



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Immunoedición tumoral y sus aplicaciones
terapéuticas

Tumor immunoediting and its therapeutic
applications

Autor

Armando Urgel Ayuso

Director

Luis Martínez Lostao

Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública
Área de Inmunología
2018

*A mi abuela Carmen
y mi tío Pepe.*

Resumen

La idea de que el sistema inmune puede ejercer control sobre los procesos oncológicos ha sido objeto de debate durante casi un siglo. Data de principios del siglo XX la primera tesis que defendía el rol del sistema inmune en la supresión de tumores. Debió pasar medio siglo para cuando surgiesen líneas de investigación comprometidas con la cuestión que, con altibajos, consolidarían su posición en la comunidad científica con el actual campo de especialización de la Inmuno-Oncología.

A día de hoy, reconocemos que el sistema inmunitario juega un importante rol en la prevención del cáncer. Tiene la capacidad de eliminar células neoplásicas, debido a que las células en proceso de degeneración maligna habitualmente expresan conjuntamente ligandos para receptores de células de la inmunidad innata, y antígenos tumorales, que son reconocidos por los linfocitos en la respuesta adaptativa. Esto constituye la *hipótesis de la inmunovigilancia*. Sin embargo, una de las consignas más desconcertantes, a la par que potentes, del nuevo paradigma de la Inmunología es la dualidad de los resultados derivados de la supervisión inmunológica de los procesos cancerosos. De hecho, el sistema inmune puede facilitar la degeneración neoplásica o modificar la inmunogenicidad de los tumores, como contrapartida a su función preventiva y contenedora sobre el crecimiento tumoral.

El descubrimiento de que la inmunidad juega un papel central en la regulación de los eventos neoplásicos ha constituido un hito en la Inmunología. La estrecha relación entre los elementos inmunológicos con las células tumorales y su estroma configura un microambiente tumoral esencial, que en virtud de las cualidades de cada uno de los agentes participantes, determinará la supervivencia o la desaparición de la neoformación. El estudio de estos circuitos de relación ha propiciado un interés desmesurado, y enormemente prolífico en materia de investigación, en capitalizar el modelo de la *inmunoedición tumoral* en nuevos recursos terapéuticos contra el cáncer.

La inmunoterapia engloba estrategias pasivas: como la infusión de anticuerpos monoclonales contra dianas específicas (CD20, Her-1, VEGF...), o terapia de linfocitos T adoptivos; estrategias activas: como la vacunación con antígenos asociados a tumores; y la inmunomodulación, que incluye la manipulación de las vías de inhibición de la respuesta inmune donde destacan CTLA-4 y PD-1. Esta última categoría suscita un interés mayor a medida que se describen los mecanismos de evasión tumoral.

Abstract

The idea immune system can take control upon oncologic process has been topic of discuss for almost a century. The first proposition dates back to early twentieth century which stands on immune system's defending role in tumour suppression. It must have passed half of a century to witness lines of research committed to the prior concern that would achieve a position inside scientific community as the establishment of Immune-Oncology field of specialisation recently shows.

Nowadays, we notice immune system plays an important part on cancer prevention. It has the ability to delete neoplastic cells due to the fact that cells that undergo malign degeneration process usually express ligands to innate immunity cell receptors and tumour antigens detected by lymphocytes in adaptive response. This conforms the *immune surveillance hypothesis*. Nonetheless, one of the most stunning and powerful basis of the new Immunology paradigm is the duality of results which lies upon processes of immune surveillance of cancer. Indeed, immune system is able to either promote neoplastic changes or edit tumours immunogenicity as in return to its preventing and controlling functions on tumour development.

The discovery that immunity performs a decisive purpose on regulating neoplastic events has established a breakthrough in Immunology. The close relationship between immunologic components with tumour cells and its stroma sets up a crucial tumour microenvironment, in which according to it tumour will survive or not. The study of these interaction circuits has fostered an extreme and productive interest in subjects of research, and in capitalisation of the *cancer immunoediting* on new therapeutical approaches against cancer.

Immunotherapy is the home to passive strategies like: monoclonal antibodies against specific targets (CD20, Her-1, VEGF...), or adoptive T-cell therapy; active strategies like: tumour associated antigens vaccines; and immunomodulation which includes co-signalling pathways manipulation where CTLA-4 and PD-1 are highlighted. The latter option is bringing out a major attention as tumour evasion mechanisms become well-understood.

Keywords: *immune surveillance, immunoediting, T lymphocytes, immune checkpoints, immunotherapy, CTLA-4, PD-1.*

Índice

1. Objetivos.....	1
2. Introducción.....	1
3. Evolución de la teoría de la inmunoedición tumoral.....	2
3.1. Desafío del nuevo paradigma.....	2
3.2. Nueva evidencia y consolidación.....	4
3.2.1. Inmunodeficiencia combinada grave.....	4
3.2.2. Interferón- γ	5
3.2.3. Perforina.....	5
3.2.4. RAG.....	6
3.3. Inmunovigilancia en humanos.....	7
4. Inmunoeedición tumoral.....	9
4.1. Fase de eliminación.....	12
4.1.1. Respuesta inmune innata inicial. Reconocimiento de señales de peligro (DAMP) y liberación de los antígenos asociados al tumor.....	13
4.1.2. La presentación de los antígenos tumorales a linfocitos T por medio de células presentadoras de antígenos (APC). Preparación y activación de los linfocitos T en los órganos linfoides.....	16
4.1.3. Circulación e infiltración de los linfocitos T activados en el tumor. Reconocimiento específico e inducción de muerte sobre las células cancerosas.....	17
4.1.4. Respuesta humoral.....	18
4.2. Fase de equilibrio.....	18
4.3. Fase de escape.....	21
4.3.1. Reducción de la inmunogenicidad.....	22
4.3.2. Resistencia a la eliminación inmunológica.....	23
4.3.3. Subversión de la respuesta inmunológica.....	24
5. Inmunoterapia.....	30
5.1. Inmunoterapia pasiva.....	31
5.1.1. Anticuerpos monoclonales.....	31
5.1.2. Transferencia de linfocitos T adoptivos.....	32
5.2. Inmunoterapia activa.....	34
5.3. Inmunomodulación.....	35
5.3.1. Antagonismo de immune checkpoints.	36

6. Conclusiones.....	40
7. Bibliografía.....	40
8. Lista de abreviaturas.....	44
9. Anexos.....	47

1. Objetivos

El presente trabajo tiene la ambición de explorar el papel que juega el sistema inmune en la biología tumoral, en general, y exponer el estado de la terapéutica sobre este marco de investigación, en particular. Adicionalmente y de modo secundario, se pretende ejemplificar con la Inmunología el proceso de evolución y migración hacia un paradigma nuevo en ciencia: de la defensa contra lo extraño, frente a la defensa de lo dañino.

2. Introducción

El reconocimiento de antígenos extraños y la puesta en marcha de mecanismos de destrucción por parte del sistema inmune, en su conjunto, son tareas totalmente asentadas en la comunidad científica. Es de esperar entonces que las células del huésped en cuanto inician su camino hacia la oncogénesis exhiban en el transcurso modificaciones de su fenotipo que debieran ser susceptibles de una respuesta inmune que suprimiese la neoformación^{1,2}. En efecto, esta hipótesis marca el punto de partida a la línea de investigación que se desarrollaría a partir de 1957 y que culminaría con la teoría que expongo aquí.

Paul Erlich concibió la idea de que el sistema inmune pudiese tener un importante rol en la detención de procesos cancerosos, pero no sería hasta la década de 1950 cuando, aprovechando la expansión acelerada del campo de la Inmunología, se pondría a debate esta idea central. Por aquel entonces, *Peter Madawar* había esclarecido los mecanismos que median el rechazo alógeno y el papel predominante que juegan los componentes celulares en él. Hasta entonces los experimentos se realizaban con poblaciones de ratones genéticamente heterogéneos, que no permitían comprobar que se produjese una respuesta frente a antígenos intrínsecos de la masa tumoral; de modo que bajo esas condiciones experimentales el rechazo del tumor generado en los animales era de naturaleza alógena¹. La disponibilidad de cepas de ratones endogámicas permitió salvar las dificultades previas; y en efecto, se constató la eficacia de la inmunización profiláctica de ratones frente a trasplantes isogénicos de tumores inducidos por virus y compuestos químicos¹. Estos resultados condujeron a la aceptación de que los tumores eran antigénicos, pero de un modo individual a pesar de mantener constantes los

parámetros del modelo experimental (cepa de ratones, edad, carcinógeno, histología tumoral) como demostraron *Basombrio y Prehn*³. Este hito permitió formalizar la corriente que se había estado gestando bajo la teoría emitida por *Macfarlane Burnet* y *Lewis Thomas* en 1957 denominada *inmunovigilancia tumoral*^{1,3,4}.

El nuevo paradigma establecía que la finalidad primordial de la vertiente celular de la inmunidad no sólo era, como se creía en un principio, defendernos ante componentes externos; sino también ante los internos, esto es, de la enfermedad neoplásica¹:

[...] los cambios genéticos heredables deben ser comunes en células somáticas y una proporción de estos cambios representará un paso más hacia la malignidad. Es una necesidad evolutiva que haya algún mecanismo para eliminar o inactivar tales células mutadas potencialmente peligrosas y está postulado que ese mecanismo ha de ser de carácter inmunológico.

Además, fueron señalados los linfocitos como los agentes encargados de reconocer y eliminar constantemente aquellas células transformadas primitivamente en el seno de los tejidos del organismo; manteniendo así una situación de homeostasis.

3. Evolución de la teoría de la inmunoducción tumoral

La irrupción de la *hipótesis de la inmunovigilancia tumoral* fue acompañada de numerosos experimentos que intentaron poner a prueba sus postulados. En primer lugar, se trató de verificar que los ratones con un sistema inmune incapaz de ejercer sus funciones debieran presentar una incidencia de tumores espontáneos o inducidos mayor que sus homólogos, con la inmunidad intacta^{1,3,5}.

3.1 Desafío del nuevo paradigma

Las primeras aproximaciones hacia esta novedosa teoría vinieron de la mano de experimentos que hicieron uso de técnicas de inmunosupresión artificial, tales como la timectomía; inyección de suero heterólogo anti-linfocitos o inmunosupresión mediante quimioterapia^{1,3,5,6}. Los resultados de todos ellos, a pesar de ser discordantes y de no generar consenso, intuyeron la noción de que los ratones inmunodeficientes presentaban una susceptibilidad mayor a exhibir tumores de etiología viral y linfomas en comparación con los ratones inmunocompetentes¹. La *hipótesis de la inmunovigilancia*

requería de aportes adicionales que arrojasen resultados inequívocos. Los resultados iniciales analizados bajo otra perspectiva podrían indicar también que eran fruto de una respuesta inefectiva frente a agentes infecciosos, y en el caso concreto de la aparición de linfomas, a la estimulación crónica de la proliferación y diferenciación linfoide propiciada por esos mismos antígenos que permanecen ante una respuesta inmune incompleta¹.

Ostias Stutman aprovechó la generación de los ratones *nude* (atímicos) para diseñar un nuevo conjunto de experimentos con este tipo de ratones. Sin embargo, su trabajo supuso un duro golpe en contra ya que después de 120 días de seguimiento, no hubo diferencias significativas en las neoplasias inducidas con la instilación MCA, un carcinógeno químico, entre la línea CBA/H y los ratones de fenotipo salvaje (a partir de ahora, *wild-type*); así como tampoco un período de latencia más breve^{1,3,6}. *Rygaard* y *Povlsen* contribuyeron a esta misma línea de investigación ampliando tanto la población como la ventana temporal de estudio con mismos resultados¹. De modo que los experimentos con ratones *nude* habían llegado donde experimentos anteriores no pudieron, pero con dramáticas consecuencias para la *hipótesis de la inmunovigilancia* contradiciéndola en sus principales consignas y relegándola al ostracismo.

Considerado en retrospectiva, la limitada comprensión de las deficiencias inmunológicas del ratón *nude* condujo al abandono prematuro de esta tendencia. El conocimiento de que estos ratones CBA/H sí disponen de una población, aunque menor, de linfocitos T $\alpha\beta$ así como de otras poblaciones celulares todavía no descritas entonces, como los linfocitos NK o los linfocitos T $\gamma\delta$ cuyos desarrollos son independientes del timo hubiesen invalidado la premisa inicial de que son ratones totalmente inmunodeprimidos. Además, atendiendo a la farmacodinamia del MCA cabe decir que los ratones empleados por *Stutman* representaban una población con una isoforma de la enzima arilo hidrocarburo hidroxilasa (CYP1A1), responsable de la metabolización hacia su forma activa, con una actividad específica muy elevada. Esto pudo propiciar que los ratones CBA/H fueron expuestos a una dosis de MCA que probablemente excedía cualquier mecanismo inmunológico de defensa. En último lugar, respecto a los trabajos de *Rygaard* y *Povlsen* es posible que sus períodos de estudio (3 a 7 meses) fueron insuficientes para demostrar las diferencias de tumores espontáneos a la vista de la funcionalidad en ambas poblaciones de ratones (CBA/H y *wild-type*) de los sistemas supresores de oncogenes como el gen de supresión tumoral p53¹.

Sea como fuere, los postulados originales de la inmunovigilancia fueron desechados en virtud de otras teorías especulativas que colocaban al sistema inmune como un agente estimulador de neoplasias de modo que los antígenos de rechazo tumoral detectados ocasionaban una señal de estimulación para el crecimiento del cáncer. De este modo, a finales de los 70, la *teoría de la inmunovigilancia* estaba totalmente abandonada, y no sería hasta el año 2000 cuando fuese reconsiderada^{1,3}.

3.2. Nueva evidencia y consolidación

La sofisticación de los medios de experimentación permitieron repetir los experimentos de Stutman. Esta vez se disponía de distintos linajes de ratones con genotipos perfectamente definidos que, en su conjunto, presentaban un amplio abanico de deleciones concretas en determinadas moléculas clave del sistema inmune; y por tanto, permitían estudiar las influencias de éstas en la respuesta inmunológica frente a tumores (ver Tabla 1)^{1,3}.

3.2.1. Inmunodeficiencia combinada severa

Aunque los experimentos con MCA en ratones *nude* BALB/c sugerían que éstos presentaban una mayor susceptibilidad a la generación de tumores que los ratones *wild-type*, no terminaban de ser concluyentes en términos estadísticos. El mismo experimento, comparando ratones BALB/c *wild-type* frente a otra línea de ratones CB-17 con inmunodeficiencia combinada severa (SCID), no pudo demostrar unívocamente una mayor incidencia de sarcoma en éstos últimos. La SCID se caracteriza por un defecto en la DNA proteína quinasa (DNA-PK) que es responsable de los reordenamientos de los receptores antigénicos de los linfocitos; pero como se trata de una enzima ubicua, que en el resto de células repara rupturas de la doble cadena de DNA, los experimentos realizados no permitieron adjudicar los resultados de manera inequívoca a un defecto en los sistemas de supresión tumoral o al papel de un sistema inmune comprometido^{1,3}.

3.2.2. Interferón γ

Entre 1994 y 1998 se abre un período de grandes logros que gira entorno a la observación del papel que desempeñaban el interferón γ (IFN- γ) y la perforina en la respuesta inmune.

El IFN- γ había demostrado conferir resistencia a la oncogénesis inducida químicamente y tener capacidad para detener el crecimiento de tumores trasplantados¹. La neutralización con suero anti-IFN- γ anulaba esta resistencia y se constató una tasa mayor de crecimiento de fibrosarcomas. Los mismos resultados se obtuvieron en el caso de la sobreexpresión por parte del tumor de una subunidad α mutante del receptor de IFN- γ (IFNGR1). Este fenotipo hacía al tumor completamente resistente a los efectos del IFN- γ . Cuando se trasplantaron estos tumores en ratones *wild-type* se constató que progresaban más rápidamente siendo más resistentes a la acción del sistema inmune^{1,7}. Experimentos posteriores, basados en la inducción con MCA, realizados sobre ratones 129/SvEv demostraron una susceptibilidad 10 a 20 veces superior a desarrollar tumores en aquellos animales que carecían del receptor de IFN- γ , o del factor de transcripción STAT1 implicado en la transducción de señales de IFN- γ ¹. Además, estos ratones desarrollaban más tumores simultáneamente y con un periodo de latencia más reducido. Por último, se observó que IFN- γ , y por ende el sistema inmune, jugaba un papel en la supresión de la transformación neoplásica, independientemente de otros sistemas oncosupresores de naturaleza no inmunológica. Los ratones con pérdida de función de p53 y del receptor de IFN- γ mostraban un espectro de tumores más amplio en comparación con aquéllos que solo carecían de p53. En particular, se halló en ratones C57BL/6 un incremento en la incidencia de linfomas a pesar de poseer p53, y un incremento de adenocarcinoma pulmonar en ratones BALB/c^{1,3,5}.

3.2.3. Perforina

La perforina es un componente de los gránulos citolíticos de los linfocitos T CD8+ y células NK que desempeña un papel central en la citotoxicidad mediada por linfocitos. La perforina se inserta en la membrana de las células diana generando poros a través de los cuales la granzima B (otro componente de los gránulos citolíticos de los linfocitos citotóxicos) penetra en la célula desencadenando la muerte de la célula diana por

apoptosis. En ratones C57BL/6, la administración de MCA desveló mayor susceptibilidad a desarrollar tumores en la población con fenotipo negativo para perforina. Asimismo, esta misma población de ratones exhibía un incremento de linfomas espontáneos así como de adenocarcinoma de pulmón, mayor aun cuando los ratones presentaban la supresión heterocigótica de p53¹.

3.2.4. RAG

Todos los resultados anteriores evidenciaban cada vez más la implicación del sistema inmune en los procesos de control no sólo frente a los agresores externos, sino a también frente a los tumores. Sin embargo, todavía no había quedado demostrado que los defectos inmunológicos manipulados en los modelos animales experimentales fuesen responsables inequívocamente de los efectos observados. No se resolvería esta controversia hasta dar con la manipulación de los genes activadores de la recombinación 1 y 2 (RAG). Estos dos genes codifican dos enzimas implicadas en la recombinación de los receptores antigénicos de las células linfoides. Estas enzimas son análogas a la DNA-PK, pero a diferencia de ésta sólo se expresan en la estirpe linfoide; y por tanto, permiten evaluar el papel de los linfocitos en la carcinogénesis. La ausencia de alguno de estos dos genes ocasiona indefectiblemente una desaparición de las poblaciones de linfocitos T, B y células NKT^{1,7}. La inyección de MCA en ratones 129/SvEv con y sin RAG2 funcional demostró en los últimos una mayor frecuencia de sarcomas, así como una mayor velocidad en su progresión y un periodo de latencia 3 veces menor tras 160 días de seguimiento¹. Los experimentos adicionales en un ambiente estéril fueron coherentes en sus resultados y señalaron un aumento en la incidencia de tumores con la delección de RAG2, con predominio de tumores malignos, en particular intestinales, frente a los tumores benignos; mientras que cuando este gen era funcional la incidencia fue mucho inferior y de características benignas. A la vista de estos datos, los linfocitos en el ratón no sólo protegen frente a sarcomas químicamente inducidos sino frente al desarrollo espontáneo de tumores epiteliales^{1,3,7}.

Posteriormente, se realizaron estudios comparativos que pretendieron establecer diferencias en la implicación de los tres mecanismos de supresión tumoral descritos previamente. Así, se encontró un fuerte solapamiento entre todos ellos a pesar de no ser

completo; los fenotipos doble negativo tanto para IFNGR1 e IFN- γ como para IFN- γ y perforina exhibieron un ligero aumento de tumores inducidos¹.

En esta misma línea, comenzó una búsqueda adicional de elementos del sistema inmune que participasen en la vigilancia tumoral mediante el uso de cepas de ratones con ausencias en genes críticos en el funcionamiento del sistema inmune (ver Tabla 1). La incapacitación, empleando distintas estrategias, de las linfocitos T $\alpha\beta$ y T $\gamma\delta$, células NKT, células NK o de moléculas como el IFN- γ o la interleucina 12 (IL-12) incrementan la susceptibilidad a desarrollar tumores. Si nos centramos en el papel que ejercen las subpoblaciones de linfocitos T $\alpha\beta$ y T $\gamma\delta$, nos encontramos con que su relevancia varía en función del tipo de desarrollo tumoral. La ausencia de las cadenas β y δ produjo un incremento en la tasa de tumores sin diferencias entre ambos ante la exposición a MCA, pero no así en la exposición a 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) que desveló una mayor incidencia y progresión tumoral en el grupo con linfocitos T $\gamma\delta$ no funcionales¹. Estos datos evidenciaban que la inmunovigilancia tumoral comprende la colaboración de ambas respuestas inmunes: innata y adaptativa. Siendo en definitiva un proceso complicado que implica distintos tipos de respuesta en función de circunstancias como el origen de la célula tumoral precursora, su proceso de malignización, la localización anatómica y el mecanismo de reconocimiento inmunológico.

3.3. Inmunovigilancia en humanos

La demostración de la *hipótesis de la inmunovigilancia tumoral* en ratones parece validar esta hipótesis en humanos. Es evidente, por razones éticas, la imposibilidad de comprobar experimentalmente esta hipótesis en seres humanos. Sin embargo, son numerosas las evidencias que apoyan indirectamente esta teoría en el ser humano.

Los estudios iniciales que evaluaron el riesgo relativo de desarrollar cáncer en seres humanos se vieron salpicados por cierta confusión en sus resultados. En este sentido, se constató mayor aparición de neoplasias en aquellos individuos con inmunodeficiencias primarias, fundamentalmente de tumores de origen viral. En pacientes trasplantados se halló tasas especialmente altas de linfoma no Hodgkin (positivos para virus de Epstein Barr), sarcoma de Kaposi (positivos para herpes virus humano 8) así como varios

carcinomas genitourinarios (positivos para el virus del papiloma)¹⁻³. Los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) presentan actualmente una tendencia mayor a sufrir estos mismos procesos^{1,3}. Estos datos enlazan con el desafío teórico al que se había enfrentado *Stutman*. Dilucidar la existencia de mecanismos inmunológicos de control tumoral, propiamente dicho, resulta complejo cuando los pacientes inmunodeprimidos son tan susceptibles a infecciones de origen viral, con cualidades oncogénicas y presentan una menor esperanza de vida debido a la mayor frecuencia de problemas intercurrentes. Por un lado, la capacidad del sistema inmune de eliminar agentes infecciosos, en concreto virus, representa una función que no es necesariamente excluyente con la vigilancia tumoral. Y, por otro, la esperanza de vida reducida sesga la probabilidad de observar tumores espontáneos en estos pacientes que se podrían desarrollar a más largo plazo.

A pesar de esto, se fueron acumulando cada vez más evidencias a favor de la existencia de la *inmunovigilancia tumoral*. La incidencia de melanoma maligno tras trasplante se eleva entre 2 y 4 veces más que en la población control^{1,3}. En la población pediátrica trasplantada se ha descrito una tasa de sarcoma de Kaposi entre 3 y 10 veces superior¹. Respecto a los trasplantes cardíacos, la prevalencia de carcinomas pulmonares fue 25 veces superior¹. Asimismo, se constató un aumento significativo, de la tasa de incidencia de neoplasias pulmonares, colorrectales, vesiculares, hepáticas, ureterales, endocrinas y melanocíticas en una cohorte de 5.692 pacientes sometidos a trasplante renal¹. En definitiva, se constata que los individuos con déficits inmunológicos exhiben una mayor probabilidad de desarrollar una amplia variedad de cánceres que no implican la participación de agentes virales.

Otro gran avance proviene de la demostración de que los pacientes con cáncer pueden desarrollar altos títulos de anticuerpos y respuestas de linfocitos T contra los antígenos expresados en sus tumores³. Estas respuestas inmunes son generalmente observadas en pacientes con tumores en crecimiento, lo que indica que el reconocimiento inmunológico del cáncer no siempre confiere protección. Por desgracia, no hay modo de concretar si las respuestas del sistema inmune tienen alguna clase de influencia sobre la tasa o el patrón de crecimiento del cáncer sobre estos pacientes, o si representan la evidencia de una eliminación incompleta o un estado de equilibrio inmunológico.

Un abordaje anatómico-patológico arrojó también evidencias cuando se hubo descrito una correlación positiva entre la infiltración linfocitaria en el tumor y la supervivencia del paciente. El estudio sobre muestras de melanoma, en primer lugar, demostró que los casos con mayor grado de infiltración linfocítica, durante la fase de crecimiento vertical del melanoma, presentaban tasas de supervivencia hasta 3 veces superior que aquéllos que carecían de linfocitos infiltrantes en el tejido tumoral (TIL)¹. Esta misma correlación se comprobó en melanoma en estadios avanzados con diseminación ganglionar, así como en otros cánceres, como el de mama, de vejiga, colorrectal, ovárico, prostático o neuroblastoma^{3,8}.

4. Inmunoedición tumoral

A la vista de la consolidación de la *hipótesis de la inmunovigilancia tumoral*, es inevitable plantear por qué sigue apareciendo cáncer a pesar de la existencia de mecanismos de control y eliminación de los tumores. La respuesta a esta aparente contradicción surge de la noción de que la relación del sistema inmune y el tumor es más complicada que el mero hecho de que el sistema inmune detecta las células que se transforman en tumorales y las destruye. Si bien es cierta esta premisa, durante la respuesta inmune frente al tumor, el sistema inmune pone en marcha una serie de procesos que "moldean" el desarrollo tumoral, resultando en la selección de las variantes celulares tumorales con un fenotipo inmunológicamente menos activo, y por ende más apto para sobrevivir bajo la presión del sistema inmune.

Numerosos estudios han coincidido en constatar la generación de variantes tumorales con inmunogenicidad reducida tras el trasplante de tumores entre individuos con la inmunidad intacta. Sin embargo, hubo dificultades en encontrar diferencias, en cuanto a la inmunogenicidad de tumores, en modelos experimentales con un sistema inmune normal o defectuoso^{1,3,6,7}. Fue el uso de ratones isogénicos lo que permitió abordar el problema.

Un estudio comparativo demostró que la incidencia de sarcomas, tras inoculación sobre ratones 129/SvEv inmunocompetentes, dependía de la ausencia o presencia de RAG2 en el genoma de los ratones en los que se había originado el tumor. Los tumores originados en ratones *wild-type* y ratones deficientes de RAG2 fueron trasplantados sobre ratones 129/SvEv deficientes de RAG2 sin evidenciar diferencias en la cinética de

crecimiento tumoral en sus nuevos recipientes. Al contrario, cuando los tumores eran transferidos a ratones inmunocompetentes se observó discrepancia en los resultados. Los tumores generados en ratones con el sistema inmune comprometido (ratones deficientes en RAG2) desencadenaban una respuesta inmune más potente y eran rechazados en mayor número que los que crecen en cuando el sistema inmune permanece activo (ratones con RAG2 funcional)^{1,3,7}. Experimentos de similar diseño con ratones atímicos o SCID así como ratones deficientes en perforina obtuvieron resultados semejantes¹. Adicionalmente, los tumores procedentes de ratones a los que les faltaba el segmento J281 de la subunidad α del receptor de linfocitos T (TCR $J\alpha 281$), y que por tanto carecían de una gran parte de la población de células NKT, exhibieron un crecimiento más lento, cuando fueron inoculados en ratones inmunocompetentes, que aquéllos que no presentaban el defecto; pero esta discrepancia se canceló cuando los receptores del trasplante eran los ratones inmunocomprometidos para la citada deficiencia¹.

En definitiva, estos resultados indican que los tumores reciben una impronta sobre su fenotipo en función de las características del entorno inmunológico en el que tiene lugar su generación, esto es, los tumores son en cierto modo “moldeados” por el sistema inmune. Efectivamente, el sistema inmune del huésped moldea las características de la población celular tumoral, de modo que elimina las subpoblaciones que superan un umbral de inmunogenicidad, y permanecen los tipos celulares más tolerados porque intrínsecamente evaden el control inmune o han adquirido mecanismos para suprimirlo y tener más probabilidades de perpetuarse. La distribución y la heterogeneidad de los fenotipos de las células en un tumor, en este contexto, están probablemente relacionadas también con la inestabilidad genética propia de cada tumor que facilita la acción de la respuesta inmune^{1,3,6,9}. Algunas de los objetivos de los mecanismos supresores de tumores que moldean el tumor son: i) los genes codificantes de antígenos tumorales, ii) los componentes de la vía del complejo de histocompatibilidad principal (MHC) responsables del procesamiento y presentación de antígenos y, iii) los componentes de la transducción de señales de la vía del IFN- γ ³. En este sentido, es muy común encontrar tumores que carecen de algunos de estos elementos, lo cual significa que ven disminuida su capacidad de generar una respuesta inmune frente a ellos. Es posible que este perfilamiento de las cualidades que exhibe el tumor suceda continuamente, pero los

efectos más relevantes tienen lugar precozmente, cuando el tumor todavía no es clínicamente perceptible^{1,3}.

Paralelamente a este modelado del fenotipo tumoral como causa de evasión inmunológica, hay otro fenómeno que explica el fracaso de la respuesta inmune. *Paul Ehrlich* hizo una curiosa observación ya a principios del siglo XX. Observó que los ratones con tumores en crecimiento eran muy resistentes a una segunda exposición tumoral, incluso aunque el primer tumor siguiera creciendo. Este fenómeno, que se conoce como *inmunidad concomitante*, muestra dos aspectos de la inmunidad tumoral: i) un tumor en crecimiento provoca en el anfitrión primario una respuesta inmunitaria protectora frente al tumor; ii) la respuesta es suficiente para eliminar el tumor naciente, pero no el tumor que ha provocado la respuesta³.

Se demostró que la *inmunidad concomitante* era específica del tumor y operativa solo dentro de una ventana estrecha de 7 a 10 días después de implantarse el tumor; si el segundo tumor se implantaba después de este período, no se rechazaba. La falta de inmunidad más allá de esta ventana estrecha puede atribuirse a que en ese momento se incrementa la infiltración de linfocitos, pero a expensas de una nueva población de linfocitos T CD4⁺ sobre los T CD8⁺: los linfocitos Treg^{2,3,6}. El papel de estos linfocitos T supresores se confirmó mediante su infusión dentro de la ventana temporal en ratones con fibrosarcomas inducidos por MCA que no lograron eliminar el segundo tumor naciente. Estos hallazgos concluyeron que la inmunización por medio de vacunas con células tumorales irradiadas tiene éxito en casi todos los modelos tumorales, pero no es eficaz para tratar tumores establecidos. La profilaxis es relativamente eficaz, incluso si se empieza 3 días antes de implantar el tumor, pero el tratamiento no es eficaz, incluso aunque se empiece en un plazo tan temprano como 2 días después de implantar el tumor¹⁰.

En conjunto, estas observaciones han creado la idea de que el anfitrión portador del tumor es, desde el punto de vista inmunológico, un estado radicalmente diferente al del anfitrión virgen. Y los mecanismos implicados en este cambio de estado inmunológico son los mismos que se encargan del inicio y mantenimiento de la tolerancia periférica^{3,6,9}. A estas estrategias de evasión se les dedicará un apartado en exclusiva para su exposición.

En virtud de la implicación más compleja del entorno inmunológico en la enfermedad neoplásica, Dunn *et al*¹ proponen rebautizar el nombre y asignarle el de *inmunoección tumoral*. La insuficiencia del modelo de la *inmunovigilancia tumoral*, para explicar el desarrollo de tumores malignos en pacientes con un sistema inmune completamente funcional, sugirió que la *inmunovigilancia tumoral* representaba una parte de un proceso más global^{1,2,6}. En este contexto, surge la *inmunoección tumoral* que aprehende el conjunto de interacciones que se establecen entre el sistema inmune y la enfermedad neoplásica para explicar los posibles escenarios finales: la completa eliminación de ciertos tumores o el paso a una situación de tolerancia, con la consiguiente expresión clínica oncológica (ver Figura 1).

Este modelo se ha dividido en tres fases conocidas como las *tres Es de la inmunoección tumoral*. Comprende la eliminación, el equilibrio y la evasión^{1-4,6}.

4.1. Fase de eliminación

El sistema inmune es capaz de orquestar respuestas específicas contra agentes extraños, y también contra células cancerosas, especialmente frente a las altamente inmunogénicas, a través de una serie de pasos que buscan la eliminación de las mismas. La inmunidad anti-tumoral se produce a expensas tanto de una respuesta de la inmunidad innata inicial, como de una respuesta inmune adaptativa; en la que resulta fundamental que se genere una respuesta de linfocitos T, especialmente CD8⁺ citotóxicos, frente a antígenos específicos asociados al tumor (ver Figura 3)⁶. La inmunidad anti-tumoral comprende varias etapas que están organizadas de modo cíclico, que deben ser iniciadas y continuadas para expandirse en bucle con la finalidad de incrementar tanto el alcance como la especificidad de la respuesta inmune con cada ciclo (ver Figura 4). Los eventos que componen este ciclo de la inmunidad frente al cáncer se explicarán a continuación^{11,12}. Además, Se puede consultar una representación esquemática de todos los elementos implicados en la fase de eliminación desde la Figura 2.

4.1.1. Respuesta inmune innata inicial. Reconocimiento de señales de peligro (DAMP) y liberación de los antígenos asociados al tumor.

En primera instancia, es la inmunidad innata (fundamentalmente células dendríticas, células NK, linfocitos $T\gamma\delta$, células NKT, y macrófagos) la que reconoce el crecimiento tumoral, mediante el reconocimiento de patrones asociados a daño celular. Dicho reconocimiento da lugar a dos eventos: por una parte, la puesta en marcha de la respuesta innata frente al tumor y, por la otra, el enlace con la respuesta adaptativa específica.

Las células NK han demostrado jugar un papel importante en fases tempranas del desarrollo neoplásico¹³. Las células NK detectan ciertos cambios que sufren las células transformadas en ausencia de señales inflamatorias como son la expresión disminuida de MHC clase I, o la expresión de señales de estrés como MICA o MICB. Las células NK presentan un repertorio de receptores que no exhiben especificidad de antígeno como ocurre en el TCR de los linfocitos T. Los receptores KIR, que se unen a moléculas clásicas de MHC clase I, y similares a lectinas de tipo C, activadores como el CD94 o NKG2D, son los más involucrados en la inmunidad tumoral. Precisamente, este último contribuye al reconocimiento de los ligandos de estrés celular como MICA/B o calreticulina traslocada desde retículo endoplásmico. Su activación, que depende del equilibrio entre señales activadoras e inhibitoras, desencadena la apoptosis en las células diana por dos mecanismos distintos: i) secreción de perforina/granzima B contenidas en sus gránulos ii) expresión de los ligandos de muerte de la familia de TNF, como FasL(CD95L) o TRAIL. Además, liberan $IFN-\gamma$ que facilita la activación de las células dendríticas (DC), de los macrófagos y la diferenciación de los linfocitos T vírgenes a T_h1 ⁴.

Los linfocitos $T\gamma\delta$ presentan una especificidad frente a antígenos no tradicionales, como las proteínas del choque térmico, fosfolípidos y fosfoproteínas. A diferencia de los linfocitos $T\alpha\beta$, no reconocen antígenos asociados a las moléculas clásicas de MHC de clase I y II. Las células NKT reconocen antígenos glucolipídicos presentados por moléculas CD1d. Ambas células han sido implicadas en la inmunidad anti-tumoral, no obstante las dificultades en la caracterización de sus funciones en la inmunidad, en general, y de las circunstancias bajo las que colaboran frente a tumores, en particular, no han permitido sistematizar su papel concreto^{6,13}.

Los macrófagos asociados al tumor son particularmente abundantes, representan hasta el 50% del volumen tumoral y están presentes en todas las fases de progresión. Se originan a partir de monocitos circulantes y son reclutados a la zona tumoral a partir de factores quimiotácticos como CCL2, secretados por las células tumorales, el estroma o los macrófagos del tejido sobre el que asienta; y debido a factores angiogénicos como VEGF ante la hipoxia que caracteriza al ambiente tumoral⁶. Los macrófagos son células especializadas en la fagocitosis de antígenos, directamente u opsonizados tanto por el complemento como por anticuerpos. En condiciones normales presentan constitutivamente un número bajo de MHC clase II por lo que a priori son menos eficientes como células presentadoras de antígeno (APC) que las DC. En respuesta a IFN- γ , TNF- α o IL-12 se activan hacia el fenotipo clásico pro-inflamatorio M1 que exhibe propiedades anti-tumorales potenciando una respuesta T_h1. Para ello contribuyen con un perfil de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-12 e IL-23) y reclutando linfocitos T CD8⁺ citotóxicos al foco de inflamación tumoral (ver Figura 5)^{4,6}.

Las DC de estirpe mieloide han sido descritas como las principales APC. Son células que pertenecen al sistema inmune innato cuya principal función es, sin embargo, la de promover respuestas antígeno-específicas efectivas contra el tumor, lo que supone el nexo de unión entre la inmunidad innata y la adaptativa¹³. Las DC inmaduras expresan los receptores de quimioquinas CCR1 y CCR3, cuyos ligandos se expresan en los endotelios activados y en células inflamatorias, promoviendo con ello su migración a los tejidos dando lugar a su distribución ubicua y su presencia en la mayoría de tejidos¹⁴.

Las DC están especializadas en fagocitar y presentar antígenos, así como de detectar señales de daño celular (DAMP) gracias a la presencia de diversos receptores PRR (*Pattern Recognition Receptors*). Estas señales funcionan como adyuvantes para la activación de las DC¹⁵. Entre estas señales de peligro hay: i) moléculas liberadas por las células tumorales o los tejidos invadidos como proteínas de choque térmico (HSP), fragmentos de hialuronato o moléculas pertenecientes a HMGB1 entre otras; ii) citoquinas proinflamatorias como IFN; y iii) ligandos de estrés que se expresan en la superficie de la membrana de las células tumorales como MICA/B^{2,3}. En su conjunto, estas señales son reconocidas por DC, macrófagos, células NK, células NKT, linfocitos

T $\gamma\delta$, así como otras células APC no profesionales; y ponen en marcha una respuesta pro-inflamatoria y una cascada de citoquinas para establecer un microambiente tumoral que resulte favorable al desarrollo de una respuesta adaptativa antígeno-específica ulterior.

En estas respuestas frente a DAMP se ha observado un perfil de citoquinas asociado al IFN tipo I (α y β) que pone de manifiesto su importancia en el reconocimiento inicial de los tumores y en la activación de las APC¹³. Experimentos con ratones a los que se les había eliminado IFNR, o reducido la expresión de STAT1, demostraron una casi completa desaparición de linfocitos T activados asociada a la desaparición de la subpoblación de DC CD8 α^+ sin otras anomalías funcionales en el compartimiento de DC¹⁶.

En conjunto, todas estas células propician que los antígenos tumorales sean liberados tras la muerte de las células tumorales y puedan ser fagocitados y procesados por las DC.

Respecto a la antigenicidad tumoral, los modelos de experimentación con ratones permitieron deducir la existencia de antígenos específicos del tumor (TSA) responsables del rechazo del tumor *in vivo*. Sin embargo, en humanos los antígenos tumorales definidos por los linfocitos T reactivos frente al tumor muestran una especificidad tumoral menor y su conexión con la inmunidad tumoral *in vivo* es menos resolutive. Los antígenos tumorales identificados como epítomos de linfocitos T o de anticuerpos suelen expresarse también en tejidos del huésped con normalidad. Éstos son los llamados antígenos asociados al tumor (TAA) e incluyen: i) antígenos de diferenciación, ii) antígenos *cancer/testis* y iii) antígenos víricos.

Los TSA, por el contrario pobremente descritos, se expresan exclusivamente en los tumores como los antígenos mutacionales, también conocidos por el nombre de neoantígenos¹⁻³.

En los últimos tiempos, grandes esfuerzos se están haciendo en esta materia para encontrar antígenos tumorales compartidos por un mismo tipo de tumor y utilizarlos como diana terapéutica. En esta dirección, la definición de neoantígenos está experimentando grandes avances con la secuenciación exómica^{3,6,7,13}.

4.1.2. La presentación de los antígenos tumorales a linfocitos T por medio APC. Preparación y activación de los linfocitos T en los órganos linfoides.

Las DC (principales APC descritas) que se encuentran en el tejido donde se está generando el tumor tienen como cometido el de reconocer, internalizar, procesar y presentar los antígenos junto con MHC de clase I o de clase II para posteriormente presentar dichos antígenos a linfocitos T CD8⁺ o CD4⁺ respectivamente⁴.

Tras haber captado los antígenos tumorales, las DC maduran cargadas con el antígeno incrementan la expresión de moléculas de coestimulación (CD80/86), moléculas MHC de ambas clases, aunque sobre todo clase II, y moléculas de adhesión necesarias para la sinapsis inmunológica como la integrinas CD11a, ICAM-1 e ICAM-3. Por otra parte, reducen la expresión de los receptores de quimioquinas, CCR1/3/5/6 principalmente, responsables de su distribución periférica y aumentan la de CCR7 para migrar hacia el sistema linfático, cuyos vasos periféricos expresan sus ligandos CCL19 y CCL21¹⁴.

Una vez que las DC llegan al ganglio linfático, activan linfocitos T CD4⁺ mediante la interacción entre el complejo que forma el antígeno con MHC-clase II, y a los linfocitos T CD8⁺ vía MHC-clase I. El patrón de citoquinas producido por la DC, el subtipo de DC, su localización anatómica o el tipo de estímulo madurador condicionan la polarización fenotípica de estos linfocitos. En un contexto inmunológico en el que IL-12, IFN- γ o TNF predominan, la población de linfocitos T CD4⁺ se diferencia hacia una respuesta T_h1^{4,6,14}. En presencia de IL-4 fundamentalmente, lo hace hacia una respuesta T_h2 que favorece la estimulación de mastocitos, basófilos y eosinófilos, y el cambio de isotipo hacia IgE, IgA o IgG1 según el tejido^{8,13}.

Para que un linfocito T virgen se convierta en uno efector las señales indispensables procedentes de la sinapsis inmunológica con APC son: i) presentación antigénica resultante de la interacción TCR-antígeno-MHC; ii) señal de coestimulación, que ejercen CD40, CD80 o CD86, presentes en la superficie de las DC, con CD28 en el linfocito T (ver Figura 6); iii) citoquinas, como IL-2 que desencadenan la proliferación clonal^{4,17}. Si la interacción carece de alguna de estas señales los linfocitos se vuelven arreactivos¹⁴.

Adicionalmente, para desencadenar una respuesta inmune anti-tumoral adecuada, esta presentación debe ir acompañada de señales que eviten la tolerancia hacia los antígenos tumorales. En primer lugar, las señales de daño celular, que permitan madurar previamente a las DC, y posteriormente, la cooperación de citoquinas proinflamatorias con los linfocitos T¹². Entre las citoquinas, en primer lugar se sitúa la IL-2 que tras su activación el linfocito T es capaz de secretarlo transitoriamente de modo autocrino y paracrino para inducir proliferación clonal. En segundo lugar, se han implicado otras citoquinas cuya importancia relativa parece depender del estado de diferenciación del linfocito T y su función se solapa con la de IL-2. La IL-15 producida por las APC maduras actúa sobre un receptor análogo al de IL-2 resultando en la expansión de los linfocitos T y algunos NK. Las IL-1 e IL-6 producida por fagocitos mononucleares inducen la expresión de IL-2R en los linfocitos T vírgenes y así incrementan su reactividad a la IL-2^{4,6,14}.

4.1.3 Circulación e infiltración de los linfocitos T activados en el tumor. Reconocimiento específico e inducción de muerte sobre las células cancerosas.

La migración de linfocitos T hacia el tumor depende de la interacción entre las proteínas de adhesión molecular ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina presentes en el endotelio vascular y las integrinas leucocitarias presentes en la membrana, como LFA-1 y VLA-4, o L-selectina. La expresión de estas moléculas se incrementa enormemente durante la respuesta inmune innata mediante IL-1 y TNF- α . Además, resulta también importante la secreción paracrina de determinadas quimioquinas para que los linfocitos T activados acudan al tumor. Se han descrito diversos perfiles de quimioquinas involucrados en la respuesta anti-tumoral, pero parecen especialmente importantes CXCL9 y CXCL10 que reclutan a los linfocitos T al interactuar con el receptor CXCR3 expresado por éstos. En algunos casos, tanto las células tumorales como estromales pueden contribuir a su secreción, de modo que pueden colaborar al reclutamiento de los linfocitos T¹³.

Los linfocitos T CD4⁺ T_h1 amplifican el fenómeno inflamatorio hacia una respuesta sobre todo celular aumentando la eficacia de los macrófagos y células NK, promoviendo la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, incrementando la

citotoxicidad de los linfocitos T CD8⁺ y la duración de sus respuestas. Para ello secretan principalmente IL-2, que expande la población de los linfocitos citotóxicos, IFN- γ y TNF- α , que aumentan la capacidad fagocítica de los macrófagos^{4,6,14}.

Los linfocitos T CD8⁺, efectores que acuden al lugar del tumor, reconocen a través de su TCR el antígeno específico, que propició su activación, presentado por las moléculas de MHC clase I de las células tumorales que desencadenan su actividad citotóxica. Los mecanismos efectores empleados por los linfocitos T CD8⁺ citotóxicos son similares a los empleados por las células NK (perforina/granzima B y los ligandos de muerte FasL y TRAIL)⁴.

4.1.4. Respuesta humoral

Al igual que se han descrito respuestas de linfocitos CD8⁺ citotóxicos en pacientes con cáncer, éstos también desarrollan una respuesta humoral produciendo elevados títulos de anticuerpos^{3,4,8}. En ciertas ocasiones, se ha relacionado con síndromes paraneoplásicos neurológicos por la reactividad cruzada de los TAA, frente a los que van dirigidos los anticuerpos, con antígenos normales del huésped³.

No obstante, en el contexto de una respuesta inmune anti-tumoral, la respuesta humoral no suele ser tan esencial como la celular^{1,3}. De hecho, el papel más destacado es el de facilitar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), que constituye un ejemplo de cooperación entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo. Las células NK pueden activarse por la presencia de antígenos tumorales cubiertos de anticuerpos IgG al interactuar con su receptor Fc γ RIII, al igual que los granulocitos o los macrófagos que pueden ver potenciada su capacidad fagocítica o secretora ante células tumorales opsonizadas por anticuerpos^{3,8}.

4.2. Fase de equilibrio

La primera evidencia de esta fase surgió de experimentos, de nuevo, con ratones inmunocompetentes tratados con el carcinógeno MCA a dosis bajas. Tras la exposición, al carcinógeno se constató la presencia prolongada en el tiempo de células tumorales

que no llegaban a formar un tumor clínicamente aparente. La administración de anticuerpos frente a linfocitos T e IFN- γ hizo que bruscamente se formasen tumores en el lugar original de inoculación. Estas lesiones resultaron ser tan inmunogénicas como las del homólogo experimento con ratones deficientes de RAG2³ (ver apartado 3.2.4.). Además, análisis posteriores sugirieron el papel dominante de la inmunidad adaptativa en el control de la génesis tumoral al señalar la importancia de los linfocitos T, a diferencia de la fase de eliminación donde la contribución de la inmunidad innata era igualmente importante⁸.

En la fase de equilibrio, se alcanza una situación de estabilidad entre las células tumorales y la respuesta inmune generada en su entorno (ver Figuras 1 y 7). Las células del sistema inmune son capaces de contener el tumor eliminando aquellas variantes tumorales inmunogénicas o induciendo un estado de senescencia, pero no de eliminarlo por completo. Durante este período la presión selectiva de la inmunovigilancia tumoral y la inestabilidad genética configuran un escenario en el que se seleccionan células tumorales con una resistencia creciente frente a los mecanismos de eliminación inmunológicos. Y, además, se va configurando un microambiente tumoral que dificulta que el sistema inmunológico pueda enfrentarse al tumor del modo más adecuado. La fase de equilibrio es la más larga de las tres y puede abarcar años de evolución, incluso toda la vida^{1,3,4,6,7}.

Los mecanismos inmunológicos que pueden desencadenar un estado tumoral de latencia están pobremente descritos (ver Figura 7). A día de hoy, hay un mosaico de mediadores implicados entre los que destacan las vías de señalización dependientes de TNF e IFN- γ , el balance entre IL-12, promotora de la eliminación tumoral, e IL-23, de su supervivencia; mecanismos tumorales de inmunosupresión, y el fenotipo de las células inmunes que infiltran el tumor⁷.

Bajo condiciones experimentales, la interacción paralela y coordinada de TNF e IFN- γ ha mostrado la habilidad de detener el crecimiento de tumores pancreáticos, mientras que ante la deficiencia de alguna de las dos vías se favorecía la angiogénesis y el crecimiento tumoral⁷. La combinación de ambas interacciones condujo a las células cancerosas a un estado de senescencia debido a la detención del ciclo celular en fase G1/G0, a la que contribuyen con la activación de CDKN2A y la hipofosforilación de la

proteína del retinoblastoma (Rb). Es probable que estas vías en conjunto constituyan un mecanismo genérico de control del desarrollo tumoral⁷.

Otras características asociadas al estado de equilibrio tumoral es el fenotipo de las células inmunológicas que acuden al entorno tumoral. Se entiende que un determinado balance entre células inmunosupresoras y de células efectoras en el microambiente tumoral permite al tumor persistir en un estado de latencia; puesto que no se logra una respuesta anti-tumoral completa, pero tampoco consigue evadir el control del sistema inmune^{7,13}.

A grandes rasgos, la infiltración de altas proporciones de linfocitos T CD8⁺, células NK, linfocitos T γ δ , y una respuesta T_h1 se asocian habitualmente a un pronóstico favorable; mientras que la infiltración linfocitos T reguladores (Treg) Foxp3⁺, macrófagos M2, células mieloides supresoras (MDSC, del inglés *myeloid-derived suppressor cell*), linfocitos T_h17 y una respuesta de tipo T_h2 constituyen caracteres inmunofenotípicos de pronóstico negativo^{6,7}.

En esta misma línea, *Narendra et al*⁴ tipifica a los linfocitos T CD8⁺ citotóxicos, CD4⁺ Th1 y células NK como principales efectores de la inmunidad anti-tumoral. Mientras que, los linfocitos Treg y MDSC presentan un patrón de comportamiento inmunosupresor asociado a crecimiento del tumor. Los linfocitos T CD4⁺ T_h2 si bien no tienen función inmunosupresora *per se* su perfil de citoquinas configura una respuesta inmune inadecuada en detrimento de la respuesta T_h1 más efectiva en el contexto tumoral.

Sin embargo, establecer una clasificación de las células inmunológicas en arreglo a su comportamiento a favor o en contra del tumor resulta muy complejo. La diferenciación de las células inmunes implicadas en una respuesta dada viene determinada tanto por el tipo de estímulo, por el tejido donde asienta, así como por las interacciones entre células inmunes con el tumor.

Para ilustrar esta dificultad, algunas de las células inmunes ejercen funciones paradójicas debido a su heterogeneidad o plasticidad, como es el caso de los macrófagos, linfocitos Treg, T_h17 o DC cuyas funciones todavía no están claras en relación al pronóstico que ofrecen su presencias en el tumor^{4,6,7}. En esta línea, así lo constata la asociación entre la infiltración de linfocitos Treg en los tumores y el mal pronóstico de los mismos en muchos tumores sólidos; sin embargo, no siempre es así

como ilustran casos de cáncer colorrectal o carcinomas escamosos otorrinolaringológicos. En estos casos parece ser que la presencia de linfocitos Treg limita crónicamente la magnitud de los eventos inflamatorios asociados a la colonización bacteriana, y subsecuentemente los efectos cancerígenos de la inflamación^{6,13}. Lo mismo sucede con los linfocitos T_h17 debido a su plasticidad (ver Figura 3). En este caso su capacidad para promover una respuesta tipo T_h1, citotóxica, o polarizarse hacia linfocitos Treg, inmunosupresores, justifica la divergencia de pronósticos a los que se asocian los linfocitos T_h17⁴. Por último, la heterogeneidad de los macrófagos explica su rol dual en el cáncer. Los macrófagos M1 son responsables de colaborar en la formación de respuestas T_h1 e incrementar la citotoxicidad, mientras que los macrófagos M2 promueven el crecimiento tumoral y la metástasis porque secretan factores de crecimiento, citoquinas anti-inflamatorias y organizan respuestas tipo T_h2 (ver Figura 5)^{4,6,13}.

4.3. Fase de escape

En la tercera fase, la de evasión, las variantes tumorales supervivientes han terminado por adquirir características (genéticas o epigenéticas) que las hacen indetectables, resistentes a los mecanismos inmunológicos de eliminación, o capaces de crear un microambiente tumoral inmunosupresor mediante el reclutamiento de células inmunes con un fenotipo permisivo respecto al desarrollo tumoral. De este modo, generan un estado inmunológico de tolerancia en el entorno neoplásico. En este punto, el tumor comienza a expandirse incontroladamente y se vuelve clínicamente apreciable^{1,3,4,6,7}. Se puede consultar una visión global de este apartado en la Figura 8.

Son varios los mecanismos que favorecen el escape del tumor a la acción del sistema inmune: i) la ignorancia sucede cuando los linfocitos T no logran reconocer el péptido antigénico y permanecen inactivas debido al secuestro del antígeno en un lugar privilegiado, o por una inadecuada presentación en los ganglios linfáticos de drenaje; ii) la anergia tiene lugar cuando a pesar del encuentro con el antígeno no se dan las señales de coestimulación apropiadas para una activación completa, que condicionan un estado de refractariedad posterior; iii) el agotamiento consiste en la incapacidad de proliferar o secretar citoquinas relacionadas con una adecuada respuesta anti-tumoral debido a la exposición crónica a antígenos y a la estimulación constante; iv) la supresión es el

proceso activo de tolerancia llevado a cabo por una población de células inmunológicas, que inhiben activamente la proliferación y la puesta en marcha de respuestas anti-tumorales¹⁷.

Los mecanismos de evasión inmunológica (ver Tabla 2) descritos a día de hoy son muy numerosos pero podemos englobarlos en tres categorías según la estrategia común que persiguen: i) reducción de la inmunogenicidad, ii) aumento de la resistencia frente a los mecanismos de eliminación inmunológica, iii) subversión de la respuesta inmune mediante la promoción de un microambiente tumoral inmunosupresor^{3,4,6,18}.

4.3.1. Reducción de la inmunogenicidad

Dentro de los mecanismos de evasión tumoral, uno de los mejor caracterizados es la pérdida de inmunogenicidad que se explica tanto por la inestabilidad genética como por los efectos selectivos de la inmunovigilancia tumoral sobre las células cancerosas. Esta puede suceder de varios modos: i) expresión de antígenos en el contexto de MHC de clase I con afinidad insuficiente por el complejo TCR-antígeno; ii) ausencia o reducción de la expresión de MHC de clase I en la superficie de las células tumorales; iii) compromiso de alguno de los componentes necesarios para el procesamiento de antígenos y su presentación con MHC de clase I en las células tumorales; o iv) reducción de los ligandos de estrés celular^{3,4,6}.

Todos estos mecanismos son responsables de debilitar la respuesta dependiente de linfocitos T CD8⁺ que como se ha descrito previamente, son los principales efectores descritos de la inmunidad anti-tumoral. Sin embargo, las células tumorales se vuelven más vulnerables a las células NK al detectar precisamente estos cambios, vía receptores KIR o CD94, o ligandos de NKG2D de estrés celular, como sucede con las células madre del carcinoma colorrectal^{2,6}. A pesar de esto las células tumorales habitualmente logran sobrepasar la actividad NK por el agotamiento ante la exposición repetida a ciertos antígenos, o por la persistencia de células tumorales que expresan: i) bajos niveles de ligandos de estrés, o ii) altos niveles de moléculas de MHC de clase I⁶.

Durante la progresión del cáncer, no sólo acontecen mutaciones genéticas sino cambios epigenéticos que se reflejan en el patrón de glicosilación de las proteínas secretadas constitutivamente. La incorporación adicional de residuos terminales de

ácido siálico en las glucoproteínas de membrana de las células tumorales es un hallazgo frecuente. La interacción de los ligandos tumorales hipersializados con los receptores tipo Siglec, (*sialic acid-binding immunoglobulin-like receptor*) extendidos ampliamente entre las células inmunológicas, constituye otra estrategia de regulación natural de la respuesta inmune que el tumor usa en su beneficio¹⁹. Estos patrones de glicosilación le permiten al tumor evadir la acción de células NK y neutrófilos⁶.

4.3.2. Resistencia a la eliminación inmunológica

Atendiendo a la segunda estrategia de evasión, la heterogeneidad y espontaneidad de las mutaciones también confiere resistencia a las células tumorales frente a los mecanismos directos de citotoxicidad celular. En este aspecto, se han identificado alteraciones en múltiples sistemas efectores como en: i) la conformación de la perforina sobre la membrana diana, ii) la interacción o expresión de Fas, o iii) la vía de señalización de muerte celular dependiente de TRAIL, entre otros^{4,6}.

El mecanismo mejor documentado es el segundo. Los linfocitos T CD8⁺ tumor-específicos emplean FasL para estimular la vía de apoptosis dependiente del receptor Fas, presente constitutivamente en la superficie de las células tumorales, y así eliminarlas^{4,6}. Como consecuencia de la presión de la vigilancia del sistema inmune, las células cancerosas tienden a disminuir o perder la expresión de Fas, iniciando el camino hacia un fenotipo metastásico³. Otro problema descrito en relación al receptor Fas es que parece no mediar exclusivamente acciones encaminadas a la apoptosis, sino que está involucrado en vías de señalización alternativas que incluyen la activación, proliferación, diferenciación y migración celulares. En condiciones de baja estimulación del receptor o de bloqueo de la apoptosis, la señalización intracelular de Fas vira hacia la promoción del desarrollo tumoral con la activación de ERK1/2 y NF-κB, donde parece jugar un papel fundamental el complejo DISC, auxiliar de Fas²⁰. En último lugar, se ha descubierto expresión de FasL en el fenotipo de las células de algunos tumores. Estas células tienen la posibilidad de establecer una zona de privilegio al mediar la apoptosis de células inmunológicas en el microambiente tumoral^{4,20}. Sin embargo, existen datos contradictorios que ponen en juicio la relevancia de FasL en la evasión tumoral, y es que parece promover la infiltración de neutrófilos, respuestas proinflamatorias y rechazo tumoral²⁰.

4.3.3. Subversión de la respuesta inmunológica

Aunque todos los mecanismos de tolerancia parecen estar implicados, la estrategia más característica y que puede cobrar una importancia relativamente mayor en la interferencia de la inmunidad anti-tumoral es la de configurar un microambiente tumoral inmunosupresor con el que bloquear la respuesta anti-tumoral. Se pueden identificar tres mecanismos principales: i) la creación de un entorno tumoral con características hostiles para la supervivencia de las células inmunológicas que infiltran el tumor, y que tienen que efectuar su respuesta, ii) reprogramación de las células inmunológicas o reclutamiento de aquéllas que son permisivas con su crecimiento, iii) expresión de moléculas inmunorreguladoras como *immune checkpoint molecules* que detengan la activación de los linfocitos T^{3,4,6,7,11,13,17,21,22}.

Respecto al punto i), las células malignas satisfacen las necesidades metabólicas por medio de la vía glucolítica incluso en presencia de oxígeno. Esto se debe a la expresión anormal de GLUT1, observada entre el 15 y 85% de los tumores sólidos. La activación de los oncogenes AKT1 y c-MYC y el silenciamiento de genes supresores de tumores, como p53 y PTEN, están implicados en la reprogramación metabólica que prioriza el uso de glucosa. Así pues el tumor compite con gran avidez por glucosa y oxígeno, y genera un ambiente tumoral hostil para las células inmunitarias, especialmente para los linfocitos T efectores al interferir sobre el metabolismo de éstos. Los linfocitos T tras su activación adecuada, sufren paralelamente un cambio de orientación del metabolismo hacia la vía glucolítica, similar al de las células cancerosas, que servirá para satisfacer las enormes necesidades que impone la expansión clonal y la diferenciación hacia formas efectoras. Este entorno de competencia metabólica hace especialmente vulnerables a las formas terminalmente diferenciadas de linfocitos efectores, haciéndolas incapaces de generar respuestas potentes o duraderas²¹.

Las células tumorales también acaparan el uso de otros nutrientes imprescindibles como la glutamina o la arginina, o agotan el triptófano extracelular. La privación de glutamina impide la proliferación y la liberación de IFN- γ de los linfocitos T, y está asociada a un aumento del porcentaje de linfocitos Treg. La arginina es un aminoácido esencial para el ciclo celular de los linfocitos T, y en su ausencia lo detiene vía Rictor/mTORC2²¹. La expresión de la enzima indolamina-di-oxigenasa (IDO), que participa en la formación de NAD⁺ a partir de triptófano, por algunos tipos de cáncer

lleva a la depleción del triptófano y a la producción de catabolitos con el resultado de inducir la parada del ciclo celular, así como anergia y apoptosis de linfocitos T. De hecho, la quinurenina, uno de estos catabolitos, conduce a la diferenciación hacia linfocitos Treg^{3,6,21}.

Atendiendo al punto ii) la reprogramación de las células inmunológicas o el reclutamiento de aquéllas que son permisivas con su crecimiento, varias son los tipos de células inmunológicas descritos que en el microambiente tumoral pueden desempeñar funciones inmunosupresoras. De ellas las mejor descritas son las MDSC y los linfocitos Treg, pero también los linfocitos T CD4⁺ T_h2, macrófagos M2, DC inmaduras y plasmocitoides, así como algunas subpoblaciones de células NKT, linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos CD8⁺ supresores; o algunos linfocitos T_h17, que pueden ejercer funciones inmunosupresoras en el ambiente tumoral^{4,7,13}. El perfil de citoquinas que constituye el contexto de la respuesta inmunológica condiciona el tipo de células presentes y sus propiedades, y en definitiva la naturaleza de la respuesta frente al tumor. De hecho, el tumor produce autónomamente citoquinas que le permiten alterar estos perfiles en su beneficio^{4,6,13}.

Los linfocitos CD4⁺ T_h2 son inducidos por efecto de IL-4. Estos linfocitos secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 para que prevalezca una respuesta inmunológica cuyas características confieren una menor efectividad de la respuesta frente a las células tumorales como son el cambio de isotipo a IgE o IgG1, y la activación de basófilos, mastocitos y eosinófilos⁴.

La función de las células NK puede verse obstaculizada de distintos modos. El descenso de expresión CXCL2 evita la infiltración tumoral de células NK. La influencia del TGF- β procedente de las células tumorales y del estroma disminuyen la expresión de receptores NCR en células NK y disminuyen por ende su función citolítica⁶. En algunos cánceres, como se ha observado en el carcinoma escamoso pulmonar, el colorrectal o el de mama, el tumor parece ejercer un efecto directo sobre el fenotipo de las células NK probablemente mediante TGF- β e hipoxia. Estas células alteradas tienen una actividad frente al tumor reducida, mientras que expresan altos niveles de VEGF y se relacionan con una menor presencia de linfocitos T en el tumor⁶.

Los linfocitos $T\gamma\delta$, aparte de su rol anti-tumoral, en otras circunstancias parecen suprimir la activación de linfocitos T, como se ha demostrado *in vitro* sobre linfocitos T aislados de pacientes con cáncer de mama¹³. Una subpoblación de células NKT que no expresan el TCR invariante restringido a CD1d debilita la inmunidad anti-tumoral mediante la secreción de IL-13¹³.

Los macrófagos que infiltran el tumor habitualmente presentan el estado de activación M2, dirigidos por las citoquinas de la respuesta T_H2 y el TGF- β , CSF-1 y glucoproteínas hiperspecializadas de las células tumorales. Estos macrófagos secretan a su vez citoquinas anti-inflamatorias (IL-10 y TGF- β) que retroalimentan la respuesta T_H2 reclutando linfocitos con este perfil y también linfocitos Treg. Los macrófagos M2 también vierten al espacio extracelular arginasa I que priva de arginina a los linfocitos T, y expresan en ocasiones PD-L1 que inhibe la activación del linfocito T. Además, pueden secretar factores de crecimiento (VEGF, EGF, FGF) y metaloproteinasas de matriz que en su conjunto promueven directamente el crecimiento, la angiogénesis y la diseminación del tumor (ver Figura 5)^{4,6}.

Los linfocitos Treg por estar implicados en fenómenos de tolerancia y tener la capacidad intrínseca de limitar la respuesta inmune se han considerado como uno de los principales responsables de la evasión inmunológica tumoral. Bajo circunstancias fisiológicas protegen frente a enfermedades autoinmunes suprimiendo los linfocitos T autorreactivos. En el microambiente tumoral, su presencia está fuertemente asociada a la ineffectividad de las respuestas inmunes anti-tumorales^{3,4,7,12,18}. Representan del 5 al 10% de todos los linfocitos T y se subdividen en linfocitos Treg naturales (nTreg) e inducidos (iTreg). Los primeros tienen origen en el timo y los segundos son inducidos periféricamente a partir de linfocitos T $CD4^+$, algunos $CD8^+$ o T_H17 por citoquinas anti-inflamatorias, interacción con PD-L1 del tumor o señales de estrés celular como el ATP extracelular^{4,6,18,23}. En su conjunto detienen la respuesta inmune anti-tumoral, y en especial de los linfocitos T, por distintos mecanismos: i) secreción de citoquinas inhibitorias, como IL-10, TGF- β o IL-35; ii) citolisis mediante el sistema de perforina/granzima B, o los ligandos de muerte FasL y TRAIL; iii) deprivación de IL-2, iv) modulación del microambiente a través de: adenosina, que influye negativamente sobre la proliferación de linfocitos T y la función de las DC; deprivación de cisteína, o secreción de NADPH oxidasa; v) receptores de superficie como CTLA-4 o LAG3, que modulan negativamente la función de los linfocitos T efectores y la presentación de

antígenos por DC²³. En estas últimas la interacción induce un fenotipo tolerogénico; esto es, un descenso de MHC de clase II, de señales de coestimulación CD80/CD86 y la activación de la indolamina-di-oxigenasa (IDO), que convierte el triptófano a quinurenina con efectos igualmente inmunosupresores (véase Figura 9)^{4,24}.

A pesar de que las DC son las APC más eficientes en términos de la activación de linfocitos T vírgenes, también se han descrito acciones negativas sobre estas mismas células. En este sentido, parece ser más importante el nivel de maduración y el estado de activación de las DC en cuanto a su función. Las DC que abandonan la médula ósea son inmaduras y están caracterizadas por expresar bajos niveles de MHC y de moléculas coestimuladoras principalmente, así como una secreción pobre de IL-12¹⁸. En lo referente a la respuesta anti-tumoral, ciertos factores del microambiente tumoral influyen en el desarrollo de DC con fenotipo tolerogénico como VEGF, IL-8 o IL-10 procedentes del tumor o de los macrófagos M2 infiltrantes, así como por influencia directa de linfocitos Treg⁶. En pacientes con cáncer es habitual la presencia de DC inmaduras y plasmocitoides en el tumor y se relaciona con una pobre respuesta de linfocitos T CD8⁺, debido al estado de anergia que inducen con un aumento de linfocitos Treg por diferenciación de linfocitos T vírgenes, y con la liberación de factores angiogénicos que justifican el progreso tumoral^{6,18}.

Las MDSC son precursores inmaduros del linaje mielóide cuya presencia en el microambiente tumoral resulta ser inmunosupresora^{3,13}. Inducen tolerancia sobre los linfocitos T CD8⁺ específicos para el antígeno que presentan dichas MDSC. La incubación de MDSC con estos linfocitos causa la nitrosilación de las moléculas de superficie de los linfocitos en la región de sinapsis inmunológica entre ambas células. Concretamente, la nitrosilación del TCR ocasiona su disociación de CD3 ζ e incapacita la transducción de la señal intracelular del complejo TCR. Como consecuencia, los linfocitos T CD8⁺ antígeno-específicos con TCR nitrosilados no generan respuesta alguna y entran en una situación de anergia ante presentaciones del antígeno por DC²⁵. Otros mecanismos inmunosupresores incluyen la deprivación de L-arginina o la generación de especies reactivas de oxígeno^{13,25}.

Los linfocitos T_h17 son una subpoblación de linfocitos T CD4⁺, que representan entre el 0,1 al 0,5% de los mismos en circulación. El origen de éstos procede de la diferenciación de linfocitos T CD4⁺ vírgenes o de linfocitos Treg bajo la estimulación

de, al menos, dos patrones de citoquinas: TGF- β e IL-21, o IL-1 β con IL-6 e IL-23. Se caracterizan especialmente por su plasticidad, a diferencia de los linfocitos T_h1 y T_h2, que consiste en la mutabilidad de su fenotipo hacia el de una respuesta T_h1 (secretando IFN- γ), o al intercambio indistinto con el de un linfocito Treg (ver Figura 3). Esta plasticidad explica los efectos contradictorios que tiene la infiltración de linfocitos T_h17 en el pronóstico del cáncer. La diferenciación hacia el linaje T_h1 le confiere propiedades inmunes efectoras, mientras que su diferenciación hacia linfocitos Treg explica su funcionamiento ocasional como célula inmunosupresora⁴.

Si tomamos en consideración todas las acciones expuestas vemos que tienen como consecuencia el reclutamiento y la polarización de las células inmunológicas hacia fenotipos inmunológicos incompatibles con la eliminación tumoral; y en definitiva, la instrucción de una respuesta caracterizada por su permisividad con el crecimiento tumoral y la aparición de metástasis.

Por último considerando el punto iii), la expresión de moléculas inmunorreguladoras como los denominados *immune checkpoint* puede detener la activación de los linfocitos T. La activación de los linfocitos T vírgenes requiere la interacción del TCR con el péptido restringido al MHC de las APC, y una segunda señal coestimuladora a través de moléculas pertenecientes a la familia B7. Sin embargo, el resultado final depende del equilibrio con otro grupo de señales que pertenecen a la misma familia generalmente: las moléculas *immune checkpoint* que producen señales inhibitoras (ver Figura 6). Entre ellas destacan CTLA-4 y PD-1 que previenen de reacciones inapropiadas de linfocitos autorreactivos o en zonas inmunoprivilegiadas, y que limitan fisiológicamente la extensión y duración de las respuestas inmunes^{2,3,6,17,22,23}.

Dos grandes familia de co-receptores y sus ligandos, ampliamente distribuidos por el sistema inmune, modulan la activación y supervivencia de los linfocitos T: la superfamilia tipo inmunoglobulina (IgSF) y la superfamilia del receptor de TNF (TNFRSF) (ver Figura 6). Entre los miembros de IgSF encontramos los receptores coestimuladores CD28 e ICOS, y los inhibidores CTLA-4, PD-1, LAG3 y BTLA fundamentalmente. En la familia TNFRSF encontramos los receptores 4-1BB, OX40, CD40, CD27 y GITR con función estimuladora. Además, se han identificado otras

segundas señales con propósito estimulador o inhibidor en dependencia del contexto como: CD160, LIGHT, linfotóxina α , BTLA o HVEM^{2,6,17}.

El primer y mejor descrito *immune checkpoint* es el CTLA-4. Esta molécula se expresa en los linfocitos T activados y constituye un regulador negativo intrínseco de su activación^{9,11,17}. Es un receptor alternativo de CD80 y CD86, presentes en APC, que compete con CD28 con mayor afinidad para limitar la activación de los linfocitos T. Tras la estimulación del TCR del linfocito, CTLA-4 se transloca a la superficie de la membrana celular para prevenir la señalización intracelular de CD3 ζ , competir con CD28 y disminuir el tiempo de sinapsis inmunológica con las APC²³. De este modo, a medida que el linfocito T madura, expresa mayores cantidades de CTLA-4 y, por ello, exige estímulos activadores más fuertes para continuar la división, y de este modo prevenir reacciones inmunitarias descontroladas o fenómenos autoinmunitarios¹¹. Los linfocitos Treg, en particular, expresan CTLA-4 constitutivamente en mayor concentración que el resto de linfocitos T y lo emplean para inhibir activamente la inmunidad tumoral^{4,23,24}.

La vía PD-1/PD-L1 parece representar un mecanismo tumoral esencial de evasión de la respuesta de linfocitos T. PD-1 es un receptor transmembrana de la familia de la superfamilia de las inmunoglobulinas (IgSF) que está presente constitutivamente en timocitos y es inducible por citoquinas pro-inflamatorias en las células NK activadas, linfocitos B y T activados, monocitos y DC. En el contexto de la inmunidad anti-tumoral, PD-1 interacciona con PD-L1, presente en células tumorales, hematopoyéticas y tejidos no linfoides; o PD-L2, en tejidos linfoides, e inicia una cascada de señalización que desemboca en un descenso de la producción de citoquinas, de la supervivencia y de la proliferación de los linfocitos T directamente. Indirectamente ejerce efectos sobre otras células inmunes que incluyen, por ejemplo, el estímulo de la proliferación de Treg o la producción de citoquinas anti-inflamatorias por macrófagos infiltrantes del tumor^{6,17,23}.

Respecto a PD-L1, se ha descrito su expresión en una variedad amplia de cánceres epiteliales (pulmón, mama, riñón, vejiga, ovario, cérvix, melanoma, glioblastoma) y hematológicos⁶. Esta expresión por parte de las células tumorales se asocia a peor pronóstico en cánceres tales como renal, esofágico, biliar, ovárico, mamario, gástrico y pancreático; es probable que explique el fracaso de la terapia de transferencia de

linfocitos T tumor-específicos activados²³. La expresión conjunta de PD-L1 por el tumor y las células inmunológicas que infiltran se asocian a a fenómenos de tolerancia por agotamiento, anergia y finalmente apoptosis de linfocitos T^{17,23}. El receptor PD-1 habitualmente está sobreexpresado en linfocitos T tumor-específicos, lo que sugiere un agotamiento debido a la retroalimentación negativa que ejerce la activación prolongada con IFN- γ o IL-4⁶. Por otra parte, la interacción PD-1/PD-L1 también tiene una función no inmunológica y es que desencadena una señalización anti-apoptótica de la célula que expresa el ligando a través del dominio intracitoplasmático contribuyendo a la supervivencia tumoral¹⁷.

En muy diversos tumores se ha descrito la expresión de ligandos de *immune checkpoints*, como PD-L1, que les permiten usar en su beneficio el sistema fisiológico de control de la respuesta inmune para así elevar el umbral de activación de los linfocitos T, y con ello atenuar su función bien induciendo anergia y/o apoptosis finalmente^{2,6,17,22}. Otros *immune checkpoint* descritos recientemente que los tumores aprovechan para suprimir la respuesta inmunológica incluyen: B7-H3, que inhibe linfocitos T y células NK; B7S1, que frena la respuesta T_h1 y estimula a Treg y MDSC; y VISTA, que inhibe la activación del TCR y detiene el ciclo celular de los linfocitos T²².

5. Inmunoterapia

Las estrategias de inmunoterapia han sido usadas durante décadas en Oncología, a pesar de que, en ocasiones, los mecanismos de acción todavía no habían sido completamente desvelados. Por ejemplo, las instilaciones de *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) han sido empleadas para tratar el carcinoma de vejiga no invasivo asumiendo que potencian localmente la inmunidad innata. Por otro lado, es posible que parte del efecto que logran las drogas citotóxicas, como la quimioterapia, sea mediado por el sistema inmunológico induciendo la denominada muerte celular inmunogénica².

Los esfuerzos por comprender las fases de la inmunidad anti-tumoral, las características de las células y de los mediadores moleculares implicados en cada una de ellas tienen el propósito fundamental de descubrir dianas terapéuticas sobre las que diseñar estrategias de tratamiento, y también de generar biomarcadores que predigan la respuesta a dicho tratamiento y el pronóstico del paciente⁸.

En la literatura médica se pueden encontrar múltiples clasificaciones de la inmunoterapia anti-tumoral. Hay quienes diferencian las estrategias por la naturaleza del agente inmunoterápico según sean anticuerpos, células o citoquinas¹¹, otros dividen las opciones de tratamiento en función de si persiguen la activación de células inmunológicas efectoras o la neutralización de mecanismos inmunosupresores⁹. A pesar de ello, he decidido seguir el esquema propuesto por *Riether et al*² porque parece una clasificación más didáctica: i) inmunoterapia pasiva, ii) inmunoterapia activa e iii) inmunomodulación. En la Tabla 3 se puede contemplar un resumen de las principales características de las estrategias inmunoterápicas a día de hoy.

5.1. Inmunoterapia pasiva

La inmunoterapia pasiva frente al cáncer consiste en la administración de moléculas o células efectoras, creadas o modificadas del propio paciente, con la finalidad de subsanar su capacidad de responder adecuadamente frente a un antígeno determinado.

5.1.1. Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales llevan siendo una parte integral del tratamiento múltiples neoplasias tanto sólidas como hematológicas. Interfieren en vías de supervivencia bloqueando factores de crecimiento, estimulan la citotoxicidad de varias células inmunológicas a través de los receptores de FcR presentes en células NK, macrófagos y granulocitos, o inducen apoptosis directamente^{2,11}.

Los anticuerpos cuando se unen a los antígenos de superficie de las células neoplásicas ocasionan la fagocitosis y la destrucción de dichas células, de este modo se liberan los antígenos intracelulares que eran inaccesibles a las APC anteriormente. Las APC al obtener acceso a dichos antígenos pueden desencadenar el inicio de una respuesta adaptativa persistente de linfocitos T citotóxicos que van a infiltrar el tumor.

Entre otros ejemplos, actualmente existen anticuerpos monoclonales dirigidos contra: receptores de membrana como CD20 (rituximab), factores de crecimiento como EGFR (cetuximab), HER2 (trastuzumab), VEGF (bevacizumab); proteínas estructurales del estroma y la matriz extracelular como FAP (sibrotuzumab) y tenascina (81C6)¹¹.

Otras herramientas terapéuticas que emplean anticuerpos son los inmunocombinados de anticuerpos monoclonales que incluyen radionúclidos, fármacos quimioterápicos, toxinas o enzimas para potenciar los efectos anti-tumorales. ^{90}Y -Ibritumomab y ^{131}I -tositumomab son dos ejemplos que poseen un radionúclido combinado con un anticuerpo frente a CD20 que han conseguido mejorar las tasas de respuesta y supervivencia de pacientes con linfoma no Hodgkin¹¹.

Por otra parte, se encuentran los anticuerpos biespecíficos. Éstos están contruidos para tener afinidad por dos sustratos simultáneamente al poseer dos regiones Fab distintas. Habitualmente tienen el propósito de activar directamente a los linfocitos T, uniéndose a CD3 y a antígenos tumorales concretos. El blinatumumab (anti-CD3/anti-CD19) es un representante recientemente aprobado por la FDA (Food & Drugs Administration) para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda¹¹.

5.1.2. Transferencia de células adoptivas

La inmunoterapia celular adoptiva se define como la transferencia a portadores de tumores de células inmunológicamente reactivas que pueden mediar directa o indirectamente una actividad anti-tumoral. El objetivo consiste en identificar células capaces de reconocer y eliminar las células tumorales para poder expandirlas *in vitro* a gran escala hasta obtener el número suficiente para conseguir el efecto deseado².

En la década de los 80 la atención se centro en las células LAK (*lymphokine-activated killer*), generadas por incubación de linfocitos no purificados, de una muestra obtenida de sangre periférica, bazo o conducto torácico con IL-2 recombinante. La mayoría de estas células LAK se originan a partir de células NK; por tanto, la lisis de células tumorales es inespecífica, sin restricción MHC. Demostraron ser capaces de reducir el tamaño del tumor en cánceres metastásicos, pero la severa toxicidad a la que expone la administración de IL-2 y la superioridad de las técnicas venideras han dejado esta modalidad en desuso^{11,26}.

Posteriormente, se crearon distintos protocolos de manipulación *ex vivo* de linfocitos T del paciente con los que se pretende sobrepasar la tolerancia hacia los antígenos tumorales que impone el microambiente tumoral y obtener grandes cantidades de linfocitos T efectores. Para lograr este propósito existen tres abordajes distintos: i)

selección y expansión de TIL, ii) transferencia génica de un TCR sintético (sTCR), o iii) inclusión de un CAR (*chimeric antigen receptor*)^{2,11,26}. Actualmente, sólo la terapia con linfocitos T CAR ha conseguido ser aprobada, mientras que el resto siguen en fase de ensayo clínico²³.

La reinfusión de los linfocitos T del propio paciente que infiltran el tumor, previa expansión *in vitro* y aplicación de un régimen de depleción linfocitaria, ha demostrado en el melanoma tasas de respuesta objetiva que varían desde 49 a 72%, con regresión tumoral completa en el 22% de los casos con una continuidad entre 37 y 82 meses¹³.

En vistas a mejorar la efectividad de la terapia adoptiva y a expandir sus indicaciones más allá del melanoma, los avances de la ingeniería genética han permitido obtener sTCR. Para ello se emplean métodos integradores como vectores virales o sistemas de transposones que portan las secuencias génicas del TCR de alta afinidad expresadas por los linfocitos T reactivos frente a un tumor, o métodos no integradores como la electroporación de mRNA que evitan los riesgos oncogénicos de la manipulación del DNA²⁶. Estas secuencias génicas pueden proceder de linfocitos T humanos o murinos, en el último caso se obtienen a partir de ratones transgénicos con MHC humano estimulados con injertos del tumor de un paciente². Posteriormente, se expande clonalmente *in vitro* dicha población de linfocitos T y se reinfunden en el paciente.

Los principales problemas de estas terapias radican en la dificultad técnica del procedimiento de selección y expansión clonal, la vida media corta de los linfocitos T tras la reinfusión, y la necesidad de individualizar el procedimiento a cada paciente debido a la restricción que impone el MHC para reconocer los antígenos². La depleción linfocitaria mediante quimioterapia o radioterapia previa a la transferencia de los linfocitos parece aumentar la eficiencia de la terapia por reducir la proporción de células inmunosupresoras así como generar espacio en los órganos linfoides para el hospedamiento de los linfocitos transferidos y aumentar los niveles de IL-7 e IL-15^{2,26}. Otra perspectiva de actuación para mejorar esta terapia está siendo la reprogramación metabólica de los linfocitos T hacia formas de memoria cuyo metabolismo oxidativo les confiere mayor supervivencia en el entorno tumoral (ver Figura 10)²¹.

La última novedad en este campo, y que atesora toda la atención actualmente, es la terapia con linfocitos T CAR, que consiste en la implementación de un receptor

diseñado artificialmente que presenta un dominio extracelular de reconocimiento y uno o más dominios de señalización intracelular. Habitualmente el dominio extracelular del CAR consiste en una única cadena del fragmento variable de un anticuerpo monoclonal específico para un antígeno tumoral, y el dominio de señalización citoplasmático en la cadena CD3 ζ del TCR (véase Figura 11). De este modo los linfocitos T CAR no requieren que las células tumorales procesen y presenten los antígenos en moléculas MHC para ejercer su función citotóxica. Los CAR de generaciones posteriores añaden dominios de señalización citoplasmática adicionales semejantes al de los receptores coestimuladores CD28, OX-40 o 4-1BB para independizarse de las APC en su activación. Incluso pueden ser manipulados para secretar artificialmente moléculas que modulen favorablemente el microambiente tumoral, incrementen su supervivencia o poder citotóxico^{2,11,23,26}. En agosto de 2017 se aprobó su uso para la leucemia linfoblástica aguda en pacientes pediátricos, y en adultos para linfomas no Hodgkin avanzados^{23,26}. Actualmente se siguen desarrollando numerosos ensayos clínicos donde se está evaluando la utilidad de los linfocitos T CAR contra neoplasias hematológicas adicionales (linfomas de linfocitos B, mieloma múltiple, leucemia linfoblástica crónica, leucemia mieloblástica aguda) y tumores sólidos (mesotelioma, carcinoma ductal pancreático, ovárico y derivados del sistema nervioso central) aunque en estos últimos es más complejo encontrar antígenos adecuados y suelen presentar entornos más inmunosupresores²⁶.

5.2. Inmunoterapia activa

La inmunoterapia activa consiste en estimular inespecífica o específicamente el sistema inmunológico del paciente para lograr que genere una respuesta inmune endógena con la que combatir al tumor.

La inmunoterapia activa inespecífica estimula a las células del sistema inmune globalmente. Una de las formas más antiguas y eficaces es la instilación de BCG para contra el carcinoma no invasivo de vejiga. Otra forma es el empleo de citoquinas recombinantes como IFN- α , en casos de leucemia mieloide crónica, tricoleucemia, linfomas de bajo grado, mieloma múltiple o tumores carcinoides entre otros; o IL-2 para melanoma metastásico o el carcinoma de células renales¹¹.

La inmunoterapia activa específica describe el proceso de vacunación contra un antígeno tumoral concreto y la consecuente activación de una respuesta inmune que sea potente y duradera con la finalidad de obtener un control duradero de la enfermedad neoplásica. Se han probado distintos modos de proveer estos antígenos como: la inyección de antígenos tumorales purificados, fragmentos peptídicos bien definidos de antígenos específicos, o la expresión de antígenos tumorales en vectores virales^{2,6}.

Para preparar una vacuna tumoral correctamente se requiere la consideración de varios aspectos como: la selección del antígeno tumoral adecuado, el uso de adyuvantes que faciliten el procesamiento y presentación por APC e induzcan respuestas preferentemente T_h1, el vehículo de transferencia óptimo, y la vía de administración. Aunque habitualmente se han empleado vectores virales atenuados, actualmente se está optando por la vía técnicamente más compleja del cebado *ex vivo* de DC con el antígeno al que inmunizar^{6,11}.

Numerosos ensayos clínicos se han llevado a cabo con vacunas con resultados generalmente ambiguos. Tan solo una vacuna se ha aprobado en EEUU, en 2010, para el tratamiento del cáncer de próstata refractario al tratamiento hormonal: sipuleucel-T^{2,6,11}. Sipuleucel-T es una vacuna obtenida a partir del cebado *ex vivo* de DC autólogos con el antígeno fosfatasa ácida prostática (PAP) que se inyecta en el paciente para estimular la respuesta de linfocitos T^{2,6,9,11}. Otras vacunas como el tecemotide, contra el carcinoma pulmonar no microcítico irreseccable, o el algenpantucel-L, frente carcinoma pancreático, se han evaluado infructuosamente⁶. El limitado beneficio clínico es probable que se deba a la incapacidad de sobrepasar los mecanismos inmunosupresores del entorno tumoral; a pesar de que, en el mejor de los casos, sean capaces de promover la activación y proliferación clonal de linfocitos T CD8⁺ reactivos. Este hecho ha abierto el estudio de regímenes terapéuticos en combinación con otros agentes inmunomoduladores como los antagonistas de los *immune checkpoints*^{6,9}.

5.3. Inmunomodulación

La inmunomodulación es la terapia que consiste en el uso de agentes que actúan regulando las características de la respuesta inmunológica del paciente. En el contexto de la terapia contra el cáncer, se ha ensayado el empleo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra *immune checkpoints*.^{2,11}

5.3.1. Antagonismo de *immune checkpoints*. CTLA-4 y PD-1.

A pesar de que se han constatado respuestas inmunológicas endógenas contra el cáncer en modelos preclínicos y en pacientes, esta respuesta en ocasiones no suele ser suficiente debido a que los tumores inducen en su periferia un estado de tolerancia entre los linfocitos T activados tumor-específicos⁶. La expresión tumoral de ligandos de *immune checkpoints* es la responsable de comprometer la funcionalidad efectora de las células inmunitarias, fundamentalmente de los linfocitos T citotóxicos. Por lo tanto, se ha diseñado una estrategia que tiene el propósito de salvar dicho mecanismo mediante el bloqueo o el antagonismo de los *immune checkpoints* que inician vías de inhibición (ver Figuras 6 y 8)^{2,6,9,11,18,27,28}. Nos centraremos en CTLA-4 y PD-1 por ser los más relevantes en el panorama de la Inmuno-Oncología hoy día²⁹.

CTLA-4 es un receptor de segunda señal que regula negativamente las respuestas inmunitarias para equilibrar el alcance, la potencia y duración de las mismas, y en el contexto tumoral tiene relevancia por inhibir la activación de los linfocitos T. Los anticuerpos diseñados frente a CTLA-4 fueron los pioneros en lo referente a la estrategia de bloqueo de *immune checkpoints*. El primero de estos anticuerpos fue aprobado por la FDA en 2011, con el nombre de ipilimumab, como tratamiento de primera línea junto con dacarbazina frente a melanoma en pacientes con metástasis. Su aprobación se basó en ensayos clínicos de fase III que mostraron una prolongación de la mediana de supervivencia de 4 meses, una supervivencia al año del 44%, y tasas de respuesta tumoral de 10,9%^{2,9,17,18,28,30,31}. Un metaanálisis que incluía los ensayos clínicos de ipilimumab de los últimos 10 años mostró que hasta el 20% de los pacientes incluidos obtuvieron remisiones a largo plazo⁶.

La experiencia con anticuerpos anti-CTLA-4 demuestra la utilidad de su empleo en el melanoma metastásico en varios diseños^{6,9,11,17,18}. Ipilimumab es útil en monoterapia y aumenta el beneficio clínico en combinación con regímenes de quimioterapia³¹, vacuna frente a gp100⁶, o con anti-PD-1 a expensas de un perfil de toxicidad peor^{27,28,32}. Actualmente se está explorando la utilidad de los anticuerpos anti-CTLA-4 en más tipos de cáncer como el carcinoma pulmonar no microcítico, o el carcinoma de células renales^{11,18}, el cáncer prostático, pancreático y neoplasias hematológicas¹⁷; y en regímenes de combinación variados aprovechando el efecto sinérgico con otras estrategias terapéuticas cuyos mecanismos de acción no se solapan^{18,27}.

Un hallazgo interesante en relación al tratamiento con anti-CTLA-4 es la cinética o patrón de respuesta del tumor. Tradicionalmente con la quimioterapia, se han usado los criterios RECIST para correlacionar los patrones de respuesta radiológica con los beneficios clínicos, sin embargo no son apropiados para examinar los resultados de la inmunoterapia con agentes bloqueadores de *immune checkpoints*^{17,18,27}. Esto es debido a que es habitual ver en pacientes respondedores un leve aumento de la carga tumoral total, o incluso aparición de lesiones nuevas ocultas a la radiología, antes de evidenciar un descenso significativo^{17,18}. En consecuencia se han formulado unos criterios irRC (*immune-related response criteria*) específicos para el uso de anticuerpos contra *immune checkpoints* (ver Tabla 4).

A pesar de los prometedores resultados de este agente inmunoterápico, el perfil de toxicidad es algo a tener en seria consideración. Existe una alta tasa de exposición a reacciones adversas de tipo inmunológico (irAE) en los pacientes que reciben este tratamiento, ya observada en modelos murinos. El bloqueo de CTLA-4, y otros *immune checkpoints* genera un espectro de toxicidades relacionadas con la activación inespecífica del sistema inmunológico que se manifiestan en la inflamación de múltiples tejidos (ver Tabla 5)^{18,27,32,33}. Hasta un 80% de los pacientes pueden experimentar algún irAE, lo que sucede generalmente tras los primeros 3 ó 4 meses de terapia³². Los síntomas constitucionales como la fatiga, y las dermatopatías son los eventos más frecuentes y precoces. Otros eventos como las endocrinopatías son más infrecuentes y se instauran progresivamente^{18,27,32}. Se ha reportado la existencia del riesgo aumentado de sufrir un cuadro grave de enterocolitis inducido por anti-CTLA-4 que comparte similitudes con la enfermedad inflamatoria intestinal, probablemente debido a la interferencia sobre la comunicación entre la microbiota intestinal y la inmunidad del tracto digestivo inferior, especialmente las DC³³. De acuerdo a la gravedad de los irAE el manejo implica habitualmente medidas de soporte, control con corticosteroides, y la retirada del fármaco en casos severos (ver Tabla 5). El uso de dosis altas de corticosteroides y de inhibidores de TNF está pobremente evaluado pero se recomiendan en casos graves y en enterocolitis³².

El siguiente *immune checkpoint* empleado como diana terapéutica fue PD-1/PD-L. Nivolumab y pembrolizumab son dos anticuerpos anti-PD-1 que fueron aprobados por la FDA en 2014 para el tratamiento del melanoma en pacientes con enfermedad metastásica que progresa tras el uso de ipilimumab o, en el caso de poseer mutaciones

de BRAFV600, de un inhibidor de BRAF^{6,9,17,27}. Posteriormente, se ampliaron las indicaciones de ambos de ambos al carcinoma pulmonar no escamoso no microcítico, y para nivolumab al carcinoma de células renales⁹. El uso de nivolumab ha demostrado tasas de respuesta tumoral en múltiples tipos de cáncer. Incrementa la tasa de respuesta en el melanoma tras el uso de ipilimumab^{6,17,27,28}, es superior a docetaxel frente al carcinoma pulmonar escamoso no microcítico^{6,17,28}, ha demostrado actividad frente al carcinoma pulmonar no escamoso no microcítico y el carcinoma renal de células claras^{27,28}, y tasas de respuesta tumoral del 87% en el caso del linfoma tipo Hodgkin^{6,28}. El bloqueo de PD-L1 está siendo investigado asimismo como inmunoterapia para varios tipos de tumor. Atezolizumab está atesorando experiencia positiva sobre su uso en otros carcinomas como colorrectales, gástricos, y de cabeza y cuello⁹. En la línea de los anticuerpos anti-CTLA-4, la terapia frente a PD-1/PD-L1 es capaz de generar respuestas potentes y duraderas.

El perfil de seguridad de la terapia con anticuerpos anti-PD-1 es notablemente mejor que en el bloqueo de CTLA-4^{9,17,27}. En consonancia con su modo de acción también se relaciona con irAE, sin embargo, éstos son menos habituales y de menor gravedad que con anticuerpos anti-CTLA-4^{27,32}. Destacan las artralgias y las erupciones cutáneas, y la descripción de un evento grave, aunque infrecuente, que no surge con CTLA-4: la neumonitis (3%)^{17,32}.

La inmunoterapia ha emergido como una opción viable y potencialmente revolucionaria de tratamiento frente al cáncer. Sin embargo, la terapéutica actual dista todavía de ser una solución definitiva debido al entendimiento limitado, aunque incipiente, de la complejidad de la interacción inmunológica con el tumor, y de los mecanismos responsables. Además, el diseño de estrategias efectivas se ve comúnmente entorpecido por la heterogeneidad no sólo entre individuos sino también dentro del tumor de un mismo individuo que obliga a incorporar tratamientos combinados que actúen sinérgicamente por distintas vías. Esta heterogeneidad es responsable de los modestos resultados en cuanto a tasas de respuesta evaluados globalmente; sin embargo, en los pacientes respondedores la inmunoterapia se caracteriza por generar respuestas duraderas¹⁷. Es por esto que se debe insistir en desvelar los aspectos de la biología tumoral y su relación con el sistema inmunológico para obtener biomarcadores válidos que permitan estratificar a priori la idoneidad de los pacientes para recibir

inmunoterapia^{8,13,28}. La presencia de PD-L1 en el tumor o de linfocitos T CD8⁺ infiltrantes se están postulando como posibles predictores de respuesta pero no están claramente definidos^{6,8}. Además, no hay que olvidar que la inmunoedición tumoral también tiene lugar como consecuencia de la presión que ejercen las inmunoterapias sobre la población de células tumorales⁶.

Esta heterogeneidad entre individuos está ilustrada por el hecho de que sólo un número reducido de pacientes generan respuestas espontáneas de linfocitos T CD8⁺ tumor-específicos, mientras que la gran mayoría no^{8,13,27,28}. De este modo, se están tratando comprender y sistematizar las causas que explican la heterogeneidad de las respuestas inmunológicas para obtener marcadores predictores de la respuesta y/o pronóstico, y generar esquemas terapéuticos racionales (ver Figura 12).

Por un lado tenemos, i) el perfil de mutaciones somáticas que tiene el tumor, puesto que hay oncogenes implicados en la regulación de genes relacionados con el funcionamiento del sistema inmune. En el melanoma la activación aberrante de los oncogenes STAT3, PI3K, Notch o β -catenina, aunque menos habituales que otros, se asocia a evasión de la respuesta inmunológica y a progresión de la enfermedad^{13,28,27}. Otro factor relacionado son ii) el nivel de polimorfismos germinales en genes reguladores del sistema inmune. La estimulación de la respuesta inmunológica está regulada por múltiples interacciones a distintos niveles cuyo fino equilibrio puede ser perturbado por polimorfismos en los genes responsables de esas interacciones^{8,13}. Por último, podría tener influencia iii) la relación con el medio ambiente. Recientes descubrimientos parecen implicar la composición de la microbiota intestinal con la regulación de las respuestas inmunes sistémicas. Los distintos patógenos pueden cambiar el estado de activación y el tamaño de las subpoblaciones de linfocitos T, pero permanece incierta su asociación con la presencia o ausencia de una respuesta anti-tumoral^{7,8,12,13}.

6. Conclusiones

1. El sistema inmunológico puede reconocer a las células neoplásicas por ser inmunogénicas y/o dañinas e inicia una respuesta inmune donde los linfocitos T ejercen un papel central.

2. El comportamiento de las células inmunológicas en la biología tumoral es un arma de doble filo que depende del contexto, cuyas circunstancias necesitan ser investigadas en profundidad.

3. Las células cancerígenas pueden escapar de los mecanismos de vigilancia del sistema inmunológico, entre otras causas, por la presión que ejerce el mismo o por mutaciones que sufren las células espontáneamente.

4. La inmunoterapia pretende proveer los medios necesarios para reconocer y destruir las células cancerígenas sobrepasando sus estrategias de evasión.

5. El bloqueo de *immune checkpoints* y la terapia con linfocitos T CAR ofrecen resultados muy prometedores aunque la actual tasa de pacientes que responden exige la investigación de biomarcadores válidos de pronóstico y predicción.

7. Bibliografía

1. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Rev Immunol.* 2002;3(11):991-8. Doi: 10.1038/ni1102-991

2. Riether C, Schurch C, Ochsenbein AF. From magic bullets to specific cancer immunotherapy. *Swiss Med Wkly.* 2013;143:w13734. Doi: 10.4414/smw.2013.13734

3. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331(6024):1565-70. Doi: 10.1126/science.1203486

4. Narendra BL, Reddy KE, Shantikumar S, Ramakrishna S. Immune system: a double-edged sword in cancer. *Inflamm Res.* 2013;62(9):823-34. Doi: 10.1007/s00011-013-0645-9

5. Mapara MY, Sykes M. Tolerance and cancer: mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance. *J Clin Oncol.* 2004;22:1136–51. Doi: 10.1200/JCO.2004.10.041
6. Muenst S, Laubli H, Soysal SD, Zippelius A, Tzankov A, Hoeller S. The immune system and cancer evasion strategies: therapeutic concepts. *J Intern Med.* 2016;279(6):541-562. Doi: 10.1016/j.coi.2014.01.004
7. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:16-25. Doi: 10.1016/j.coi.2014.01.004
8. Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive and mechanistic signatures. *Immunity.* 2013; 39(1):11-26. Doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.008
9. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med.* 2016;14:73-016-0623-5. Doi: 10.1186/s12916-016-0623-5
10. North RJ. Down-regulation of the antitumor immune response. *Adv Cancer Res.* 1985; 45:1-43. Doi: 10.1016/S0065-230X(08)60265-1
11. Sukari A, Nagasaka M, Al-Hadidi A, Lum LG. Cancer Immunology and Immunotherapy. *Anticancer Res.* 2016 Nov;36(11):5593-5606. Doi: 10.21873/anticancer.11144
12. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013; 39(1):1-10. Doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
13. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* 2013;14(10):1014-22. Doi: 10.1038/ni.2703
14. Begoña M, Sureda M, Rebollo J. Dendritic cells I: basic biology and functions. *Inmunología.* 2011;31:21-30. Doi: 10.1016/j.inmuno.2011.10.001
15. Matzinger P. The evolution of the danger theory [interview]. *Expert Rev Clin Immunol.* 2012;8(4):311-7. Doi: 10.1586/eci.12.21

16. Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, Woo SR, Kranz DM, Murphy KM et al. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8⁺ T cell responses through CD8⁺ dendritic cells. *J Exp Med*. 2011;208(10):2005-16. Doi: 10.1084/jem.20101159
17. Lesokhin AM, Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD. On being less tolerant: enhanced cancer immunosurveillance enabled by targeting checkpoints and agonists of T cell activation. *Sci Transl Med*. 2015;7(280):280sr1. Doi: 10.1126/scitranslmed.3010274
18. Mocellin S, Nitti D. CTLA-4 blockade and the renaissance of cancer immunotherapy. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1836(2):187-196. Doi: 10.1016/j.bbcan.2013.05.003
19. Pillai S, Netravali IA, Cariappa A, Mattoo H. Siglecs and immune regulation. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:357-92. Doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075018
20. Liu K. Role of apoptosis resistance in immune evasion and metastasis of colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2010;2(11):399-406. Doi: 10.4251/wjgo.v2.i11.399
21. Dagnani E, Pasquale V, Bordignon C, Canu A, Piemonti L, Monti P. Integrating T cell metabolism in cancer immunotherapy. *Cancer Lett*. 2017 Dec 28;411:12-18. Doi: 10.1016/j.canlet.2017.09.039
22. Ni L, Dong C. New checkpoints in cancer immunotherapy. *Immunol Rev*. 2017 Mar;276(1):52-65. Doi: 10.1111/imr.12524
23. Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(5):273-290. Doi: 10.1038/nrclinonc.2016.25
24. Guzmán-Flores JM, Portales-Pérez DP. Mechanisms of suppression of regulatory T-cells (Treg). *Gac Med Mex*. 2013;149(6):630-8.
25. Nagaraj S, Schrum AG, Cho HI, Celis E, Gabrilovich DI. Mechanism of t-cell tolerance induced by myeloid-derived suppressor cells. *J Immunol*. 2010;184(6):3106-16. Doi: 10.4049/jimmunol.0902661

26. Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):566-581. Doi: 10.1038/nrc.2016.97
27. Callahan MK, Wolchok JD. At the bedside: CTLA-4- and PD-1-blocking antibodies in cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol*. 2013 Jul;94(1):41-53. Doi: 10.1056/NEJMoa1003466
28. Voena C, Chiarle R. Advances in cancer immunology and cancer immunotherapy. *Discov Med*. 2016;21(114):125-133.
29. Tang J, Shalabi A, Hubbard-Lucey VM. Comprehensive analysis of the clinical immuno-oncology landscape. *Ann Oncol*. 2018 Jan 1;29(1):84-91. Doi: 10.1093/annonc/mdx755.
30. 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 Aug 19;363(8):711-723. Doi: 10.1056/NEJMoa1003466
31. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2011 Jun 30;364(26):2517-2526. Doi: 10.1056/NEJMoa1104621
32. Abdel-Wahab N, Alshawa A, Suarez-Almazor ME. Adverse Events in Cancer Immunotherapy. *Adv Exp Med Biol*. 2017;995:155-174. Doi: 10.1007/978-3-319-53156-4_8
33. Marthey L, Mateus C, Mussini C, Nachury M, Nancey S, Grange F, et al. Cancer Immunotherapy with Anti-CTLA-4 Monoclonal Antibodies Induces an Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2016 Apr;10(4):395-401. Doi: 10.1093/ecco-jcc/jjv227
34. 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 Jul 11;369(2):122-133. Doi: 10.1056/NEJMoa1302369

8. Índice de abreviaturas

- 2DG. *2-deoxy-D-glucose*.
- ADCC. *Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*.
- AMPK. *5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase*.
- APC. *Antigen-presenting cell*.
- ATP. Adenosina trifosfato.
- BTLA. *B-and-T lymphocyte attenuator*.
- CAR. *Chimeric antigen receptor*.
- CAR. *Chimeric antigen receptor*.
- CCL. *CC chemokine ligand*.
- CCR. *CC chemokine receptor*.
- CD. *Cluster of differentiation*.
- CDKN2A. *Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*.
- CDn°. *Cluster of differentiation*.
- CEACAM. *Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules*.
- CSC. *Cancer stem cell*.
- CSF-1. *Colony stimulating factor-1*.
- CTLA-4. *Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*.
- CXCL. *C-X-C chemokine ligand*.
- CXCL. *Chemokine (c-x-c motif) ligand*.
- CXCR. *C-X-C chemokine receptor*.
- CYP1A1. Aril-hidrocarburo-hidroxilasa.
- DAMP. *Damage-associated molecule pattern*.
- DC. *Dendritic cell*.
- DISC. *Death-induced signaling complex*
- DMBA. 7-12,dimetilbenzantraceno.
- DNA-PK. DNA proteína quinasa.
- Drp-1. *GTPase dynamin-related protein 1*.
- EGFR. *Epidermal growth factor receptor*.
- ERK. *Extracellular signal-regulated kinases*.
- ETC. *Electron transport chain*.
- FAO. *Fatty acid oxidation*.
- FAP. *Fibroblast activator protein*.
- FAS. *First apoptosis signal receptor*.
- FASL. *First apoptosis signal ligand*.
- FDA. *Food and Drugs Administration*.
- FGF. *Fibroblast growth factor*.
- FOXP3. *Forkhead box P3*.
- GAL-9. *Galectin-9*.
- GITR. *Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor*.
- GLUT1. *Glucose transporter 1*.
- GNLY. *Granulysin*.
- GZM. *Granzyme*.
- HER2. *Human epidermal growth factor receptor 2*.
- HVEM. *Herpesvirus entry mediator*.
- ICAM-1. *Intercellular adhesion molecule 1*.
- ICAM. *Intercellular adhesion molecule*.
- ICD. *Immunogenic cell death*.
- ICOS. *Inducible T-cell costimulator*.
- IDO. Indolamina dioxigenasa.
- IFN- γ -SG. *Interferon- γ -stimulated genes*
- IFN- γ . Interferón- γ .

IFNGR1. *Interferon- γ receptor 1.*

IgSF. *Immunoglobulin superfamily.*

IL. *Interleuquina.*

irAE. *Immune-related adverse event.*

IRF1. *Interferon regulatory factor 1.*

KIR. *Killer immunoglobulin-like receptor.*

KIR. *Killer-cell immunoglobulin-like receptor.*

LAG-3. *Lymphocyte activation gene 3.*

LAK. *Lymphokine-activated killer.*

LFA-1. *Lymphocyte function-associated antigen 1.*

LIGHT. *Lymphotoxin, exhibits Inducible expression, and competes with herpes simplex virus Glycoprotein D for HVEM, a receptor expressed by T lymphocytes.*

MADCAM. *Mucosal vascular addressin cell adhesion molecule.*

MCA. *Metilcolantreno.*

MCP-1. *Monocyte chemotactic protein 1.*

MDSC. *Myeloid-derived suppressor cells.*

MHC. *Major histocompatibility complex.*

MICA/B. *MHC class I chain-related protein A/B.*

mTOR. *Mammalian target of rapamycin.*

NAD. *Nicotinamida adenina dinucleótido.*

NADPH. *Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido.*

NCR. *Natural cytotoxicity receptor.*

NF- κ B. *Nuclear factor κ B.*

NK. *Natural killer cell.*

NKG2D. *Natural killer group 2 member D.*

NKT. *Natural killer T cell.*

NO. *Óxido nítrico.*

PD-1. *Programmed cell death protein 1.*

PD-L1/2. *Programmed cell death ligand 1/2.*

PGE2. *Prostaglandina E2 (dinoproston).*

PI3K. *Phosfoinositide 3-kinase.*

PPAR α . *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha.*

PRF1. *Perforin 1.*

PRR. *Pattern recognition receptor.*

PTEN. *Phosphatase and tensin homolog.*

RAG. *Recombination activating gene.*

RANTES. *Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted.*

SCID. *Severe combined immunodeficiency.*

SIGLEC. *Sialic acid-binding immunoglobulin-like receptor.*

STAT. *Signal transducer and activator of transcription.*

TAA. *Tumour-associated antigen.*

TBX21. *T-box transcription factor 21.*

TCR. *T-cell receptor.*

TGF- β . *Transforming growth factor beta.*

T_h. *Helper T cell.*

TIL. *T-lymphocyte infiltrating tumor.*

TIM-3. *Type I transmembrane immunoglobulin and mucin 3.*

TLS. *Tertiary lymphoid structures.*

TNFRSF. *Tumoral necrosis factor receptor superfamily.*

TRAIL. *TNF-related apoptosis-inducing ligand.*

Treg. *Regulatory T cell*

TSA. *Tumour-specific antigen.*

VCAM-1. *Vascular cell adhesion molecule 1.*

VCAM. *Vascular cell adhesion molecule.*

VEGF. *Vascular endothelial growth factor.*

VISTA. *V-domain Ig suppressor of T cell activation.*

VLA-4. *Very late antigen 4.*