

Sistema immunitario e tumori

**I tumori o neoplasie sono malattie
caratterizzate dalla
crescita incontrollata
di alcune cellule dell'organismo che
sfuggono ai regolari controlli della
crescita cellulare**

La trasformazione tumorale è un processo a tappe multiple

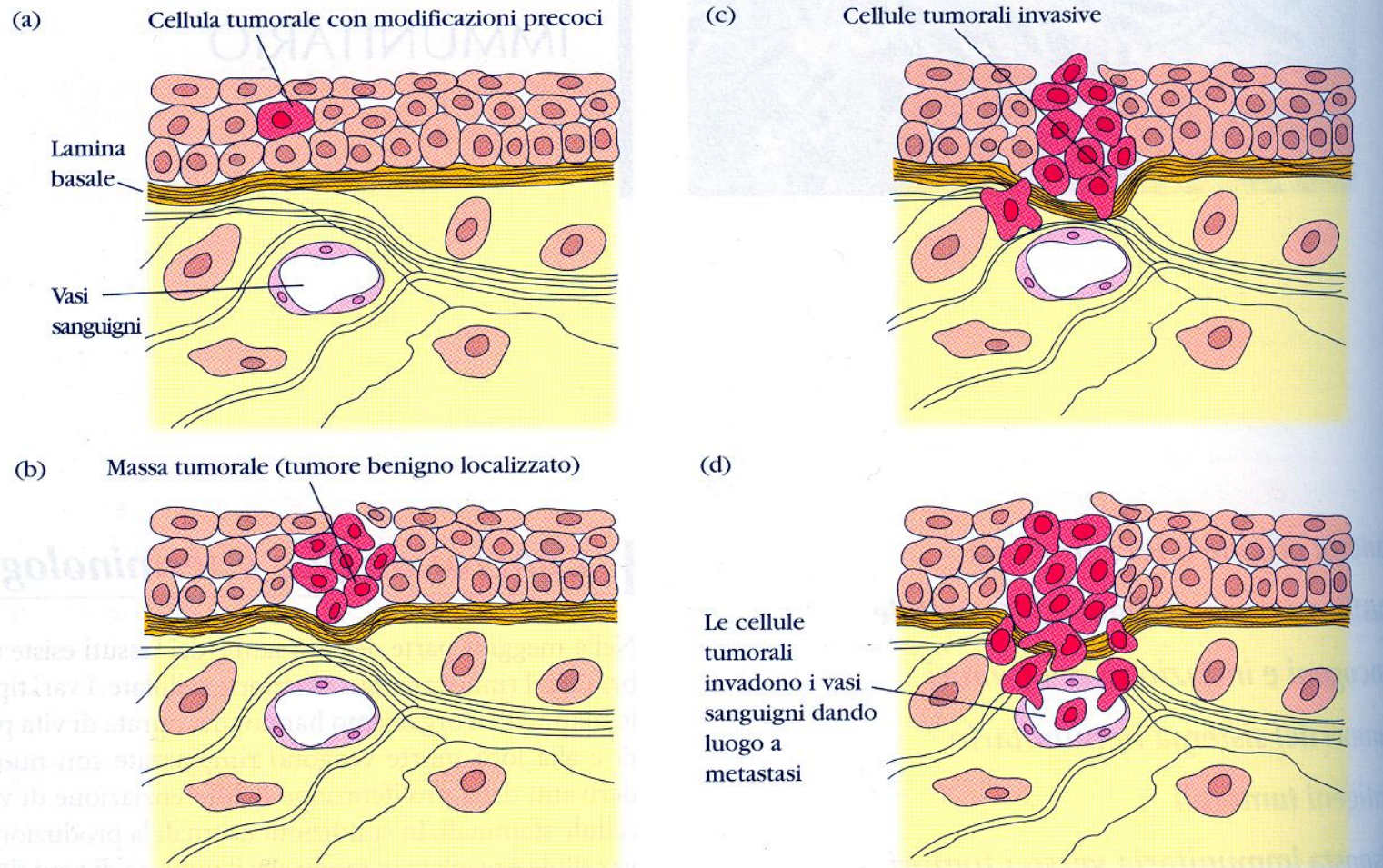


FIGURA 22-1 Crescita tumorale e metastasi. (a) Una singola cellula sviluppa capacità alterate di crescita a livello del tessuto. (b) La cellula alterata prolifera, formando una massa localizzata di cellule tumorali o tumore benigno. (c) Le cellule tumorali invadono progressivamente la lamina basale sottostante. Il tumore è ora classificato come maligno. (d) Il tumore metastatizza dando origine a gruppi di cellule neoplastiche che si distaccano dal tumore e vengono portate da sangue e linfa in altre sedi dell'organismo. [Adattato da J. Darnell et al., 1990, *Molecular Cell Biology*, 2^a ed. Scientific American Books.]

Classificazione tumori maligni

- **Carcinomi** (80%) derivati da tessuti di origine endodermica o ectodermica (ex cute, epiteli organi interni, epiteli ghiandolari)
- **Leucemie** (cellule singole) e **linfomi** (masse tumorali) (9%) originano dalle cellule emopoietiche del midollo osseo.
- **Sarcomi** (1%) derivano dai tessuti connettivi di origine mesodermica (osso, tessuto adiposo, cartilagine)

Trasformazione maligna

- Agenti chimici (ex agenti alchilanti)
- Agenti fisici (ex radiazioni ultraviolette e ionizzanti)

Microrganismi e tumori umani

Tumore	Organismi
Leucemie da cellule T in adulti	Virus I della leucemia T umana
Linfoma di Burkitt e linfomi nell'immunosoppressione	EBV
Cancro della cervice	Virus del papilloma umano (HPV16 e 18 e altri)
Cancro del fegato	Epatite B e C
Cancro nasofaringeo	EBV
Cancro della pelle	Probabilmente virus del papilloma umano
Cancro dello stomaco	<i>Helicobacter pylori</i>

Trasformazione maligna

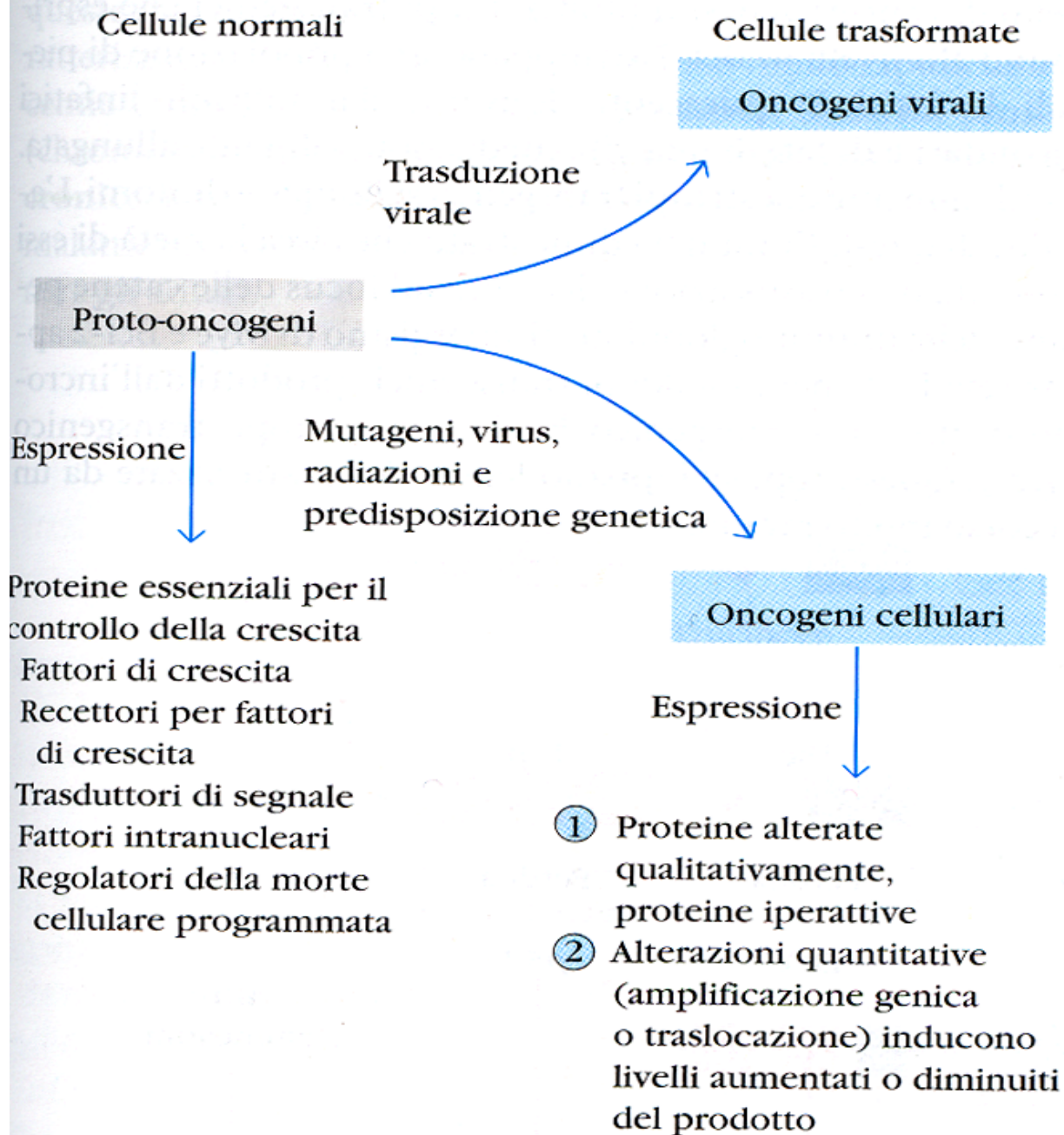
mutazioni puntiformi, delezioni, traslocazioni cromosomiche, inserzioni di geni virali a carico di proto-oncogeni o geni oncosoppressori.

Proto-oncogeni

Proto-oncogeni: geni cellulari direttamente coinvolti nella regolazione della proliferazione cellulare normale

L'omeostasi del tessuto normale è mantenuta attraverso un processo altamente controllato che equilibra la proliferazione con la morte cellulare

Disfunzioni di tali geni possono trasformarli in oncogeni che contribuiscono alla crescita tumorale



Gli oncogeni e i geni oncosoppressori sono geni che in condizioni normali sono coinvolti nella regolazione della crescita delle cellule: gli oncogeni stimolano la proliferazione cellulare, mentre gli oncosoppressori la inibiscono.

Quando intervengono delle mutazioni - cambiamenti della sequenza del DNA - a carico di questi geni, la crescita delle cellule non viene più regolata correttamente e può quindi dar luogo a un cancro, che è, per l'appunto, una divisione incontrollata di cellule. Il prefisso "onco-" non significa che nel nostro patrimonio genetico esistono geni "per i tumori", ma deriva dal fatto che questi geni sono stati scoperti per la prima volta in cellule cancerose, nella loro forma "mutata".

Le mutazioni che avvengono nella sequenza del DNA degli oncogeni sono "dominanti": basta infatti che una sola delle due copie che possediamo (ogni gene è presente in due copie in ogni cellula) sia mutata perché la cellula sia stimolata a crescere in maniera incontrollata.

Per quanto riguarda invece i geni oncosoppressori, si parla di mutazioni "recessive": è necessario che tutte e due le copie di quel gene siano mutate.

Alcuni individui possono avere fin dalla nascita una copia "sbagliata" di un gene oncosoppressore: questi soggetti hanno quindi una probabilità più alta rispetto alla popolazione generale - ma non la certezza - di sviluppare un certo tipo di cancro. Un esempio di questo tipo di geni sono BRCA1 e BRCA2, geni oncosoppressori coinvolti nel tumore della mammella.

Processo a tappe multiple

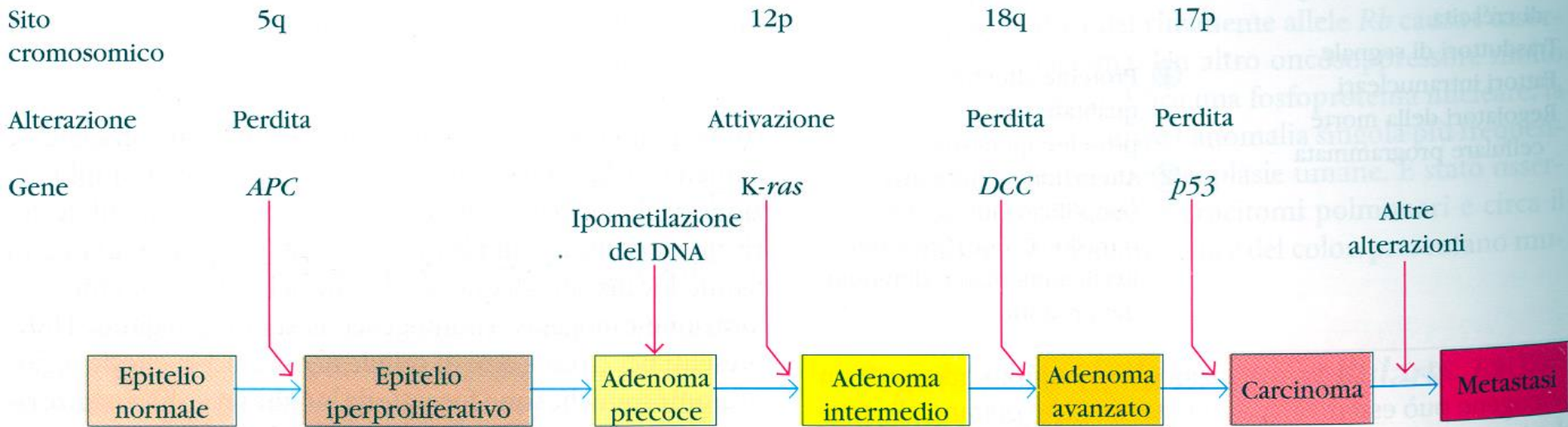
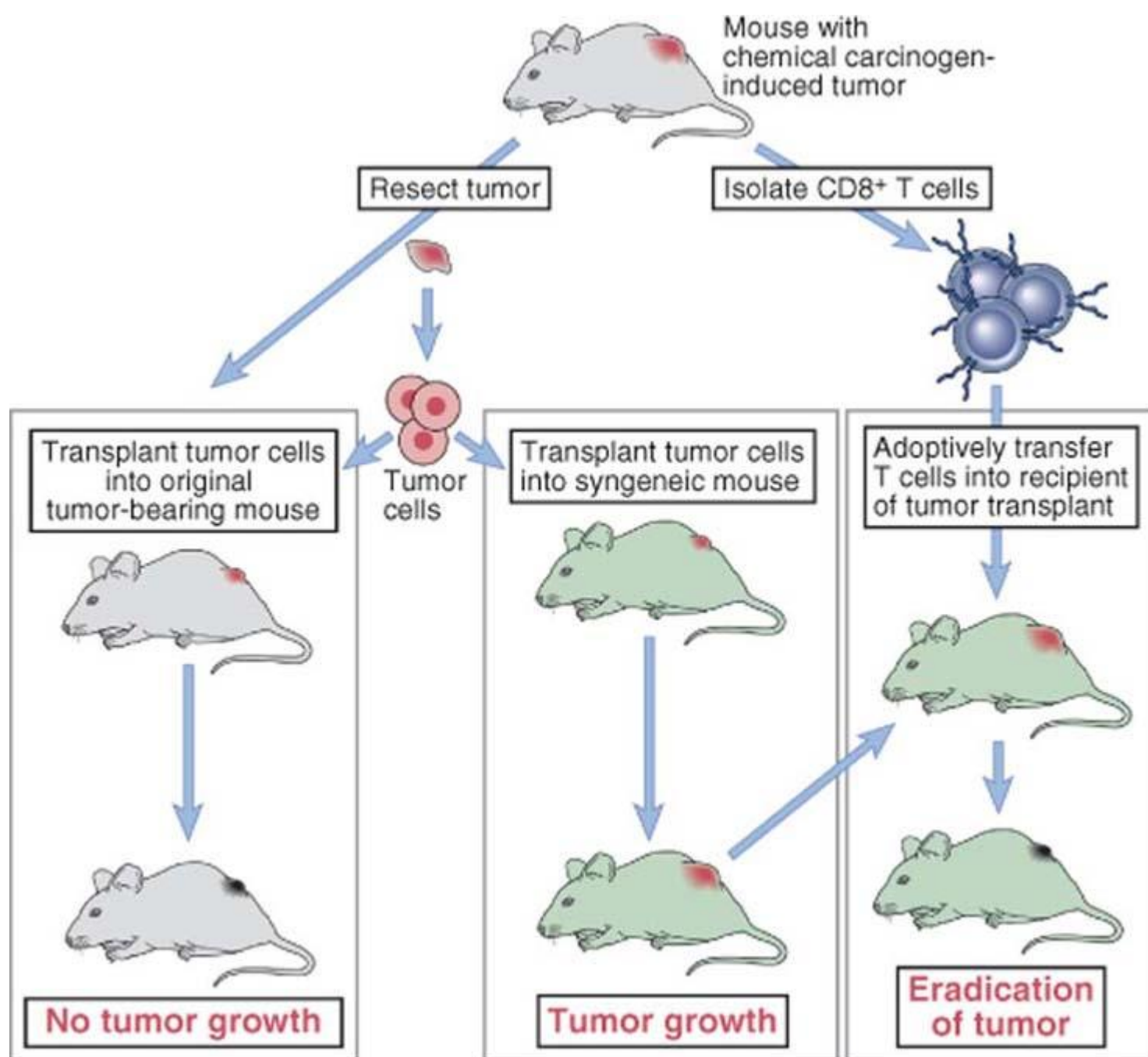


FIGURA 22-4 Modello delle alterazioni genetiche sequenziali che si verificano nel cancro del colon. Ciascuna delle tappe indicate è distinguibile dal punto di vista morfologico e permette così di determinare la sequenza delle alterazioni genetiche. [Adattato da B. Vogelstein e K. W. Kinsler, 1993, *Trends Genet.* 9:138.]

La trasformazione di una cellula normale in una cellula neoplastica è un processo a tappe multiple che determinata da una serie di mutazioni somatiche che trasformano una cellula normale in una cellula precancerosa ed infine in una cellula neoplastica vera e propria

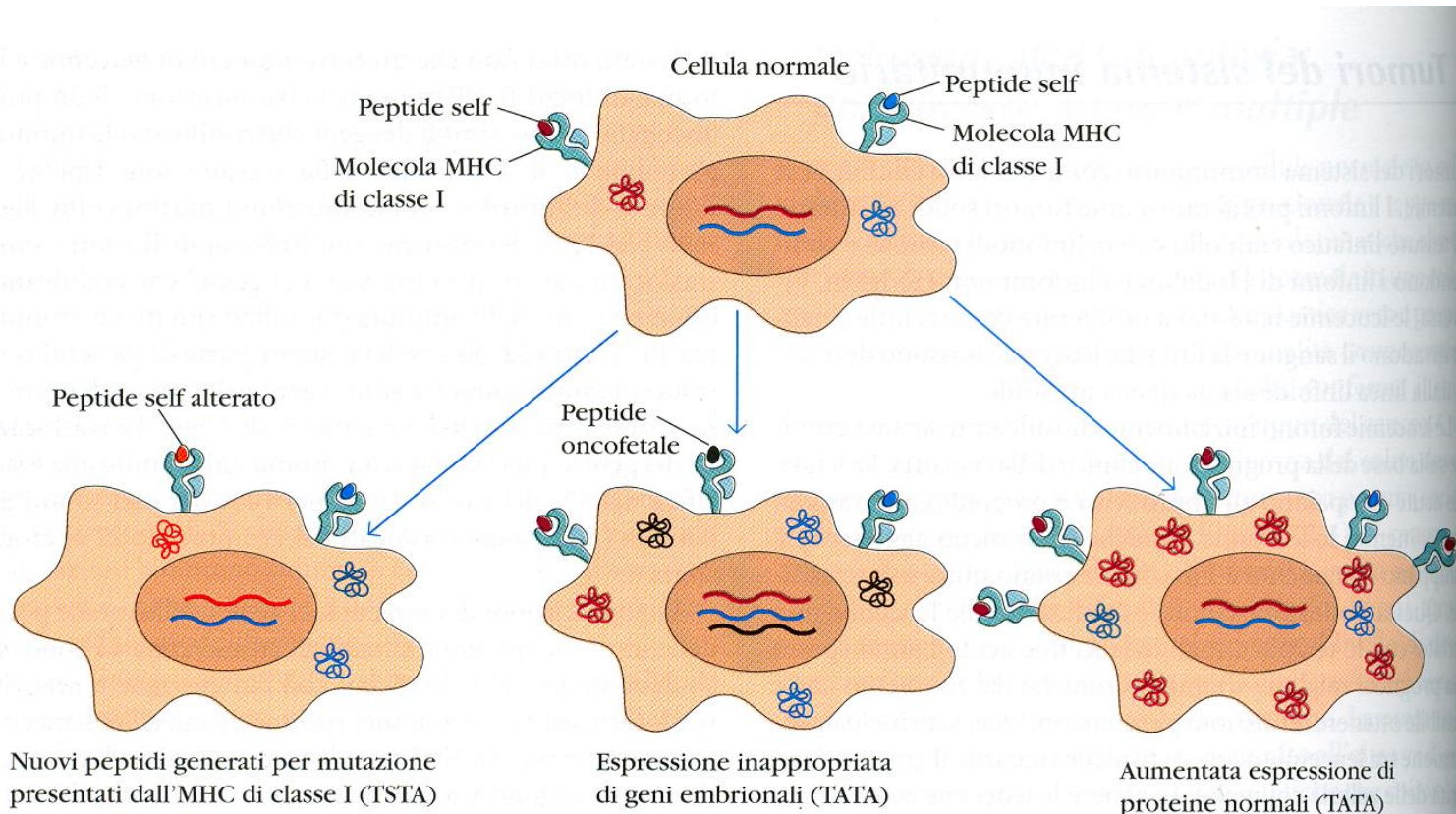
I tumori stimolano la risposta immunitaria

- Gli animali possono essere immunizzati contro i tumori
- L'immunità è trasferibile da un animale immune ad uno naïve
- Anticorpi e linfociti tumore-specifici sono stati ritrovati in individui con tumore



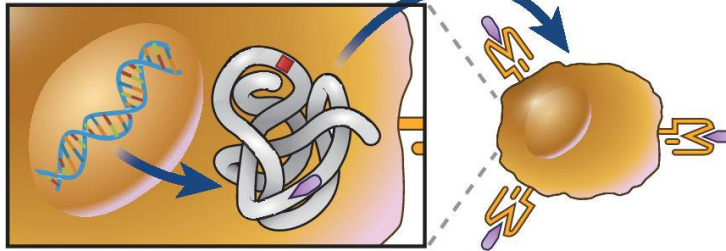
Prima caratterizzazione degli antigeni tumorali

- **Antigeni tumore-specifici (TSA):**
peculiari delle cellule tumorali
- **Antigeni tumore-associati (TAA)**
Espressi anche sulle cellule normali



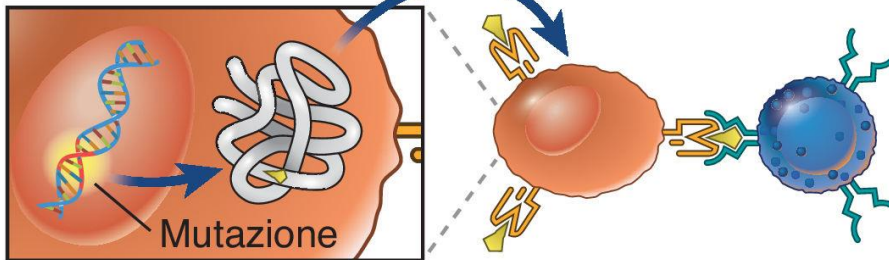
Antigeni tumori specifici

A Cellula normale



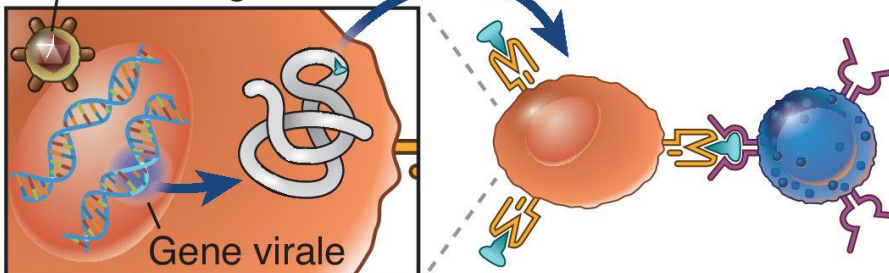
Peptidi self normali presentati su MHC; assenza risposta T dovuta a tolleranza

B Cellula tumorale



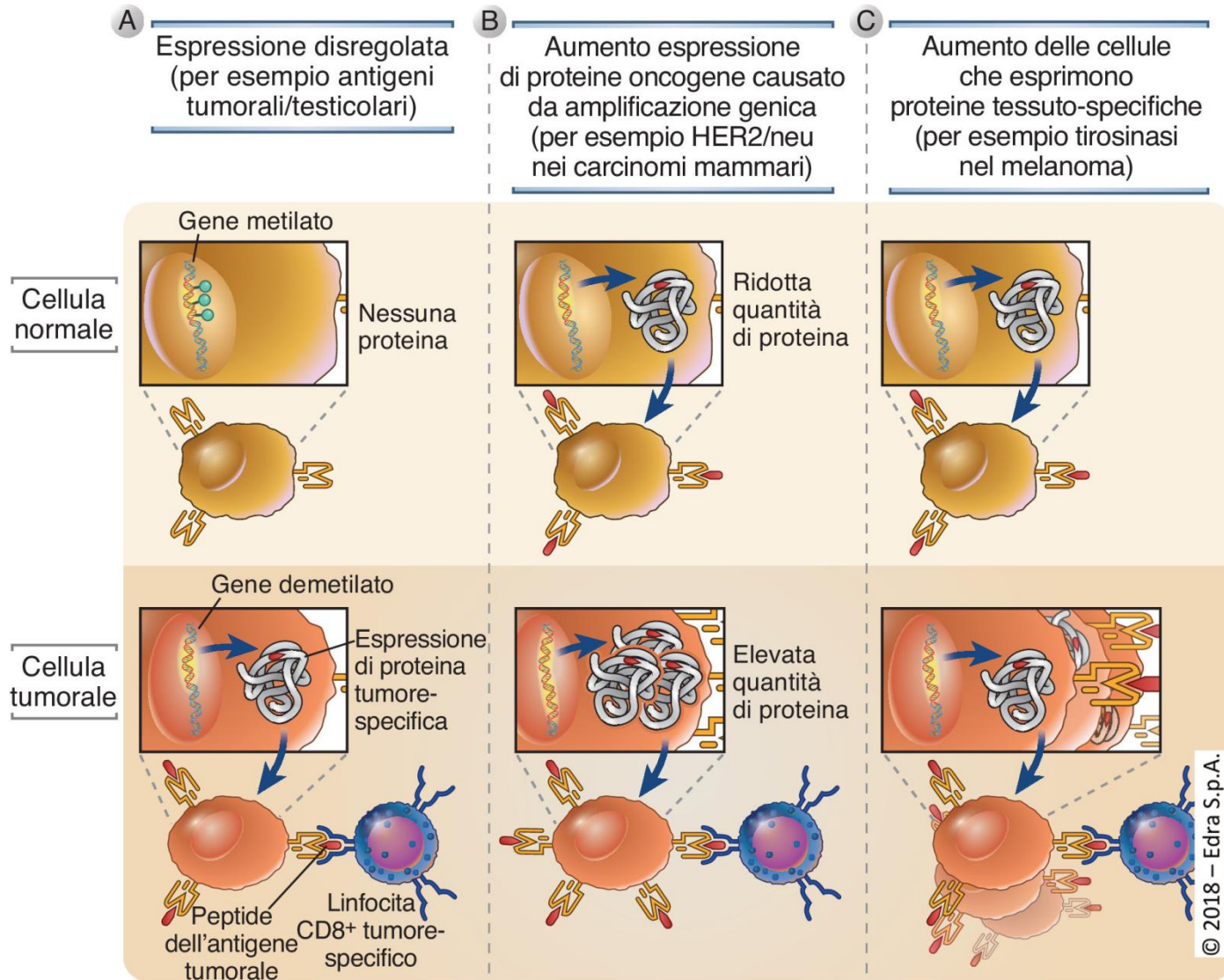
Neopitopi generati da mutazioni $\Rightarrow$ Nuovi residui che legano il TCR: risposta linfociti T

C Cellula tumorale
Virus oncogeno



Peptidi da proteine codificate da un virus oncogeno; risposta linfocita T

Antigeni tumorali tumore-associati



Differenze tra TSA e TAA

Tabella 24.4 Comparazione tra TSA e TAA

Caratteristica	TSA	TAA
Espresso da cellule normali	No	Sì
Proteina “self” o “non self”	“Non self” o “self” alterato	“Self”
Risultato di una mutazione	Abitualmente	No
Ruolo dei virus oncogeni nella produzione antigenica	Il TSA può essere di origine virale	Il promotore virale può intensificare l'espressione del gene ospite

Antigeni tumorali tumore-associati

1-Conc sbagliata: Her-2/EGF

2-Posto sbagliato:

-Ags oncofetal (testicolo) MAGE-A,B,C,D
melanoma

TRP1 da intra a extracellulare

3-Momento sbagliato

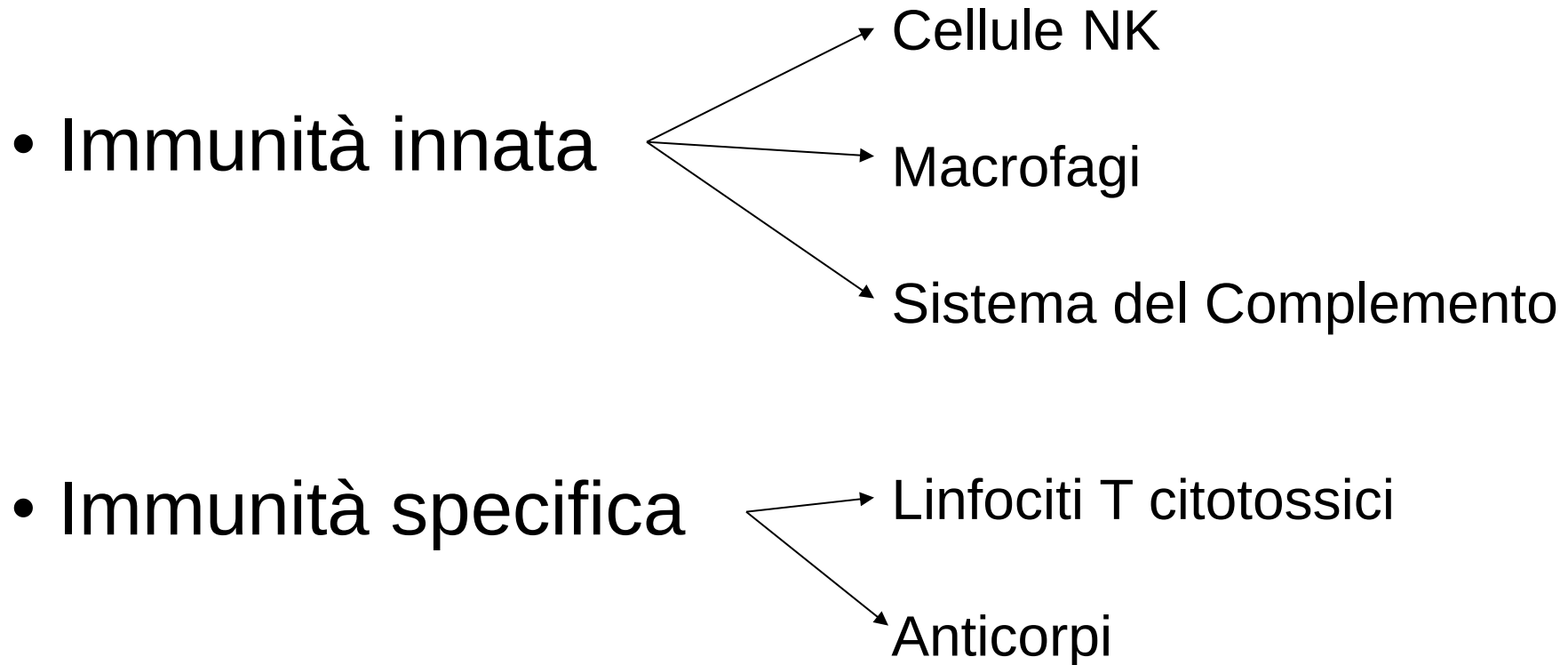
CEA, α FetoProteina

Antigeni oncofetal

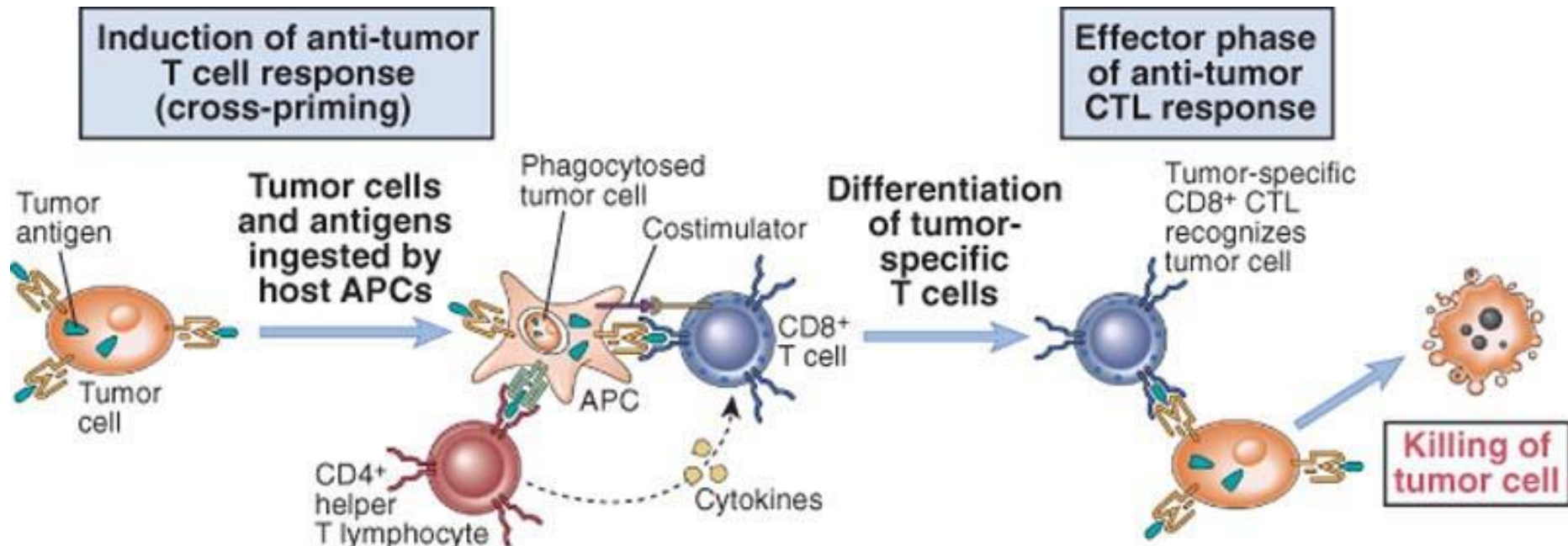
Antigeni oncofetal	Antigene carcinoembrionario (CEA) espresso in molti tumori, ma presente anche nel fegato e in altri tessuti durante un'inflammazione
	Alfa-fetoproteina (AFP)

- **CEA**: molecola di adesione. Carcinomi del colon, pancreas, stomaco mammella
- **AFP** carcinoma epato-cellulare, tumori a cellule germinali, gastrici e pancreatici

Risposta immunitaria alle cellule tumorali



Cross-presentazione dell'antigene



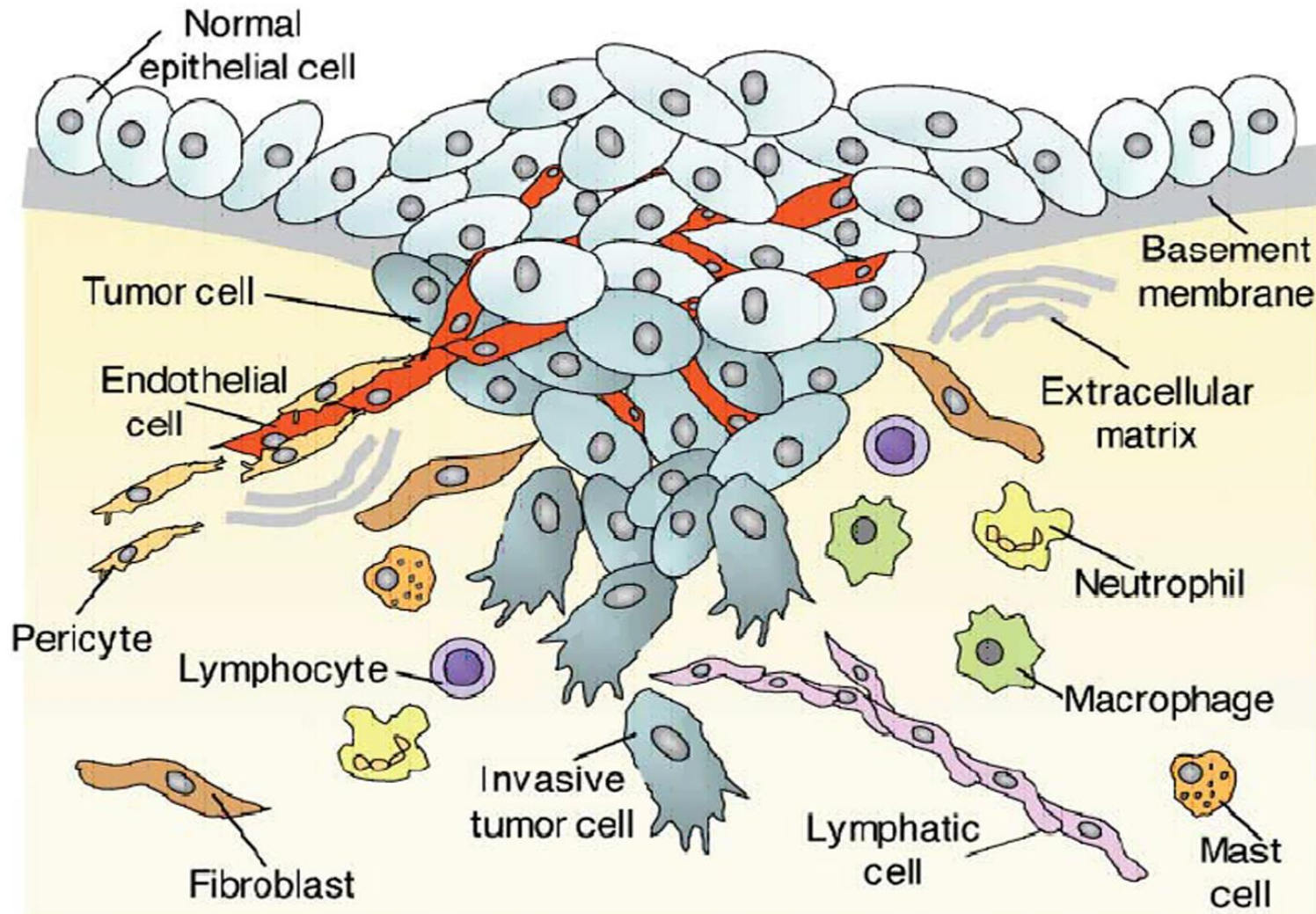
Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology, Updated 6th Edition.
Copyright © 2009 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

Elusione della risposta immunitaria alle cellule tumorali (tumor escape)

Si è osservato che tumori generati in **topi immunodeficienti** sono più facilmente rigettati rispetto a quelli ottenuti in topi normali, in seguito a trapianto in topi immunocompetenti.

Questo risultato indica che il tumore che si sviluppa in un organismo in grado di generare una risposta immunitaria dà origine a varianti meno immunogeniche.

Inflammation and tumor microenvironment



le cellule tumorali perdono l'espressione di antigeni che stimolano le risposte immunitarie

(evidente soprattutto in tumori a rapida crescita in cui è possibile l'inserimento di mutazioni o delezioni agli antigeni tumore-associati)

Failure to produce tumor antigen

Antigen-loss
variant of tumor
cell



**Lack of T cell
recognition of
tumor**

Mutations in MHC genes or genes needed for antigen processing

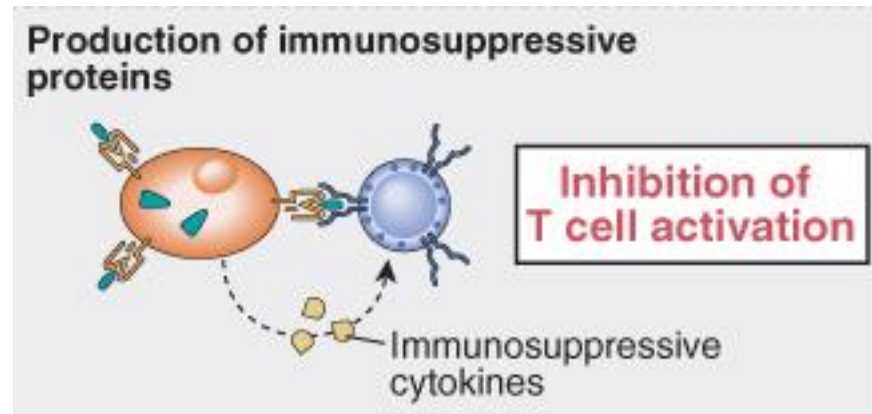
Class I
MHC-deficient
tumor cell



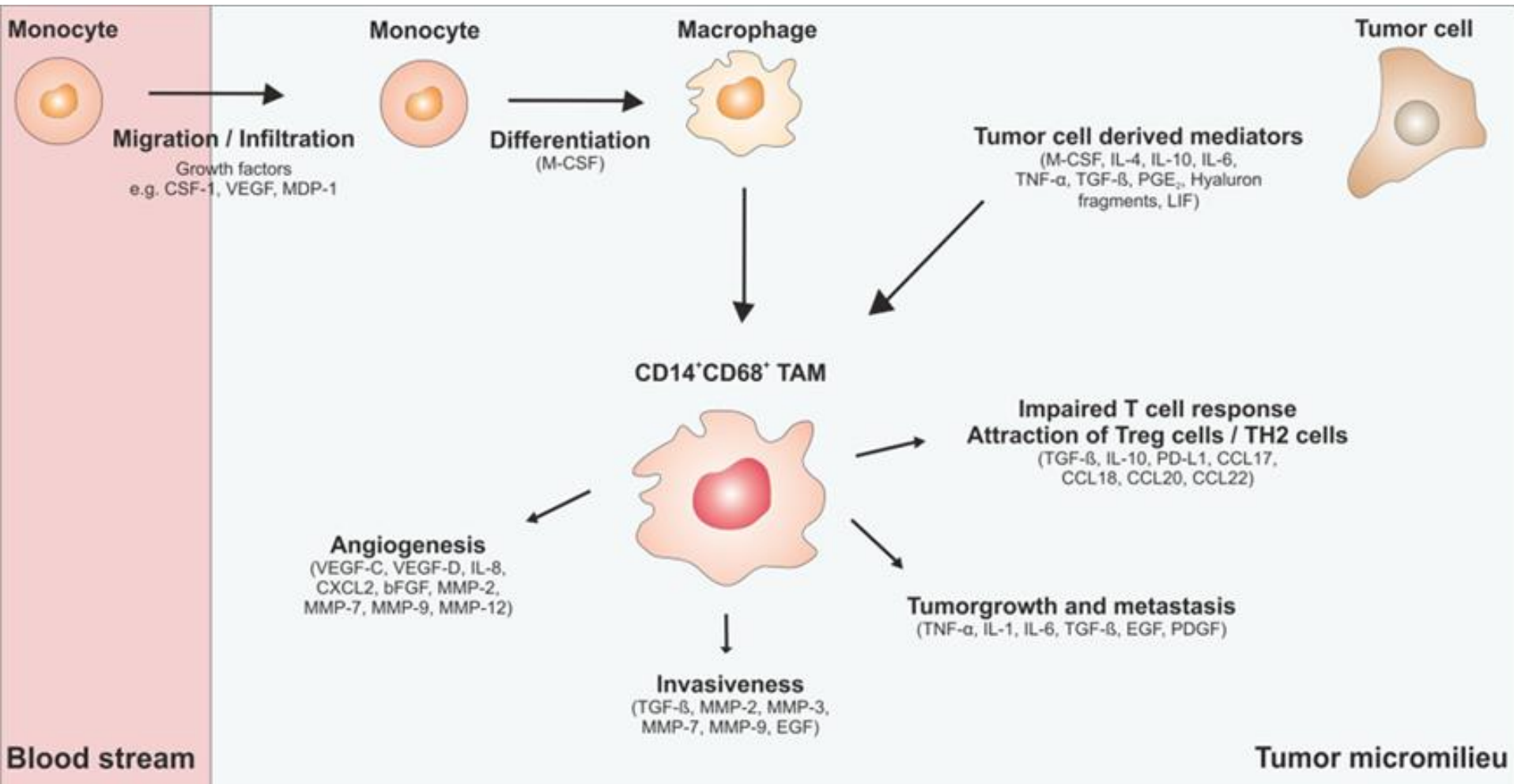
**Lack of T cell
recognition of
tumor**

i prodotti delle cellule tumorali possono inibire le risposte immunitarie anti-cellule tumorali

(es. TGF- β prodotto dalle cellule tumorali inibisce la proliferazione e le funzioni effettrici di linfociti e macrofagi)



TAMs (tumor associated macrophages)



TADCs

(tumor associated dendritic cells)



- **TADCs** con fenotipo immaturo e bassa espressione di molecole costimolatorie
- (IL-10, IL-6, TGF- β e M-CSF prodotti dal tumore possono bloccare la maturazione delle DCs)
- DC immature portano antigeni self agli organi linfatici eliminando cloni autoreattivi ed espandendo i Treg

tumor-associated neutrophils (TANs)

can exert both antitumoral and protumoral functions
suggesting that neutrophils are characterized by a
surprising plasticity

MDSCs

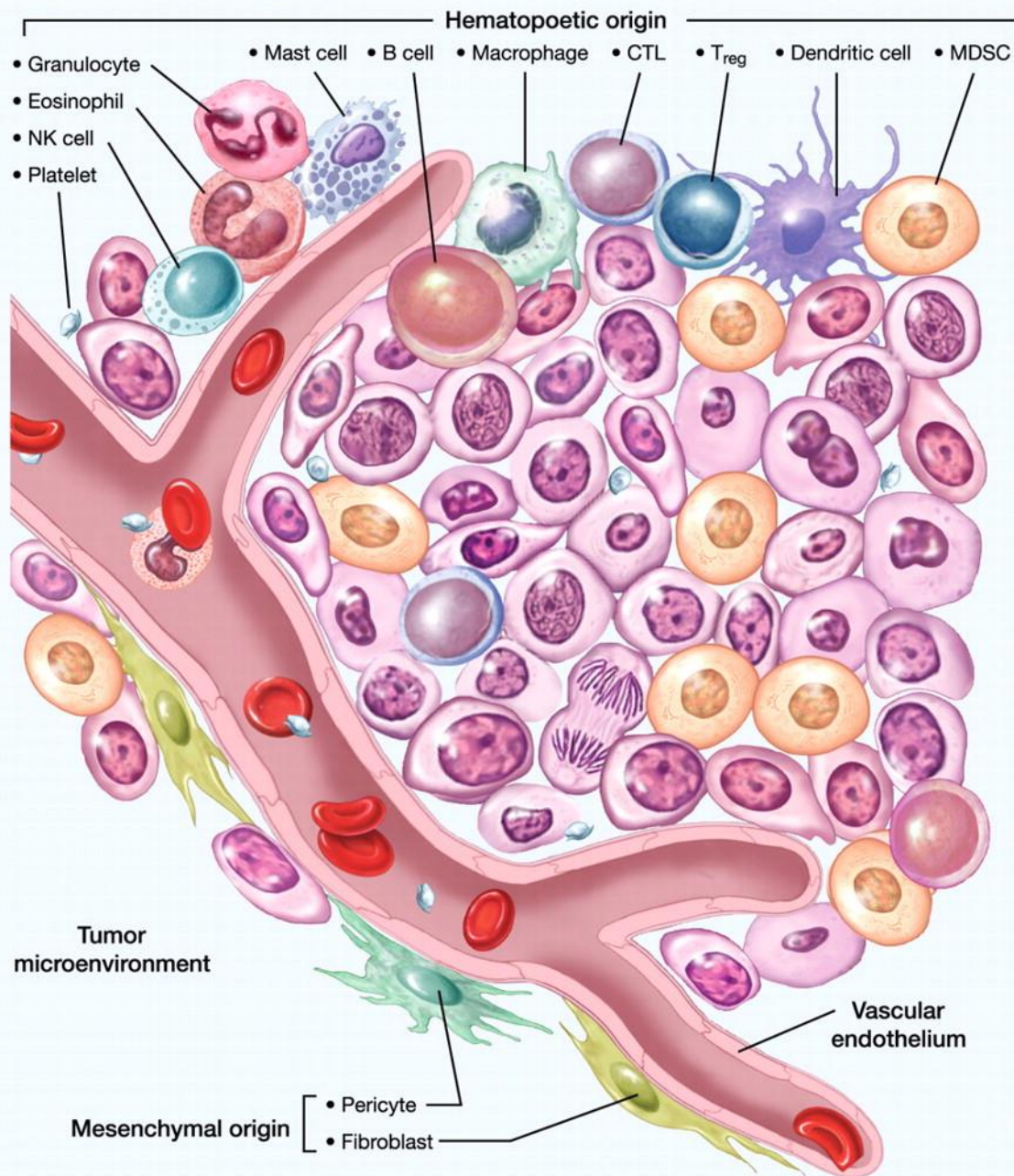
Mieloid derived suppressor cells

During cancer development, a heterogeneous population of myeloid cells appears in peripheral blood of tumor-bearing mice and cancer patients. These cells, namely MDSCs, display immunosuppressive and cancer-promoting properties and are divided into monocytic (Mo-MDSCs) and granulocytic (G-MDSCs) cells, on the basis of distinct morphological and phenotypical aspects

The distinction between G-MDSCs and TANs is not so clear. Indeed, neutrophils and G-MDSCs display the same membrane markers (CD11b, Gr1, and Ly6G), similar morphology, and immunosuppressive properties via arginase-1 production

I linfociti T regolatori possono inibire le risposte T verso le cellule tumorali

(studi in modelli tumorali animali e in pazienti oncologici evidenziano un aumento del numero di T regolatorie e una loro preferenziale localizzazione in alcuni tipi di tumore)



Suppressive mechanisms

MDSC cell



- Secretion of NO, arginase and ROS
- Sequestration of cysteine
- Impaired differentiation
- Defective antigen presentation

T_{reg} cell



- Secretion of suppressive cytokines (TGF- β , IL-10)
- Sink for IL-2, IL-7, IL-12, and IL-15
- Impaired activation of CTLs

Macrophage



- M2 differentiation/cytokine profile
- Defective antigen presentation
- Lack of costimulation for T cells
- Impaired tumoricidal activity

Dendritic cell

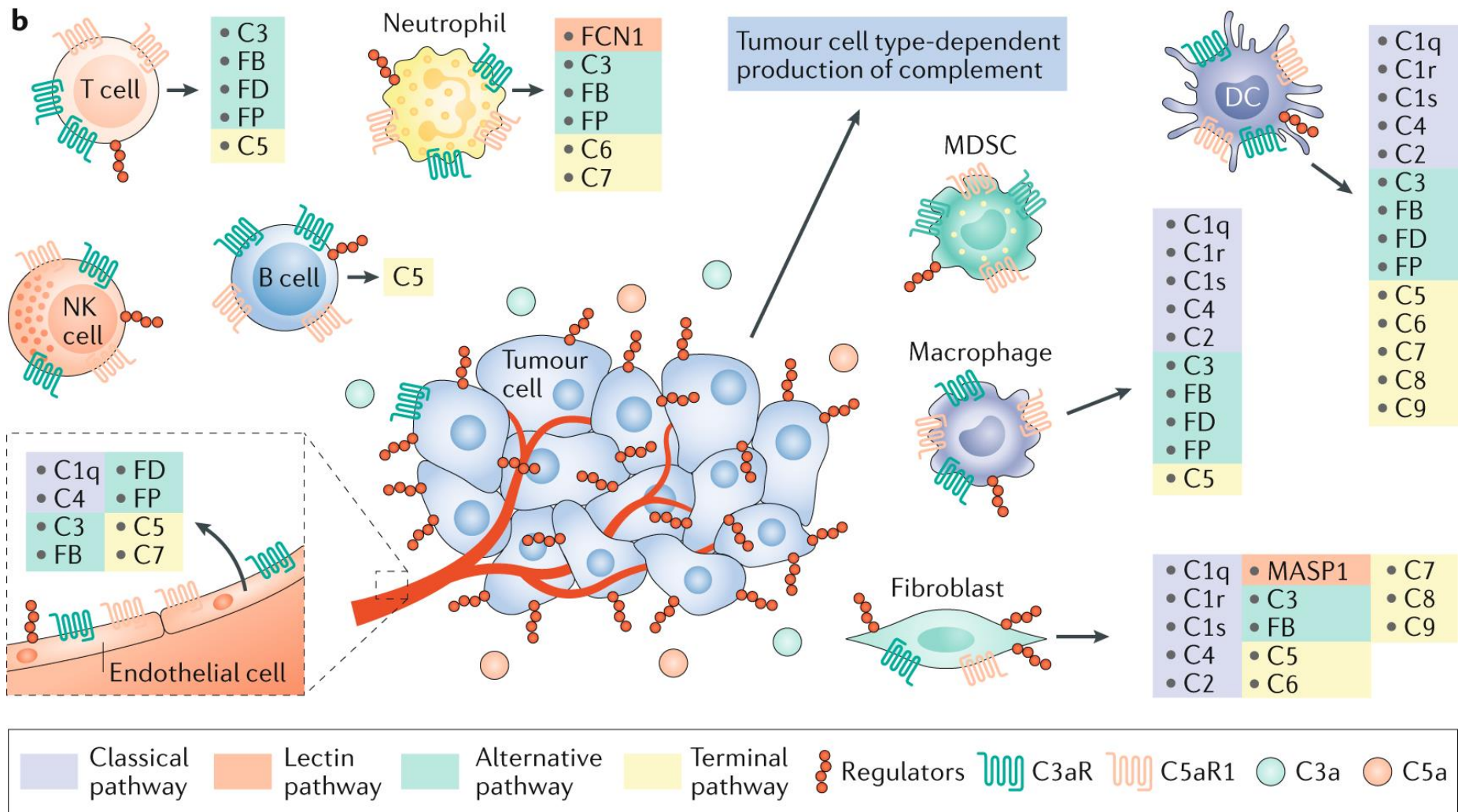


- IDO expression; induction of Tregs
- Impaired maturation
- Defective antigen presentation
- Lack of costimulation for T cells

Cancer cell



- Loss of MHC class I and antigen processing machinery
- Antigen loss variants
- Secretion of VEGF, GM-CSF, G-CSF and gangliosides



Context-dependent roles of complement in cancer

Lubka T. Roumenina, Marie V. Daugan, Florent Petitprez, Catherine Sautès-Fridman & Wolf Herman Fridman

Nature Reviews Cancer volume 19, pages698–715(2019)

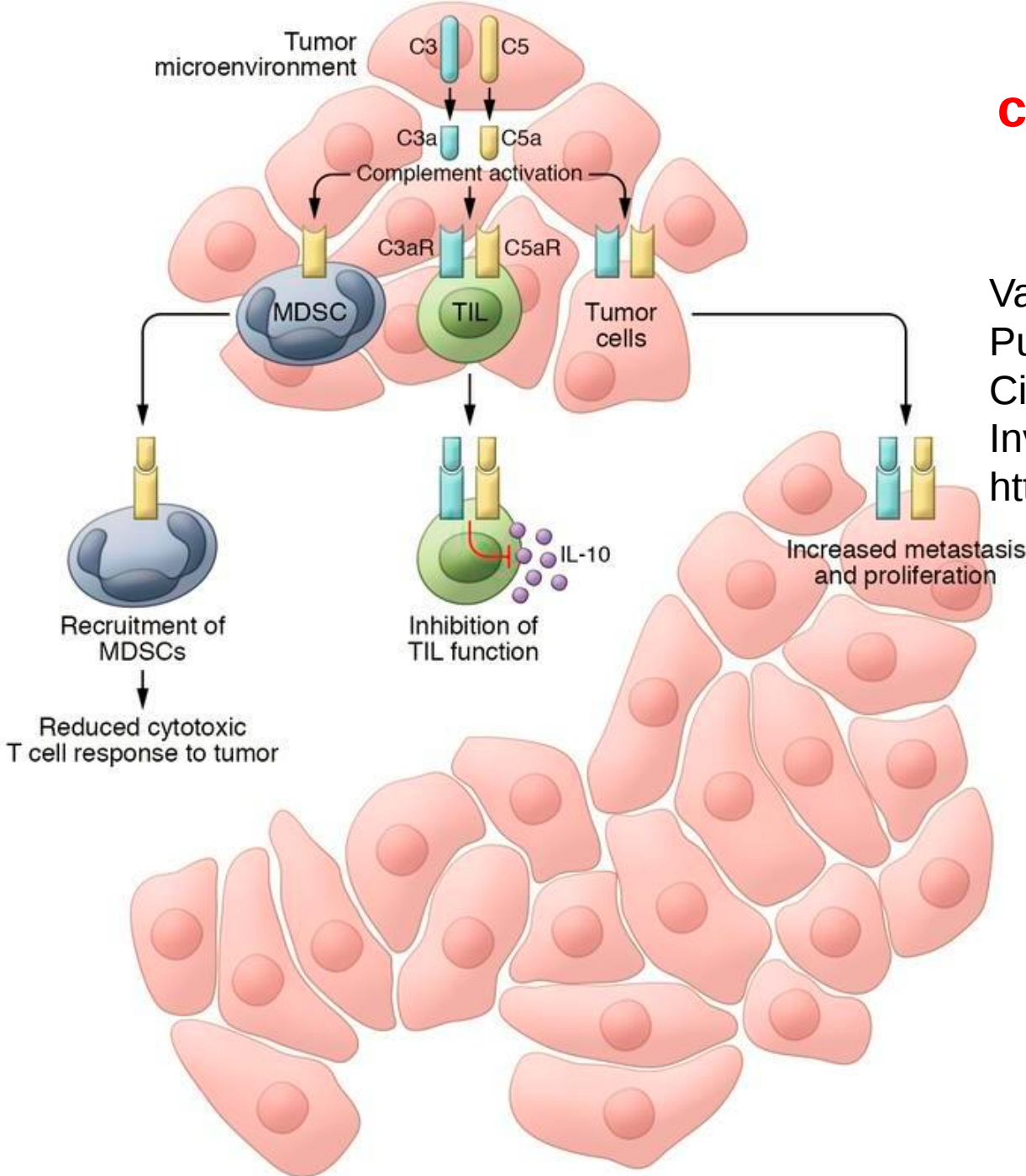
The role of the complement system in cancer

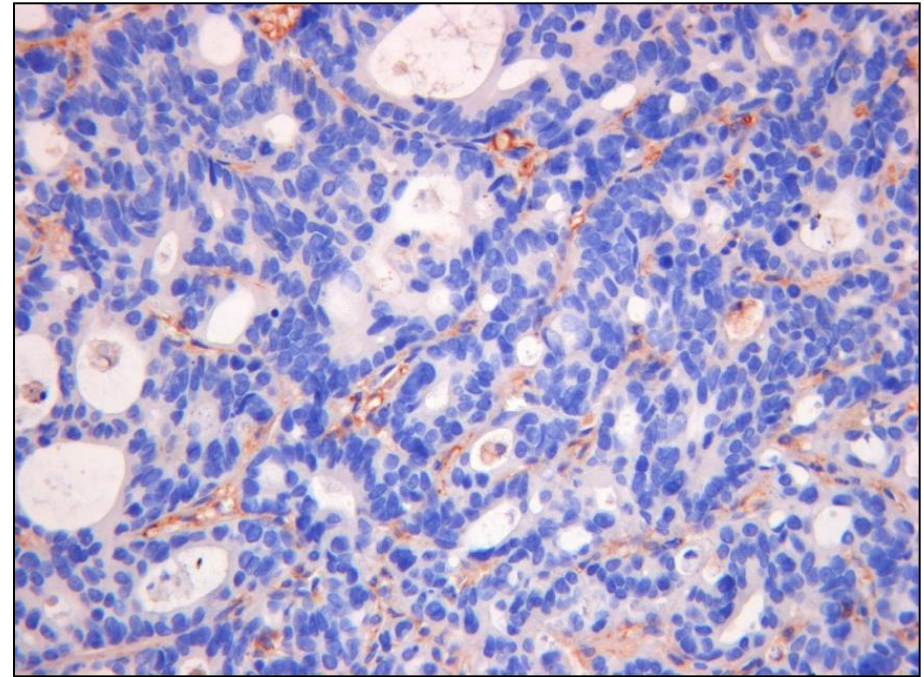
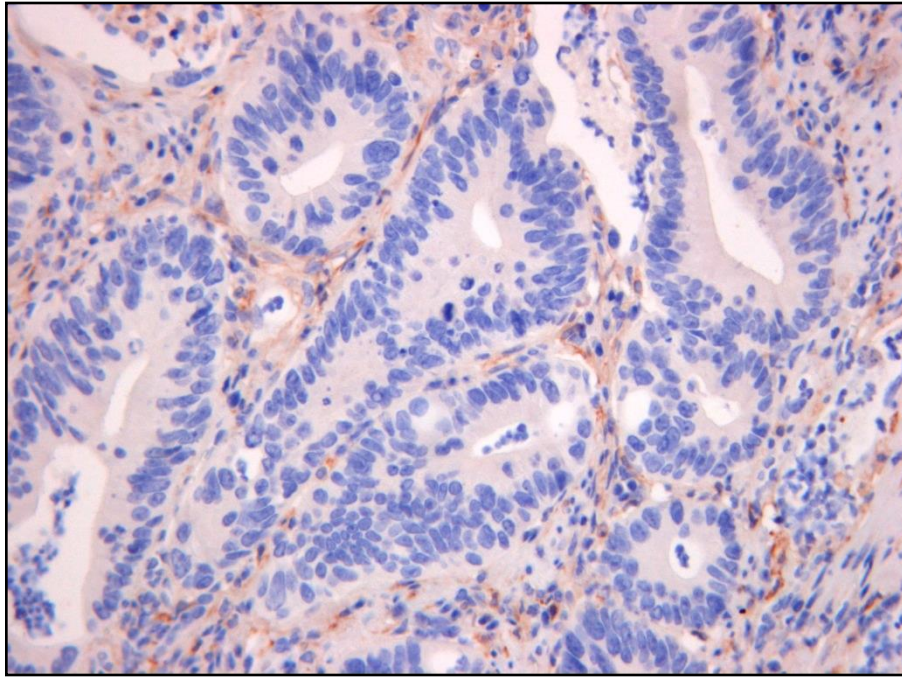
Vahid Afshar-Kharghan

Published March 1, 2017

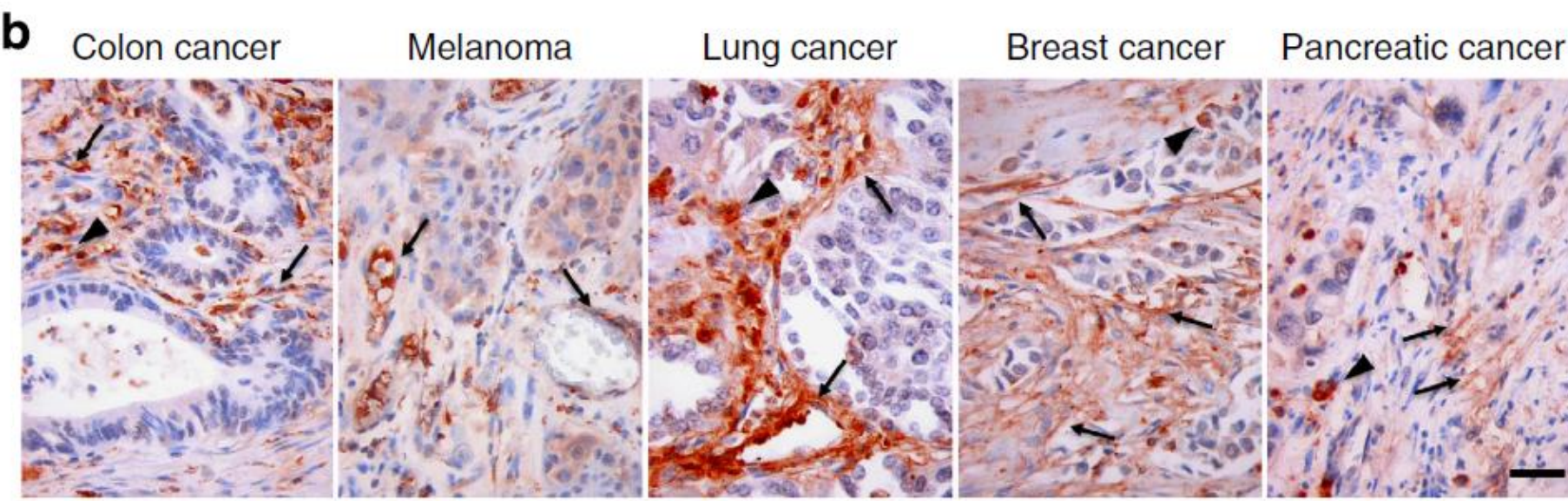
Citation Information: J Clin Invest. 2017;127(3):780-789.

<https://doi.org/10.1172/JCI90962>.

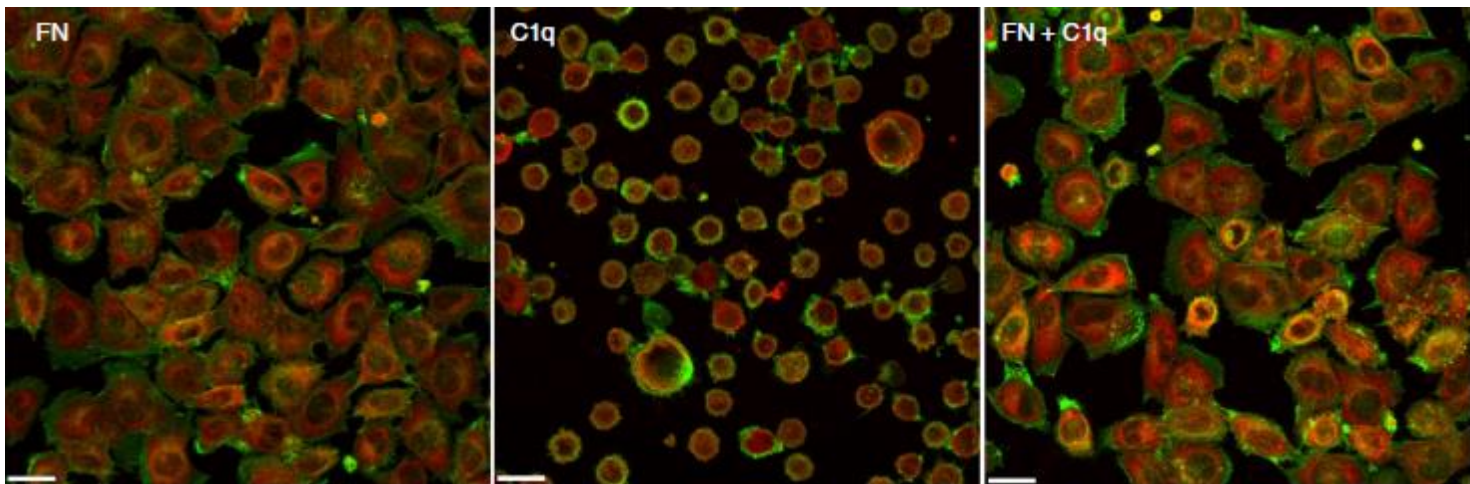




Analisi di immunoistochimica su sezioni di adenocarcinoma del colon per la presenza e localizzazione del C1q. Notare la positività dei vasi e dei macrofagi nello stroma tumorale.



C1q



IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

TERAPIE ATTUALI NEL TRATTAMENTO DEI TUMORI

- **Chirurgia**
- **Radio-terapia**
- **Chemio-terapia**

VANTAGGI DELL'IMMUNOTERPIA

- **Specificità d'azione**
- **Minori effetti collaterali**

Immunoterapia passiva

Approved mAbs for treating cancer

Table 3
Monoclonal antibodies currently FDA-approved in oncology

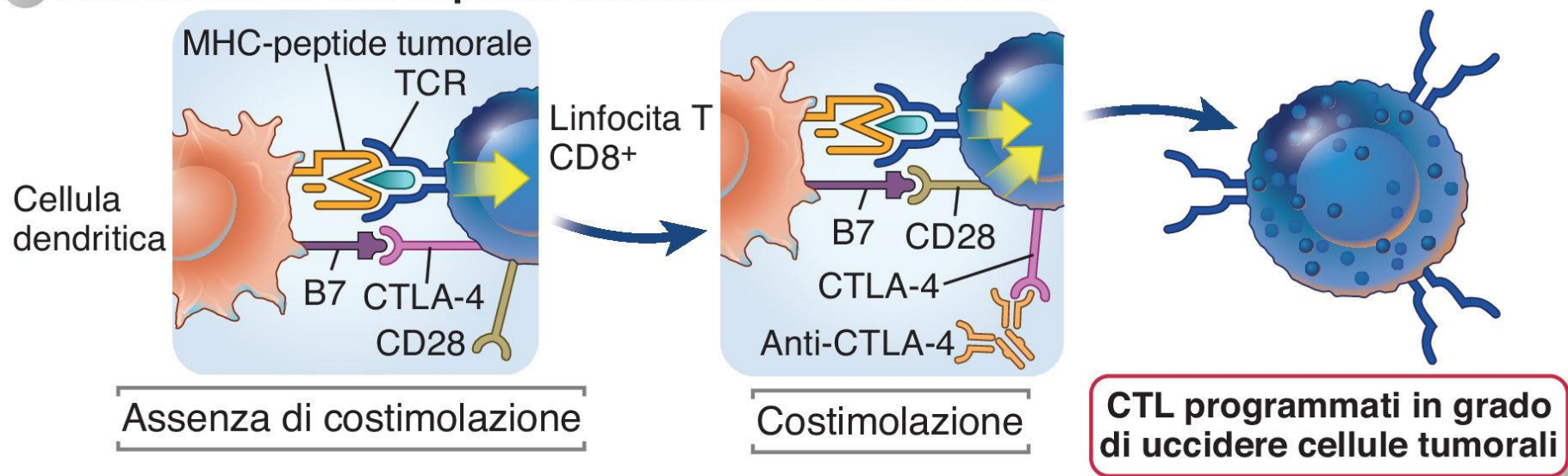
Antibody	Target	FDA-Approved indication	Mechanism of action
Trastuzumab (Herceptin®) humanized IgG1	HER2 (ErbB2)	HER2-positive breast cancer, as single agent or in combination with chemotherapy for (i) adjuvant or (ii) palliative treatment; HER2-positive gastric or gastroesophageal junction carcinoma, as first-line treatment in combination with cisplatin and capecitabine/5-FU	Inhibition of HER2 signaling; ADCC
Bevacizumab (Avastin®) humanized IgG1	VEGF	For the palliative treatment of colorectal cancer, non-squamous non-small cell lung cancer, glioblastoma, or renal cell carcinoma	Inhibition of VEGF signaling
Cetuximab (Erbix®)* chimeric human/murine IgG1	EGFR (ErbB1)	In combination with radiation therapy for the initial treatment of locally or regionally advanced squamous cell cancer of the head and neck (SCCHN); As a single agent for SCCHN patients with whom prior platinum-based therapy has failed; Palliative treatment of pre-treated metastatic EGFR-positive colorectal cancer	Inhibition of EGFR signaling; ADCC
Panitumumab (Vectibix®)* human IgG2	EGFR (ErbB1)	As a single agent for the treatment of pre-treated EGFR-expressing, metastatic colorectal carcinoma	Inhibition of EGFR signaling
Ipilimumab (Yervoy®) IgG1	CTLA-4	For the treatment of unresectable or metastatic melanoma	Inhibition of CTLA-4 signaling
Rituximab (Rituxan® and Mabthera®) chimeric human/murine IgG1	CD20	For the treatment of CD20-positive B cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL), and for maintenance therapy for untreated follicular CD20-positive NHL	ADCC; direct induction of apoptosis; CDC
Alemtuzumab (Campath®) humanized IgG1	CD52	As a single agent for the treatment of B cell CLL	Direct induction of apoptosis; CDC
Ofatumumab (Arzerra®) human IgG1	CD20	Treatment of patients with CLL refractory to fludarabine and alemtuzumab	ADCC; CDC
Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) humanized IgG4	CD33	For the treatment of patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse who are 60 years of age or older and who are not considered candidates for other cytotoxic chemotherapy (withdrawn from use in June 2010)	Delivery of toxic payload, calicheamicin toxin
Brentuximab vedotin (Adcetris®) chimeric IgG1	CD30	For the treatment of relapsed or refractory Hodgkin lymphoma and systemic anaplastic lymphoma	Delivery of toxic payload, auristatin toxin
⁹⁰ Y-ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) murine IgG1	CD20	Treatment of relapsed or refractory, low-grade, or follicular B cell NHL; Previously untreated follicular NHL in patients who achieve a partial or complete response to first-line chemotherapy	Delivery of the radio-isotope yttrium-90
¹³¹ I-Tositumomab (Bexxar®) murine IgG2	CD20	Treatment of patients with CD20 antigen-expressing relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed NHL	Delivery of the radio-isotope iodine-131; ADCC; direct induction of apoptosis

Table 1 Summary of the FDA approved monoclonal antibodies for treatment of solid tumors

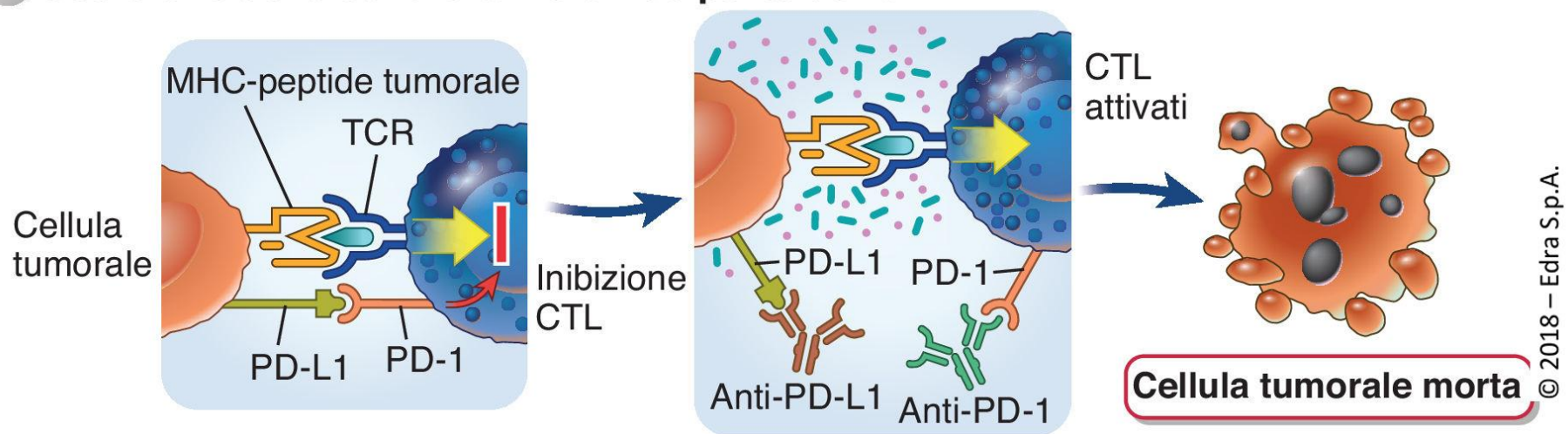
mAB	Name	Type	Target	FDA approved ^a
Trastuzumab	Herceptin®	Humanized	HER2	HER2-positive metastatic/non-metastatic breast cancer HER2-positive metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma
Pertuzumab	Perjeta®	Humanized	HER2	HER2-positive metastatic breast cancer HER2-positive, locally advanced, inflammatory, or early stage breast cancer
Cetuximab	Erbix®	Chimeric	EGFR	Metastatic CRC HNSCC
Panitumumab	Vectibix®	Human	EGFR	Metastatic CRC
Necitumumab	Portrazza™	Human	EGFR	Metastatic squamous NSCLC
Dinutuximab	Unituxin™	Chimeric	GD2	Pediatric high risk neuroblastoma
Bevacizumab	Avastin®	Humanized	VEGF-A	Metastatic CRC Recurrent or metastatic non-squamous NSCLC HER2-negative metastatic breast cancer (revoked in 2011) Metastatic renal cell carcinoma Persistent, recurrent or metastatic cervical cancer Glioblastoma Recurrent epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer
Ramucirumab	Ciramza®	Human	VEGFR-2	Advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma Metastatic NSCLC Metastatic CRC
Olaratumab	Lartruvo®	Human	PDGFR-α	Soft tissue sarcoma
Ipilimumab	Yervoy®	Human	CTLA-4	Unresectable or metastatic melanoma Cutaneous melanoma
Nivolumab	Opdivo®	Human	PD-1	Unresectable or metastatic melanoma Metastatic squamous NSCLC Metastatic NSCLC Advanced RCC Recurrent or metastatic HNSCC
Pembrolizumab	Keytruda®	Humanized	PD-1	Unresectable or metastatic melanoma Metastatic NSCLC Recurrent or metastatic HNSCC
Atezolizumab	Tecentriq™	Humanized	PD-L1	Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma Metastatic NSCLC
Ado-trastuzumab emtansine ^b	Kadcyla®	Humanized	HER2	HER2-positive metastatic breast cancer
Denosumab	Xgeva®	Human	RANKL	Bone metastases from solid tumors

Blocco dei circuiti inibitori

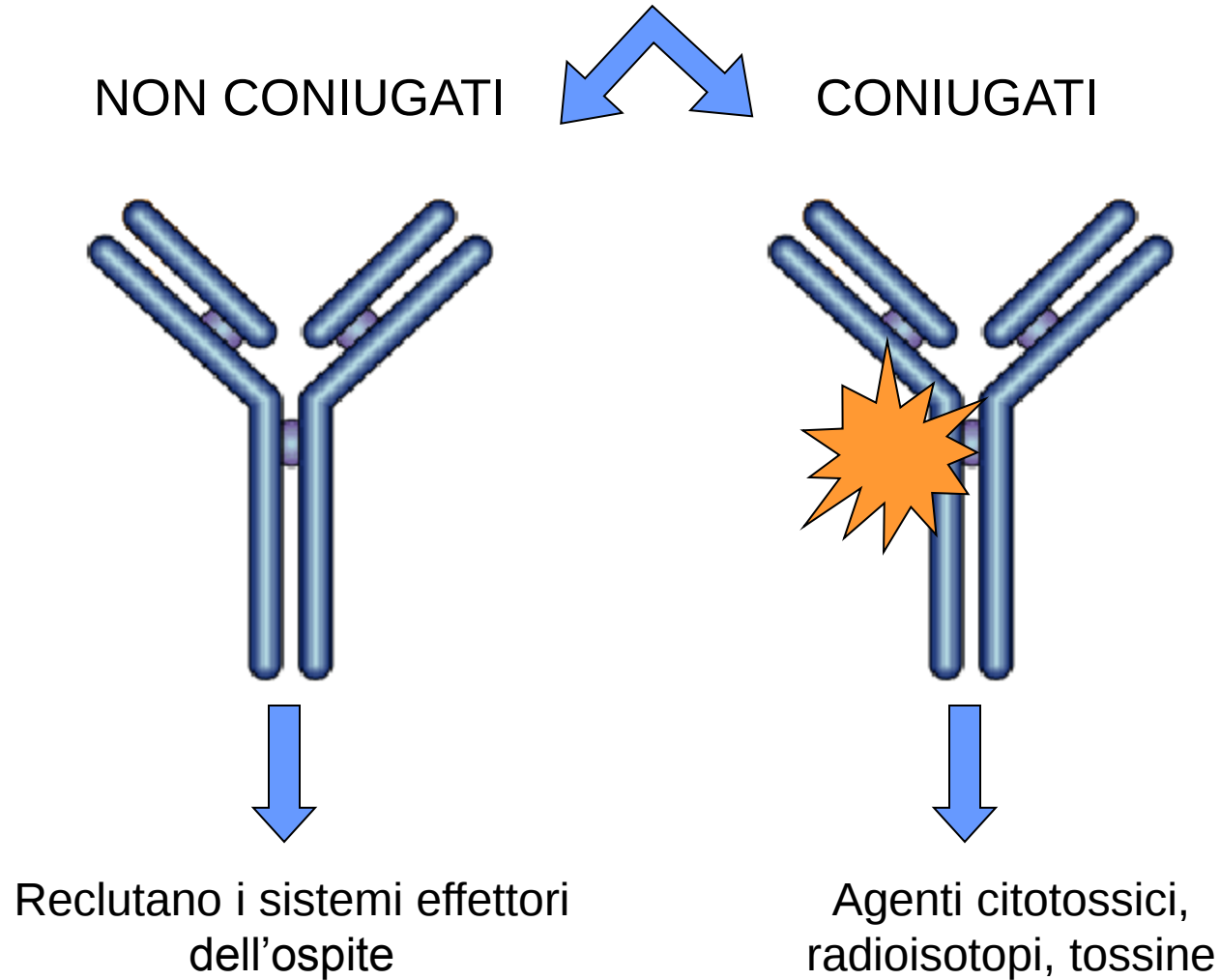
A Attivazione di una risposta antitumorale nel linfonodo



B Uccisione delle cellule tumorali da parte dei CTL



ANTICORPI MONOCLONALI



Meccanismi d'azione degli anticorpi antitumorali

CITOTOSSICITA' CELLULARE ANTICORPO DIPENDENTE (ADCC)	Mediata in particolare dalle cellule NK, che tramite il recettore Fc γ RIII riconosce la porzione Fc dell'anticorpo. Liberazione del contenuto dei granuli citoplasmatici (perforine, granzimi).
OPSONIZZAZIONE E FAGOCITOSI	Gli anticorpi rivestono la cellula tumorale e ne favoriscono l'internalizzazione da parte dei fagociti che riconoscono la porzione Fc mediante i recettori per Fc.
APOPTOSI	Da aggregazione dell'antigene sulla superficie cellulare.
ATTIVAZIONE DELLA VIA CLASSICA DEL COMPLEMENTO	Legame di C1q all'Fc dell'anticorpo; lisi cellulare (CDC); i prodotti generati dall'attivazione del complemento (anafilotossine e opsonine) inducono flogosi e promuovono la fagocitosi.

Immunoterapia sistemica con citochine

Citochina	Rigetto in modelli animali	Studi clinici	Tossicità
IL-2	Si	Melanoma, carcinoma del rene e del colon (risposta < 15%)	Permeabilità vascolare, Shock, edema
IFN-α	No	Approvato per melanoma	Febbre, astenia
TNF	Solo dopo somministrazione locale	Sarcoma, melanoma (in perfusione locale)	Sindrome da shock settico
IL-12	Varabile	Melanoma (Fase I)	Problemi epatici
GM-CSF	No	Nel recupero midollare	Dolore osseo

IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

- 1. aumento della risposta immunitaria
dei pazienti verso le cellule tumorali**

IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

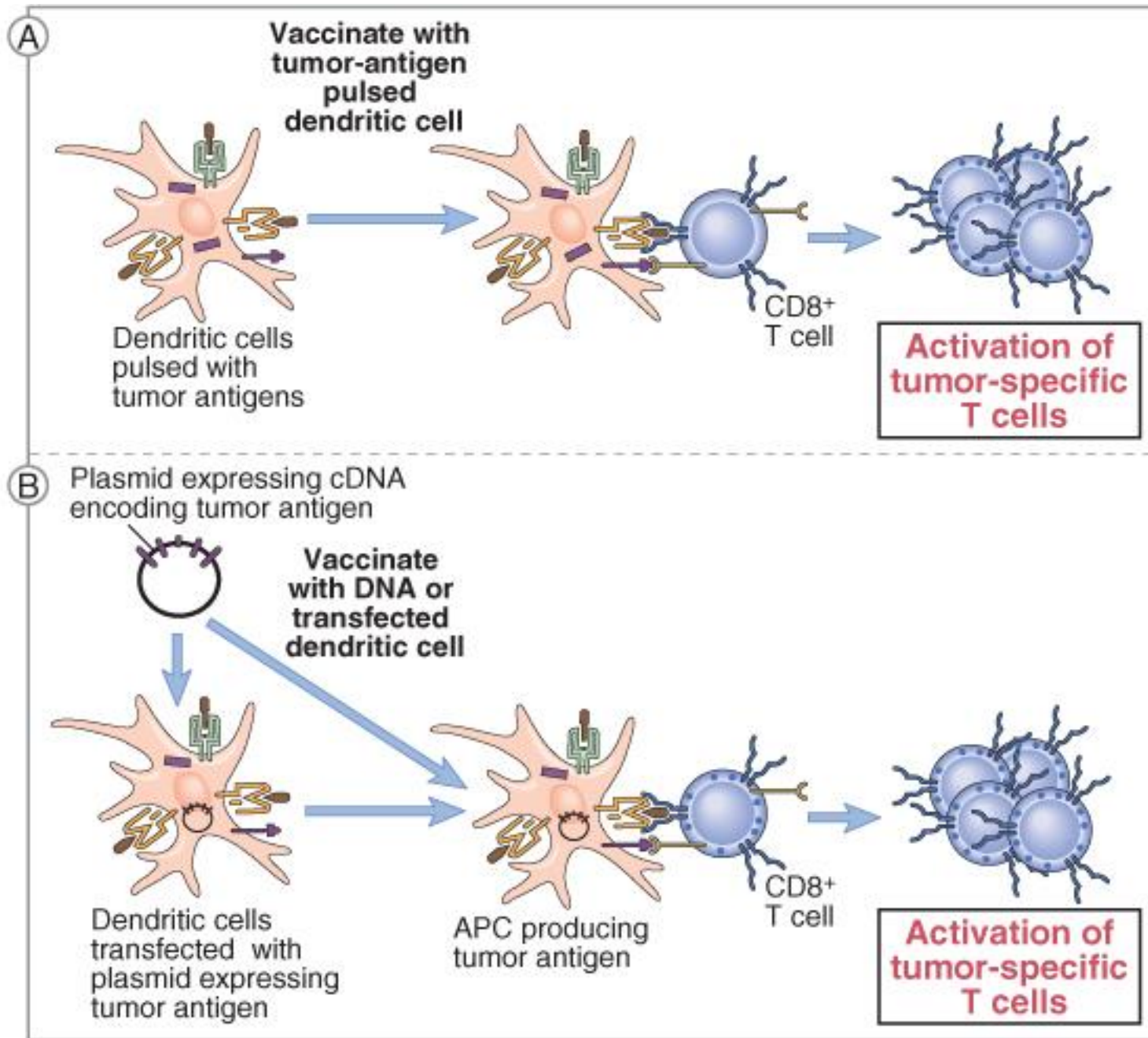
Tabella 17-2. Vaccini tumorali

Tipo di vaccino	Preparazione del vaccino	Modelli animali	Studi clinici
Vaccini tumorali uccisi	Cellule del tumore uccise + adiuvanti	Melanoma, cancro del colon, altri	Melanoma, cancro del colon
	Lisati di cellule tumorali + adiuvanti	Sarcoma	Melanoma
Antigeni tumorali purificati	Antigeni del melanoma	Melanoma	Melanoma
	Proteine da shock termico	Vari	Melanoma, cancro del rene, sarcoma

IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

Vaccini basati su APC professionali

Preparazione del vaccino	Modelli animali	Studi clinici
Cellule dendritiche incubate con antigeni tumorali	Melanoma, linfoma a cellule B, sarcoma	Melanoma, linfoma non-Hodgkin, cancro della prostata, altri
Cellule dendritiche transfettate con geni che codificano per antigeni tumorali	Melanoma, cancro del colon	Carcinomi vari

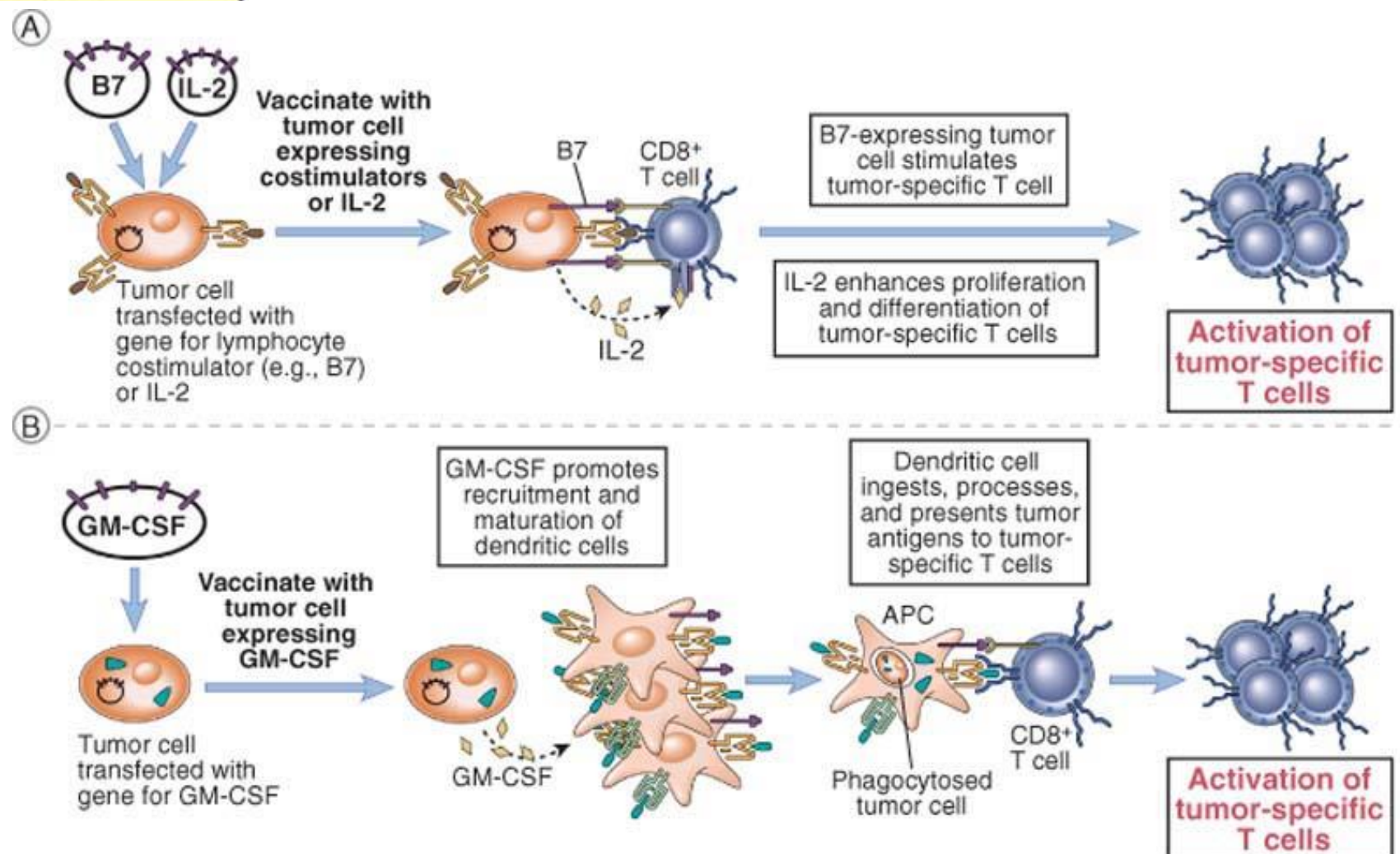


Vaccini potenziati
con citochine
e con molecole
costimolatorie

Cellule tumorali transfettate
con i geni per citochine
o per B7

Cancro del rene, sarcoma,
leucemia a cellule B,
cancro del polmone

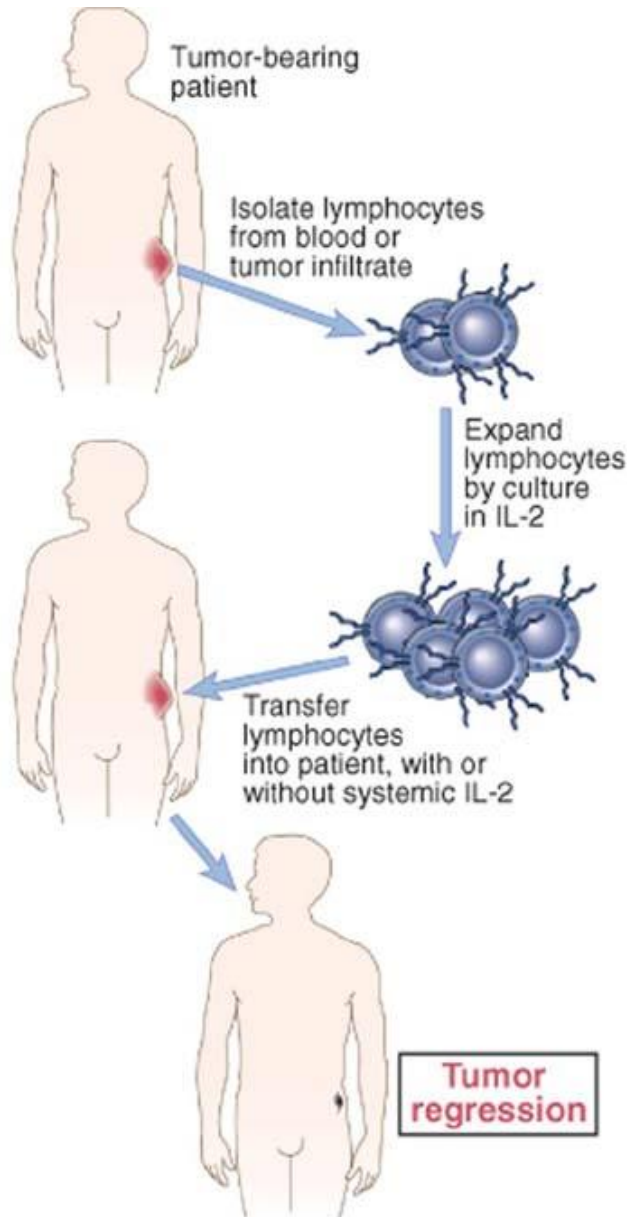
Melanoma, sarcoma, altri



Immunoterapie con cellule tumorali transfettate con geni per citochine

Citochina	Rigetto in modelli animali	Infiltrato infiammatorio	Immunità contro tumore parentale	Studi clinici
IL-2	Si (T mediato)	Linfociti, macrofagi	Carcinoma del rene, melanoma	Carcinoma del rene, melanoma
IL-4	Si	Eosinofili, macrofagi	nessuna	Carcinoma del rene, melanoma
IFN-γ	Variabile	macrofagi	Talvolta	
TNF	Variabile	Neutrofili, linfociti	No	
GM-CSF	Si	Macrofagi	Si	Carcinoma del rene
IL-3	Variabile	Macrofagi	Talvolta	

Immunoterapia passiva



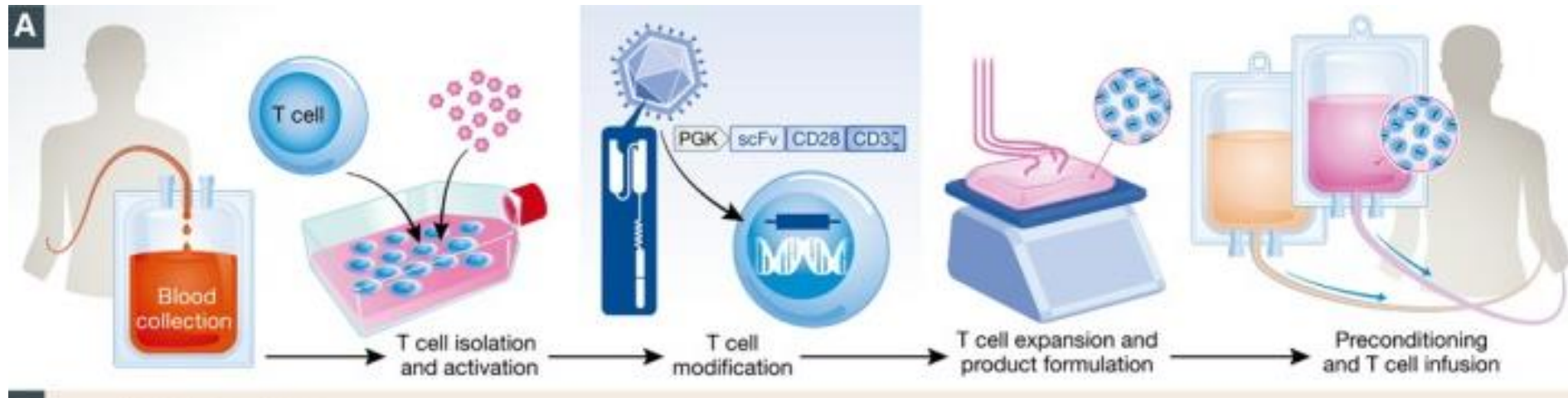
terapia cellulare adottiva

- Cellule LAK (NK 90% e L) leucociti da sangue periferico attivati in vitro
- Cellule TIL (linfociti infiltranti il tumore)

Effetto Graft versus Leukemia

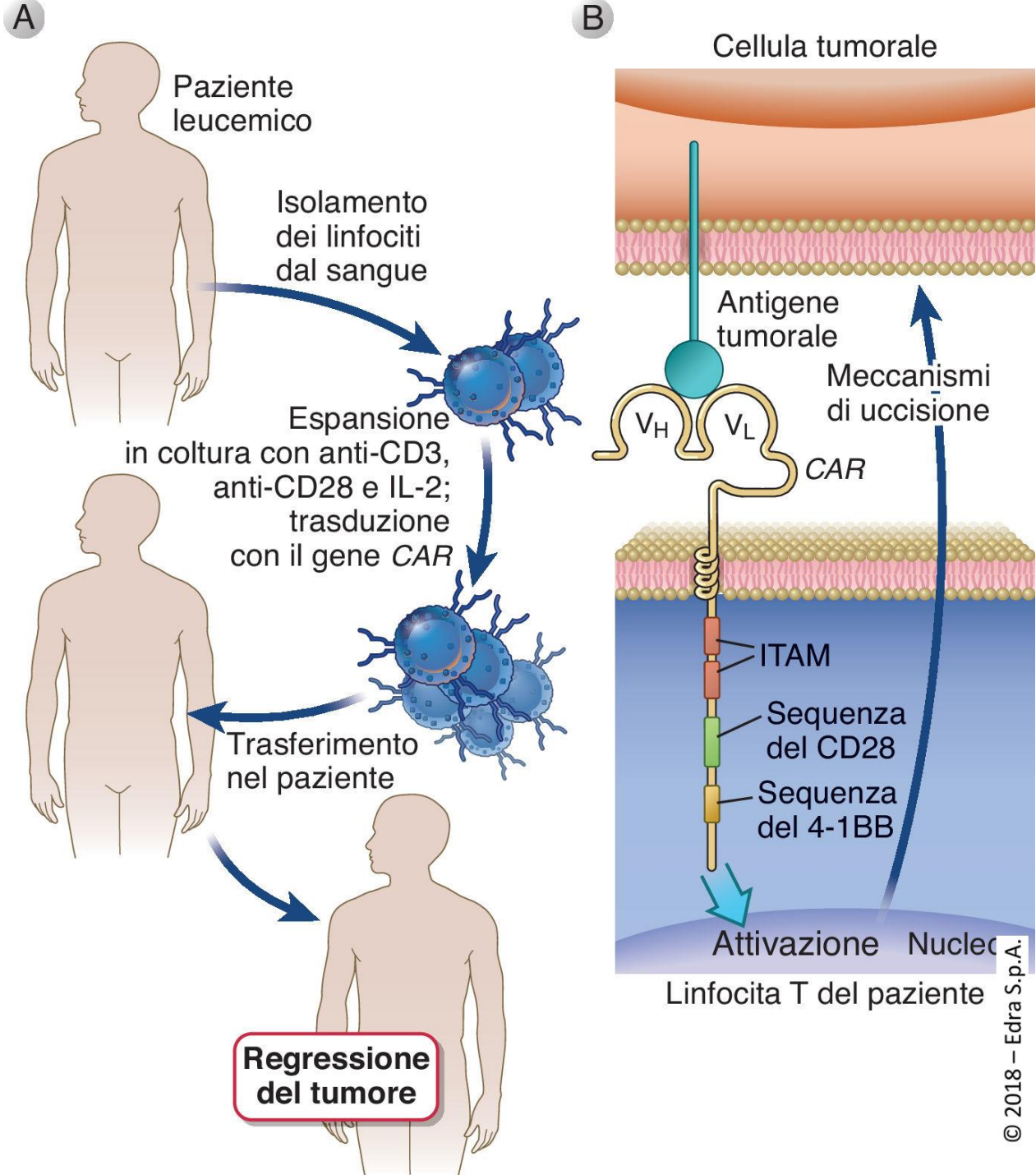
- Nei pazienti affetti da leucemia vengono trapiantate cellule staminali ematopoietiche che riconoscono MHC allogenici

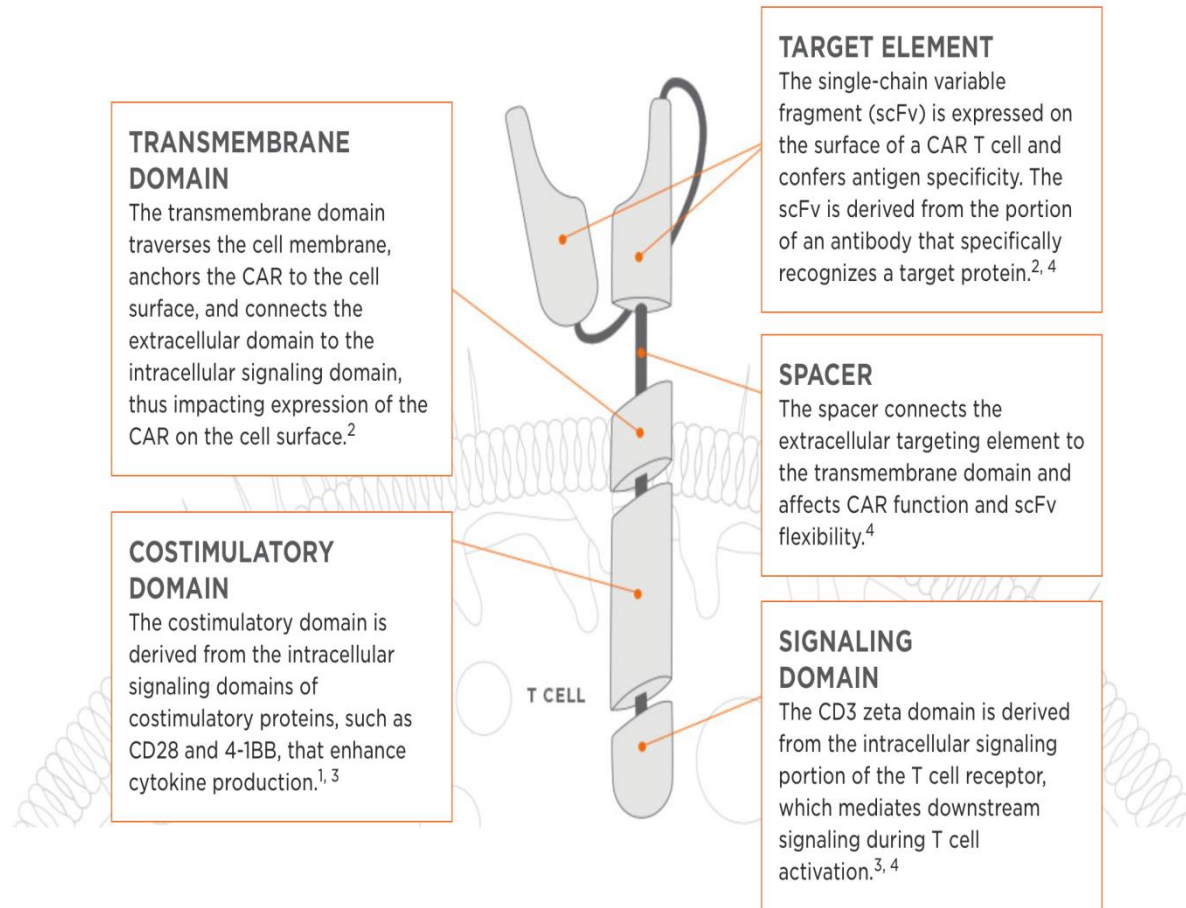
CAR T Cell Therapy



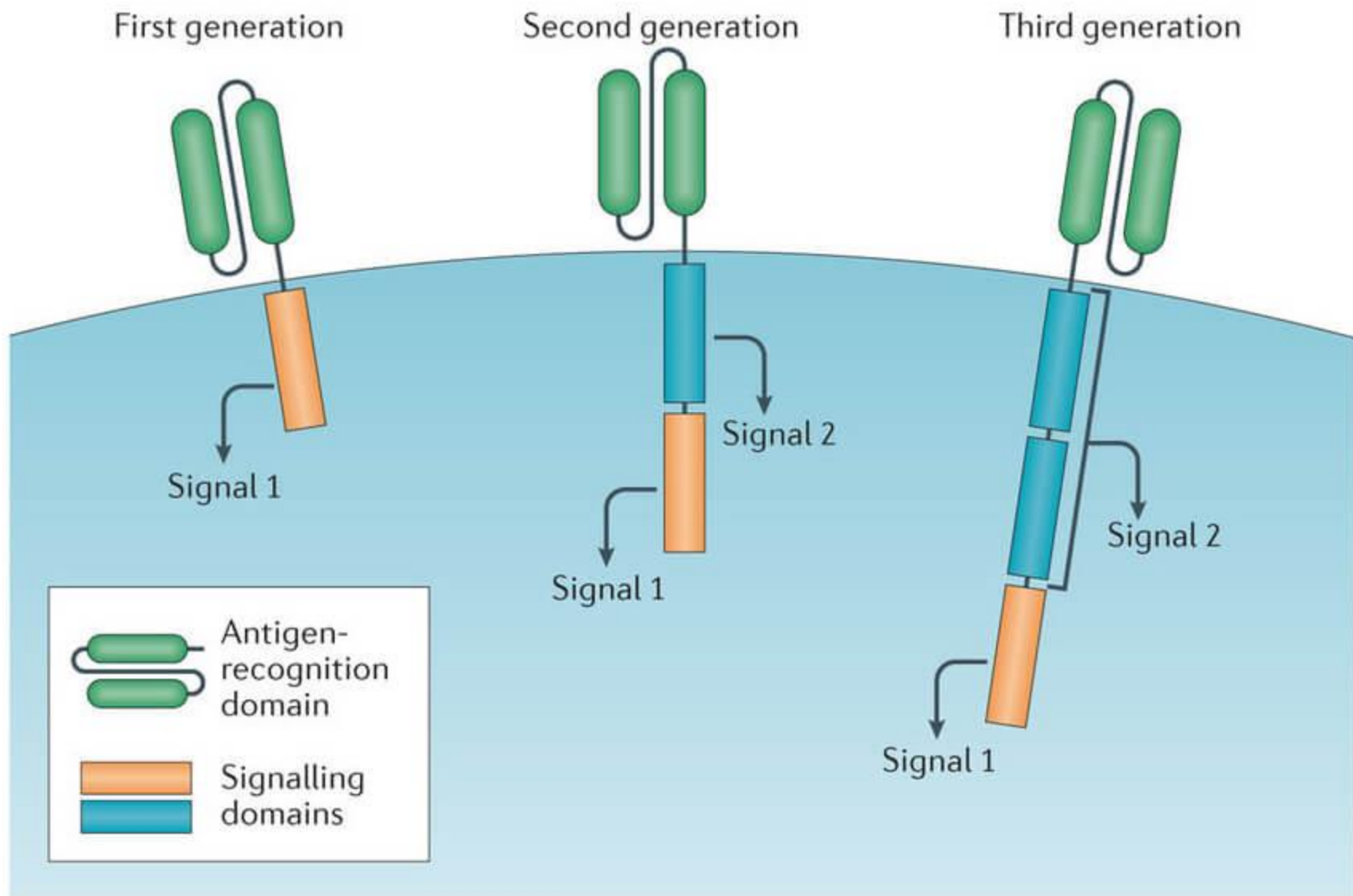
One promising approach is the adoptive transfer of T cells genetically engineered to express a chimeric antigen receptor (CAR)

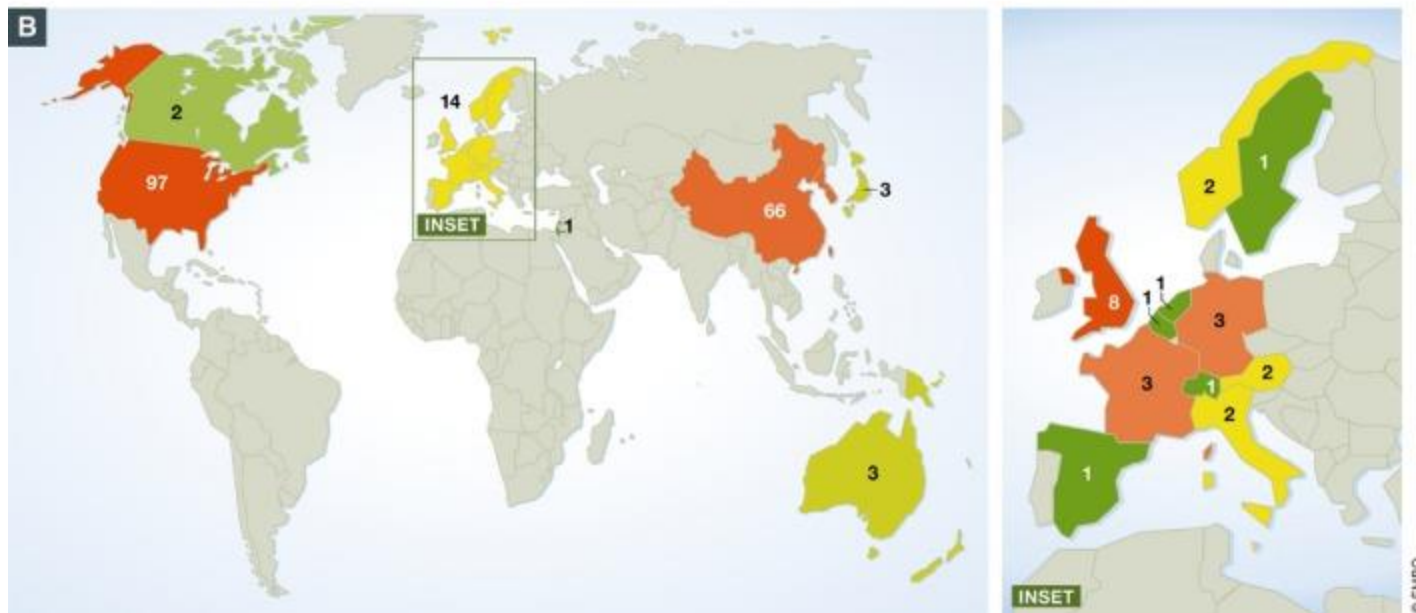
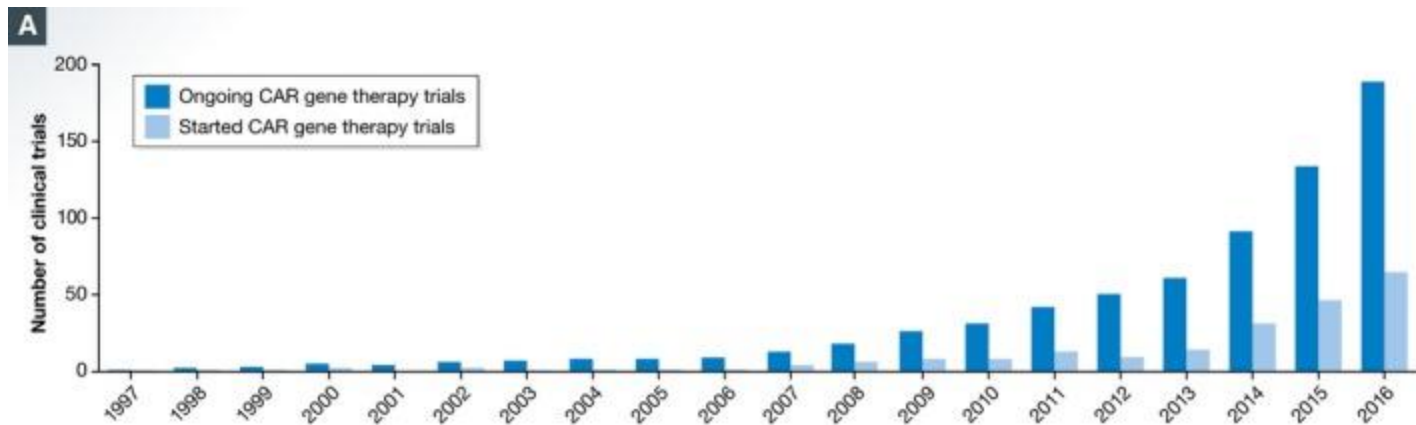
CAR-T therapy





r T-cell Ther





Sfide future per le CAR-T

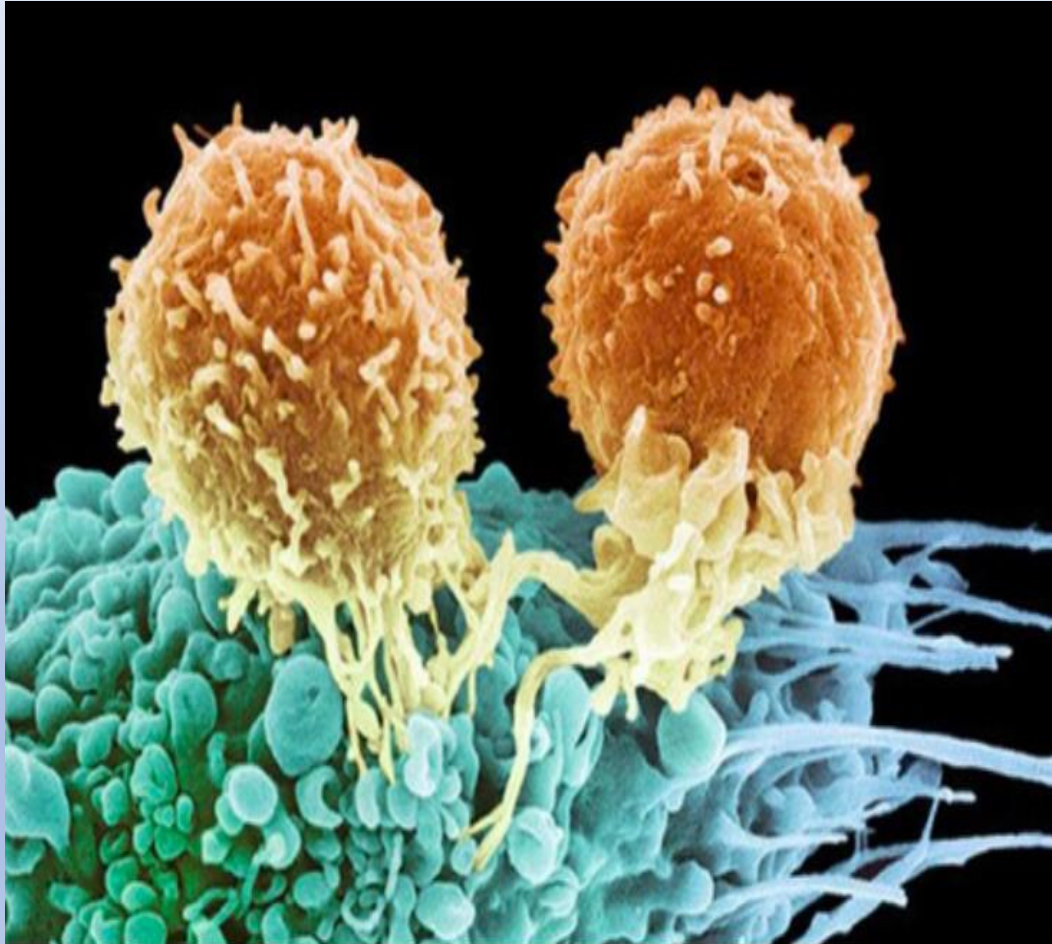


Immagine al microscopio dei CAR (chimeric antigen receptor) Fonte: <https://www.pharmastar.it/news/business/car-t-cell-chi-vincer-nella-corsa-fra-novartis-juno-e-kite-22652>

- **Selezione del target:** una volta caratterizzata la proteina espressa solo dalle cellule tumorali, è possibile sviluppare un buon TCR chimerico;
- **Ottimizzazione del segnale costimolatorio:** induzione della proliferazione delle cellule T;
- **Tossicità:** l'incapacità delle cellule T ingegnerizzate di distinguere tra cellule normali e cellule tumorali che esprimono l'Ag mirato => utilizzo di *CAR-T bispecifiche* in grado di identificare coppie di Ag entrambi espressi solo dalle cellule tumorali