

VACUNAS TERAPÉUTICAS ANTITUMORALES BASADAS EN CÉLULAS DENDRÍTICAS

MANGLIO RIZZO¹, LAURA ALANIZ^{2*}, GUILLERMO D. MAZZOLINI^{1*}

¹Laboratorio de Terapia Génica y Celular, Instituto de Investigaciones Médicas Aplicadas-CONICET, Universidad Austral, Derqui-Pilar, ²Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de Buenos Aires (CIT NOBA), Buenos Aires, Argentina

Resumen En los últimos años la inmunoterapia ha revolucionado el tratamiento de pacientes con cáncer avanzado. El mayor conocimiento de la biología tumoral y de la inmunología ha permitido desarrollar tratamientos racionales manipulando el sistema inmunitario con importante impacto clínico. Entre otras estrategias de inmunoterapia contra el cáncer se ha explorado el uso de vacunas terapéuticas basadas en células dendríticas (CD). Las CD son células de origen hematopoyético, que expresan constitutivamente moléculas presentadoras de antígeno, y son funcionalmente las inductoras más potentes de la activación y proliferación de linfocitos T a los que presentan antígenos. Los linfocitos T CD8⁺ proliferan y adquieren capacidad citotóxica cuando reconocen su antígeno específico presentado en la superficie de CD, aunque solo algunos tipos de CD pueden presentar antígenos internalizados desde el exterior celular a precursores de linfocitos T citotóxicos (a esta función se la llama presentación cruzada). Explotar la inducción de una respuesta inmunitaria adaptativa eficaz se considera una buena opción por su especificidad y prolongada duración de la respuesta. Las CD, gracias a su particular capacidad de presentación antigénica y de estimulación linfocitaria, son capaces de revertir la respuesta inmunitaria antitumoral deficiente que presentan algunos pacientes con cáncer. Las CD se pueden obtener a partir de distintas fuentes, empleando diversos protocolos para generar diferenciación y maduración, y se administran por diversas vías como son subcutánea, intravenosa o intranodal. La gran variedad de protocolos en los que se aplican las CD explica los resultados clínicos tan heterogéneos que se han comunicado hasta la fecha.

Palabras clave: cáncer, células dendríticas, vacunas terapéuticas

Abstract *Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines.* In recent years immunotherapy has revolutionized the treatment of patients with advanced cancer. The increased knowledge in the tumor immunobiology has allowed developing rational treatments by manipulation of the immune system with significant clinical impact. This rapid development has significantly changed the prognosis of many tumors without treatment options up to date. Other strategies have explored the use of therapeutic vaccines based on dendritic cells (DC) by inducing antitumor immunity. DC are cells of hematopoietic origin, constitutively expressing molecules capable to present antigens, that are functionally the most potent inducers of the activation and proliferation of antigen specific T lymphocytes. The CD8⁺ T cells proliferate and acquire cytotoxic capacity after recognizing their specific antigen presented on the surface of DC, although only some types of DC can present antigens internalized from outside the cell to precursors of cytotoxic T lymphocytes (this function is called cross-presentation) requiring translocation mechanisms of complex antigens. The induction of an effective adaptive immune response is considered a good option given its specificity, and prolonged duration of response. The DC, thanks to its particular ability of antigen presentation and lymphocyte stimulation, are able to reverse the poor antitumor immune response experienced by patients with cancer. The DC can be obtained from various sources, using different protocols to generate differentiation and maturation, and are administered by various routes such as subcutaneous, intravenous or intranodal. The wide variety of protocols resulted in heterogeneous clinical responses.

Key words: cancer, dendritic cells, therapeutic vaccines

Las células dendríticas (CD) fueron descritas por primera vez por Paul Langerhans a finales del siglo

XIX. Sin embargo, quienes describieron sus funciones inmunológicas fueron Ralph Steinman y Zanvil Cohn en 1973. Su nombre particular se basa en que la observación microscópica de estas células destaca la presencia de prolongaciones parecidas a las dendritas neuronales. Las investigaciones de Steinman reflejaron que las CD eran capaces de activar linfocitos T (LT) que no habían tenido una experiencia previa con el antígeno¹⁻³. Estos aportes a la medicina le valieron al Prof. Steinman el premio Nobel de medicina en el año 2011.

Recibido: 9-III-2016

Aceptado: 4-V-2015

*Investigadores del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

Dirección postal: Dr. Guillermo D. Mazzolini, Laboratorio de Terapia Génica, Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Austral, Av. Pte. Perón 1500, 1629 Derqui-Pilar, Buenos Aires, Argentina
e-mail: gmazzoli@austral.edu.ar

Células presentadoras de antígeno profesionales: células dendríticas

Uno de los importantes nexos entre la respuesta inmunitaria innata y la adaptativa son las células presentadoras de antígeno (CPA). Estas células son capaces de entrar en contacto, endocitar, procesar y presentar un antígeno promoviendo una respuesta inmunitaria específica (Fig. 1). Si bien los macrófagos y linfocitos B (LB) pueden cumplir esta función, las únicas células con capacidad de estimular LT que no tuvieron contacto previo con el antígeno (LT *naive*) son las CD¹. Estas tienen su origen en las células hematopoiéticas de la médula ósea. Se distinguen dos tipos de CD: las CD mieloides y las CD plasmocitoides². Las primeras migran desde la médula ósea por el torrente sanguíneo, en su mayoría en forma de precursores (monocitos), hacia diversos tejidos donde se diferencian y residen como CD inmaduras (CDi)³. Estas células se caracterizan por poseer una gran superficie de contacto con su entorno gracias a prolongaciones citoplasmáticas que les dan la posibilidad de captar antígenos presentes en el medio⁴. En este estado de inmadurez, las CD se especializan en internalizar material antigénico tanto exógeno como endógeno gracias a una maquinaria preparada para el proceso endocítico⁵ a través de receptores de superficie⁶ como receptores de complemento, receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas (CD32), receptores tipo lectina C (CD209, CD205, BDCA, langerina, receptores de manosa) y receptores tipo *sca- venger* (LOX-1, CD91, CD36)⁷. Paralelamente a esta

característica, las CD expresan en baja intensidad las moléculas presentadoras de antígeno del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II (MCH-I y MHC-II) y de moléculas de co-estimulo como CD40, CD80 y CD86.

En este estado inmaduro, las CD son capaces de inducir y sostener la tolerancia frente a antígenos propios, proceso que se hace de manera constante y tiene por resultado que los linfocitos T que reciben esta información y que reconocen los autoantígenos entran en muerte celular o tolerancia⁸ eliminándose el repertorio de reconocimiento de linfocitos T con capacidad de autorreactividad. Es decir, que si un antígeno es presentado a los linfocitos por CDi puede generar la delección o anergia clonal del LT y/o inducir linfocitos T reguladores (LTreg)⁹. Por el contrario, cuando el antígeno o agente patógeno es endocitado en un contexto pro-inflamatorio las CDi sufren un profundo cambio fenotípico y funcional denominado "maduración". Incluso parte de los monocitos que ingresan al tejido inflamado se pueden diferenciar *in situ* en CD. Durante el mismo disminuyen su capacidad de endocitosis, cambian el patrón de expresión de moléculas de adhesión y de quemoquinesis adquiriendo mayor movilidad y sensibilidad a quemoquinas presentes en el ganglio linfático, aumentando la expresión de moléculas implicadas en el proceso de presentación antigénica y estimulación linfocitaria, como lo son el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo II (CMH-II) y las moléculas co-estimuladoras CD40, CD83, CD80, CD86. Estas glicoproteínas de membrana brindan capacidad para estimular linfocitos T que reconocen sobre las CD su antígeno espe-

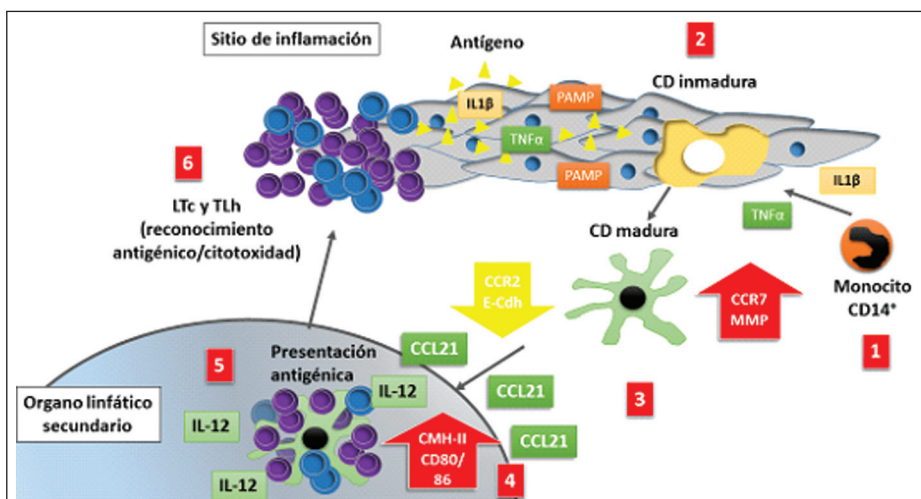


Fig. 1. – **Respuesta inmunitaria específica.** (1) Las células precursoras de células dendríticas (monocitos CD14+) migran a sitios de inflamación atraídos por moléculas como IL-1 β y TNF- α . (2) Allí se diferencian a células dendríticas (CD), capturan el antígeno, (3) adquieren mayor capacidad de migrar al ganglio linfático e (4) incrementan la expresión de moléculas de co-estimulo como CD80/CD86, CD40 e ICAM (5) En el ganglio linfático realizan la presentación antigénica y estimulación linfocitaria con reactividad antígeno específica. (6) Estos migran al lugar de inflamación donde reconocerán su tido blanco. LTc: linfocito T citotóxico; LTh: linfocito T helper; MMP: metaloproteasas.

cífico. Asimismo, la CD madura incrementa su capacidad para secretar diversas citoquinas como IL-12, IL-15, IFN alfa. Si bien todas son importantes, la IL-12 participa en la inducción de una respuesta de linfocito T de tipo *helper* con capacidad de secretar IFN gamma, denominados Th1, y de inducir la activación de linfocitos T citotóxicos efectoriales¹⁰. Todos estos cambios adaptativos facilitan su migración al ganglio linfático regional y la capacidad para realizar una presentación antigénica eficaz a los LT¹¹⁻¹³.

Procesamiento antigénico

Los antígenos alcanzan el citosol o vesículas citoplasmáticas de las CD a través de dos rutas principales. Los virus, y las bacterias de replicación intracelular, son procesados a través de una “vía endógena o citosólica”. Todas las células nucleadas del organismo son capaces de realizar este tipo de procesamiento antigénico. Durante el mismo, la proteína a degradar es ubiquitinizada mediante la acción del complejo ubiquitinizante haciéndola susceptible a la acción del proteosoma, que degrada proteínas marcadas por ubiquitina. Los productos finales de su acción son péptidos de 8-10 aminoácidos pasibles de ser ligados al CMH-I para su posterior presentación antigénica a LT CD8⁺¹⁴.

Por el contrario, la mayoría de las bacterias y parásitos que proliferan en el espacio extracelular, así como partículas virales presentes en este sitio, son procesados por “vía endocítica”. Luego de su internalización por fagocitosis,

endocitosis mediada por receptor o macropinocitosis, los antígenos son digeridos a péptidos de entre 13-18 aminoácidos por enzimas especializadas en el endosoma generado. Luego, estos endosomas se fusionan con la vacuola que contiene el CMH-II. Así el complejo péptido ligado al CMH-II es transportado a la membrana citoplasmática para ser presentado a los LT CD4⁺. Solo las CPA son capaces de realizar este proceso¹⁵ (Fig. 2).

Migración

Las CD luego de capturar, y a la vez que procesan el antígeno, migran a los órganos linfáticos secundarios donde realizan la presentación antigénica. Este proceso, en la mayoría de los casos, sucede en respuesta a estímulos pro-inflamatorios ya sea de origen químico (ej: sensibilizadores de contacto o irritantes), físico (ej: rayos UV o trauma) o biológicos (ej: microbios o tejidos necróticos). Estos estímulos inducen cambios “madurativos” en las CD que, entre otros aspectos funcionales, le otorgan la capacidad de movilizarse a través de la matriz extracelular mediante la secreción de enzimas, modificando la expresión de moléculas implicadas en la adhesión celular y quimioquinesis.

El eje quimiotáctico más estudiado en este contexto está conformado por el receptor de membrana CCR7 y sus ligandos CCL19-CCL21¹⁶. CCR7 se expresa en CD maduras y se activa en respuesta a la quimiocina CCL19 (proteína inflamatoria de macrófago o MIP-3β) y CCL21

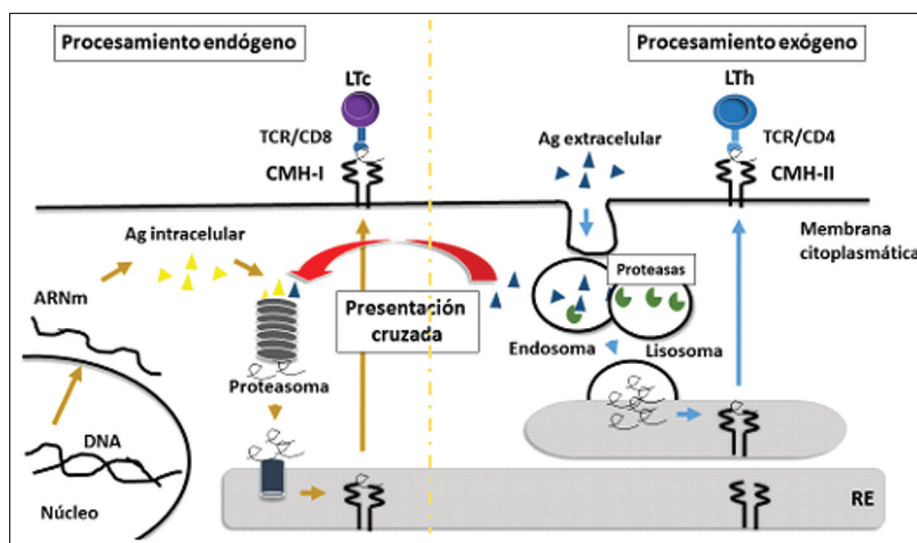


Fig. 2.– **Procesamiento y presentación antigénica.** Se muestra el procesamiento de antígenos endógenos, exógenos, y la presentación antigénica cruzada, o cross presentation, que ocurre en células presentadoras de antígeno. LTc: linfocito T citotóxico; LTh: linfocito T helper; CMH: complejo mayor de histocompatibilidad; Ag: antígeno; RE: retículo endoplásmico.

(quimiocina linfoide secundaria o SLC)¹⁷⁻¹⁹, expresadas por células endoteliales linfáticas y del estroma del ganglio linfático. De esta manera, ante un estímulo madurativo, las CD migran al ganglio linfático regional por quemoatracción. De manera complementaria, y en algún caso supletoria, se producen otros cambios funcionales en las CD como la disminución de la expresión de receptores de quimiocina que las retienen en sitios de inflamación, por ejemplo CCR2; disminuyen la expresión de moléculas relacionadas con la adhesión a la matriz extracelular como E-Caderina²⁰, aumentan la expresión de moléculas que degradan la matriz extracelular o que facilitan su motilidad a través de ella como metaloproteasas (MMP) 2 y 9, CD38²¹ y TIMP-2^{22, 23}. Además, se ha descrito que la migración de CD hacia los órganos linfáticos secundarios puede ser mediada por la activación de CXCR4 de forma independiente a CCR7²⁴. CXCR4 es un receptor de membrana expresado por CD activadas cuyo ligando es CXCL-12. Este se sobreexpresa en vasos linfáticos en situaciones de inflamación²⁴. Como resultado final, las CD estimuladas se desprenden del sitio de inflamación y migran a través del intersticio, atraviesan el endotelio linfático y se dirigen a la zona T del GL donde se pondrán en contacto con LT naive para hacer la presentación antigénica correspondiente.

Por otra parte, existe una menor proporción de CD que migran al GL sin haber sido expuestas a un estímulo proinflamatorio, presentando un aumento en la expresión de CCR7 sin los cambios típicos de una CD madura²⁵. No se conoce con exactitud cuál es el mecanismo implicado en este proceso pero se calcula que un 5% de las CD que migran al GL desde la piel son de este tipo²⁶.

Presentación antigénica: presentación cruzada

La presentación antigénica consiste en la exposición de moléculas antigénicas en la membrana celular de las CD a fin de ser reconocidos por los linfocitos. Existen al menos tres tipos de moléculas por medio de las cuales el antígeno puede ser presentado. Dos de ellas son codificadas por el CMH (clase I y clase II), como se mencionó anteriormente, y el tercer tipo de molécula, independiente de las anteriores, está codificado por el complejo CD1. Las moléculas del CMH presentan antígenos peptídicos, y las del complejo CD1 antígenos lipídicos. Nos referiremos aquí a la presentación mediada por el CMH. Existe un grupo de células especializadas, entre ellas un tipo específico de CD, que expresan CD11c/CD8 α /CD205 en ratón y CD141 en humanos, con la facultad de realizar lo que se denomina presentación cruzada o crosspresentation^{3, 27}. Se ha establecido que la diferenciación de subpoblaciones de células dendríticas con capacidad de

efectuar este tipo de presentación cruzada a linfocitos T CD8+ es dependiente del factor de crecimiento FLT-3L y del factor de transcripción BATF3. La presentación cruzada consiste en el procesamiento de productos peptídicos provenientes de antígenos exógenos por la vía de degradación endógena, uniéndolos finalmente al CMH-I. Para esto la proteína, una vez endocitada, es liberada al citosol, ubiquitinizada y posteriormente procesada por el proteosoma. Los productos resultantes se unen al CMH-I en el RER y migran a la superficie celular en vesículas para realizar la presentación antigénica a LT CD8+. Esta capacidad de procesamiento antigénico alternativo otorga a las CD una característica diferencial con la posibilidad de gatillar una respuesta antitumoral citotóxica específica dirigida contra antígenos extracelulares. Cabe aclarar que también los péptidos generados por el proteosoma sufren autofagia y pueden ingresar a la vía de procesamiento exógeno y ser presentados por el CMH-II²⁸ (Fig. 2).

Sinapsis linfocitaria

Se denomina sinapsis linfocitaria a la interacción entre la CPA y el linfocito durante la presentación antigénica. Deben intervenir una serie de moléculas (receptores, coreceptores y citoquinas) de manera coordinada para que resulte en una respuesta inmunitaria específica y eficaz²⁹. El primer paso es el contacto entre una CPA portadora de un antígeno y un linfocito, que ocurre gracias a la interacción entre las moléculas de adhesión LFA-1 y CD2, presentes en linfocitos, con ICAM-1, ICAM-2 y CD58, expresado por las CPA activadas. De este modo ambas células permanecen en contacto un tiempo variable (días) durante el cual los linfocitos son capaces de reconocer por medio del receptor proteico de membrana, el TCR, secuencias peptídicas específicas únicamente si se encuentran asociadas al CMH. El TCR está formado por una subunidad α y una subunidad β , unidas por un puente disulfuro. Cada subunidad posee una región variable (V) codificada por cientos de genes, una región constante (C) y una región de unión (J, del inglés junction). La subunidad β posee además una región de diversidad (D). Las distintas combinaciones de genes (diversidad combinatoria) y su diversidad de unión (diversidad de las uniones) dan lugar a un número muy elevado de distintos tipos de TCR con la capacidad de reconocer prácticamente cualquier secuencia peptídica antigénica. Cada clon linfocitario posee un TCR específico que se expandirá en contacto con el antígeno que es capaz de reconocer³⁰.

Para que la unión entre el TCR y su secuencia de aminoácidos blanco sea estable y desencadene una señal intracelular de activación en los linfocitos, se requiere de la presencia de un grupo de moléculas complementarias que se denominan CD3, CD4 y CD8

formando un complejo proteico que actúa en forma complementaria con los TCR³¹. El complejo TCR/CD3/CD4 o CD8 es capaz de reconocer péptidos únicamente unidos al CMH y generar una señal intracelular (primer señal de activación). Además, para que la activación linfocitaria sea completa, se requiere de una segunda señal dada por un co-receptor expresado en la membrana de los linfocitos (CD28) cuyos ligandos naturales pertenecen a la familia B7 (B7-1, CD80; B7-2, CD86) y están presentes en las CPA maduras. Todo esto lleva a la activación de factores de transcripción inflamatorios como son el factor nuclear de linfocitos activados, el factor de transcripción NF κ B, la cascada MAPK y el factor de transcripción AP-1, resultando en la síntesis y secreción de IL-2 e INF- γ , entre otras moléculas pro-inflamatorias³². Esta segunda señal de supervivencia está regulada negativamente por CTLA-4 (CD152) y PD-1, presentes en los linfocitos. CTLA-4 se une a las proteínas B7 (CD80 y CD86) con mayor avidez que CD28, desplazando a esta última y generando una señal intracelular negativa que tiene como objeto limitar la respuesta inmunitaria o evitar una activación continua perjudicial³³.

Existe una tercera señal de diferenciación en la que intervienen citoquinas como INF- γ , IL-4, IL-5 e IL-10 entre otras, que inducen características particulares a los linfocitos efectores originando así las distintas subpoblaciones ya mencionadas³⁴.

Inmunoterapia

La inmunoterapia contra el cáncer es uno de los campos terapéuticos de mayor interés dentro de la oncología³⁵. Básicamente, consiste en la manipulación del sistema inmunitario a fin de generar una respuesta antitumoral efectiva capaz de inducir regresiones tumorales objetivas duraderas y memoria inmunológica. Esta herramienta terapéutica se ha desarrollado activamente durante los últimos años, demostrando gran efectividad en modelos animales y resultados promisorios en la clínica. Sin embargo, a pesar de que en muchos casos se consiga estimular una respuesta inmunitaria específica, esta no siempre implica la reducción o eliminación del tumor o en su microambiente que generan una disociación entre la respuesta inmunitaria sistémica y el infiltrado inflamatorio presente en el seno tumoral³⁶⁻³⁸.

Las estrategias de inmunoterapia más utilizadas se centran principalmente en la estimulación inespecífica del sistema inmunitario con el uso de moléculas inmunomoduladoras y/o anticuerpos monoclonales³⁹, la estimulación antigénica específica mediante el uso de vacunas con CD por ejemplo⁴⁰, o la aplicación de tratamientos con células como la terapia adoptiva con la infusión de linfocitos T efectores y NK⁴¹⁻⁴³.

Vacunas antitumorales basadas en células dendríticas

La inmunoterapia con CD es una alternativa para el tratamiento del cáncer, aunque todavía no ha demostrado un beneficio clínico claro. Consiste en la diferenciación *in vitro* de células progenitoras de CD, su activación y cargado antigénico *ex vivo*, para luego ser inyectadas nuevamente en el paciente. Existen diversos protocolos de diferenciación y activación de las mismas, así como también distintas alternativas para dirigir la especificidad de la respuesta inmunitaria⁴⁴. Esta diversidad de protocolos de generación de CD deriva en una gran heterogeneidad en los resultados alcanzados⁴⁵.

Diferenciación y maduración: la fuente y el medio de cultivo utilizados para la generación y maduración de las CD determina su posterior funcionalidad. El modo de obtención que parecería más adecuado para su posterior uso en un protocolo de vacunación son las células mononucleares de sangre periférica del propio paciente (PBMC). Otra posibilidad es su diferenciación a partir de células troncales hematopoiéticas, obteniendo una población celular que no parece ser la óptima para estos protocolos⁴⁶.

Para la diferenciación y maduración a partir de PBMC se han utilizado diferentes combinaciones de citoquinas, siendo GM-CSF e IL-4 las más frecuentemente utilizadas⁴⁷. Las CD así obtenidas presentan un fenotipo inmaduro por lo que requieren de un estímulo adicional para ser utilizadas como vacuna terapéutica⁴⁸. La inoculación de CD inmaduras puede inhibir la respuesta inmunitaria mediada por LT CD8⁺ e inducir la aparición de LT específicos productores IL-10, citoquina con capacidad inmunosupresora^{49, 50}. Por el contrario, las CD maduras y activadas son capaces de inducir una respuesta LT CD8⁺ y CD4⁺ productores de INF- γ ⁵¹. De este modo, se puede asegurar que el estado madurativo y de activación de las CD utilizadas en estos protocolos es determinante para la inmunización activa de los pacientes con cáncer⁵².

Activación: para la activación de CD se utilizan distintas moléculas o factores en forma aislada o combinadas entre sí. Estas moléculas pueden ser tan variadas como: i) productos de microbios que actúan vía TLR⁵³, lectinas tipo-C⁵⁴, y NOD like receptors intracitoplasmáticos (NLRs) (revisado en Ting y cols.)⁵⁵⁻⁵⁸; ii) células que incluyen subpoblaciones LT, NK, y LT γ δ ⁵⁹; iii) productos celulares como CD40-L y citoquinas pro-inflamatorias como IL-1- β , TNF, IL-6 y prostaglandina E2; y iv) productos de células muertas¹² que incluyen HSP⁶⁰, high-mobility group box 1 protein (HMGB1)⁶¹, β -defensina⁶² y ácido úrico⁶³. De todas estas, las moléculas más empleadas son IL-1 β , IL-6, TNF, IFN- α , IFN- γ , PGE2 y poly I:C^{64, 65}.

Fuente de antígeno: las fuentes de antígeno que pueden emplearse para el cargado de las CD son muy diversas: proteínas totales, lisado tumoral, péptidos res-

tringidos por HLA, ARN, híbridos o fusiones celulares, entre otras⁶⁶. Una de las estrategias más empleada consiste en la utilización de péptidos derivados de antígenos conocidos⁶⁷. Esta fuente de antígenos presenta algunas limitaciones como el requerimiento y restricción de la expresión de un tipo HLA determinado, el número limitado de antígenos conocidos y asociados al tumor, y la inducción de un repertorio limitado de clones de LT, acotando de este modo la respuesta antitumoral inducida. Es por esto que se postula que las CD cargadas con antígeno tumoral total podrían tener un beneficio agregado, permitiendo el procesamiento y selección de epítopes de forma "natural" dando como resultado una respuesta inmunitaria que involucre diversos clones de LT CD4⁺ y CD8⁺. En consonancia con esto, numerosos datos clínicos muestran que el uso de CD cargadas con mezclas antigénicas complejas (lisado de células tumorales, exosomas, células tumorales apoptóticas/necróticas, transfección con ARN total proveniente de células tumorales, hibridomas entre células tumorales y células dendríticas), genera una respuesta inmunitaria más eficaz⁶⁸⁻⁷⁰. Sin embargo, existen problemas de reproducibilidad de estos resultados dada la heterogeneidad en la población de CD empleada, las variadas vías de administración y esquemas terapéuticos puestos en práctica. Además, la utilización de antígenos tumorales totales expone a las CD a un gran número de antígenos desconocidos, algunos de ellos capaces de inhibir su maduración y con la posibilidad de generar una respuesta autoinmune.

¿Cómo explotar la vía de la presentación cruzada para lograr una mayor efectividad, es decir, una respuesta citotóxica efectora T más exitosa? Una posibilidad sería direccionar los antígenos hacia receptores de superficie en las CD con capacidad para realizar presentación cruzada, como por ejemplo DEC205. Otra opción sería seleccionar una subpoblación de CD, como las BDCA-3, para su posterior empleo. Sin embargo, hasta el momento existen dificultades para seleccionarlas y generar un protocolo eficiente.

Vías de administración: una vez inoculadas las CD, deben migrar al ganglio linfático donde harán la presentación antigénica a los linfocitos. Se han experimentado distintas alternativas para que esto ocurra de manera óptima, como por ejemplo la administración de las CD por vía subcutánea o intradérmica, intravenosa⁷¹, intratumoral⁷² e intraganglionar⁷³⁻⁷⁵. De todas estas, la vía subcutánea y la inoculación periganglionar fueron las que demostraron mayor eficacia⁷⁶ a pesar de que menos del 1% de las células inoculadas migran al GL regional^{77,78}. Para incrementar este porcentaje se han utilizado con relativa eficacia ciertas citoquinas y factores como PGE2 y TNF- α ^{79,80}, induciendo una mayor capacidad de migrar hacia el GL.

Resultados de ensayos clínicos: Hasta la fecha se han publicado numerosos ensayos clínicos basados en la administración de CD autólogas pulsadas con lisado tumoral

para el tratamiento del carcinoma de cuello uterino⁸¹, carcinoma de riñón⁸², melanoma⁸³, cáncer de próstata⁸⁴, sarcoma uterino⁸⁵, cáncer de ovario⁸⁶, hepatocarcinoma⁸⁷ y tumores sólidos pediátricos⁸⁸. Este ha demostrado ser un tratamiento seguro, capaz de inducir una respuesta inmunitaria antitumoral y generar un pequeño porcentaje de respuestas clínicas objetivas^{66,89}. Demostró generar inmunidad específica y una pequeña proporción de respuestas tumorales duraderas en pacientes con linfoma^{90,91}, melanoma metastásico^{89,92} y cáncer de pulmón de células no pequeñas⁹³. En pacientes con cáncer de próstata hormonoresistente, el uso de una vacuna basada en CPA enriquecidas, cultivadas con una proteína de fusión entre fosfatasa ácida prostática y GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos) demostró beneficio en términos de supervivencia libre de enfermedad⁹⁴. Sin embargo, por su alto costo y su beneficio clínico discutido, no es aún una práctica clínica habitual aunque la FDA aprobó su comercialización en Estados Unidos de Norteamérica⁹⁵.

En conclusión, el empleo de CD como vacunas terapéuticas en pacientes con cáncer continúa siendo un área activa de investigación, tanto en el ámbito preclínico como clínico. Si bien los excelentes resultados obtenidos en modelos experimentales no se han reproducido en pacientes con cáncer, se vislumbra un futuro cercano promisorio para la inmunoterapia del cáncer donde las vacunas terapéuticas basadas en CD puedan ser parte de tratamientos combinados que exploten distintos brazos del sistema inmunitario; especialmente si se logran generar avances en el desarrollo de una respuesta citotóxica específica generada a partir de células especializadas en presentación cruzada frente a antígenos tumorales.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. Itano AA, Jenkins MK. Antigen presentation to naive CD4 T cells in the lymph node. *Nat Immunol* 2003; 4: 733-9.
2. Yanofsky VR, Mitsui H, Felsen D, Carucci JA. Understanding dendritic cells and their role in cutaneous carcinoma and cancer immunotherapy. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 624123.
3. Heath WR, Belz GT, Behrens GM, et al. Cross-presentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens. *Immunol Rev* 2004; 199: 9-26.
4. Dalod M, Chelbi R, Malissen B, Lawrence T. Dendritic cell maturation: functional specialization through signaling specificity and transcriptional programming. *EMBO J* 2014; 33: 1104-16.
5. Underhill DM, Goodridge HS. Information processing during phagocytosis. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 492-502.
6. Hopkins RA, Connolly JE. The specialized roles of immature and mature dendritic cells in antigen cross-presentation. *Immunol Res* 2012; 53: 91-107.
7. Alegre C. Specialized dendritic cells in cross-presentation of exogenous antigens to cytotoxic T lymphocytes. *Ann Sist Sanit Navar* 2013; 36: 519-37.
8. Heath WR, Villadangos JA. No driving without a license. *Nat Immunol* 2005; 6: 125-6.

9. Segura E, Albiston AL, Wicks IP, Chai SY, Villadangos JA. Different cross-presentation pathways in steady-state and inflammatory dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 20377-81.
10. Reis e Sousa C. Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 21-5.
11. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
12. Gallucci S, Lolkema M, Matzinger P. Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nat Med* 1999; 5: 1249-55.
13. Sauter B, Albert ML, Francisco L, Larsson M, Somersan S, Bhardwaj N. Consequences of cell death: exposure to necrotic tumor cells, but not primary tissue cells or apoptotic cells, induces the maturation of immunostimulatory dendritic cells. *J Exp Med* 2000; 191: 423-34.
14. Fremont DH, Hendrickson WA, Marrack P, Kappler J. Structures of an MHC class II molecule with covalently bound single peptides. *Science* 1996; 272: 1001-4.
15. van Kasteren SI, Overkleef H, Ovaa H, Neefjes J. Chemical biology of antigen presentation by MHC molecules. *Curr Opin Immunol* 2014; 26: 21-31.
16. Forster R, Davalos-Miszlitz AC, Rot A. CCR7 and its ligands: balancing immunity and tolerance. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 362-71.
17. Allavena P, Sica A, Vecchi A, Locati M, Sozzani S, Mantovani A. The chemokine receptor switch paradigm and dendritic cell migration: its significance in tumor tissues. *Immunol Rev* 2000; 177: 141-9.
18. Dieu MC, Vanbervliet B, Vicari A, et al. Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med* 1998; 188: 373-86.
19. Ahamed J, Haribabu B, Ali H. Cutting edge: Differential regulation of chemoattractant receptor-induced degranulation and chemokine production by receptor phosphorylation. *J Immunol* 2001; 167: 3559-63.
20. Imhof BA, Aurrand-Lions M. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 432-44.
21. Frasca L, Fedele G, Deaglio S, et al. CD38 orchestrates migration, survival, and Th1 immune response of human mature dendritic cells. *Blood* 2006; 107: 2392-9.
22. Moller I, Michel K, Frech N, et al. Dendritic cell maturation with poly(I:C)-based versus PGE2-based cytokine combinations results in differential functional characteristics relevant to clinical application. *J Immunother* 2008; 31: 506-19.
23. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 454-65.
24. Kabashima K, Shiraiishi N, Sugita K, et al. CXCL12-CXCR4 engagement is required for migration of cutaneous dendritic cells. *Am J Pathol* 2007; 171: 1249-57.
25. Bouchon A, Hernandez-Munain C, Cella M, Colonna M. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J Exp Med* 2001; 194: 1111-22.
26. Tomura M, Yoshida N, Tanaka J, et al. Monitoring cellular movement in vivo with photoconvertible fluorescence protein "Kaede" transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10871-6.
27. Jongbloed SL, Kassianos AJ, McDonald KJ, et al. Human CD141+ (BDCA-3)+ dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens. *J Exp Med* 2010; 207: 1247-60.
28. Ochsenbein AF, Sierro S, Odermatt B, et al. Roles of tumour localization, second signals and cross priming in cytotoxic T-cell induction. *Nature* 2001; 411: 1058-64.
29. Hivroz C, Chemin K, Tourret M, Bohineust A. Crosstalk between T lymphocytes and dendritic cells. *Crit Rev Immunol* 2012; 32: 139-55.
30. Garcia KC, Adams EJ. How the T cell receptor sees antigen—a structural view. *Cell* 2005; 122: 333-6.
31. Letourneur F, Klausner RD. Activation of T cells by a tyrosine kinase activation domain in the cytoplasmic tail of CD3 epsilon. *Science* 1992; 255: 79-82.
32. Acuto O, Michel F. CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 939-51.
33. Salama AK, Hodi FS. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4622-8.
34. Curtsinger JM, Mescher MF. Inflammatory cytokines as a third signal for T cell activation. *Curr Opin Immunol* 2010; 22:333-40.
35. Kirkwood JM, Butterfield LH, Tarhini AA, Zarour H, Kalinski P, Ferrone S. Immunotherapy of cancer in 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 309-35.
36. Lee PP, Yee C, Savage PA, et al. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat Med* 1999; 5: 677-85.
37. Morse MA, Hobeika AC, Osada T, et al. Depletion of human regulatory T cells specifically enhances antigen-specific immune responses to cancer vaccines. *Blood* 2008; 112: 610-8.
38. Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 267-96.
39. Callahan MK, Wolchok JD. At the bedside: CTLA-4- and PD-1-blocking antibodies in cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2013; 94: 41-53.
40. Vonderheide RH, Nathanson KL. Immunotherapy at large: the road to personalized cancer vaccines. *Nat Med* 2013; 19: 1098-100.
41. Goff SL, Smith FO, Klapper JA, et al. Tumor infiltrating lymphocyte therapy for metastatic melanoma: analysis of tumors resected for TIL. *J Immunother* 2010; 33: 840-7.
42. Rosenberg SA. Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer—what clinicians need to know. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 577-85.
43. Sun JC, Beilke JN, Lanier LL. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature* 2009; 457: 557-61.
44. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 265-77.
45. Radford KJ, Tullett KM, Lahoud MH. Dendritic cells and cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 2014; 27: 26-32.
46. Palucka K, Banchereau J. Human dendritic cell subsets in vaccination. *Curr Opin Immunol* 2013; 25: 396-402.
47. Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 179: 1109-18.
48. Zou GM, Tam YK. Cytokines in the generation and maturation of dendritic cells: recent advances. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13: 186-99.
49. Jonuleit H, Giesecke-Tuettenberg A, Tuting T, et al. A comparison of two types of dendritic cell as adjuvants for the induction of melanoma-specific T-cell responses in humans following intranodal injection. *Int J Cancer* 2001; 93: 243-51.
50. Dhodapkar MV, Steinman RM, Krasovsky J, Munz C, Bhardwaj N. Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J Exp Med* 2001; 193: 233-8.
51. Schuler-Thurner B, Schultz ES, Berger TG, et al. Rapid induction of tumor-specific type 1 T helper cells in metastatic melanoma patients by vaccination with mature, cryopreserved, peptide-loaded monocyte-derived dendritic cells. *J Exp Med* 2002; 195: 1279-88.
52. Figdor CG, de Vries IJ, Lesterhuis WJ, Melief CJ. Dendritic cell immunotherapy: mapping the way. *Nat Med* 2004; 10: 475-80.
53. Kim JY, Kim YJ, Kim JS, et al. Adjuvant effect of a natural TLR4 ligand on dendritic cell-based cancer immunotherapy. *Cancer Lett* 2011; 313: 226-34.

54. Cambi A, Figdor CG. Levels of complexity in pathogen recognition by C-type lectins. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 345-51.
55. Ting JP, Davis BK. CATERPILLER: a novel gene family important in immunity, cell death, and diseases. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 387-414.
56. Delbridge LM, O'Riordan MX. Innate recognition of intracellular bacteria. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 10-6.
57. Martinon F, Tschopp J. NLRs join TLRs as innate sensors of pathogens. *Trends Immunol* 2005; 26: 447-54.
58. Mariathasan S, Monack DM. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 31-40.
59. Munz C, Steinman RM, Fujii S. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *J Exp Med* 2005; 202: 203-7.
60. Srivastava PK, Maki RG. Stress-induced proteins in immune response to cancer. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991; 167: 109-23.
61. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 331-42.
62. Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, et al. Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2. *Science* 2002; 298: 1025-9.
63. Rock KL, Hearn A, Chen CJ, Shi Y. Natural endogenous adjuvants. *Springer Semin Immunopathol* 2005; 26: 231-46.
64. Giermasz AS, Urban JA, Nakamura Y, et al. Type-1 polarized dendritic cells primed for high IL-12 production show enhanced activity as cancer vaccines. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 1329-36.
65. Banchereau J, Schuler-Thumer B, Palucka AK, Schuler G. Dendritic cells as vectors for therapy. *Cell* 2001; 106: 271-4.
66. Timmerman JM, Levy R. Dendritic cell vaccines for cancer immunotherapy. *Annu Rev Med* 1999; 50: 507-29.
67. Gilboa E. The makings of a tumor rejection antigen. *Immunity* 1999; 11: 263-70.
68. Chiang CL, Benencia F, Coukos G. Whole tumor antigen vaccines. *Semin Immunol* 2010; 22: 132-43.
69. Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M, et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; 4: 328-32.
70. Prins RM, Wang X, Soto H, et al. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients. *J Immunother* 2013; 36: 152-7.
71. Chang DH, Osman K, Connolly J, et al. Sustained expansion of NKT cells and antigen-specific T cells after injection of alpha-galactosyl-ceramide loaded mature dendritic cells in cancer patients. *J Exp Med* 2005; 201: 1503-17.
72. Mazzolini G, Alfaro C, Sangro B, et al. Intratumoral injection of dendritic cells engineered to secrete interleukin-12 by recombinant adenovirus in patients with metastatic gastrointestinal carcinomas. *J Clin Oncol* 2005; 23: 999-1010.
73. Bedrosian I, Mick R, Xu S, et al. Intranasal administration of peptide-pulsed mature dendritic cell vaccines results in superior CD8+ T-cell function in melanoma patients. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3826-35.
74. Fong L, Brockstedt D, Benike C, Wu L, Engleman EG. Dendritic cells injected via different routes induce immunity in cancer patients. *J Immunol* 2001; 166: 4254-9.
75. Gilliet M, Kleinhans M, Lantelme E, Schadendorf D, Burg G, Nestle FO. Intranasal injection of semimature monocyte-derived dendritic cells induces T helper type 1 responses to protein neoantigen. *Blood* 2003; 102: 36-42.
76. Lesterhuis WJ, de Vries IJ, Schreiber G, et al. Route of administration modulates the induction of dendritic cell vaccine-induced antigen-specific T cells in advanced melanoma patients. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5725-35.
77. Morse MA, Coleman RE, Akabani G, Niehaus N, Coleman D, Lysterly HK. Migration of human dendritic cells after injection in patients with metastatic malignancies. *Cancer Res* 1999; 59: 56-8.
78. de Vries IJ, Lesterhuis WJ, Barentsz JO, et al. Magnetic resonance tracking of dendritic cells in melanoma patients for monitoring of cellular therapy. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 1407-13.
79. Scandella E, Men Y, Gillessen S, Forster R, Groettrup M. Prostaglandin E2 is a key factor for CCR7 surface expression and migration of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2002; 100: 1354-61.
80. Martín-Fontecha A, Sebastiani S, Hopken UE, et al. Regulation of dendritic cell migration to the draining lymph node: impact on T lymphocyte traffic and priming. *J Exp Med* 2003; 198: 615-21.
81. Santin AD, Bellone S, Roman JJ, Burnett A, Cannon MJ, Pecorelli S. Therapeutic vaccines for cervical cancer: dendritic cell-based immunotherapy. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 3485-500.
82. Isumi M, Tatsugami K. Immunotherapy for renal cell carcinoma. *Clin Dev Immunol* 2010; 2010: 284581.
83. Redman BG, Chang AE, Whitfield J, et al. Phase Ib trial assessing autologous, tumor-pulsed dendritic cells as a vaccine administered with or without IL-2 in patients with metastatic melanoma. *J Immunother* 2008; 31: 591-8.
84. Reyes D, Salazar L, Espinoza E, et al. Tumour cell lysate-loaded dendritic cell vaccine induces biochemical and memory immune response in castration-resistant prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2013; 109: 1488-97.
85. Hernando JJ, Park TW, Kubler K, Offergeld R, Schlebusch H, Bauknecht T. Vaccination with autologous tumour antigen-pulsed dendritic cells in advanced gynaecological malignancies: clinical and immunological evaluation of a phase I trial. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 45-52.
86. Stiff PJ, Czerlanis C, Drakes ML. Dendritic cell immunotherapy in ovarian cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013; 13: 43-53.
87. Iwashita Y, Tahara K, Goto S, et al. A phase I study of autologous dendritic cell-based immunotherapy for patients with unresectable primary liver cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2003; 52: 155-61.
88. Lasky JL, 3rd, Panosyan EH, Plant A, et al. Autologous tumor lysate-pulsed dendritic cell immunotherapy for pediatric patients with newly diagnosed or recurrent high-grade gliomas. *Anticancer Res* 2013; 33: 2047-56.
89. Anguille S, Smits EL, Lion E, van Tendeloo VF, Berneman ZN. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy. *Lancet Oncol* 2014; 15: e257-67.
90. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, et al. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996; 2: 52-8.
91. Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA, et al. Idiotype-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. *Blood* 2002; 99: 1517-26.
92. Thurner B, Haendle I, Roder C, et al. Vaccination with mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma. *J Exp Med* 1999; 190: 1669-78.
93. Fong L, Hou Y, Rivas A, et al. Altered peptide ligand vaccination with Flt3 ligand expanded dendritic cells for tumor immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 8809-14.
94. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2010; 363: 411-22.
95. Holko P, Kawalec P. Economic evaluation of sipuleucel-T immunotherapy in castration-resistant prostate cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014; 14: 63-73.