

# Células NKT: Inmunoterapia Tumoral

Marín Baró, Raúl. Grado en Biología. Universidad Autònoma de Barcelona.

## Introducción

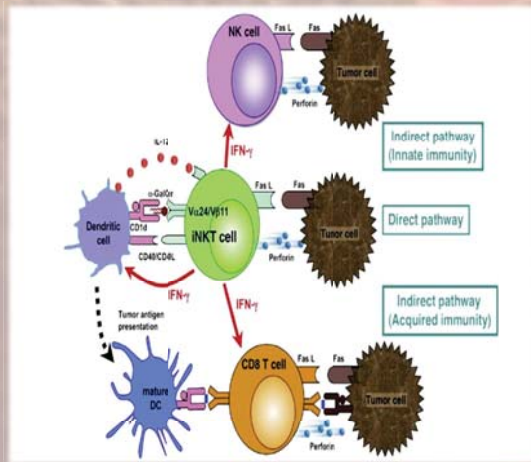
Las células NKT son un miembro relativamente nuevo de la familia de células de la comunidad inmunológica, las cuales tienen un papel importante en el sistema inmune a pesar de su reducido número. Son células T con un receptor de célula T (TCR), sin embargo a diferencia de las células T convencionales que pueden detectar moléculas presentadas por el MHC, las NKT reconocen antígenos lipídicos presentados por Cd1d, un tipo de molécula del MHC. Como miembros de ambas familias del sistema inmune, tanto innata como adaptativa, son un nexo de unión entre ambas; es decir, responden de manera rápida para ser un detonante de futuras reacciones inmunológicas.

### NKT de Tipo I

- Va14Jα18 TCR en ratón y Va24Jα18 TCR en humano.
- Activadas por α-GalCer.
- Tienen un rol protector frente a tumores.
- Actúan principalmente a través de su efecto sobre otras células como las NK y las células T CD8+.
- IL-12 e IFN-γ son las principales vías de respuesta antitumoral.
- Elevada cantidad de estas células esta relacionada con regresión tumoral.
- Aunque su activación con α-GalCer es importante para su desempeño antitumoral, no significa que sea el componente más importante de la respuesta.
- Un estudio en ratones Jα18-/- (sin NKT I) con tumores inducidos por metilolantreno y tratados con α-GalCer e IL-12 mostró que no hubo regresión de los tumores hasta la inoculación de células NKT I de ratones de tipo salvaje.

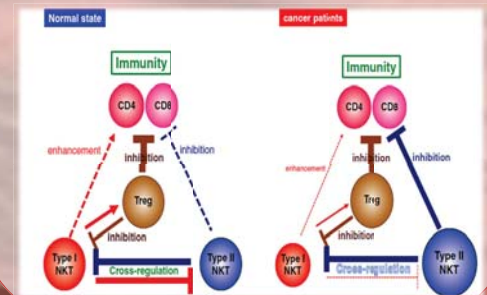
### NKT II

- Reconocen lípidos presentados por Cd1d pero tienen un TCR heterogéneo a diferencia de las NKT I.
- No hay mucho conocimiento sobre sus marcadores, por lo que son difíciles de reconocer.
- Tienen un rol que facilita la evasión del tumor del sistema inmune.
- Producen IL-13 que estimula a la producción de TGF-β por parte de las células dendríticas, lo cual inactiva las NKT I.
- La IL-13 formada por las NKT II promueve la formación de arginasa por las MDCs que inhibe las células NKT I.
- Tienen roles opuestos con las NKT I. La manipulación del balance entre ambas puede suponer el éxito de una terapia.



### Treg

- Las células Treg inactivan las células iNKT en humanos.
- Las iNKT activan las Treg.
- Venken et al demostró en 2013 que las Treg no pueden inactivar las iNKT si estas son activadas con agonistas fuertes como α-GalCer, cosa que no ocurre en condiciones fisiológicas.
- Petersen et al demuestran en 2010 que combinar un bloqueo de Treg con vacunas antitumorales da mejores resultados.
- En pacientes con cáncer que tienen las iNKT poco funcionales, las NKT II no están bien contrarrestadas por las iNKT. Por eso, bajo esta condición aunque haya un bloqueo de las Treg, no hay efectos clínicos significativos porque las NKT II siguen bloqueando las iNKT. Por eso las NKT II y Treg deben ser ambas bloqueadas para mejorar la respuesta inmunitaria frente al tumor.



## Visión actual enfocada a terapia

Existen dos tipos de terapia: **Terapia activa** y **terapia mediante bloqueo de regulación negativa**.

**-Terapia activa:** Aunque se ha demostrado que la activación de NKT I con α-GalCer in vivo produce una fuerte respuesta antitumoral, en humanos está lejos de ser una terapia de éxito. Esta ineficiencia del tratamiento en humanos puede ser debida a que existen anticuerpos naturales anti-alfa-ligandos que inhiben esta activación y que por el contrario en ratones no existen.

**\*Terapia con α-GalCer**

**\*Terapia de α-GalCer unido a células dendríticas o células tumorales:** Las células dendríticas son importantes presentadoras de antígenos, la unión de α-GalCer a células dendríticas tiene un efecto antitumoral mas fuerte que una inyección soluble de α-GalCer ya que provoca una mayor duración de la expresión de TNF-α por parte de las NKT I.

**\*Terapia de transferencia adoptiva:** Consiste en la transferencia ex-vivo de células NKT I estimuladas con α-GalCer.

**Terapia mediante bloqueo de regulación negativa:** Existen mecanismos reguladores negativos que frenan la inmunidad tumoral, como las células NKT de tipo II. Por lo tanto, otro tipo de estrategia para aumentar la inmunidad tumoral es bloquear estos mecanismos de regulación negativa.

**\*Terapia mediante inhibición de IL-13:** La IL-13 inicia la respuesta de las células NKT II. En modelos de bloqueo de IL-13 se ha conseguido una reducción importante de la carga tumoral. En linfomas de Hodgkin's el tumor usa IL-13 como factor de crecimiento, puede esperarse que el bloqueo de esta molécula funcione como vacuna antitumoral.

**\*Inhibición del TGF-β:** El TGF-β es una proteína formada por los tumores con función inmunosupresora sobre células NK, T, macrófagos y células dendríticas. La IL-13 promueve la expresión de TGF-β por eso junto con la terapia anterior puede ser una forma importante de reducir la supervivencia tumoral.

## Resultados de terapia en humanos

- Estudio en 2001 con DCs cargadas con α-GalCer.
- Se dieron 4 inyecciones con diferente dosis según el estado de la enfermedad a 11 pacientes.
- Uno de ellos tuvo un aumento significativo de las iNKT en sangre y de IFN-γ.
- El estudio no mostró regresión tumoral en ningún paciente.
- El paciente que mostro aumento significativo de las iNKT estabilizó la enfermedad durante dos años con buena calidad de vida y sobrevivió 39 meses sin terapia adicional.
- Se realizó otro estudio similar en 2004 en 17 pacientes con cáncer escamoso de cuello.
- Los niveles de IFN-γ aumentaron significativamente en 10 pacientes, y no en otros 7.
- El tiempo de supervivencia de los primeros fue 29.3 meses vs 9.7 meses de los segundos.
- La media de supervivencia de todos los pacientes fue de 18.6 meses lo cual sigue siendo superior a muchos tratamientos con radioterapia y quimioterapia.

	Treatment (injection site, number of injection)	Number of patients	Tumor types	Immunological responses (number of patients)	Anti-tumor effects (number of patients)
Ishikawa et al.	α-GalCer-APC (i.v. 4)	11	NSCLC	iNKT cell expansion (3) Elevated IFN-γ spot forming cell number (1)	SD (3)
Motohashi et al.	α-GalCer-APC (i.v. 4)	17	NSCLC	iNKT cell expansion (6) Elevated IFN-γ spot forming cell number (10)	SD (5), MST 18.6 month
Motohashi et al.	α-GalCer activated iNKT cell (i.v. 2)	6	NSCLC	iNKT cell expansion (2) Elevated IFN-γ spot forming cell number (3)	SD (2)
Uchida et al.	α-GalCer-APC (i.n. 2)	9	HNSCC	iNKT cell expansion (4) Elevated IFN-γ spot forming cell number (8)	PR (1), SD (7)
Kunii et al.	α-GalCer-APC/α-GalCer activated iNKT cell (i.n. 2, i.a. 1)	8	HNSCC	iNKT cell expansion (6) Elevated IFN-γ spot forming cell number (8)	PR (3), SD (4)
Yamasaki et al.	α-GalCer-APC/α-GalCer activated iNKT cell (i.n. 1, i.a. 1)	10	HNSCC	PBMC: iNKT cell expansion (7) Elevated IFN-γ spot forming cell number (8) TL: iNKT cell expansion (PR-SD or cont.) Elevated IFN-γ spot forming cell number (6/6)	PR (5), SD (5)

NSCLC, non-small cell lung cancer; HNSCC, head and neck squamous cell carcinoma; TL, tumor infiltrating lymphocytes; cont, control cases; SD, stable disease; PR, partial response; MST, median survival time; and mo, months.

- Terapia con transferencia adoptiva de iNKT a 6 pacientes con cáncer de pulmón recurrente.
- En dos casos hubo aumento de las iNKT e IFN-γ.
- En estos dos casos la enfermedad se estabilizó durante 9-12 meses.
- Sobrevivieron 33,6 y 76,6 meses cada uno.

- Estudio de combinación de ambas terapias
- 8 pacientes con carcinoma de cuello
- 6 sufrieron aumento significativo de las iNKT y 7 del IFN-γ
- 3 pacientes mostraron respuesta parcial, 4 estabilización de la enfermedad y 1 paciente mostro reducción progresiva del tumor.

## Conclusiones

El potencial de este miembro del sistema inmune no es proporcional a su reducido número. Como se ha observado en los resultados un aumento en el número de las iNKT ha sido sinónimo de estabilización de la enfermedad, aumento del tiempo y calidad de vida y en algunos casos regresión del tumor. Por eso la terapia activa como transferencia adoptiva de células iNKT junto con transfusiones de células dendríticas cargadas con α-GalCer, que ya ha mostrado mejoras en los pacientes, puede ser definitiva con la combinación de terapia de regulación negativa en la que un bloqueo de las células Treg y NKTII permitirá un efecto más potente de la vacuna antitumoral. La manipulación de las células que están en el eje de actividad de las iNKT puede ser la clave para que en un futuro se pueda conseguir una terapia de éxito.

## Bibliografía

- Gourapura J, Renukaradhy. Jun 15, 2008. Type I NKT cells protect and Type II suppress the host's innate antitumor immune response to a B-cell lymphoma. Blood. 111(12): 5637-5645
- Mattarollo SR, Storch R, Li M, Duret H, Ngwou SF, Smyth MJ (2013) Transient Foxp3(+) regulatory T-cell depletion enhances therapeutic anticancer vaccination targeting the immunostimulatory properties of NKT cells. Immunol Cell Biology 91, 105-114
- Karsten A, Pilonis, Joseph Ayanakali, and Sandra Demaria. 2 September 2014. Invariant NKT Cells as Novel Targets for Immunotherapy in Solid Tumors. Clinical and Developmental Immunology Volume 2014, Article ID 720803, 11 pages - Thomas J. Kind, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne. Immunology de Kuby. Sexta edición. 364-365
- M. Kurosaki, S. Horiguchi, K. Yamasaki, Y. Uchida, S. Motohashi, T. Nakayama, A. Sugimoto, Y. Okamoto. (2011) Migration and immunological reaction after the administration of αGalCer-pulsed antigen presenting cells into the subcutaneous of patients with head and neck cancer, Cancer Immunol. Immunother. 60, 307-215
- Shinichiro Motohashi, Yoshitaka Okamoto, Ichiro Yoshino, Toshinori Nakayama. (2011). Anti-tumor immune responses induced by iNKT cell-based immunotherapy for lung cancer and head and neck cancer. Clinical Immunology. 134(2):167-176.
- Mark J Smyth. 2002. NKT cells: Conductors of tumor immunity? Current Opinion in Immunology. 14:165-171
- Petersen TR, Sika-Pastouros D, Knight DA, Dickgreder N, Farrand KI, Ronchese F, Hermans IF (2010) Potent anti-tumor responses to immunization with dendritic cells loaded with tumor tissue and an NKT cell ligand. Immunology and Cell Biology (2010) 88, 596-604
- Masaki Terabe and Jay A. Berzofsky. June 9 2008. The role of NKT cells in tumor immunity. Adv Cancer Res. 101: 277-348.
- Masaki Terabe - Jay A. Berzofsky. 2014. The immunoregulatory role of type I and type II NKT cells in cancer and other diseases. Cancer Immunol 63,199-213
- K. Yamasaki, S. Horiguchi, M. Kurosaki, N. Kunii, R. Nagato, H. Hanaoka, N. Shimizu, N. Ueno, S. Yamamoto, M. Taniguchi, S. Motohashi, T. Nakayama, Y. Okamoto. (2011). Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy. Int. Immunol. 138, 255-265