

IMUNOLOGIA – CAPÍTULO DEZOITO

IMUNOLOGIA DE TUMORES

Dr Abdul Ghaffar and Dr Mitzi Nagarkatti

Tradução PhD Myres Hopkins

OBJETIVOS

Conhecer a evidência da reatividade imune a tumor

Conhecer as mudanças nas características celulares devidas a malignidade

Conhecer os componentes do hospedeiro que afetam a progressão de tumores

Conhecer os componentes celulares de tumores que os protegem contra o sistema imune

Compreender a finalidade da imunoterapia de tumores e conhecer

TRANSFORMAÇÃO MALIGNA

A proliferação de células normais é cuidadosamente regulada. Entretanto, tais células quando expostas a carcinogênicos químicos, irradiação e certos vírus podem sofrer mutações que levam à sua transformação em células que são capazes de crescimento descontrolado, produzindo tumor ou neoplasma.

Um tumor pode ser:

- Benigno, se não é capaz de crescimento infinito e o hospedeiro sobrevive.
- Maligno, se o tumor continua a crescer infinitamente e espalha (metastatiza), eventualmente matando o hospedeiro. Este crescimento incontrolável é devido à ativação dos oncogenes (genes indutores de cancer) e/ou inativação de genes supressores de tumor (que normalmente inibem crescimento tumoral frequentemente pela indução de morte celular).

EVIDÊNCIA DA REATIVIDADE IMUNE A TUMORES

Existem muitas evidências de que tumores podem disparar uma resposta imune. Tais evidências incluem:

- Tumores que têm infiltração mononuclear severa têm um melhor prognóstico do que aqueles que não têm.
- Certos tumores regridem espontaneamente (ex. melanomas, neuroblastomas), sugerindo uma resposta imunológica.
- Algumas metástases tumorais regridem após a remoção do tumor primário, que reduz a carga tumoral e por essa razão induz o sistema imune a matar o tumor residual.
- Embora quimioterapia leve à rejeição de um grande número de células tumorais, as poucas células tumorais que escapam da ação das drogas podem crescer muito mais e matar o hospedeiro. Entretanto, o sistema imune é capaz de montar um ataque contra algumas células tumorais que não são afetadas pelo agente quimioterápico.
- Há um aumento de incidência de malignidades em pacientes imunodeficientes tais como pacientes de SIDA que são susceptíveis a sarcoma de Kaposi e pacientes transplantados que são susceptíveis ao linfoma induzido pelo vírus Epstein Barr (EBV).
- Anticorpos tumor específicos e linfócitos T (detectados nos testes de citotoxicidade e resposta proliferativa) têm sido observados em pacientes com tumores.
- A população infantil e de idosos tem uma incidência aumentada de tumores. Esses membros da população frequentemente têm um sistema imune que está comprometido.
- Hospedeiros podem ser imunizados especificamente contra vários tipos de tumores demonstrando que antígenos tumorais podem disparar uma resposta imune.

ANTÍGENOS ASSOCIADOS A TUMOR

Para que o sistema imune reaja contra um tumor, este deve ter antígenos que são reconhecidos como estranhos. Várias alterações na expressão de genes ocorrem em células durante a tumorigênese. Tumorigênese leva à expressão de novos antígenos (neoantígenos) ou à alteração nos antígenos existentes que são encontrados nas células normais. Esses antígenos incluem receptores de membrana, reguladores do ciclo celular e apoptose, ou moléculas envolvidas nas vias de transdução de sinal.

Há 2 tipos principais de antígenos tumorais:

- Antígenos de transplante tumor-específicos (TSTA) que são próprios de células tumorais e não são expressados em células normais. Eles são responsáveis pela rejeição do tumor.
- Antígenos de transplante associados a tumor (TATA) que são expressos pelas células tumorais e células normais.

Embora tumores induzidos por agentes químicos, UV ou por vírus expressem neoantígenos, a maioria desses tumores é frequentemente imunogenicamente fraca ou

não imunogênica. Na maioria dos casos, TSTAs não podem ser identificados facilmente. Alguns desses antígenos são secretados enquanto que outros são moléculas associadas a membrana.

Antígenos de transplante associados a tumor (TATA)

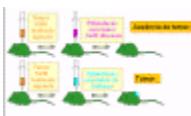
A maioria dos antígenos de tumor está também presente em células normais e são referidos como antígenos de transplante associados a tumor. Eles podem ser expressos em níveis elevados em células tumorais quando comparados com células normais. Alternativamente, eles são expressos somente durante o desenvolvimento de células e se perdem na vida adulta mas re-expressam em tumores.

Antígenos de desenvolvimento associados a tumor ou antígenos onco-fetais

Estes incluem a alfa fetoproteína (AFP) e antígeno carcino-embriônico (CEA) encontrado secretado no soro. AFP é encontrado em pacientes com carcinoma hepatocelular enquanto que CEA é encontrado no câncer de colo. Estes são importantes no diagnóstico. AFP é produzido somente como uma proteína secretada enquanto que CEA é encontrada tanto nas membranas celulares como em fluidos secretados. Uma vez que antígenos secretados contribuem muito pouco na imunidade contra tumores, o papel desses neo-antígenos na vigilância imunológica é questionável.

A variação normal das concentrações de AFP em humanos é 0-20 ng/ml. Esse nível se eleva consideravelmente em pacientes com hepatomas e carcinoma testicular não seminal. Um aumento de 5 vezes ou mais desta proteína é usado para monitorar cânceres tipo hepatoma e testicular. O nível de AFP também pode estar aumentado em algumas condições não malignas, tais como cirrose, na hepatite e outras formas de lesões hepáticas.

Os níveis de CEA em pessoas normais variam até 2.5 ng/ml, mas eles aumentam significativamente em certas malignidades, particularmente cânceres colo-retais. Eles também devem aumentar em algumas condições não malignas (tais como cirrose crônica, enfisema pulmonar e tabagismo severo). Os níveis que estão 4 a 5 vezes além do normal também têm sido usados para prever recorrência de tumores colo-retais.



ANTÍGENOS DE TRANSPLANTE ASSOCIADOS A TUMOR EM TUMORES VIRAIS

Vírus que causam tumor incluem:

Vírus de DNA

- Vírus papova (papiloma, polioma): Vírus do papiloma causa câncer cervical.
- Vírus da hepatite: Vírus da hepatite B provoca cancer hepatocelular.
- Adenovirus também pode ser tumorigênico

Vírus de RNA

- Retrovirus: Virus humanos T-linfotróficos (HTLV-I e HTLV-II) causam leucemias de células T.

Vários vírus causam diferentes tipos de tumores em animais (por exemplo: vírus SV-40, adenovírus, vírus do sarcoma de Rous, vírus eritroleucêmico de Friend, vírus de Moloney Rauscher e de Gross). Vírus estão envolvidos ou são supostamente envolvidos em algumas malignidades humanas (HTLV-1 na leucemia, vírus da hepatite B no carcinoma hepático, vírus do papiloma no câncer cervical). Tumores induzidos por vírus expressam antígenos de superfície celular (distintos dos antígenos do virion) que são compartilhados por todos os tumores induzidos pelo mesmo vírus. Esses antígenos são característicos do vírus que induz tumor, independentemente do tecido de origem do tumor em espécies animais na qual o tumor existe (Figura 1). Mais informação sobre vírus de tumor pode ser encontrada na [seção de vírus oncogênicos](#).



ANTÍGENOS DE TRANSPLANTE ASSOCIADOS A TUMOR EM TUMORES QUIMICAMENTE INDUZIDOS

Tumores quimicamente induzidos são diferentes de tumores induzidos por vírus pois eles são extremamente heterogêneos em suas características antigênicas. Assim, cada dois tumores induzidos pelo mesmo agente químico, mesmo no mesmo animal, raramente têm antígenos tumorais específicos comuns (Figura 2). Esses antígenos próprios em tumores quimicamente induzidos são referidos como antígenos de transplante tumor-específicos (ATTE).

TUMORES SINGENEICOS, ALOGENEICOS E XENOGENEICOS

Um tumor que cresce em uma linhagem animal irá também crescer em outro animal pertencente à mesma linhagem obtida por cruzamentos repetidos na mesma geração. Esses animais expressam as mesmas moléculas de MHC e são referidos como *singeneicos*. Entretanto, a maioria das populações animais são *alogeneicas* e têm vários haplótipos MHC. Assim, um tumor transferido de um animal para outro pertencente a uma linhagem é rejeitado por causa do MHC aló mais do que por causa do ATTE. Um tumor transferido de um animal pertencente a uma espécie para outro animal pertencente a uma espécie diferente é rapidamente rejeitado porque os animais são *xenogeneicos*.

IMUNIDADE CONTRA TUMORES

Embora exista uma ampla evidência de uma reatividade imune anti-tumoral em humanos, evidência de imunidade contra malignidades provém mais comumente de estudos experimentais com animais. Neles, ratos foram imunizados pela administração de células tumorais irradiadas ou após remoção de um tumor primário sensibilizado

com o mesmo tumor vivo. Esses animais foram considerados resistentes à sensibilização com o mesmo tumor vivo. Enquanto anticorpos se desenvolvem contra alguns cânceres, imunidade mediada por células tem papel importante na rejeição de tumores. Assim, imunidade pode ser transferida, na maioria dos casos, de um animal no qual um tumor regrediu, a recipientes não sensibilizados singênicos pela administração de linfócitos T. As células T auxiliares (Th) reconhecem os antígenos tumorais que se destacam de tumores e foram internalizadas, processadas e apresentadas em associação com MHC classe II em células apresentadoras de antígenos. Essas células Th, quando ativadas, irão produzir citocinas. Assim, células Th auxiliam as células B na produção de anticorpos. Citocinas tais como IFN-gama também ativam macrófagos para se tornarem tumoricidas. Além disso, as células Th também provêm auxílio a células T citotóxicas tumor-específicas (CTLs) pela indução de sua proliferação e diferenciação. As CTLs reconhecem antígenos de tumores no contexto do MHC classe I e mediam a lise da célula tumoral. Em tumores que exibem diminuição de antígenos MHC, células assassinas naturais (NK) são importantes na mediação da rejeição tumoral.

ESCAPE DA VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA

De acordo com a Teoria da Vigilância Imunológica, células cancerígenas que aparecem no corpo são eliminadas pelo sistema imune. Entretanto, devido à reatividade imune prejudicada, células cancerígenas podem escapar da destruição. Tumores evadem o reconhecimento imune por meio de vários mecanismos. Tumores podem não expressar neo-antígenos que são imunogênicos ou eles falham na expressão de moléculas co-estimulatórias necessárias para a ativação das células T. Além disso, certos tumores são conhecidos como ausentes ou pobremente expressarem antígenos de MHC. Uma outra razão para a falha da vigilância imune pode ser o fato de que no início do desenvolvimento de um tumor, a quantidade de um antígeno pode ser muito pequena para estimular o sistema imune (tolerância a baixa dose) ou, devido à rápida proliferação de células malignas (tolerância a alta dose), o sistema imune é rapidamente sobrecarregado. Além disso, alguns tumores evadem o sistema imune ao secretarem moléculas imunossupressoras e outros induzem células T regulatórias, particularmente as células CD4+CD25+ FoxP3+ . Também, alguns tumores podem destacar seus antígenos que por sua vez interagem e bloqueiam anticorpos e células T impedindo-as de reagirem com as células tumorais.

USO DE NEOANTÍGENOS TUMORAIS NO MANEJO DE PACIENTES

A presença de neoantígenos em células tumorais tem sido explorada com fins diagnósticos e terapêuticos.

Imunodiagnóstico

Anticorpos monoclonais marcados com radioisótopos têm sido usados na detecção *in vivo* de focos tumorais relativamente pequenos. Anticorpos têm sido também usados *in vitro* para identificar a origem da célula de tumores indiferenciados, particularmente de origem linfocítica.

Também, coloração imunohistológica é usada para confirmar supostos focos metastáticos, especialmente na medula óssea.

Imunoterapia

Imunoterapia tem sido usada com um meio moderno de tratamento do cancer. Meios ativos e passivos de estimular os sistemas imunes não específico e específico têm sido empregados, em alguns casos com sucesso significativo.

- **Imunoterapia Ativa**

Nesta, o hospedeiro participa ativamente na montagem de uma resposta imune

- Ativação específica é conseguida pelo uso de vacinas:

i) Vacina da hepatite B

ii) Vacina do papiloma virus (HPV) humano

- Ativação não específica é conseguida pela imunização com:

i) Bacillus Calmette-Guerin (BCG)

ii) *Corynebacterium parvum*

Estas ativam macrófagos para se tornarem tumorícidas.

- **Imunoterapia Passiva**

Esta envolve a transferência de anticorpos preformados, células imunes e outros fatores para os hospedeiros.

- Específica:

i) Anticorpos contra antígenos do tumor (ex. Her2/Neu para o tratamento de câncer de mama)

ii) Anticorpos contra IL-2R para leucemia de células T de adultos induzida pelo vírus linfotrópico (HTLV-1)

iii) Anticorpos contra CD20 expressado em linfoma não Hodgkin's de célula B. Esses anticorpos se ligam a antígenos tumorais na superfície da célula e ativam complemento (C') para mediar a lise da célula tumoral. Além disso, células contendo receptor Fc tais como células NK, macrófagos e granulócitos se ligam aos complexos antígeno-anticorpo na superfície do tumor e mediam a morte da célula tumoral através de citotoxicidade celular dependente de anticorpos.

iv) Anticorpos conjugados a toxinas, radioisótopos e drogas

anticancer também têm sido usados. Estes penetram nas células e inibem a síntese protéica, ex.: anti-CD20 conjugado à toxina de *Pseudomonas* ou a toxina ricina.

Existem alguns problemas com uso de anticorpos

- Anticorpos não são eficientes porque os antígenos tumorais estão associados a antígenos de MHC classe I.
 - Tumores eliminam antígenos ou complexos antígeno-anticorpo. Assim, as células imunes não podem mediar a destruição do tumor.
 - Alguns anticorpos não são citotóxicos.
 - Anticorpos podem se ligar não especificamente a células imunes expressando receptores Fc incluindo células NK, células B, macrófagos e granulócitos sem se ligar a células tumorais.
- Não específica:
- i) Transferência adotiva de linfócitos:
- Células assassinas ativadas por linfocina (LAK) que são células T e NK ativadas por IL-2.
 - Linfócitos infiltradores de tumores (TIL)
- ii) Células dendríticas pulsadas com antígenos tumorais podem induzir respostas de células T tumor-específicas. Como antígenos tumorais não são usualmente conhecidos, são usados lisados de tumor.
- iii) Citocinas
- IL-2: Ativa células T/NK expressando receptores de IL-2. É usado no tratamento de carcinoma celular renal e melanoma
 - IFN-alfa: Induz a expressão de MHC em tumores e é usado no tratamento de leucemias pilosas de células B.
 - IFN-gama: Aumenta a expressão de MHC de classe II; usado no tratamento de cânceres ovarianos.

- TNF-alfa: Mata células tumorais.

iv) Células tumorais transfectadas com gene da citocina podem ser também usadas e que pode ativar imunidade antitumoral mediada por células T ou LAK.

Tabela 1. Imunoterapia de tumores

ativa	não-específica	BCG, <i>Propionibacterium acnes</i> , levamisol, genes de citocina, etc.
	específica	células tumorais mortas ou seus extratos, antígenos recombinantes, idiotipo, genes de moléculas co-estimulatórias, etc.
passiva	não-específica	células LAK, citocinas
	específica	anticorpos sozinhos ou acoplados a drogas, toxinas pró-drogas ou radioisótopos; anticorpos bi-específicos, células T
	combinada	células LAK e anticorpos bi-específicos

* BCG: Bacillus Calmette Geurin é uma linhagem de *Mycobacterium tuberculosis* bovina.

Uma variedade de agentes imunopotenciadores (modificadores de resposta biológica) são usados para aumentar a imunidade antitumoral. Elas incluem produtos bacterianos, agentes químicos sintéticos e citocinas (Tabela 2). A maioria desses agentes exercem seus efeitos pela ativação de macrófagos e células assassinas naturais (NK), liberando citocinas ou aumentando as funções de células T.

Tabela 2. Imunoterapia não-específica ativa: modificadores de resposta b

Produto bacteriano	BCG, <i>P. acnes</i> , muramil dipeptídeo, dimicolato trealose	ativa macrófagos e células NK (via citocinas)
moléculas sintéticas interferon	pirano, poli I:C, pirimidinas	induz produção de
citocinas e células NK	interferon-alfa, -beta, -gama, IL-2, TNF	ativa macrófagos

Várias citocinas têm sido usadas para potenciar a função imune do hospedeiro desde a descoberta de que essas citocinas têm efeitos potentes e seletivos em certos componentes do sistema imune (Tabela 3).

Tabela 3. Terapia de tumores por citocina

Citocina	Tipo de tumor e resultado	
IFN-alfa, beta carcinomas antitumoral citostático	remissão de leucemia celular pilosa, efeito fraco em alguns Expressão aumentada de MHC classe I, possível efeito	
IFN-gama ineficiente e NK	remissão de carcinoma peritoneal de ovário: sistemicamente antígenos MHC aumentados; macrófago, ativação de células Tc	
IL-2	remissão de carcinoma renal e melanoma de células T e ativação, ativação de células NK	proliferação
TNF-alfa macrófagos e linfócitos	pode reduzir ascite maligna	ativação de



Anticorpos monoclonais antitumorais têm sido usados em diferentes formas no tratamento de cancer, tanto por causa do seu efeito direto ou como veículos de drogas anti-cancer, toxinas e componentes não específicos do sistema imune do hospedeiro ao local do tumor (Figura 3). Além disso, tais anticorpos específicos são também usados no diagnóstico de lesões metastáticas, que não são detectáveis por meios radiológicos contencionais.