

CAR T cells: Fundamentos de esta prometedora terapia inmunológica

Chimeric antigen receptor T cells: conceptual basis of this promising immunological therapy

Romina Gamberale

Investigador independiente de CONICET. Laboratorio de Inmunología Oncológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX)-CONICET-Academia Nacional de Medicina y Cátedra de Inmunología, Facultad de Medicina, UBA.

rominagamberale@fibertel.com.ar

*Fecha de recepción: 27/08/2014
Fecha de aprobación: 15/09/2014*



CONFERENCIA

HEMATOLOGÍA
Número Extraordinario: 28-31
Octubre 2014

Palabras clave: células T modificadas in vitro
memoria inmune
terapia celular personalizada

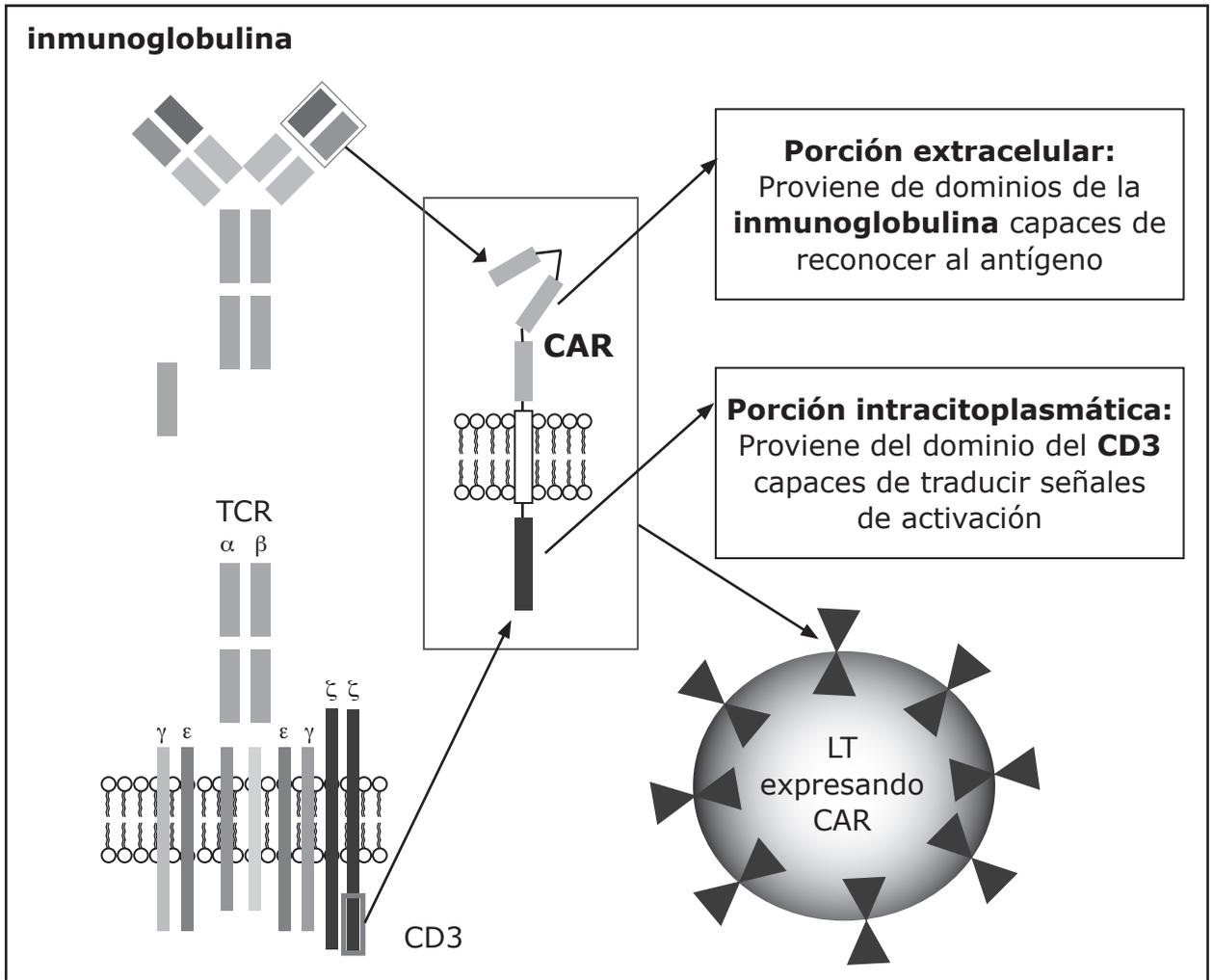
Keywords: in vitro modified T cells,
immunological memory,
personalized cellular therapy

La terapia con *CAR T cells* aparenta ser una prometedora herramienta terapéutica para los pacientes con neoplasias hematológicas⁽¹⁻³⁾. Su nombre proviene de las siglas en inglés de *Chimeric Antigen Receptor T cells*, que significa linfocitos T con **receptores antigénicos quiméricos (CAR)**. La estructura básica del CAR consta de una porción extracelular, una de transmembrana y otra intracitoplasmática⁽⁴⁾. La porción extracelular proviene de dominios de la inmunoglobulina de los linfocitos B, capaces de reconocer al antígeno; mientras que el dominio intracitoplasmático proviene de una de las cadenas del CD3, la molécula responsable de transducir señales de activación a través del receptor antigénico de los linfocitos T, también llamado TCR⁽⁵⁾ (**Figura 1**). Es

así que, variando los dominios extracelulares del CAR, puede modificarse la especificidad del mismo. En neoplasias linfoides, la mayor experiencia hasta el presente se ha recabado con CARs específicos para los antígenos CD19 y CD20.

Dado que una vez desarrollado el CAR contra el antígeno de interés, es posible inducir *in vitro* la expresión del mismo en los linfocitos T del paciente a tratar, se logra que estos linfocitos T expresen una gran cantidad de moléculas de CAR en su superficie, modificando de ese modo la especificidad inicial de los mismos. En otras palabras, se cambia la especificidad de los linfocitos T del paciente haciendo que ahora sean específicos para la molécula que es reconocida por el dominio extracelular del CAR.

Figura 1: Estructura básica del CAR



Los linfocitos T para reconocer al antígeno a través del TCR necesitan que las células presentadoras de antígeno (CPA) lo procesen y presenten los péptidos antigénicos en el marco de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA). En este sentido, el TCR es específico para un determinado complejo péptido antigénico-HLA. A diferencia de esto, los linfocitos B a través de la inmunoglobulina de superficie, son capaces de reconocer al antígeno en forma nativa, sin necesitar de las CPA⁽⁵⁾. Teniendo esto en cuenta, es posible comprender que el CAR le confiere a los linfocitos T especificidad contra el antígeno de interés superando la restricción HLA. Entonces, es posible elegir la especificidad del linfocito T para que ahora éste reconozca el antígeno de interés sobre la célula blanco en forma nativa, tal como lo hacen los linfocitos B.

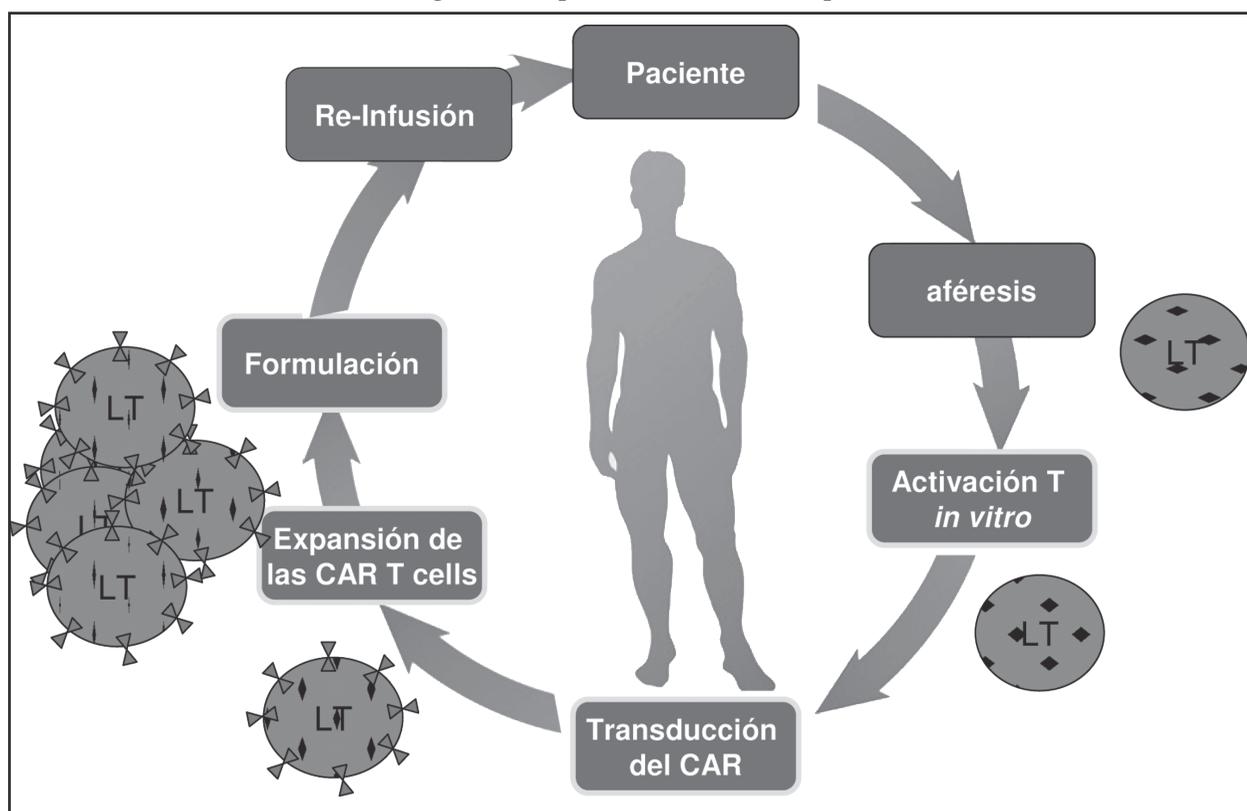
La activación de los linfocitos T vírgenes requiere de dos señales, una primer señal que se gatilla a través del CD3, luego de que el TCR reconoció el complejo péptido-HLA específico, y una segunda señal denominada “señal coestimuladora”, que se pone en marcha luego de la interacción entre moléculas presentes en la superficie de la CPA y del linfocito T⁽⁶⁾. La estructura básica que se presentó en la Figura 1, corresponde a lo que hoy en día se conoce como CAR de primera generación. Los CARs de segunda y tercera generación adicionan al dominio intracitoplasmático del CD3 uno o dos dominios de moléculas coestimuladoras, respectivamente⁽⁴⁾. Es así que, luego de reconocer al antígeno de interés en forma nativa, la activación de los linfocitos T portando CARs de primera generación (que sólo poseen el dominio intracitoplasmático del CD3) será mucho

menos eficiente que la activación que alcanzan los CAR T cells de segunda o tercera generación, quienes además de la señal de activación a través del CD3, perciben señales coestimulatorias.

El tratamiento con CAR T cells es una terapia personalizada. Tal como se esquematiza en la Figura 2, es necesario aislar a los linfocitos T de sangre periférica del paciente a tratar, los cuales son activados *in vitro* a fin de favorecer la expresión del CAR en ellos (transducción del CAR)⁽⁷⁾. Una vez conseguido esto, las CAR T cells son expandidas *in vitro* para incrementar su número y posteriormente se realiza la

formulación las mismas a fin de re-infundirlas en el paciente en una determinada relación CD4:CD8⁽⁷⁾. Una vez que los linfocitos T reconocen a través del TCR al complejo péptido-HLA específico, si reciben todas las señales necesarias para su activación, proliferan y se diferencian a células efectoras y células de memoria. Los linfocitos T CD8 efectoras son células citotóxicas capaces de inducir la apoptosis de la célula blanco a través de dos mecanismos: la liberación de perforinas y granzimas y por la interacción FAS-FAS ligando⁽⁶⁾.

Figura 2: Esquema básico de la terapia



También son excelentes productoras de citoquinas, principalmente IFN γ . Los linfocitos T CD4+, luego de activarse y proliferar, pueden diferenciarse a distintos perfiles de células T CD4 efectoras con diferente funcionalidad y capacidad de secretar citoquinas⁽⁶⁾. La generación de células T de memoria permite que frente a un segundo encuentro con el mismo antígeno la respuesta inmune sea más rápida y eficiente. En el caso de las CAR T cells ocurre lo mismo. Una vez re-infundidas en el paciente, luego de reconocer se activarán, proliferarán *in vivo* y se diferenciarán a células efectoras y de memoria⁽⁸⁾. Las CAR T cells

CD8+ efectoras podrán inducir la apoptosis de las células blanco y producir citoquinas. La generación de CAR T cells de memoria permitirá mantener una vigilancia inmunológica ya que el paciente contará con CAR T cells específicas que podrán montar una respuesta inmune más rápida y eficiente si vuelven a enfrentarse con el antígeno específico. Alguno de los efectos adversos de esta terapia desde el punto de vista inmunológico involucran la aplasia de células B, para el caso de CAR T cells específicos para CD19 o CD20⁽⁸⁾ y la tormenta de citoquinas producto de la activación masiva de los linfocitos⁽⁹⁾.

En conclusión, los *CAR T cells* son, sin lugar a dudas, una terapia muy prometedora debido a que permiten la generación de linfocitos T autólogos capaces de reconocer a antígenos expresados en la superficie de las células tumorales sin la restricción del HLA y una vez en el paciente, logran expandirse, inducir la apoptosis de las células blanco y generar memoria inmunológica. Sin embargo, a pesar de los promisorios resultados en experimentación clínica⁽¹⁻³⁾, existen aún varios interrogantes que no tienen una clara respuesta: ¿cuál es el mejor diseño de CAR a emplear?, ¿cómo impactan los diferentes métodos de transducción del CAR en la efectividad del tratamiento?, ¿cuál es la relación ideal CD4:CD8 para reinfundirlos?, ¿es necesario adicionar un gen suicida junto con el CAR a fin de poder controlar la población T modificada genéticamente una vez expandida *in vivo* en el paciente? Sin dudas en un futuro, no tan lejano, el trabajo en conjunto de investigadores básicos y clínicos permitirá optimizar el esquema general de la terapia y simplificar el proceso de manufactura, a fin de poder extender la aplicación de esta promisoriosa tecnología.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara haber recibido honorarios de parte de Roche y Janssen por concepto de conferencias y actividades educativas en las que ha participado.

Bibliografía

1. Maus, M.V., et al., Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood*, 2014. 123(17): p. 2625-35.
2. Porter, D.L., et al., Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*, 2013. 365(8): p. 725-33.
3. Riches, J.C. and J.G. Gribben, Advances in chimeric antigen receptor immunotherapy for chronic lymphocytic leukemia. *Discov Med*, 2013. 16(90): p. 295-302.
4. Cheadle, E.J., et al., CAR T cells: driving the road from the laboratory to the clinic. *Immunol Rev*, 2014. 257(1): p. 91-106.
5. Gamberale, R., Reconocimiento antigénico por linfocitos B y T. BCR y TCR. *Introducción a la Inmunología humana*. VI Edición. Eds: Faimboin, L. y Geffner, J. ISBN 978-950-06-0270-9. Editorial Panamericana, 2011: p. 145-173.
6. Vermeulen, M., Inmunidad medida por linfocitos T. *Introducción a la Inmunología humana*. VI Edición. Eds: Faimboin, L. y Geffner, J. ISBN 978-950-06-0270-9. Editorial Panamericana, 2011, 2011: p. 241-274.
7. Davila, M.L., et al., How do CARs work?: Early insights from recent clinical studies targeting CD19. *Oncoimmunology*, 2012. 1(9): p. 1577-1583.
8. Kalos, M., et al., T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*, 2011. 3(95): p. 95ra73.
9. Xu, X.J. and Y.M. Tang, Cytokine release syndrome in cancer immunotherapy with chimeric antigen receptor engineered T cells. *Cancer Lett*, 2014. 343(2): p. 172-8.