

Células reguladoras en cáncer de piel melanoma y no melanoma

Regulatory cells in skin cancer melanoma and nonmelanoma

Cristina Escobar¹, Margarita María Velásquez²

1. Médica, residente de segundo año, Dermatología, Universidad de Antioquia.
2. Dermatóloga, Doctora en Ciencias Básicas Biomédicas, énfasis en Inmunología. Jefe Sección de Dermatología, Grupo Investigación Dermatológica, GRID. Universidad de Antioquia.

Resumen

Las células T reguladoras (Treg) CD4+CD25+FOXP3+ son cruciales para el mantenimiento de la tolerancia y la prevención de la autoinmunidad. Su deficiencia se asocia con enfermedades autoinmunitarias y alergias, y su aumento se relaciona con el cáncer. La manipulación de las Treg es un objetivo de los estudios de inmunología del cáncer, debido a los potenciales efectos antitumorales. Las células Treg se producen en el timo y en la periferia. La radiación ultravioleta es capaz de suprimir la respuesta inmunitaria en la piel, entre otros mecanismos, por la inducción de las Treg, y esto se asocia al desarrollo de cáncer de piel melanoma y no melanoma.

En este artículo se revisan los aspectos esenciales de las células Treg, su relación con la radiación ultravioleta y el cáncer, específicamente el cáncer de piel melanoma y no melanoma.

PALABRAS CLAVE: células T reguladoras, cáncer de piel, melanoma, carcinoma basocelular, carcinoma escamocelular.

Summary

Regulatory T cells CD4+CD25+FOXP3+ are crucial for maintaining tolerance and preventing autoimmunity. Its deficiency is associated with autoimmune diseases and allergies and their increase is related to cancer. The manipulation of Treg is an objective in studies of cancer immunology, due to potential anti-tumor effects.

Treg cells are produced in the thymus and the periphery. Ultraviolet radiation is capable of suppressing the immune response in the skin, including the induction of Treg and is associated to the development of melanoma and nonmelanoma skin cancer.

This article reviews the essential aspects of Treg cells, its relationship with the ultraviolet radiation and cancer, specifically melanoma and nonmelanoma skin cancer.

KEYWORDS: Regulatory T cells, skin cancer, melanoma, basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma.

Correspondencia:

Margarita María Velásquez
Email: mmvelasquez@yahoo.com

Recibido: 7 de Febrero de 2011.

Aceptado: 17 de Julio de 2011.

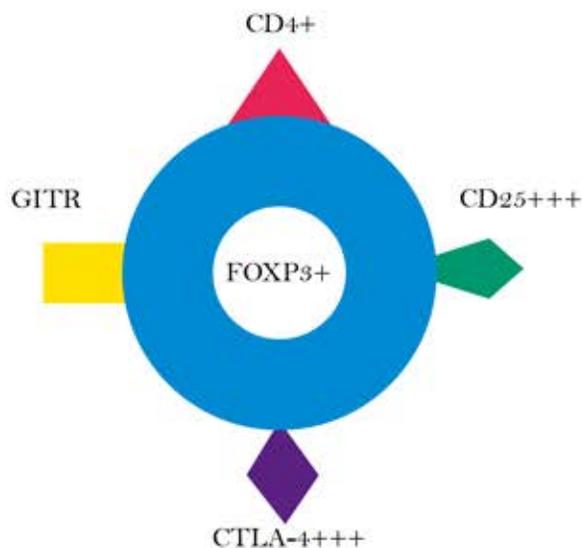
No se reportan conflictos de intereses.

Introducción

La tolerancia es la falta de respuesta efectora a un antígeno. Un antígeno puede inducir tolerancia ("tolerógeno") o inmunidad ("inmunógeno") y esto se debe en parte a sus características químicas, la vía de ingreso y su

dosis. La tolerancia a los autoantígenos se da porque los linfocitos que reconocen los antígenos propios mueren, son inactivados o cambian de especificidad. Se puede inducir tolerancia en linfocitos autorreactivos inmaduros en los órganos linfoides generadores (médula ósea y timo: tolerancia central) o en los órganos linfoides pe-

Fenotipo de las células Treg naturales o tímicas



CD4+	Proteína que se une al CMH, actúa como correceptor del linfocito T ayudador
CD25+++	Cadena alfa del receptor de IL-2
CTLA-4	Antígeno asociado a los linfocitos T citotóxicos
GITR	Receptor inducible por corticosteroides
FOXP3+	Factor de transcripción, gen maestro controlador del desarrollo y función. Principal marcador molecular. Inhibe la producción de IL-2 e incrementa la expresión de CD25 y CTLA-4
CD127-/low	Cadena alfa del receptor de IL-7

FIGURA 1. Fenotipo de las células Tregs naturales o tímicas. Las células Tregs se caracterizan por la expresión constitutiva y alta de CD25, CTLA-4 y GITR. Estos marcadores no son exclusivos de la población reguladora, en las células T convencionales incrementan luego de la activación. El mejor marcador molecular a la fecha es FOXP3, un factor regulador de la transcripción asociado al fenotipo y la función de las Tregs naturales. Mutaciones en FOXP3 producen la enfermedad denominada IPEX (de sus siglas en inglés, *immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome*).

riféricos (ganglios linfáticos, tejido linfoide asociado a mucosas, bazo: tolerancia periférica).

En los linfocitos T, los mecanismos de tolerancia central se producen en el timo. Los linfocitos que poseen receptores competentes en el reconocimiento de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), son seleccionados positivamente y pasan a un segundo proceso, en el cual se seleccionan negativamente aquellos que tienen gran avidéz y afinidad por los antígenos propios, los cuales mueren en el timo. Sólo los linfocitos capaces de reconocer los antígenos propios con poca avidéz y afinidad pasan a la periferia, donde se convierten en linfocitos efectores o en células reguladoras inducidas, según las señales que reciban del microambiente y del tipo de células presentadoras de antígeno. Otro mecanismo de tolerancia central es la generación de células reguladoras naturales CD4+CD25+FOXP3+, las cuales, a pesar de reconocer los autoantígenos con gran avidéz, no son eliminadas.

En los mecanismos de tolerancia periférica, los linfocitos T maduros no montan una respuesta efectora a los antígenos propios por mecanismos de anergia, eliminación (por apoptosis) o supresión. La anergia se desencadena por el reconocimiento del antígeno mediante el receptor

del linfocito T (*T cell receptor*, TCR) en ausencia de señales coestimuladoras, la apoptosis se da por la falta de citocinas que permitan la supervivencia, por la activación de las caspasas por la vía mitocondrial o por la vía del receptor de muerte celular FAS-FASL. La supresión se puede dar por mecanismos dependientes del contacto con la célula o por factores solubles (dependiente de citocinas). Entre los mecanismos de acción está la competencia por la IL-2, citocina necesaria para expansión de las células T activadas, gracias a que las células Treg expresan grandes cantidades de la cadena alfa del receptor de IL-2 (CD 25)^{1,2,3}.

Células T reguladoras

Inicialmente llamadas células supresoras, las mejor estudiadas a la fecha son las células reguladoras CD4+, entre las que están las células Treg naturales CD4+CD25^{high}FOXP3+ generadas en el timo y las células reguladoras inducidas a partir de células T vírgenes en la periferia (células T extratímicas, Tr1 y Th3).

En la FIGURA 1 se describen las principales moléculas asociadas al fenotipo de las células Treg. Desempeñan un papel importante en la represión de las respuestas autoinmunitarias mediante la inhibición de las células T auto-

rreactivas. Constituyen, aproximadamente, de 5 a 10% de todas las células T CD4+. Algunas de las características de las células Treg CD4+CD25^{high}FOXP3 son su estado de anergia (requieren grandes dosis de IL-2 para proliferar), su capacidad para inhibir activamente células T CD4+CD25-, las células T CD8, las células dendríticas, las células asesinas naturales (*natural killer*), las células T asesinas naturales (NKT) y las células B^{4,5,6,7}.

Tipos de células reguladoras

- **Células T reguladoras naturales o tímicas CD4+CD25+FOXP3+:** expresan constitutivamente grandes cantidades de CD25, el receptor inducible por corticosteroides (*Glucocorticoid-Induced TNF-related Protein Receptor*, GITR) y el antígeno asociado a los linfocitos T citotóxicos 4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*, CTLA-4).
- **Células T reguladoras inducidas, Tr1 y Th3:** son generadas en los tejidos periféricos a partir de linfocitos T vírgenes, al ser activados por células semimaduras presentadoras de antígenos, altas concentraciones de IL-10 en el microambiente celular y otras células reguladoras. Las Tr1 secretan especialmente IL-10 y, las Th3, TGF-β; suprimen la respuesta inmunitaria mediante un mecanismo dependiente de citocinas. El FOXP3 no está constitutivamente expresado en esta población de células.

- **Células reguladoras CD8+CD28-**
- **Células reguladoras NKT⁸**

En la FIGURA 2 se presentan los diferentes tipos de células reguladoras.

En este artículo de revisión nos referiremos principalmente a las dos primeras.

El factor de transcripción que juega un papel importante en el desarrollo y el compromiso de linaje de las células Treg naturales, es FOXP3, un miembro de la familia *Forkhead*. El FOXP3 ha sido llamado el gen maestro controlador del desarrollo y función de ellas. También se considera el principal marcador molecular. El FOXP3 suprime la producción de IL-2, IL-4 e IFNγ. La expresión de FOXP3 puede ser inducida al estimular células mononucleares con anti-CD3 más anti-CD28; las células que se generan tienen función reguladora y son capaces de disminuir la proliferación de células efectoras, como lo hacen las reguladoras naturales. El TGF-β es una de las principales citocinas relacionadas con la inducción de células Treg; el TGF-β convierte células CD4+CD25- en células reguladoras CD4+CD25+^{2, 4,5,9, 10, 11}.

Para activar los linfocitos T e iniciar la respuesta inmunitaria, se necesitan dos señales; la primera es el reconocimiento de antígenos mediante el receptor del linfocito T y la segunda es la coestimulación. Por lo tanto, la activación y el estado de maduración de las células dendríticas, constituyen la encrucijada entre la inducción

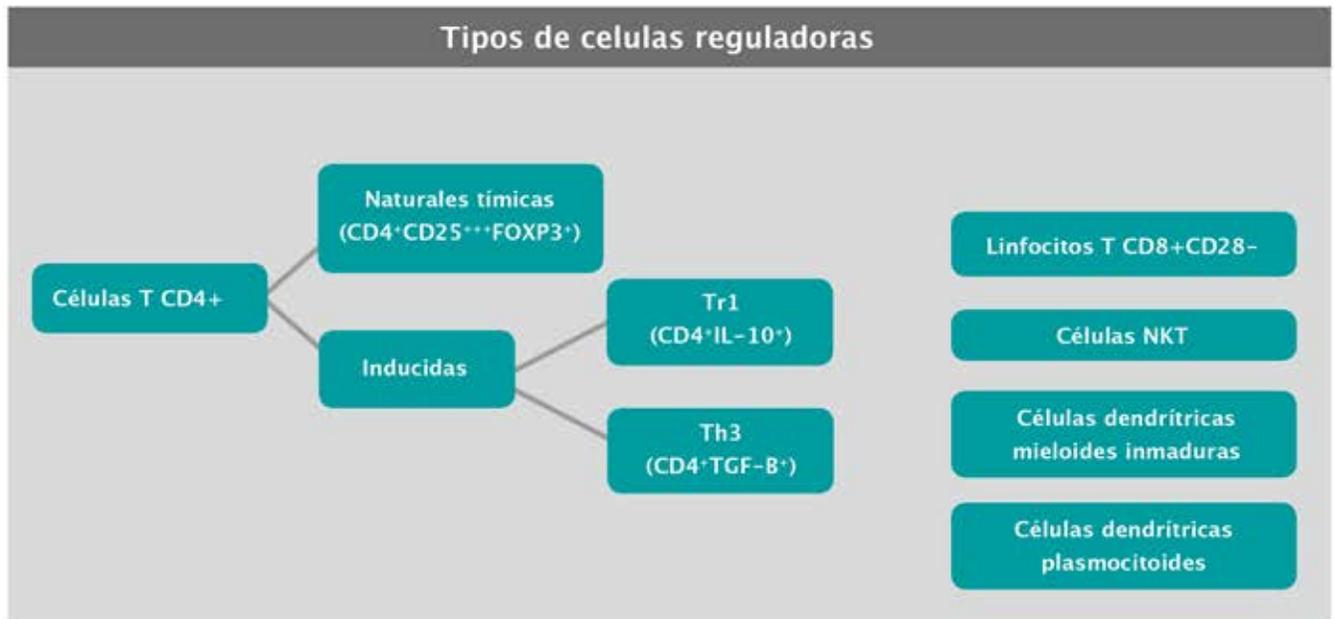


FIGURA 2. Diferentes poblaciones celulares con capacidad de regular la respuesta inmune. Las células reguladoras mejor caracterizadas son las CD4+. Otras células son los linfocitos T CD8+CD28-, los que ejercen su acción modificando a las células presentadoras de antígenos e induciendo la expresión de ILT3 e ILT4, que las convierte en tolerogénicas. Las células dendríticas mieloides inmaduras y las células dendríticas plasmocitoides productoras deIDO inducen anergia en los linfocitos T y favorecen la generación de nuevas células reguladoras.

de una respuesta inmunitaria efectora o la inducción de tolerancia. La estimulación de células T con una dosis baja de antígeno en ausencia de coestimulación, favorece la conversión de las células CD4+CD25- vírgenes en células T reguladoras inducidas^{12,13}.

Las células dendríticas maduras se consideran inductoras de la respuesta de proliferación de las células T efectoras, mientras que las células dendríticas inmaduras favorecen la inducción de células reguladoras^{5,8,14,15}.

Las Treg pueden suprimir la actividad de las células T que han recibido una señal débil o moderada en el receptor del linfocito T, pero no pueden suprimir las células T que reciben una señal de gran avidez del receptor del linfocito T, como las que se observan en las respuestas de memoria a los agentes patógenos peligrosos^{8,16,17}.

Una característica importante de las Treg es la falta de respuesta de proliferación a la activación del receptor del linfocito T y a la estimulación de anticuerpos "mitogénicos". Por lo tanto, se les atribuye un fenotipo anérgico. Dependen de la IL-2 exógena, e inhiben su transcripción en las células T convencionales CD25-. Las células reguladoras juegan un papel en la supresión de respuestas a infecciones virales, bacterianas y por protozoos. También, se ha encontrado que suprimen la inmunidad protectora antitumoral. En cambio, al bloquear su función por medio de un anticuerpo contra el CTLA-4, se induce un aumento en la respuesta antitumoral protectora⁹.

El fenotipo de las células reguladoras se caracteriza por la importante expresión constitutiva de CD25, CTLA-4, neurofilina 1 y GITR. También, se ha sugerido que la granzima B, la perforina, IL-10 y TGF- β median la supresión de las Treg. Los receptores de quimiocinas como CCR4 y CCR8, permiten la migración de las Treg en respuesta a sus ligandos, CCL22 y CCL17, y desempeñan un papel importante en la regulación de la homeostasis de las células Treg. La IL-2 es importante para el desarrollo y el mantenimiento de las Treg^{8,15,18}.

Los mecanismos de acción no están del todo entendidos, pero se pueden dividir en contacto de célula con célula y en mecanismos dependientes de citocinas. Pueden ser independientes de las células presentadoras de antígenos y ejercer su actividad supresora mediante la liberación de IL-10 y TGF- β ; efecto expectante o del transeúnte, porque actúan de forma "indirecta" sobre las células presentes en el microambiente celular. Se propone que las células T CD4+CD25+ que constitutivamente expresen CTLA-4 (tienen gran afinidad por CD80 y CD86 en las células dendríticas), inducen la expresión de indolamino 2,3-dioxigenasa (IDO), que cataliza el paso inicial y limita la velocidad de degradación del triptófano; esto produce deficiencia de este aminoácido, esencial en la proliferación de células T efectoras. Si no hay triptófano, estas células efectoras sufren apoptosis^{4,5,19,20}.

Células T reguladoras en piel

En la piel se encuentran todos los tipos celulares del sistema inmunitario, además de células únicas, como las células de Langerhans y los queratinocitos, que también producen factores inmunitarios estimulantes y presentan antígenos. Varias células juegan un papel importante en la regulación inmunitaria; unas de las más importantes son las células Treg que interactúan con las células dendríticas, puente entre la inmunidad innata y la adaptativa, y las vuelven "tolerogénicas" y así, incluso, ayudan a la proliferación de las Treg^{19,21}.

Otra población de células que juega un papel importante en limitar la respuesta inmunitaria, son las células mieloides supresoras, que regulan a la baja las respuestas policlonales y específicas de antígeno de las células T y B^{6,16}.

Homeostasis

La respuesta inmunitaria a ciertos factores inflamatorios resulta en daño tisular que podría ser más intenso si no hubiera la interferencia de mecanismos reguladores. Como ya se ha especificado, las células Treg ayudan a limitar los daños causados por una respuesta inmunitaria vigorosa. Un exceso en la actividad de las Treg puede resultar en la falla de control hacia una infección o al cáncer, y la disminución en su actividad puede causar intensa inflamación y autoinmunidad¹⁹.

Células Treg y radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta puede ser absorbida por una gran variedad de moléculas orgánicas y puede iniciar reacciones fotoquímicas que alteran estos cromóforos u otras partículas en reacciones químicas posteriores. Esas moléculas alteradas no estarían de otra forma en la piel y pueden ser detectadas como extrañas (neoantígenos no propios), por lo que son eliminadas y no causan problema. Una reacción inmunitaria para eliminarlas no sería deseable, porque el resultado sería una piel crónicamente inflamada luego de la exposición al sol. La supresión de esta reacción parecería, por lo tanto, algo fisiológico.

El lado negativo de la inmunosupresión inducida por la radiación ultravioleta, es que puede inhibir la reacción frente a una infección o contra el cáncer de piel. Pareciera, entonces, que la piel lleva a cabo un acto de equilibrio entre la eliminación de las células neoplásicas y la supresión en contra de células expuestas a la radiación ultravioleta, este balance puede sufrir aberraciones transitorias^{22,23,24}.

El amortiguador celular más importante de la radiación ultravioleta es el ADN. Los genes se dañan con facilidad y, sin la reparación adecuada de ese daño, pueden surgir mutaciones que, a su vez, pueden conducir a la

transformación maligna. La radiación más genotóxica es la ultravioleta B, que no penetra mucho más allá de la epidermis. La radiación ultravioleta B presente en los rayos solares (290 a 320 nm), suprime la respuesta inmunitaria, especialmente impulsada por la respuesta inmunitaria de Th1, lo que da lugar a la exacerbación del cáncer de piel y enfermedades infecciosas^{25,26}.

La exposición a la radiación ultravioleta induce células Treg productoras de IL-10 (Tr1 like), con expresión variable de FOXP3²⁷⁻³¹.

La radiación ultravioleta genera vitamina D3 activa en la piel y la 1,25(OH)2D3 funciona como un fuerte potenciador del ligando receptor activador del factor nuclear kappa B (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand*, RANKL). Con la estimulación vía RANK-RANKL, la célula de Langerhans migra a los ganglios linfáticos de la piel e induce la expansión de las Treg, lo cual resulta en inmunosupresión sistémica e inducción de tolerancia. La inducción de las Treg por radiación ultravioleta depende de manera crucial de la migración de células de Langerhans, las principales células presentadoras de antígenos de la piel a los ganglios linfáticos, y de la presencia de ADN con daño inducido por la radiación UV en las células de Langerhans^{22,23,24,27,32,33,34}.

La deficiencia de IL-12 aumenta la proliferación celular del tumor, induce la supresión inmunitaria y reduce la reparación de ADN dañado por la radiación ultravioleta B, lo que lleva a un aumento de la fotocarcinogénesis en ratones. En la epidermis se origina el cáncer de piel melanoma y no melanoma, y los queratinocitos son la mayor población en ella (más de 90%). Las células de Langerhans y los queratinocitos son capaces de secretar o sintetizar IL-12^{31,35,36,37}.

Se ha demostrado que la expresión epidérmica de CD254 y RANKL conecta la radiación ultravioleta con la inmunosupresión y el fenotipo tolerogénico de las células dendríticas y la expansión de células T reguladoras¹⁴.

El daño del ADN inducido por la luz ultravioleta, también desencadena de manera importante la inducción de las células reguladoras. La migración de las células dendríticas que contienen ADN dañado parece compensar la producción de células Treg en el ganglio linfático. Las Treg inducidas por la radiación ultravioleta juegan un papel importante en la fotocarcinogénesis. Junto con la genotoxicidad directa y la consiguiente transformación en células cancerosas, la exposición crónica a radiación ultravioleta parece dirigir la respuesta inmunitaria frente al tumor hacia la tolerancia en lugar de la citotoxicidad tumoral específica^{3,6}.

Células Treg y cáncer

El problema con las células tumorales es que son células

autólogas que se han transformado de manera sutil, lo que puede hacer que no sean eficientemente presentadas y reconocidas por el sistema inmunitario. En general, a pesar de la expresión de varios antígenos inmunogénicos en los tumores e, incluso, de la presencia de células citotóxicas específicas para esos antígenos, el sistema inmunitario no parece ser muy efectivo en montar una respuesta efectora que permita erradicar la expansión clonal de células autólogas con transformación maligna^{22,38}.

Las células Treg se encuentran en los tumores sólidos y en los hematológicos; un mal pronóstico y una disminución de las tasas de supervivencia, guardan una estrecha correlación con la mayor frecuencia de estas células^{39,40}.

Si bien la actividad supresora de las Treg puede ser beneficiosa en ciertas circunstancias, se ha postulado que pueden suprimir la muerte del tumor por células efectoras y afectar la inmunidad tumoral. Además, parece haber un aumento en las células Treg en la sangre de pacientes con cáncer. En los modelos animales, el agotamiento de las células CD4+CD25+ produce una respuesta inmunitaria potente en tumores, incluido el melanoma, lo que resulta en la erradicación del tumor. Además, este agotamiento puede aumentar la capacidad inmunógena de las vacunas contra el melanoma. El efecto terapéutico de la ciclofosfamida también puede explicarse por su efecto inmunosupresor en las células Treg^{19,41}.

Las células tumorales y los macrófagos circundantes producen la quimiocina CCL22 que media el tráfico de las Treg al tumor por vía de la quimiocina CCR4. La prostaglandina E2 derivada del tumor, aumenta la actividad de las Treg y la expresión de FOXP3. La inhibición de la COX2 resultó en una disminución de la frecuencia de células Treg, la expresión de FOXP3 y la disminución de la carga tumoral. En el melanoma maligno, el aumento de las Treg está relacionado con incremento del nivel sérico de ferritina H, que lleva a la activación de las células Treg productoras de IL-10^{8,42}.

El aumento de las Treg en pacientes con cáncer se debe a la proliferación activa y no sólo a la redistribución de otros compartimentos (órganos linfoides secundarios y médula ósea). Esto, en combinación con la atracción propuesta de las células Treg al tumor mediante las CCL22/CCR4 y la inducción de células Treg por prostaglandina E2 (PGE2) o ferritina H-, podrían ser los posibles mecanismos responsables de la expansión de las células Treg en pacientes con cáncer^{43,44}.

Se ha demostrado que el crecimiento metastásico de los tumores está asociado con una pérdida de expresión del CMH y de otras proteínas implicadas en el procesamiento de péptidos antigénicos (*Antigen Peptide Transporter 1*, TAP1), con lo que se establece que regulan la presentación de epítomos activadores de células T. Otras estrategias son la producción de factores inmu-

nosupresores derivados de tumor, como TGF- β e IL-10, y el aumento de las células Treg. Se ha demostrado el impacto negativo de las células Treg en la generación de linfocitos T citotóxicos específicos de tumor, así como sobre los mecanismos efectores mediados por la respuesta inmunitaria innata⁸.

Se sabe que los tumores inducen respuesta inmunitaria, pero su crecimiento está determinado por este sistema de defensa y evoluciona para escapar de él. Por otra parte, los linfocitos que infiltran el tumor, derivados de melanoma o creados genéticamente para ser específicos de melanoma, han tenido cierto éxito en el tratamiento de las fases avanzadas de la enfermedad, cuando otras modalidades han fallado. En algunos pacientes esto no funciona, en parte, por las células reguladoras que actúan como inmunosupresoras. De hecho, los pacientes con melanoma tienen aumento en las Treg y esto se correlaciona con el estadio. Esta asociación también se ve en otros tipos de cáncer de piel no melanoma. La capacidad de expandir las células Treg provee un mecanismo de escape inmunitario, permitiendo la progresión tumoral. Estas células suprimen la inmunidad antitumoral por medio de células NK y células T efectoras, y alteran macrófagos a un fenotipo supresor M2, que permiten que el tumor escape de la vigilancia inmunitaria. El papel de las células Treg en la progresión tumoral se ha confirmado por la demostración de la inmunidad antitumoral y la regresión del tumor luego de su agotamiento⁴¹.

La eliminación de las células Treg es un objetivo de los estudios de inmunología del cáncer, debido a los grandes efectos antitumorales derivados de su agotamiento. Varias estrategias han surgido, incluyendo la quimioterapia, el uso de anticuerpos anti-CD25, el bloqueo del CTLA-4 y de la diftotoxina denileucina (Ontak®)⁴⁵.

Se cree que las Treg pueden causar un impacto negativo en la efectividad de inmunoterapias, como la de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el tumor, por ejemplo, trastuzumab y rituximab. La disminución de las células Treg puede convertirse en una estrategia exitosa contra el cáncer. De hecho, en un modelo de ratón, la eficacia de la vacuna contra el melanoma mejoró considerablemente con la disminución de células Treg.

En conclusión, la manipulación de las Treg en términos de frecuencia y actividad funcional, debe tenerse en cuenta en el arsenal terapéutico para aumentar la inmunidad tumoral en los seres humanos. Pero, ¿cómo eliminarlas o revertir su función supresora? Una opción es eliminar las células Treg CD25+ por medio de un anticuerpo específico, como el Ontak® (una proteína de fusión de toxina diftérica e IL-2). Sin embargo, como el marcador CD25+ no es específico de las Treg y está en todas las células T activadas, este tratamiento, además de eliminar las Treg, eliminaría las células T efectoras. Por

lo tanto, se necesitan reactivos más efectivos para disminuir las Treg en pacientes con cáncer^{8,17,43}.

Todavía no se sabe si hay especificidad tumoral en las Treg. Se ha demostrado en ciertos clones, pero todavía su entendimiento es limitado, en parte por la dificultad de cuantificarlas; la mayoría de los métodos son indirectos, por falta de marcadores de superficie específicos que permitan el seguimiento *in vivo* de estas células^{8,41,45}.

La autoinmunidad y la inmunidad del cáncer pueden ser dos caras del mismo mecanismo inmunitario, y muchos de los tratamientos para eliminar las Treg han terminado en autoinmunidad. Como la mayoría de antígenos expresados por el tumor son antígenos propios, no mutados, normales, es posible que la mayoría de los tumores inhiban una respuesta inmunitaria eficaz. Esto se ha evidenciado porque el agotamiento de células T CD 25+ y el bloqueo del GITR *in vivo* con anticuerpos, podrían aumentar la reactividad a los antígenos propios conocidos y mejorar el rechazo del tumor en ratones.

Otras señales "de peligro", como la señalización mediante receptores de tipo *toll*, pueden llevar a una inclinación de la balanza a favor de una respuesta inmunitaria contra antígenos del cáncer mediante la inversión de la inmunosupresión mediada por células T_{reg}^{5,39}.

Células Treg y melanoma

El melanoma surge de la transformación maligna de los melanocitos en la unión dermo-epidérmica o de melanocitos de nevos displásicos. En los últimos años ha tenido un incremento notorio. Es la principal enfermedad mortal que se origina en la piel y es responsable de 80% de las muertes por cáncer de piel. Es una de las causas más frecuentes de muerte en hombres y se ve en pacientes relativamente jóvenes. Su detección temprana cambia de manera importante el pronóstico. La tasa de supervivencia disminuye cuando hay metástasis a los ganglios linfáticos.

Entre los principales factores de riesgo están la predisposición genética y la exposición al sol. Cuando está en un estadio temprano, el tratamiento es la resección; en los estadios IIB y III con riesgo de recurrencia, se requiere el uso de IFN α con beneficios no muy claros en cuanto a supervivencia. Para los estadios IV con metástasis a distancia, el tratamiento se considera paliativo; se ha usado una gran lista de agentes quimioterapéuticos, también con resultados decepcionantes. Ahora la esperanza está puesta en la inmunoterapia. En la actualidad se están desarrollando varios estudios de vacunación e, incluso, hay enfoques terapéuticos como el tratamiento anti-Bcl2, Ontak® y vacunas de células dendríticas, entre otros^{46,47}.

La respuesta inmunitaria en caso de melanoma rara vez es curativa, lo que sugiere la existencia de cierta

inmunosupresión. El melanoma evade el sistema inmunitario mediante el aumento de células reguladoras CD4+CD25+FOXP3+ y un aumento en la ferritina H. La liberación de ferritina H da lugar a la activación de células Treg funcionales productoras de IL-10. También, se ha demostrado la expresión de FOXP3 ARNm en el subconjunto de las Treg. Las células Treg CD4+D25+FOXP3+ se encuentran en los nevos atípicos de la unión y compuestos, y en los melanomas en fase de crecimiento radial, lo que sugiere que inducen inmunotolerancia en la fase inicial de la génesis del melanoma y favorecen el crecimiento del melanoma. La frecuencia de las Treg aumenta con la progresión de la enfermedad y su acumulación en pacientes con melanoma avanzado se correlaciona con una reducción general de la capacidad de respuesta de las células T a antígenos de memoria, tales como el toxoide tetánico y la tuberculina. Su evaluación dentro del tumor podría ser útil para fines de pronóstico y seguimiento^{8,21}.

Como ya se ha dicho anteriormente, la eliminación de los linfocitos Treg puede ser una opción para contrarrestar la autotolerancia y liberar las propiedades antitumorales de los linfocitos circulantes. El uso de proteínas de fusión que vinculan moléculas citotóxicas con blancos receptores, proporciona una aproximación a este problema. Uno de estas aproximaciones se hizo con Ontak®, (*denileukin diftitax* o DAB389IL-2), una proteína de fusión de la IL-2 y la toxina de la difteria. Considerando que los linfocitos T reguladores son los únicos linfocitos T en reposo circulantes que expresan con gran afinidad el receptor de IL-2 (IL-2R), se desarrolló la Ontak® para dirigir la acción contra citocinas de la toxina de la difteria, al unirse a células que expresen IL-2R y que puedan mediar la interiorización de la toxina. Ya se había documentado el éxito de esta toxina en pacientes con linfoma de células T cutáneo, en linfoma folicular no Hodgkin y en enfermedad de injerto contra huésped aguda resistente a esteroides, aunque, en un estudio, no causó disminución en las células Treg ni regresión del melanoma metastásico⁴⁵.

Un enfoque que parece tener mejores resultados es la vacuna basada en células dendríticas combinada con Ontak® que, en un estudio, demostró ser capaz de restaurar la inmunidad de las células T, incluso en pacientes con melanoma en la etapa avanzada, probablemente debido a una reducción del nivel de las Treg. Aunque hay controversia con otro estudio, esta confusión puede deberse a la falta de un marcador único específico en las células Treg que puede hacer que se confundan con células T ayudadoras. La eficacia también depende del estadio del melanoma; en la fase IV, el efecto estimulante de la vacuna fue transitorio; sólo en los pacientes libres de tumor en la fase II, detectado más de un año después

de la última vacunación, se indujo una respuesta inmunitaria duradera. Esta discrepancia nuevamente indica que las células Treg desempeñan un papel importante en la inmunosupresión general de los pacientes con tumor, aunque no exclusivo. Otros factores parecen tener un impacto importante en la respuesta general específica de antígeno de las células T de pacientes con melanoma en estadios tardíos y se deben seguir investigando^{22,48,49,50}.

Células Treg y cáncer no melanoma

La incidencia del cáncer de piel inducido por la radiación ultravioleta está creciendo rápidamente y representa más de 40 % de todos los cánceres humanos. La exposición a los rayos de onda media (rayos ultravioleta B, 290 a 320 nm) juega el papel principal en la inducción de cáncer de piel no melanoma. La gran mayoría de las lesiones del ADN inducidas por rayos ultravioleta B se eliminan por la reparación por escisión de nucleótidos (*Nucleotide Excision Repair*, NER), el sistema esencial de reparación del ADN endógeno. Las citocinas inmunomoduladoras, como la IL-10, pero también citocinas Th1 como la IL-12, reducen el daño del ADN⁵¹.

La exposición de la piel a la radiación ultravioleta B resulta en una variedad de efectos biológicos, incluyendo inflamación, inducción de agresión por oxidación, formación de quemadura solar, daño en el ADN y alteraciones inmunológicas, todos los cuales juegan un papel importante en el desarrollo del cáncer de piel melanoma y no melanoma^{55,52}.

Aunque los tumores de piel son muy inmunógenos, la exposición a la radiación ultravioleta es conocida por suprimir la respuesta inmunitaria mediante las células Treg. El antígeno CTLA-4 interactúa con las células presentadoras de antígenos para inhibir la activación de las células T.

Los receptores de trasplante de órganos, que se mantienen muy inmunodeprimidos para prevenir el rechazo de órganos, tienen un riesgo 65 veces mayor de desarrollar carcinoma de células escamosas y 10 veces mayor de desarrollar carcinoma de células basales. El CTLA-4 juega un papel importante en la supresión inmunitaria inducida por la radiación ultravioleta, así como en el desarrollo de cáncer de piel. La incidencia acumulativa en receptores de trasplante en Queensland, Australia, aumentó de 7% después de un año del tratamiento inmunosupresor, a 82% después de 20 años. La incidencia de cáncer de piel es proporcional a la intensidad de la inmunosupresión^{12,52,53,54}.

Carcinoma basocelular

El carcinoma basocelular es el cáncer más común en los humanos y es causado por la radiación ultravioleta o por

mutaciones en el gen *PTCH* (proteína homóloga en parches). Puede ser localmente invasivo, destructivo pero de crecimiento lento y pocas veces hace metástasis. Puede sufrir regresión espontánea en algunas circunstancias, lo cual es potencialmente mediado por el sistema inmunitario. Aunque el tratamiento generalmente es la resección con bordes libres, se han utilizado modificadores de la respuesta inmunitaria, incluidos IFN α e imiquimod, con diversos grados de éxito (entre 75 y 96 %)⁴⁶.

Se ha encontrado un aumento considerable en las células Treg FOXP3+ en la dermis yuxtatumoral de pacientes con carcinoma basocelular; las células T FOXP3+ se detectan en los márgenes pseudocapsulares, y penetrando en los nódulos tumorales. Hay una mayor expresión de IL-4, IL-10 e CCL22, lo que favorece un entorno Th2, y un aumento de la expresión de genes asociados al interferón, que favorece el Th1. La quimiocina responsable de la quimiotaxis de las Treg, la CCL2, también se encuentra aumentada.

En este tipo de cáncer, la presencia de células Treg alrededor de los nódulos tumorales, puede atenuar la función de las células dendríticas y las T efectoras. Los mecanismos no están del todo claros, pero se propone que puede ser impidiendo la maduración de las células dendríticas o suprimiendo la expresión de sus coestimuladoras. La radiación ultravioleta puede aumentar la IL-10, lo que también contribuye al ambiente inmunosupresor⁵⁵.

Las respuestas inmunitarias de la piel pueden ser importantes para limitar la propagación de los tumores cutáneos y aprovechar el potencial antitumoral de la inmunidad, por lo que pueden servir para optimizar los tratamientos no quirúrgicos.

Carcinoma escamocelular

El carcinoma escamocelular es el segundo tumor cutáneo maligno en frecuencia y se deriva de los queratinocitos de la epidermis. La exposición solar es el principal factor etiológico, pero puede ser causado por el virus del papiloma humano (HPV) y el arsénico, entre otros. Se disemina más rápidamente que el carcinoma basocelular, pero sigue teniendo un crecimiento relativamente lento y puede hacer metástasis, incluso, a los órganos internos⁴⁶.

El sistema inmunitario parece ser muy exitoso en la protección contra los carcinomas escamocelulares, por el hecho de que la supresión de la inmunidad celular en los pacientes con trasplante renal aumenta de manera importante el riesgo de estos tumores en las áreas de piel expuestas al sol. Muchos factores pueden estar involucrados en este proceso, incluidos los medicamentos, como la azatioprina o la ciclosporina que, junto con la radiación ultravioleta A, pueden aumentar sinérgicamente

el poder mutágeno. En cambio, la restauración o mejora de una respuesta inmunitaria, por aplicación tópica o sistémica de inmunomoduladores, como el IFN o el imiquimod, se ha convertido en una estrategia terapéutica exitosa para el tratamiento del cáncer de piel^{8,14,51}.

Los pacientes con carcinoma de células escamosas de la cabeza y el cuello, tienen una frecuencia significativamente elevada de células Treg y estas células son más sensibles a la apoptosis que las otras, lo que podría insinuar una rápida rotación en la circulación periférica. No obstante, todavía se desconoce cómo esta mayor sensibilidad de las Treg a la apoptosis influencia su frecuencia⁸.

Los carcinomas escamosos parecen ser más agresivos en los receptores de trasplantes que en personas inmunocompetentes. Tienen a recurrir y a hacer metástasis más rápidamente⁵³.

En un estudio en el que se compararon el carcinoma escamocelular, la enfermedad de Bowen y las queratosis actínicas, se encontró que el número de células Treg y de células dendríticas era mayor en los dos primeros, y se demostró que las Treg están implicadas en la progresión de este tipo de cáncer¹⁴.

Conclusiones

Las células Treg CD4+ CD25+ constituyen, aproximadamente, 5 a 10% de todas las células T ayudadoras. Son una población única de células que se encarga de mantener la autotolerancia, y las alteraciones en su regulación inmunitaria están implicadas en el desarrollo y la progresión del cáncer. Al constituir un mecanismo activo de inmunosupresión, están en una posición única de ayudarle al sistema inmunitario a decidir cuándo y cuál tipo de respuesta debe ser montada hacia determinado antígeno. Una manipulación estratégica de las células Treg, para modificar su actividad y su número, puede ser de gran beneficio clínico. Se podrían aumentar en enfermedades autoinmunitarias, alergia y trasplantes, y disminuir en cáncer y enfermedades infecciosas.

Referencias

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. Sexta edición. Barcelona, España: Elsevier Inc.; 2008.
2. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *N Engl J Med*. 2006;354:1166-76.
3. M.G. Label, R.Kolliker-Frers,A.Woscoff, P.Troielli. Regulación de la respuesta inmune. Células T reguladoras-supresoras. Parte I. *Dermatología Argentina*. 2005; 11:132- 7
4. Beissert S, Schwarz A, Schwarz T. Regulatory T cells. *J Invest Dermatol*. 2006; 126:15-24.
5. Fehérvari Z, Sakaguchi S. CD4+ Tregs and immune control. *J Clin Invest*. 2004; 114:1209-17.

6. Lima HC. Role of regulatory T cells in the development of skin diseases. *An Bras Dermatol.* 2006; 81:269-81.
7. Melencio L, McKallip RJ, Guan H, Ramakrishnan R, Jain R, Nagarkatti PS, *et al.* Role of CD4(+)CD25(+) T regulatory cells in IL-2-induced vascular leak. *Int Immunol.* 2006; 18:1461-71.
8. Wang HY, Wang RF. Regulatory T cells and cancer. *Curr Opin Immunol.* 2007; 19:217-23.
9. Luis J, Parias G, Giraldo VED, Velásquez-Lopera MM. Foxp3: Controlador maestro de la generación y función de las células reguladoras naturales. *Inmunología* 2010; 291-11.
10. Dudda JC, Perdue N, Bachtanian E, Campbell DJ. Foxp3+ regulatory T cells maintain immune homeostasis in the skin. *J Exp Med.* 2008; 205:1559-65.
11. Polansky JK, Kretschmer K, Freyer J, Floess S, Garbe A, Baron U, *et al.* DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur J Immunol* 2008; 38(6):1654-63.
12. Cavanagh LL, Halliday GM. Dendritic epidermal T cells in ultraviolet-irradiated skin enhances skin tumor growth by inhibiting CD4+ T-cell-mediated immunity. *Cancer Res J.* 1996; 56:2607-15
13. Fu B-Mang, He X-Shun, Yu S, Hu A-bin, Zhang J, Ma Y, *et al.* A tolerogenic semimature dendritic cells induce effector T-cell hyporesponsiveness by activation of antigen-specific CD4+CD25+ T regulatory cells that promotes skin allograft survival in mice. *Cell Immunol* 2009; 261:69-76.
14. Jang TJ. Prevalence of Foxp3 positive T regulatory cells is increased during progression of cutaneous squamous tumors. *Yonsei Med J.* 2008; 49:942-8.
15. D'Ambrosio D. Regulatory T cells: How do they find their space in the immunological arena?. *Semin Cancer Biol.* 2006; 16:91-7.
16. Clark RA. Skin-resident T cells: The ups and downs of onsite immunity. *J Invest Dermatol.* 2010; 130:362-70.
17. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood.* 2006; 108:804-11.
18. Wang R-F. CD8+ regulatory T cells, their suppressive mechanisms, and regulation in cancer. *Human Immunol* 2008; 69:811-4.
19. Birch KE, Reed JR, Akbar AN, Rustin MHA, Birch K. The immunomodulatory effects of regulatory T cells: Implications for immune regulation in the skin. *Br J Dermatol.* 2005; 152:409-17.
20. Prendergast GC, Metz R. IDO recruits Tregs in melanoma A side-by-side comparison of. *Cell Cycle.* 2009; 8:1818-22.
21. Ilkovitch D. Role of immune-regulatory cells in skin pathology. *J Leukoc Biol.* 2010; 89:1-9.
22. Gruijl FR. Ultraviolet radiation and tumor immunity. *Methods (San Diego, Calif.).* 2002; 28:122-9.
23. Beissert S, Loser K. Molecular and cellular mechanisms of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol.* 2008; 84:29-34.
24. Wang L, Toda M, Saito K, Hori T, Horii T, Shiku H, *et al.* Post-immune UV irradiation induces Tr1-like regulatory T cells that suppress humoral immune responses. *Int Immunol.* 2008; 20:57-70.
25. Rana S, Byrne SN, MacDonald LJ, Chan CY-Y, Halliday GM. Ultraviolet B suppresses immunity by inhibiting effector and memory T cells. [Internet]. *Am J Pathol.* 2008; 172:993-1004.
26. Noonan FP, Muller HK, Fears TR, Kusewitt DF, Johnson TM, De Fabo EC. Mice with genetically determined high susceptibility to ultraviolet (UV)-induced immunosuppression show enhanced UV carcinogenesis. *J Invest Dermatol.* 2003; 121:1175-81.
27. Maeda A, Beissert S, Schwarz T, Schwarz A. Phenotypic and functional characterization of ultraviolet radiation-induced regulatory T cells. *J Immunol* 2008; 180:3065-71.
28. Loser K, Apelt J, Voskort M, Mohaupt M, Balkow S, Schwarz T, *et al.* IL-10 controls ultraviolet-induced carcinogenesis in mice. *J Immunol* 2007; 179:365-71
29. Schwarz a, Beissert S, Grosse-Heitmeyer K, Gunzer M, Bluestone JA, Grabbe S, *et al.* Evidence for functional relevance of CTLA-4 in ultraviolet-radiation-induced tolerance. *J Immunol* 2000; 165:1824-31.
30. Schwarz A, Maeda A, Ständer S, van Steeg H, Schwarz T. IL-18 reduces ultraviolet radiation-induced DNA damage and thereby affects photoimmunosuppression. *J Immunol* 2006; 176:2896-901.
31. Meeran SM, Katiyar S, Elmets CA, Katiyar SK. Interleukin-12 deficiency is permissive for angiogenesis in UV radiation-induced skin tumors. *Cancer Res.* 2007; 67:3785-93.
32. Schwarz T. Regulatory T cells induced by ultraviolet radiation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 445:1-7.
33. Loser K, Beissert S. Regulation of cutaneous immunity by the environment: An important role for UV irradiation and vitamin D. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9:587-9
34. Ghoreishi M, Bach P, Obst J, Komba M, Fleet JC, Dutz JP. Expansion of antigen-specific regulatory T cells with the topical vitamin D analog calcipotriol. *J Immunol* 2009; 182:6071-8.
35. Katiyar S. Interleukin-12 and photocarcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007; 224:220-7
36. Meeran SM, Mantena SK, Meleth S, Elmets CA, Katiyar SK. Interleukin-12-deficient mice are at greater risk of UV radiation-induced skin tumors and malignant transformation of papillomas to carcinomas. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5:825-32.
37. Meeran SM, Mantena SK, Katiyar SK. Prevention of ultraviolet radiation-induced immunosuppression by (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice is mediated through interleukin 12-dependent DNA repair. *Clin Cancer Res.* 2006; 12:2272-80.
38. Piersma SJ, Welters MJP, van der Burg SH. Tumor-specific regulatory T cells in cancer patients. *Human Immunol.* 2008; 69:241-9.
39. Antony PA, Restifo PN CD4+ CD25+ T regulatory cells, immunotherapy of cancer, and interleukin-2. *J Immunother.* 2005; 28:120-8.

40. Moodycliffe AM, Nghiem D, Clydesdale G, Ullrich SE. Immune suppression and skin cancer development: Regulation by NKT cells. *Nat Immunol.* 2000; 1:521-5
41. Ha T-Y. The role of regulatory T cells in cancer. *Immune Netw.* 2009; 9:209-35.
42. Baecher-Allan C, Anderson DE. Regulatory cells and human cancer. *Semin Cancer Biol.* 2006; 16:98-105.
43. Wolf AM, Wolf D, Steurer M, Gastl G, Gunsilius E, Grubeck-loebenstein B. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2003; 9:606-12.
44. Cao X. Regulatory T cells and immune tolerance to tumors. *Immunol Res.* 2010; 46:79-93.
45. Attia P, Maker AV, Haworth LR, Rogers-Freezer L, Rosenberg SA. Inability of a fusion protein of IL-2 and diphtheria toxin (Denileukin Diftitox, DAB389 IL-2, ONTAK) to eliminate regulatory T lymphocytes in patients with melanoma. *J Immunother.* 2005; 28:582-92.
46. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine.* 7th edition. : Mc Graw Hill Medical; 2008. USA.
47. Baumgartner J, Wilson C, Palmer B, Richter D, Banerjee A, McCarter M. Melanoma induces immunosuppression by up-regulating FOXP3(+) regulatory T cells. *J Surg Res.* 2007; 141:72-7.
48. Correll A, Tuetttenberg A, Becker C, Jonuleit H. Increased regulatory T-cell frequencies in patients with advanced melanoma correlate with a generally impaired T-cell responsiveness and are restored after dendritic cell-based vaccination. *Exp Dermatol.* 2010; 19:213-21.
49. Mahnke K, Schönfeld K, Fondel S, Ring S, Karakhanova S, Wiedemeyer K, *et al.* Depletion of CD4+CD25+ human regulatory T cells *in vivo*. Kinetics of Treg depletion and alterations in immune functions *in vivo* and *in vitro*. *Int J Cancer.* 2007; 120:2723-33.
50. Tuetttenberg A, Becker C, Huter E, Knop J, Enk AH, Jonuleit H. Induction of strong and persistent MelanA/MART-1-specific immune responses by adjuvant dendritic cell-based vaccination of stage II melanoma patients. *Int J Cancer.* 2006; 118:2617-27.16
51. Maeda A, Schneider SW, Kojima M, Beissert S, Schwarz T, Schwarz A. Enhanced photocarcinogenesis in interleukin-12-deficient mice. *Cancer Res.* 2006; 66:2962-9.
52. Welsh MM, Applebaum KM, Spencer SK, Perry AE, Karagas MR, Nelson HH. CTLA4 variants, UV-induced tolerance, and risk of non-melanoma skin cancer. *Cancer Res.* 2009; 69:6158-63.
53. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med.* 2003; 348:1681-91
54. Dreno B. Skin cancers after transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18:1052-8
55. Kaporis HG, Guttman-Yassky E, Lowes MA, Haider AS, Fuentes-Duculan J, Darabi K, *et al.* Human basal cell carcinoma is associated with Foxp3+ T cells in a Th2 dominant microenvironment. *J Invest Dermatol.* 2007; 127:2391-8.