

## Vacunas en melanoma

E. Noris-García, A. Torrella

### Resumen

Las vacunas terapéuticas han demostrado ser una de las mejores estrategias de intervención en el sistema inmune para proteger al organismo en contra de la progresión de una amplia variedad de enfermedades, incluyendo el cáncer. En este trabajo ofrecemos una revisión de las principales modalidades de vacunas terapéuticas que se han ensayado clínicamente y han demostrado algún efecto antitumoral. Aunque en la actualidad se están desarrollando varios ensayos clínicos fase III con resultados alentadores, la terapia con vacunas de melanoma es todavía experimental y su efectividad no esta demostrada.

**Palabras clave:**

Inmunoterapia. Melanoma. Vacunas terapéuticas.

Oncología, 2004; 27 (3):108-113

## Summary

Therapeutic vaccines have shown to be among the best practical approaches of immune prevention against the progression of a wide variety of diseases, including cancer. We present in this work the main vaccination modalities that have been evaluated in clinical trials and showed antitumoral effect. Although there are many phase III trials with encouraging results, the use of vaccines for melanoma therapy is still in an experimental phase and its effectiveness remains to be established.

**Key words:** Immunotherapy. Melanoma. Therapeutic vaccines.

## Introducción

Las vacunas son una alternativa atractiva para inducir una respuesta inmune antitumoral específica en el hospedero. Existen evidencias preclínicas en melanoma de que las vacunas pueden prevenir o retardar la progresión de la enfermedad en ratones y estudios clínicos preliminares sugieren que las primeras generaciones de vacunas de melanoma pueden inducir respuesta inmune y disminuir la progresión del melanoma en algunos pacientes<sup>1</sup>.

El éxito de la inmunoterapia activa en el tratamiento del cáncer está afectado, al igual que en el caso de la inmunoterapia pasiva, por la heterogeneidad existente entre células tumorales, la baja inmunogenicidad de los antígenos tumorales en general y los mecanismos de escape que los tumores desarrollan para evadir la respuesta inmunológica y mantenerse vivos. Por tanto los objetivos que persigue la inmunoterapia activa contra el cáncer son<sup>2</sup>:

- Superar la inmunosupresión producida por factores derivados del tumor.
- Estimular la inmunidad específica que deberá destruir las células tumorales.
- Aumentar la inmunogenicidad de los antígenos tumor asociados.

Las vacunas de cáncer deben ser además de inmunológicamente activas, clínicamente efectivas e inocuas. En general, las vacunas de melanoma han mostrado muy poca toxicidad en los varios miles de pacientes que han sido tratados hasta la fecha, siendo menos tóxicas que otros tipos de terapia aprobados por la agencia regulatoria de los Estados Unidos de América, Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup>.

Hasta el momento la FDA, no ha aprobado ninguna vacuna para uso en tratamientos convencionales oncológicos, sin embargo según la base de datos Physician Data Query (PDQ) de ensayos clínicos del Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos (National

Cancer Institute-NCI), en el mundo hoy existen 101 ensayos clínicos de vacunas de cáncer, de ellos 14 están en fase III y 5 de estos 14 son ensayos en melanoma<sup>4</sup>.

## Clasificación de las vacunas de cáncer

Las vacunas de cáncer son vacunas terapéuticas pues generalmente son administradas como terapia adyuvante de los métodos convencionales, después de la aparición de la enfermedad. Estas pueden clasificarse en<sup>5</sup>:

Vacunas celulares:

- Lisados de células (autólogas o heterólogas)
- Células completas y atenuadas (autólogas o heterólogas)

Vacunas de células dendríticas cargadas con antígenos tumorales

Vacunas de antígenos purificados o parcialmente purificados asociados a tumor

Vacunas de anticuerpos antiidiotipos

Vacunas que usan proteínas de estrés térmico

## Vacunas celulares

Estas vacunas tienen la ventaja de incluir la mayoría de los antígenos asociados al tumor, por lo que al menos desde un punto de vista teórico, provocarán una respuesta dirigida a muchos de los antígenos asociados al melanoma, y pueden evitar el mecanismo de escape derivado de la inestabilidad genética del tumor.

Entre las limitaciones de las vacunas celulares se encuentran la inducción de autoinmunidad, la dificultad para monitorear la respuesta de anticuerpos y citotóxica, su alto costo y su complejidad<sup>6</sup>.

## Vacunas de células autólogas

Las células autólogas son preferidas por su compatibilidad HLA con los individuos a tratar, pero resulta di-

fácil su obtención en cantidades suficientes a partir de biopsias, así como la obtención de líneas celulares de estas extracciones. Además este método resulta muy costoso porque se requiere un tratamiento individualizado<sup>7</sup>.

Desde 1990 el grupo de Berd ha trabajado en el desarrollo de vacunas autólogas con Bacille Calmette-Guerin (BCG) como adyuvante y ha realizado ensayos clínicos en pacientes con melanoma metastásico<sup>8</sup>. Con la aplicación de su vacuna M-VAX modificada mediante el tratamiento de las células autólogas con un hapteno, el dinitrofluorobenceno (DNFB), se obtuvo una supervivencia media global superior a los 62 meses, muy superior a la de los controles históricos, en enfermos de melanoma en estadio III<sup>9</sup>.<sup>10</sup>. Actualmente la vacuna M-VAX se encuentra en ensayo clínico fase III<sup>3</sup>.

### Vacunas de células heterólogas

Una vía muy eficiente para maximizar la respuesta inmune de los pacientes contra sus células tumorales es la formulación de vacunas de células heterólogas que compartan antígenos HLA con el hospedero y expresen en cantidades óptimas la mayoría de los antígenos tumor-asociados, que incluyen proteínas y carbohidratos<sup>6</sup>.

En 1993 Mitchell y colaboradores publicaron los resultados de un ensayo clínico en fase II con la aplicación de una vacuna preparada con lisados de células heterólogas de melanoma en un grupo de 139 pacientes de melanoma metastásico con resultados alentadores<sup>11</sup>. En 1995 este grupo inició un ensayo clínico fase III en pacientes con estadio IV de la enfermedad con la vacuna Melacine constituida por lisados de dos líneas celulares alogénicas de melanoma + DETOX<sup>12</sup>. Este grupo además desarrolló un ensayo clínico fase II combinando esta vacuna con IFN y ciclofosfamida<sup>13</sup>.

Otro grupo que ha trabajado con células heterólogas es el de Morton del John Wayne Cancer Institute. Este grupo inició sus trabajos en el año 1984. Su vacuna Cancervax formada por células completas irradiadas provenientes de tres líneas celulares de melanoma combinadas con BCG esta actualmente en un ensayo clínico fase III y ha mostrado un aumento significativo del intervalo libre de enfermedad y de la supervivencia en pacientes en estadios III y IV<sup>14-17</sup>.

### Vacunas de células dendríticas

Este tratamiento se basa en la utilización de células dendríticas autólogas obtenidas por la diferenciación *in vitro* de monocitos de sangre periférica. Una vez obtenidas, las células dendríticas maduras son "carga-

das" con los antígenos tumorales. Esto supone un tratamiento individualizado, por lo que es laboriosa y difícilmente aplicable a un gran número de enfermos, si bien, podría ser el tipo de vacunación más potente, desde el punto de vista terapéutico. Esto ha motivado la realización de una gran cantidad de investigaciones preclínicas con este tipo de vacunas<sup>(18,19)</sup>.

En numerosas instituciones se están realizando ensayos clínicos utilizando células dendríticas cargadas con péptidos y han sido publicados algunos resultados promisorios, como la regresión del tumor en algunos de los pacientes, pero la eficacia clínica de estas vacunas todavía no ha sido demostrada suficientemente<sup>(20,21,22)</sup>.

## Vacunas de antígenos purificados o parcialmente purificados asociados a tumor

### Vacunas de antígenos purificados

Las mayores ventajas de estas vacunas son su fácil caracterización, su reproducibilidad, la alta concentración del antígeno y la facilidad de medición de la respuesta inmune inducida. Desafortunadamente el antígeno preciso que induzca una respuesta antitumoral clínicamente efectiva en pacientes de melanoma no ha sido aun identificado. Además muchos de los antígenos utilizados son HLA restringidos y existen antígenos que no están expresados en todos los tipos de melanoma lo que hace que este tipo de vacuna no sea útil para todos los pacientes de melanoma y todavía no está claro que la respuesta inmune inducida por un simple antígeno o péptido será lo suficientemente potente para dar como resultado una muerte efectiva de las células tumorales.

Las vacunas basadas en antígenos purificados de mayor importancia actualmente son las que han sido propuestas por Livingston y colaboradores (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, USA)<sup>23</sup>. Estos investigadores han realizado ensayos clínicos fase I utilizando el gangliósido GM2 purificado como antígeno, administrándolo vía subcutánea, solo o combinado con diferentes adyuvantes, a pacientes con melanoma en estadio III o IV. El gangliósido solo no resultó inmunogénico, pero unido covalentemente a Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH), sin adyuvante, o asociado con BCG muestra una inmunogenicidad moderada y cuando se administra conjugado con KLH en compañía de la saponina QS-21 como adyuvante resulta un inmunógeno potente. Este último preparado vacunal produce respuesta de anticuerpos de larga duración en la mayoría de los pacientes, que se caracteriza por títulos significativos, tanto de isotipo IgM como IgG.

Debido a los prometedores resultados obtenidos con el preparado vacunal GM2-KLH más QS-21 el ensayo clínico de esta vacuna ha logrado avanzar a fase III, aplicándose en pacientes con melanoma en estadio III<sup>24</sup>.

En Cuba se desarrolló en el Centro de Inmunología Molecular, un preparado vacunal que contiene al gangliósido N Glicolil GM3 como inmunógeno, combinado con un proteoliposoma de muy pequeña talla (VSSP) derivado del complejo de proteínas de membrana externa de *Neisseria meningitidis* (OMPC) como proteína portadora, utilizando como adyuvante el Montanide ISA 51. Este preparado ha demostrado ser inmunogénico y poco tóxico en ensayos clínicos fase I en pacientes con cáncer de mama y melanoma<sup>25</sup>.

Existen varios ensayos clínicos fase I con otros antígenos de melanoma purificados, entre los que se destacan los desarrollados por el grupo de Rosenberg<sup>26</sup>.

### Vacunas de antígenos parcialmente purificados

Es mucho más probable que las vacunas polivalentes que utilizan una mezcla de antígenos de melanoma estimulen una respuesta antitumoral clínicamente efectiva, pues al menos uno de los antígenos debe ser expresado por el tumor del paciente y ser capaz de estimular una respuesta inmune. Al emplear más de un antígeno se eliminan los obstáculos de la heterogeneidad antigénica y del polimorfismo de HLA que pudieran impedir una respuesta antitumoral exitosa.

Estas vacunas son más puras que las vacunas preparadas de tumores completos o sus extractos, pero son menos puras que las vacunas de antígenos purificados, por lo que no son tan seguras como esta, pues tienen más posibilidad de producir efectos colaterales. Comparadas con las vacunas de antígenos purificados son menos reproducibles y es más difícil su caracterización y la evaluación de la respuesta inmune inducida por la vacuna.

La vacuna que ha mostrado mayor efectividad dentro de este tipo de vacunas es la desarrollada por el grupo de Bystryn<sup>27</sup>. Este grupo aprovecha un fenómeno natural, la rápida liberación de antígenos de la superficie celular hacia el medio de cultivo por las células de melanoma. Este material es parcialmente purificado y enriquecido con antígenos de superficie. Esta vacuna contiene múltiples antígenos de melanoma que incluyen: MAGE-1, MAGE-3, MelanA/Mart-1, tirosinasa, gp100, S100, TRP-1 y otros antígenos relevantes. Actualmente la vacuna está en ensayo clínico fase III<sup>28-30</sup>.

### Vacunas de anticuerpos anti-idiotípicos

Los anticuerpos anti-idiotípicos son una variante va-

cial que también ha resultado de interés en el tratamiento del cáncer por la capacidad que pueden tener estos anticuerpos de mimificar antígenos tumor-asociados.

Entre los anticuerpos anti-idiotípicos que han demostrado potencialidad terapéutica y han sido llevados a ensayo clínico están los anticuerpos contra gangliósidos. Entre ellos, se destaca el BEC2 generado en 1991 por Chapman y colaboradores<sup>31</sup>. En ensayos clínicos en pacientes con melanoma tratados quirúrgicamente con alto riesgo de recurrencia y en pacientes con carcinoma de pulmón de células pequeñas (SCLC), el BEC2 demostró su inmunogenicidad al administrarse junto a los adyuvantes BCG y KLH, induciendo la producción de anticuerpos anti-GD3 en algunos pacientes, así como un aumento de la supervivencia y del tiempo de reparación de la enfermedad o recaída<sup>32, 33</sup>.

En nuestro país también se ha desarrollado un anticuerpo monoclonal anti-idiotipo (1E10) que mimetiza al gangliósido NGcGM3, que ha sido evaluado en un ensayo clínico fase I en pacientes con melanoma avanzado, siendo capaz de inducir una respuesta inmune específica contra el gangliósido, con poca toxicidad<sup>34</sup>.

### Vacunas que usan proteínas de estrés térmico

Un área de estudio que parece ser muy prometedora es la de las proteínas de estrés térmico o heat shock proteins (HSP). La unión de las HSP a sus receptores en las células dendríticas, constituye la señal endógena de alerta o peligro necesaria para estimular el desplazamiento de las células dendríticas hacia los ganglios linfáticos regionales y su maduración, que dará lugar a la respuesta inmunitaria que no estará dirigida a las HSP sino contra los péptidos tumorales transportados por estas proteínas. Estos aspectos fueron demostrados en ratón: en primer lugar se vio que cuando estas proteínas provenían de tumores, era posible inducir una fuerte respuesta inmunitaria (especialmente citotóxica), en segundo lugar mediante análisis de las secuencias de DNA, se constató la identidad de las HSP aisladas de tumores o de células normales; en tercer lugar se demostró que estas proteínas actuaban como moléculas transportadoras de péptidos y que cuando se aislaban de una determinada célula eran un auténtico muestrario de todos los péptidos sintetizados por aquella célula. Por lo tanto, las HSP aisladas de un tumor determinado constituyen la mejor representación de los antígenos tumorales expresados por aquel tumor y por ende, pudieran ser los inmunógenos más adecuados<sup>5</sup>.

La vacunación con HSP se ha iniciado recientemente en diversos cánceres incluyendo el melanoma. Actual-

mente se esta llevando a cabo un ensayo clínico fase I en pacientes con melanoma con la vacuna HSPPC-96 que utiliza péptidos autólogos de HSP lográndose, con una toxicidad no significativa, una respuesta clínica posiblemente asociada con una respuesta inmune mediada por células T melanoma específicas<sup>35</sup>.

## Conclusiones

La terapia con vacunas de melanoma es todavía experimental y su efectividad no está demostrada. Hasta el presente, este tipo de terapia solo está disponible a través de ensayos clínicos. Sin embargo, estos ensayos están siendo conducidos en numerosas instituciones, así que las vacunas son una opción real para el tratamiento adyuvante de un grupo de pacientes de melanoma con alto riesgo de progresión. Desafortunadamente, datos comparativos sobre la relativa efectividad de las diferentes vacunas de melanoma no están disponibles, así que es difícil seleccionar objetivamente cual es la más efectiva. En general, parece existir una correlación entre la capacidad de estas vacunas de estimular una respuesta inmune celular y/o de anticuerpos y el incremento en la respuesta clínica observado en los pacientes. Por esto se han desarrollado numerosas estrategias para incrementar la habilidad de esta primera generación de vacunas de estimular la inmunidad anti-melanoma e incrementar su efectividad clínica. Para establecer la efectividad real de las vacunas en el tratamiento del melanoma maligno varios ensayos clínicos fase III están siendo desarrollados actualmente.

---

Correspondencia:  
Dra. E. Noris-García  
Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología  
29 y F, Plaza  
CP 10400 Ciudad Habana (Cuba)  
E-mail: anoris@infomed.sld.cu

## Bibliografía

1. Oratz R, Dugan M, Roses DF, Harris MN, Speyer JL, Hochster H, et al. Lack of effect of cyclophosphamide on the immunogenicity of a melanoma antigen vaccine. *Cancer Research* 1991; 51:3643-47.
2. Steplewski Z. Advances and Outlooks for Immunotherapy of Cancer. *Hybridoma* 1993; 12 (5):493-500.
3. Bystryn JC. Vaccines for melanoma. *Dermatol Clin* 2002; 20(4):717-25.
4. Reicher JM, Paquette Ch. Therapeutic cancer vaccines on trial. *Nature Biotechnology* 2002; 20:659-63.
5. Vilella PR, Benítez RD, Milá MJ, Castel RT. Inmunoterapia en el melanoma maligno diseminado. *Inmunología* 2001; 20:160-72.
6. Armstrong AC, Eaton D, Ewing JC. Science, medicine and the future: Cellular immunotherapy for cancer. *Brit Med J* 2001; 323:1289-93.
7. Hayashi Y, Hoon DSB, Foshag LJ, Park SM, Terasaki PI, Morton DL. A preclinical model to assess the antigenicity of an HLA-A2 melanoma cell vaccine. *Cancer* 1993; 72(3):750-59.
8. Murphy GF, Radu A, Kaminer M, Berd D. Autologous melanoma vaccine induces inflammatory responses in melanoma metastases: relevance to immunologic regression and immunotherapy. *J Invest Dermatol* 1993; 100(3):335S-41S.
9. Berd D. M-Vax: an autologous, hapten-modified vaccine for human cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2002; 2(3): 335-42.
10. Berd D. Contribution of dead cells to the immunogenicity of an autologous, hapten modified melanoma vaccine. *Vaccine* 2003; 21(7-8):795-97.
11. Kan-Mitchell J, Huang XQ, Steinman L, Oksenberg JR, Harel W, Parker JW, et al. Clonal analysis of in vivo activated CD8+ cytotoxic T lymphocytes from a melanoma patients responsive to activate specific immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37:15-25.
12. Mitchell MS, Rechtman DJ, Von Eschen KB. A randomized phase III trial of melacine versus combination chemotherapy in patients with disseminated melanoma. *Can J Infect Dis* 1995; 6 (Suppl C):347C-351C.
13. Vaishampayan U, Abrams J, Darrach D, Jones V, Mitchell MS. Active immunotherapy of metastatic melanoma with allogeneic melanoma lysates and interferon alpha. *Clin Cancer Res* 2002 Dec; 8(12):3696-701.
14. Takahashi T, Johnson TD, Nishinaka Y, Morton DL, Irie RF. IgM anti-ganglioside antibodies induced by melanoma cell vaccine correlate with survival of melanoma patients. *J Invest Dermatol* 1999; 112(2):205-209.
15. Morton DL, Hsueh EC, Essner R, Foshag LJ, O'Day SJ, Bilchik A, et al. Prolonged survival of patients receiving active immunotherapy with Canvaxin therapeutic polyvalent vaccine after complete resection of melanoma metastatic to regional lymph nodes. *Ann Surg* 2002; 236(4):438-48.

16. Difronzo LA, Gupta RK, Essner R, Foshag LJ, O'Day SJ, Wanek LA, et al. Enhanced humoral immune response correlates with improved disease-free and overall survival in American Joint Committee on cancer stage II melanoma patients receiving adjuvant polyvalent vaccine. *J Clin Oncol* 2002; 20:3242-48.
17. Chung MH, Gupte RK, Hsueh EC, Essner R, Ye W, Yee R and Morton DL. Humoral immune response to a therapeutic polyvalent cancer vaccine after complete section of thick primary melanoma and sentinel lymphadenectomy. *J Clin Oncol* 2003; 21:313-19.
18. Ribas A, Amarnani SN, Buga GM, Butterfield LH, Dissette VB, McBride WH, et al. Immunosuppressive effects of interleukin-12 coexpression in melanoma antigen gene-modified dendritic cell vaccines. *Cancer Gene Ther* 2002; 9(11):875-83.
19. Hellstrom KE, Hellstrom I. Therapeutic vaccination with tumor cells that engage CD137. *J Mol Med* 2003; 81(2):71-86.
20. Krause SW, Neumann C, Soruri A, Mayer S, Peters JH, Andreesen R. The treatment of patients with disseminated malignant melanoma by vaccination with autologous cell hybrids of tumor cells and dendritic cells. *J Immunother* 2002; 25(5):421-28.
21. Smithers M, O'Connell K, MacFadyen S, Chambers M, Greenwood K, Boyce A, et al. Clinical response after intradermal immature dendritic cell vaccination in metastatic melanoma is associated with immune response to particulate antigen. *Cancer Immunol Immunother* 2003; 52(1):41-52.
22. Panelli MC, Wunderlich J, Jeffries J, Wang E, Mixon A, Rosenberg SA, et al. Phase I study in patients with metastatic melanoma of immunization with dendritic cells presenting epitopes derived from the melanoma-associated antigens MART-1 and gp100. *J Immunother* 2000; 23(4):487-98.
23. Livingston PO. Gangliosides vaccines with emphasis on GM2. *Seminars in Oncology* 1998; 25:636-43.
24. Knutson KL. GMK (Progenics Pharmaceuticals). *Curr Opin Investig Drugs* 2002; 3(1):159-64.
25. Carr A, Rodríguez E, Arango M del C, Camacho R, Osorio M, Gabri M, et al. Immunotherapy of advanced breast cancer with a heterophilic ganglioside (NeuGcGM3) cancer vaccine. *J Clin Oncol* 2003; 21(6):1015-21.
26. Stewart JH, Rosenberg SA. Long-term survival of anti-tumor lymphocytes generated by vaccination of patients with melanoma with a peptide vaccine. *J Immunother* 2000; 23(4):401-4.
27. Bystryn JC, Henn M, Li J, Shroba S. Identification of immunogenic human melanoma antigens in a polyvalent melanoma vaccine. *Cancer Research* 1992; 52:5948-953.
28. Bystryn JC, Oratz R, Roses D, Harris M, Henn M, Lew R. Relation between immune response to melanoma vaccine immunization and clinical outcome in stage II malignant melanoma. *Cancer* 1992; 69:1157-1164.
29. Bystryn JC, Zeleniuch Jacquotte A, Oratz R, Shapiro RL, Mathew N, Roses DF. Double blind trial of a polyvalent shed antigen melanoma vaccine. *Clin Cancer Research* 2001; 7:1882-87.
30. Reynolds SR, Zeleniuch-Jacquote A, Shapiro RL, Roses DF, Harris MN, Johnston D and Bystryn JC. Vaccine induced CD8+ T cell response to MAGE 3 correlate with clinical outcome in patients with melanoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9:657-62.
31. Chapman PB, Houghton AN. Induction of IgG antibodies against GD3 ganglioside in rabbits by an anti-idiotypic monoclonal antibody. *J Clin Invest* 1991; 88(1):186-92.
32. Grant SC, Kris MG, Houghton AN, Chapman PB. Long survival of patients with small cell lung cancer after adjuvant treatment with the anti-idiotypic antibody BEC2 plus Bacillus Calmette-Guerin. *Clin Cancer Res* 1999; 5(6):1319-23.
33. Yao TJ, Meyers M, Livingston PO, Houghton AN, Chapman PB. Immunization of melanoma patients with BEC2-keyhole limpet hemocyanin plus BCG intradermally followed by intravenous booster immunization with BEC2 to induced anti-GD3 ganglioside antibodies. *Clin Cancer Res* 1999; 1:77-81.
34. Pérez A, Mier ES, Vispo NS, Vazquez A, Pérez Rodríguez R. A monoclonal antibody against NeuGc-containing gangliosides contains a regulatory idiotope involved in the interaction with B and T cells. *Mol Immunol* 2002; 39(1-2):103-12.
35. Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, Andreola G, Sertoli MR, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings. *J Clin Oncol* 2002; 20(20):4139-40.