

Leucemia mieloide aguda: células T-CAR como tratamiento

Begoña Pérez-Rojo

Resumen — La leucemia mieloide aguda (LMA) es una neoplasia agresiva en la cual se produce un crecimiento descontrolado de células hematopoyéticas anormales y poco diferenciadas. Actualmente, los tratamientos existentes y convencionales presentan poca efectividad, por lo que existe una creciente necesidad de nuevas terapias efectivas. El papel que juega el sistema inmune es fundamental para entender el desarrollo y progresión de la LMA, de hecho, la inmunoterapia se está abriendo paso como tratamiento futuro y personalizado para este tipo de pacientes. Las células T-CAR son un tipo de inmunoterapia que ha mostrado efectos positivos en pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC) y con linfoma de hodgkin (LH), sin embargo, su eficacia en LMA aún es cuestionada. Este artículo intentará describir y abordar las perspectivas más importantes de este tratamiento orientado a LMA.

Palabras Claves — Células T-CAR, Diana Terapéutica, Inmunoterapia, Leucemia Mieloide Aguda (LMA), Tratamiento

1. INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una neoplasia hematológica caracterizada por una proliferación descontrolada y una pérdida en la capacidad de diferenciación de blastos de estirpe mieloide en médula ósea y tejidos periféricos [1]. Esto da lugar a una serie de trastornos hematológicos malignos de rápida progresión y gran heterogeneidad fenotípica y genotípica [2]. Los procesos neoplásicos de origen hematopoyético se asocian con una serie de alteraciones genéticas donde se ve afectada la vía de maduración de la célula progenitora y su dependencia a factores de crecimiento. Esto hace que, en última instancia, tenga lugar una expansión clonal descontrolada y una perturbación en los procesos de apoptosis y diferenciación hematopoyética. Todos estos acontecimientos dan lugar a la leucemiosis o transformación leucémica, donde las células germinativas hematopoyéticas (CGH) terminan transformándose en células madre leucémicas [3].

Según el estudio de Lübbert y Deschler (2006) [4], la LMA es la leucemia mieloide más común, correspondiendo al 80% de las leucemias agudas en adultos y al 15-20% en niños. Presenta una prevalencia de entre 3 a 8 casos por cada 100.000 habitantes, aunque la mayor incidencia se encuentra a partir de los 60 años, con un valor máximo de aproximadamente 25 casos por 100.000 habitantes entre los 80 y 84 años. La mayoría de casos de LMA surgen *de novo* y se caracterizan por carecer de historial clínico relacionado con trastornos hematológicos o de exposición a terapias o agentes potencialmente leucémicos. La LMA generalmente se asocia con una serie de factores de riesgo como la edad, antecedentes previos de enfermedades hematológicas, desórdenes genéticos o exposición a radiaciones y/o sustancias químicas. Sin embargo, también puede desarrollarse como progresión de otro trastorno clonal de las CGH, como neoplasias mieloproliferativas (NMP) y síndromes mielodisplásicos (SMD) [4].

2. HETEROGENEIDAD GENÉTICA EN LMA

Las más de 700 translocaciones cromosómicas encontradas hasta ahora, evidencian que la LMA es una enfermedad genéticamente heterogénea. Sin embargo, su carga mutacional (mutaciones somáticas por megabase) es baja, encontrándose aproximadamente una media de solo 13 mutaciones en pacientes con LMA *de novo*. Las mutaciones génicas más comunes incluyen a FLT3, RAS y c-KIT, y suelen inducir un incremento en la proliferación de células mieloides como consecuencia de la activación de rutas de transducción de señales. Sin embargo, también son comunes las mutaciones cromosómicas, que pueden bloquear la diferenciación de células mieloides debido a una actividad aberrante de ciertos factores de transcripción. Entre estas mutaciones se encuentran, por ejemplo, translocaciones cromosómicas como t(8;21)(q22;q22): RUNX1-RUNX1T1 y t(15;17)(q22;q12): PML-RAR α [5].

3. INMUNOTERAPIA

La LMA es una enfermedad con gran complejidad a la hora de establecer un tratamiento generalista. Sin embargo, a pesar de que la estrategia terapéutica más común es la quimioterapia, sólo entre el 40-45% de jóvenes y entre el 10-20% de adultos se curan con este tratamiento. Estos resultados insatisfactorios focalizan la atención en nuevos tipos de terapias, entre ellos la inmunoterapia. Adicionalmente, la gran heterogeneidad de anomalías genéticas presentes en la LMA impulsan una serie de respuestas inmunitarias anti-leucémicas diferenciales, lo que hace de este tipo de terapia un tratamiento personalizado al paciente y con más efectividad. El primer punto de partida consiste en detectar y superar todos los mecanismos inmunosupresores que presentan las células de LMA. Existen diferentes tipos de inmunoterapias planteadas para este tipo de cáncer, entre ellas se encuentra la inmunoterapia orientada al antígeno y dentro de esta, la terapia con células T-CAR [5].

3.1. Terapia con células T-CAR

Los receptores de antígeno quimérico o CARs (de sus siglas en inglés “Chimeric Antigen Receptor”) se caracterizan por ser receptores recombinantes diseñados genéticamente para ser capaces de redirigir la función de linfocitos T y de otras células inmunes. Para ello, incorporan la especificidad antigénica del fragmento variable de un anticuerpo de cadena simple, con los dominios de señalización transmembrana e intracelular de la cadena CD3 ζ y moléculas coestimuladoras [7]. Los receptores CAR presentan tres dominios diferentes: (i) un dominio de unión específico al antígeno extracelular, que se deriva del fragmento variable de cadena única de un anticuerpo (scFv), (ii) una bisagra y un segmento transmembrana generalmente derivado de CD8 α o dominio IgG, y (iii) un dominio de señalización intracelular de células T [8]. El dominio extracelular de la construcción CAR transgénica reconoce un objetivo predefinido en las células leucémicas y/o tumorales respectivas. Tras unirse a dicho objetivo, la construcción quimérica, que contiene dominios de señalización coestimuladores intracelulares, activa a la célula T-CAR, resultando en la muerte de la célula tumoral y estimulando, a su vez, células inmunes en el microambiente tumoral adyacente [13]. Hasta el momento, existen tres generaciones de receptores CARs (Figura 1). La segunda generación permitió la mejora de las señales de coestimulación al dominio intracelular, mientras que la tercera generación mejoró la supervivencia de las células T-CAR [8].

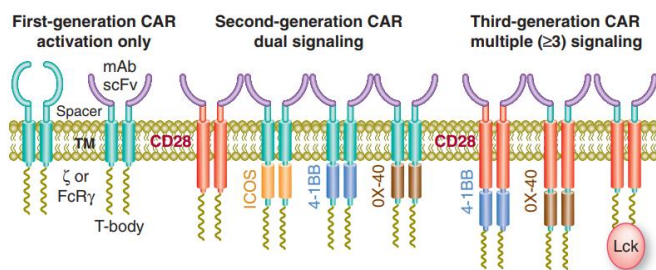


Fig. 1. Las tres generaciones de CARs [7].

Cuando se produce una recaída después de la terapia con anticuerpos o células T-CAR, las células tumorales pierden a menudo el antígeno diana. Este problema es abordado por células T-CAR dirigidas a múltiples antígenos, bien mediante la administración simultánea de varios CAR monoespecíficos o bien mediante células T-CAR bispecíficas para dos dianas diferentes [8].

4. ANTÍGENOS CANDIDATOS PARA LA TERAPIA CON CÉLULAS T-CAR.

En el caso de LMA, identificar la diana más óptima sigue siendo un gran desafío. Estas dianas deben presentar ausencia de expresión superpuesta en tejidos normales, así como una baja expresión en células madre hematopoyéticas, con el fin de minimizar la toxicidad sistémica fuera del tumor. Además, deben expresarse en todas las células tumorales para superar la heterogeneidad clonal y pre-

sentar coexpresión en células tumorales con el fin de evitar el escape del antígeno, que junto con la pérdida de células T-CAR y el desarrollo de autoanticuerpos, son los mecanismos más comunes que conducen al fracaso de esta terapia [8]. Existen una serie de antígenos que se consideran potenciales candidatos para la terapia con células T-CAR, los cuales se recogen en la Figura 2. De entre ellos, se pondrán los más prometedores.

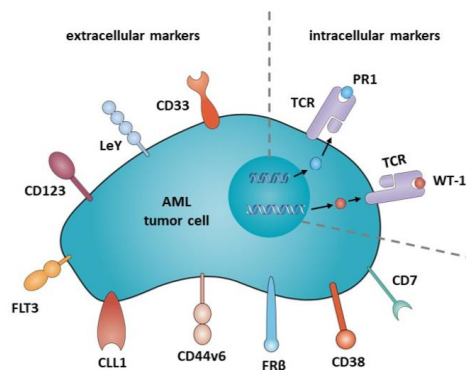


Fig. 2. Posibles dianas para la terapia T-CAR en LMA [8].

4.1. CD33

CD33 es un receptor de membrana expresado en células mieloides. El 90% de los blastos leucémicos expresan CD33, aunque también lo hacen las células madre mieloides y las mieloides sanas. Desde el desarrollo del Gemtuzumab (Mylotarg®, Pfizer, Alemania), un anticuerpo humanizado anti-CD33 conjugado con drogas, CD33 ha sido considerado un objetivo atractivo para la inmunoterapia [9]. Kim *et al.* (2018) [14] intentaron resolver el problema de mielotoxicidad mediante la eliminación por CRISPR/Cas9 de CD33 en células madre hematopoyéticas normales, haciendo que estas fueran resistentes a la terapia T-CAR dirigida a CD33. Además, estudios con macacos Rhesus demostraron que la terapia con células T-CAR anti-CD33 transfundidas después de un trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (HSPC), fue eficaz a la hora de eliminar las células leucémicas sin ningún signo de mielotoxicidad [9].

4.2. CD123

CD123 corresponde con la cadena transmembrana α del receptor de IL-3 (interleucina 3). A pesar de que se considera una diana adecuada, exhibe problemas de mielotoxicidad [10]. El 70% de células de LMA expresan tanto CD33 como CD123 y solo el 10% expresan CD123 sin CD33 concomitante en su superficie, esto convierte a CD33 junto con CD123 en objetivos interesantes para la terapia T-CAR en LMA. [13].

4.3. FLT3 (CD135)

FLT3 (tirosina quinasa 3 similar a Fms) también conocido como CD135, es un receptor de citocinas perteneciente a los receptores de tirosina quinasa de clase III. FLT3 se expresa aproximadamente en el 20% de los pacientes con LMA y se caracteriza por presentar duplicaciones en tándem internas (FLT3-ITD) [13]. Varios estudios han de-

mostrado que anti-FLT3 presenta una toxicidad más baja que otras dianas similares. Además, muestra una supervivencia significativamente prolongada en ratones portadores de leucemia FLT3, después de que estos recibieran tratamiento con células T-CAR anti-FLT3 [8]. En esta terapia, la administración concomitante de Crenolanib conduce a un aumento de la expresión superficial de FLT3 y como consecuencia de ello, las células T-CAR dirigidas a FLT3 reconocen de forma más efectiva a las células leucémicas, tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, el efecto mieloablativo sobre las células hematopoyéticas sanas parece requerir de un posterior trasplante alogénico para reconstituir el sistema hematopoyético, lo cual subraya nuevamente el problema actual de selectividad limitada en las estrategias T-CAR descritas sobre LMA [13].

4.4. Receptor de folato β (FR β)

FR β se expresa principalmente en células hematopoyéticas de linaje mieloide y en el 70% de las células de LMA primarias. Varios modelos preclínicos han demostrado la eficacia de las células T-CAR anti-FR β tanto *in vitro* como *in vivo* sin toxicidad aparente contra las células madre hematopoyéticas sanas [8].

4.5. PR1/HLA-A2 y WT1/HLA-A2

Buena parte de los antígenos y neoantígenos asociados a leucemia se procesan intracelularmente y son presentados por el HLA (sistema del antígeno leucocitario humano) de clase II. Partiendo de esta premisa, se desarrollaron receptores CAR miméticos de células T (TCRm) que dirigían su dominio scFv contra un complejo péptido-HLA. Uno de ellos fue la proteinasa 1 (PR1), un nonámero restringido a HLA-A2 derivado de la proteinasa 3, la cual es un antígeno asociado a leucemia que se sobreexpresa en blastos leucémicos mieloides. Se llevó a cabo una construcción CAR de segunda generación dirigida a HLA-A2/PR1, la cual exhibía citotoxicidad contra líneas celulares de LMA humana y blastos de LMA primarios *in vitro* [11]. Un segundo TCRm desarrollado fue dirigido al antígeno tumoral de Wilms (WT1) en el contexto de HLA-A2, demostrándose eficacia *in vivo* en un modelo de ratón con LMA [12].

5. CONCLUSIÓN

A pesar de que son varias las neoplasias que ya están siendo tratadas con terapia de células T-CAR, aún queda por hacer una profunda valoración de este tipo de inmunoterapia en LMA, pues apenas se está comenzado a construir una columna terapéutica en la práctica clínica. Las principales barreras a las que se enfrenta este novedoso tratamiento son la toxicidad y las dianas fuera del tumor. Sin embargo, son muchos los esfuerzos que se están llevando a cabo en investigación, con el fin de hacer de las células T-CAR una terapia sólida y prometedora en el tratamiento de la LMA.

REFERENCIAS

- [1] Díaz Beveridge, R., and Aparicio Urtasun, J. (2003). Leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos secundarios al tratamiento oncológico. *Anales De Medicina Interna*, 20(5), 43-54.
- [2] Renneville, A., Roumier, C., Biggio, V., Nibourel, O., Boissel, N., Fenaux, P., *et al.* (2008). Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*, 22(5), 915-931.
- [3] Lagunas-Rangel, F. A. (2016). Leucemia mieloide aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. *Gaceta Mexicana De Oncología*, 15(3), 150-157.
- [4] Deschler, B., and Lübbert, M. (2006). Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*, 107(9), 2099-2107.
- [5] Austin, R., Smyth, M. J., and Lane, S. W. (2016). Harnessing the immune system in acute myeloid leukaemia. *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 103, 62-77.
- [6] Bose, P., Vachhani, P., and Cortes, J. E. (2017). Treatment of Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Current Treatment Options In Oncology*, 18(3), 1-30.
- [7] Sadelain, M., Brentjens, R., and Rivière, I. (2013). The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer discovery*, 3(4), 388-398.
- [8] Hofmann, S., Schubert, M. L., Wang, L., He, B., Neuber, B., Dreger, P., Müller-Tidow, C., and Schmitt, M. (2019). Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy in acute myeloid leukemia (AML). *Journal of clinical medicine*, 8(2), 200.
- [9] Kim, M. Y., Yu, K. R., Kenderian, S. S., Ruella, M., Chen, S., Shin, T. H., Kozłowski, M. S., *et al.* (2018). Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell*, 173(6), 1439-1453.
- [10] Thokala, R., Olivares, S., Mi, T., Maiti, S., Deniger, D., Huls, H., McNamara, G., *et al.* (2016). Redirecting specificity of T cells using the sleeping beauty system to express chimeric antigen receptors by mix-and-matching of VL and VH domains targeting CD123+ tumors. *PLoS One*, 11(8).
- [11] Molldrem, J. J., Clave, E., Jiang, Y. Z., Mavroudis, D., Raptis, A., Hensel, N., Barrett, A. J., *et al.* (1997). Cytotoxic T lymphocytes specific for a nonpolymorphic proteinase 3 peptide preferentially inhibit chronic myeloid leukemia colony-forming units. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 90(7), 2529-2534.
- [12] Rafiq, S., Purdon, T. J., Daniyan, A. F., Koneru, M., Dao, T., Liu, C., Brentjens, R. J., *et al.* (2017). Optimized T-cell receptor-mimic chimeric antigen receptor T cells directed toward the intracellular Wilms Tumor 1 antigen. *Leukemia*, 31(8), 1788-1797.
- [13] Rudzki, J. D., & Wolf, D. (2020). AML – is it time to drive a CAR (-T)? *memo-Magazine of European Medical Oncology*, 13(1), 50-54.
- [14] Kim, M. Y., Yu, K. R., Kenderian, S. S., Ruella, M., Chen, S., Shin, T. H., Kozłowski, M. S., *et al.* (2018). Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell*, 173(6), 1439-1453.



Begoña Pérez Rojo graduada en Biología por la Universidad de Granada. Actualmente está cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.