentar com a mínim alguna d'aquestes opcions que fa molt més anys que s'intenten implantar com a immunoteràpies antitumorals:

La vacunació genèrica (injecció en l'individu de cèl·lules tumorals pròpies inactivades o de bateries de línies tumorals inactivades) o peptídica demostren una eficàcia reduïda per si soles, tot i que també són eficaces en de-

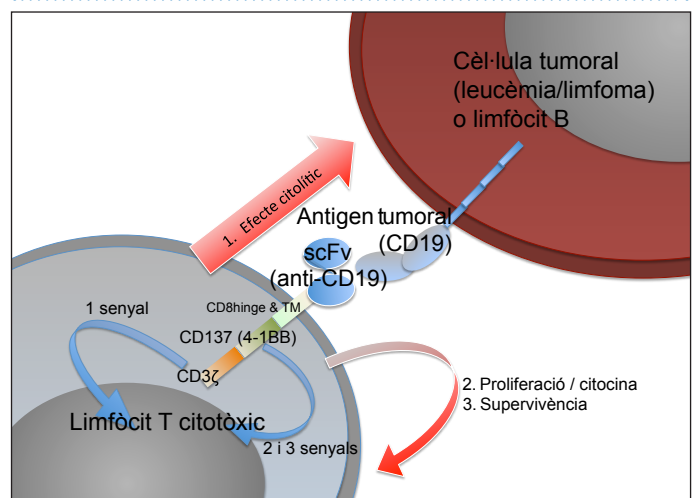
terminats pacients (entre el 5 i el 25 % de respostes segons els treballs i sempre en els tumors més immunogènics, principalment melanoma). Les possibilitats de produir aquests productes per injectar-los està afavorint que moltes empreses estiguin ja oferint aquesta alternativa amb finalitat comercial, tot i que queda per veure'n l'eficàcia amb assajos ben dissenyats.

La vacunació amb cèl·lules dendrítiques polsades amb antigens o pèptids ha estat i continua sent una estratègia força estesa en les aproximacions antitumorals (Vacchelli *et al.*, 2013) de molts centres, en especial als Estats Units, tot i que s'han desenvolupats assajos a l'Hospital Clínic (Barcelona) i al CIMA (Pamplona). De nou, els resultats són modestos i dependents 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 hi ha induir la presentació de cèl·lules dendrítiques amb l'antigen tumoral, i en aquesta via cal destacar Provenge, de Dendreon, que és la primera immunoteràpia cel·lular autòloga a rebre l'aprovació de la FDA i l'EMA (agències del medicament dels Estats Units i Europea, respectivament) per al tractament de càncer metastàtic de pròstata resistent a tractaments hormonals. Provenge (nom comercial del producte sipuleucel-T) és un protocol de tractament en què a partir de cèl·lules autòlogues extretes del pacient enfrontades *in vitro* a una proteïna de fusió que combina el factor estimulant de colònies per a granulòcits i macròfags, o GM-CSF, amb l'antigen tumoral fosfatasa àcida prostàtica o PAP (anomenat en conjunt PAP/GM-CSF), s'indueix una maduració a cèl·lules dendrítiques que, carregant l'antigen tumoral PAP, permet en reinfondre'l induir una resposta T antitumoral *in vivo*. Els resultats, tot i ser força limitats per als pacients, obren la via a un sistema d'immunoteràpia cel·lular acceptat com a medicament de manera oficial (Sheikh *et al.*, 2013).

La infusió de limfòcits T infiltrants de tumor (TIL) amb diferents variants d'estimulació d'aquestes cèl·lules és una opció clàssica que per a alguns grups segueix tenint un potencial antitumoral clar (Jiang *et al.*, 2013), tot i que són pocs els centres que segueixen apostant per aquesta opció, que en general té uns resultats considerats també modestos.

♦ Figura 2. Esquema d'un receptor antigènic quimèric (CAR). S'esquematitza el reconeixement de l'antigen tumoral dels limfòcits T citotòxics transduïts amb un lentivirus portador de la seqüència codificant del CAR que junt a la regió de reconeixement (scFv) combina una regió transmembrana i almenys dues de senyalització, una definida pel domini de senyalització de CD137 (4-1BB) que ajuda que els limfòcits proliferin, segregant citocines, i especialment sobrevisquin, i l'altra per al domini de senyalització de CD3 $\zeta$  que activa el limfòcit T per a la funció citolítica efectora.





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 quals no hi ha més opcions terapèutiques i en què 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 contra, la majoria d'aproximacions d'immunoteràpia antitumoral són 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 treballen en immunoteràpia veuen 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, quimioteràpia o radioteràpia habituals), que en situacions normals tenen també una eficàcia alta i contrastada. Tampoc no ajuden els criteris oncològics de resposta associats a la quimioteràpia, ja que el que també és clar és que la majoria d'immunoteràpies necessiten un procés de desenvolupament *in vivo* que es dona en paral·lel a una relativa progressió del tumor fins que la resposta immunitària fa el seu efecte. Només aquesta convenció per mesurar la resposta en la teràpia oncològica ja ha estat un limitant per avaluar correctament la immunoteràpia; afortunadament en els darrers anys aquests conceptes bàsics de com es desenvolupa la immunoteràpia s'han anat imposant, i ja s'apliquen altres mesures de l'efectivitat del tractament.

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 (Kerdlies *et al.*, 2013), i si cal «escollir» entre la citotoxicitat de les cèl·lules NK i la dels limfòcits T, és la d'aquests darrers la que de moment té més eficàcia en l'eliminació de les cèl·lules tumorals. Si bé d'entrada tothom pensa en limfòcits T CD8+, altres subpoblacions sembla que tenen un paper rellevant.

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 CART, sigles derivades de *limfòcits T amb receptors antigènics quimèrics*, en anglès.

### 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 blocadors de CTLA-4 (CD152) (ipilimumab) (Hodi *et al.*, 2010) va ser la primera aproximació aprovada com a terapèutica efectiva en melanoma metastàtic; com en casos anteriors ja comentats, els resultats poden ser considerats moderats (10 % dels pacients), però mostren que una resposta antitumoral de limfòcits T podia ser eficaç. Més recentment han entrat com a nou arsenal terapèutic biològics contra PD-1 (nivolumab o lambrolizumab) (Topalian *et al.*, 2012) 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, per la qual cosa no apareix en la taula 1) (Brahmer *et al.*, 2012). Amb algunes diferències quant a eficàcia i efectes secundaris, el «bloqueig del bloqueig», tant amb els anti-PD-1 com els anti-PD-L1, apareix com una de les estratègies terapèutiques més prometedores actualment per al tracta-

| Grup   | Exemples d'aplicacions  |
|--|---|
| 1. Immunoteràpia amb biològics («AcMoteràpia» antitumoral)   | Antiantígens tumorals (HERK2, CD30,...)<br>Anti-CD20<br>Anti-CTLA-4<br>Anti-PD1, anti-PD-L1             |
| 2. Ús de citocines i adjuvants   | Infusió <i>in vivo</i> de citocines: IL-2, interferons.<br>BCG carcinoma de bufeta urinària             |
| 3. Infusió de limfòcits citotòxics intratumorals postexpansió.   | Cèl·lules LAK ( <i>lymphokine-activated killer</i> )<br>TIL ( <i>tumor-infiltrating lymphocytes</i> )   |
| 4. Transplantament de progenitors hematopoètics (SCT) a la cerca d'efecte «empelt contra leucèmia» (GVL) | Leucèmia<br>Limfoma<br>(altres proposades en el camp experimental)                                      |
| 5. «Vacunacions» directes amb cèl·lules dendrítiques (DC).   | Opcions maduratives diverses.<br>Antígens diversos combinats amb elements madurats: <i>Sipuleucel-T</i> |
| 6. Teràpia gènica «pura».  | Ús de vectors vírics, oligonucleòtids i fins i tot DNA nu per induir respostes antitumorals.            |
| 7. Adreçament de la resposta de limfòcits T: receptors antigènics quimèrics (CAR).                       | TcR transgènic<br>CART19<br>CARTmeso  |

↑ Taula 2. Grups i exemples d'immunoteràpies antitumorals

ment de diversos tumors en què 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 a PD-1, i fins a gairebé un 70 % en els primers estudis de tumors que són PD-L1+). 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 veure l'eficàcia d'aquests tractaments, suposa poder començar a valorar moltes de les respostes que la immunoteràpia induïx i que sota els criteris clàssics de resposta de la teràpia oncològica (per exemple, reducció de la massa tumoral als 1-3 mesos), deixava com a ineficaç aquestes aproximacions.

### Teràpia cel·lular amb limfòcits T manipulats genèticament amb receptors antigènics quimèrics (CART de limfòcits T amb *chimeric antigen receptors*)

Sorprenentment una de les propostes més complexes metodològicament parlant (ja que combina teràpia cel·lular amb teràpia gènica) ha arribat a ser una de les aproximacions més eficaces de la immunoteràpia antitumoral (Kochenderfer i Rosenberg, 2012): mitjançant la infusió de limfòcits T (immunoteràpia cel·lular) dirigits contra un determinat tumor mercès a presentar un receptor contra un antígen tumoral que s'ha introduït en el genoma limfocitari mitjançant un vector víric (teràpia gènica), s'aconsegueix una resposta antitumoral ràpida i eficaç. El receptor antigènic s'anomena *quimèric* (CAR) perquè és una construcció molecular que combina extracel·lularment els dominis de reconeixement derivats d'un anticòs específic contra un antígen 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 el primer (CD3) i segon senyal (CD28 o CD137/4-1BB) necessaris per induir la funció citotòxica, la proliferació limfocitària acompanyada de síntesi de citocines i la supervivència cel·lular, tres característiques que semblen imprescindibles perquè l'efecte citotòxic antitumoral dels limfòcits T sigui eficient (vegeu la figura 2). El DNA codificant d'aquest CAR s'introdueix gràcies al vector víric (lentivirus o re-

trovirus, 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 (CART) s'expandeixen *in vivo* i s'infonen en el pacient amb càncer tot esperant que *in vivo* produeixin un fenomen de citotoxicitat antitumoral ràpid i eficient, alhora que es mantenen els limfòcits T al llarg del temps (Kalos *et al.*, 2011). Si bé hi ha un ampli grup d'assajos clínics en marxa amb diferents CAR contra diferents antígens tumorals de diferents tumors, de moment el que amb més rotunditat ha demostrat la seva eficàcia és el que es coneix com a CART19, ja que els CART van dirigits contra CD19, una molècula dels limfòcits B que es considera antígen tumoral de diverses malalties limfoproliferatives de l'estrir B. En aquesta aproximació per tractar leucèmies i limfomes B que s'han demostrat quimioresistents i en què no hi ha més opcions terapèutiques, es van afegint amb petites variants cada cop més centres arreu del món: als Estats Units hi ha almenys sis centres amb programes CART19 en desenvolupament; però sens dubte són els resultats del grup dirigit pel doctor Carl H. June, de la Universitat de Pennsilvània a Filadèlfia, els que han situat els CART com a opció antitumoral de primera línia (Kalos *et al.*, 2011): al voltant del 50 % de respostes (la meitat respostes completes, és a dir, que els pacients no tenen «tumor detectable») en leucèmia limfàtica crònica (Porter *et al.*, 2011), en què ja s'han tractat més de cinquanta pacients, i un 90 % de respostes completes en leucèmia limfoblàstica aguda en adults i nens (Grupp *et al.*, 2013) (tot i que el volum de pacients tractats en aquests grups és clarament menor) (comunicació personal). Aquest tipus de teràpia presenta alguns efectes no desitjables, i els més rellevants són un quadre agut i greu d'alliberament de citocines que cal tractar amb anti-IL6R, i el fenomen de desaparició a llarg termini dels limfòcits B normals i la generació d'un dèficit immunitari que es controla amb immunoglobulines substitutives. Malgrat això la teràpia amb CART19

ha 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 CART és estendre aquesta proposta a altres càncers, especialment tumors sòlids, en els quals, si bé hi ha condicionants clarament diferenciadors que fan més complexes les opcions d'èxit, cada cop s'acumulen més dades experimentals que fan que estigui més a prop com a via de tractament específic i eficaç.

Els límits d'aquesta revisió fan que s'hagin deixat de costat un gran ventall d'immunoteràpies que són aplicades amb èxit, des del tractament d'infeccions persistents o en pacients amb immunodeficiències, a les regulacions de les respostes autoimmunitàries, passant per tractaments en les al·lèrgies o fins i tot en desequilibris metabòlics. Així, les diferents aproximacions immunoterapèutiques es posen en el centre de les opcions de tractament de moltes malalties mitjançades pel sistema immunitari. En tot cas, si bé moltes d'aquestes opcions són ja un present molt rellevant, les opcions de futur semblen més que engrescadores, i els seus límits només depenen del nostre coneixement i capacitat per modular i utilitzar un sistema de reconeixement i acció tan complex i eficient com és el sistema immunitari.

## Agraïments

A tot el Servei d'Immunologia i el Centre de Diagnòstic Biomèdic de l'Hospital Clínic, que en darrer terme permet l'activitat que al voltant de la immunoteràpia desenvolupem amb un únic objectiu: els pacients. Aquesta activitat es basa en gran part en activitat de recerca que està suportada per l'Institut de Salut Carles III amb la col·laboració dels fons FEDER a través de les beques PI10/01404, PI13/00676 i PIE13/00033.

## Bibliografia

- BRAHMER, J. R. [et al.] (2012). «Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer». *N. Engl. J. Med.*, 366 (26): 2455-2465.
- CHAMBERLAIN, P. (2013). «Assessing immunogenicity of biosimilar therapeutic monoclonal antibodies: regulatory and bioanalytical considerations». *Bioanalysis*, 5 (5): 561-574.
- COUZIN-FRANKEL, J. (2013). «Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy». *Science*, 342 (6165): 1432-1433.
- GRABENSTEIN, J. D. (2012). *ImmunoFacts 2013: Vaccines and Immunologic Drugs*. St. Louis: Wolters Kluwer Health.
- GRAVITZ, L. (2013). «Cancer Immunotherapy». *Nature Outlook*, 504 (7480, supl.): S1-S. <<http://www.nature.com/nature/outlook/cancer-immunotherapy>>.
- GREENBERG, S. (2013). «History of Immunology». A: Paul, W. E. (ed.). *Fundamental Immunology*. 7th edition. Filadèlfia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 22-45.
- GRUPP, S. A. [et al.] (2013). «Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia». *N. Engl. J. Med.*, 368 (16): 1509-1518.
- HODI, F. S. [et al.] (2010). «Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma». *N. Engl. J. Med.*, 363 (8): 711-723.
- JIANG, J. [et al.] (2013). «Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity». *J. Transl. Med.*, 11: 83.
- JUAN I OTERO, M. (2012). «Dendritic cells (DC) and their Toll-like receptors (TLR): Vital elements at the core of all individual immune responses. On the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2011 awarded to Bruce A. Beutler, Jules A. Hoffmann, and Ralph M. Steinman». *Contributions to Science*, 8 (1): 61-68.
- KALOS, M. [et al.] (2011). «T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia». *Sci. Transl. Med.*, 3 (95): 95ra73.
- KERDILES, Y. [et al.] (2013). «T cell regulation of natural killer cells». *J. Exp. Med.*, 210 (6): 1065-1068.
- KOCHENDERFER, J. N.; ROSENBERG, S. A. (2013). «Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors». *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 10 (5): 267-276.
- MARODI, L.; CASANOVA, J. L. (2011). «Primary immunodeficiencies may reveal potential infectious diseases associated with immune-targeting mAb treatments». *J. Allergy Clin. Immunol.*, 126: 910-917.
- PORTER, D. L. [et al.] (2011). «Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia». *N. Engl. J. Med.*, 365(8): 725-733.
- PUJOL-BORRELL, R. (2012). «Tolerancia inmunológica y sus mecanismos». A: Rozman, C.; Cardellach, F. (ed.). *Farreras-Rozman. Medicina Interna. XVII edició*n. Barcelona: Elsevier.
- SAADOUN, D. [et al.] (2011). «Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis». *N. Engl. J. Med.*, 365 (22): 2067-2077.
- SHEIKH, N. A. [et al.] (2013). «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.*, 62(1): 137-144.
- SMAAR, C. B. [et al.] (2013). «Antigen-specific tolerance in immunotherapy of Th2-associated allergic diseases». *Crit. Rev. Immunol.*, 33 (5): 389-414.
- TANG, Q.; BLUESTONE, J. A. (2013). «Regulatory T-cell therapy in transplantation: moving to the clinic». *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 3 (11): 1-15.
- TOPALIAN, S. L. [et al.] (2012). «Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer». *N. Engl. J. Med.*, 366 (26): 2443-2454.
- VACCHELLI, E. [et al.] (2013). «Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy». *Oncoimmunology*, 2 (10): e25771.
- VINCENT, F. B. [et al.] (2013). «Antidrug antibodies (ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory diseases: a real issue, a clinical perspective». *Ann. Rheum. Dis.*, 72 (2): 165-178.
- WERRY, E. J. (2011). «T-cell exhaustion». *Nature Immunol.*, 12 (6): 492-499.
- WOLCHOK, J. D. [et al.] (2013). «Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma». *N. Engl. J. Med.*, 369 (2): 122-133.