

Rabinovich, Gabriel A.; Rubinstein, Natalia; Toscano, Marta A.; et. al. (diciembre 2004). *Galectina-1: un nuevo mecanismo de evasión de la respuesta inmune antitumoral* : "Historia de un dulce beso mortal". En: Encrucijadas, no. 29. Universidad de Buenos Aires. Disponible en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad de Buenos Aires: <<http://repositorioubas.sisbi.uba.ar>>

Galectina-1: un nuevo mecanismo de evasión de la respuesta inmune antitumoral

"Historia de un dulce beso mortal"

¿Por qué razón las células que forman nuestras defensas son incapaces de detener el avance de un cáncer? ¿A través de qué estrategias los tumores logran eludir el reconocimiento del sistema inmune? Un grupo de científicos de la UBA y el Conicet descubrieron que las células de diversos tipos de tumores producen una proteína, llamada Galectina-1, que provoca la muerte de los linfocitos T activados, que son los principales soldados de las defensas de nuestro organismo. Además comprobaron en ratones que cuanto mayor cantidad de Galectina-1 expresa un tumor, mayor es su agresividad. Este hallazgo permite pensar en la posibilidad de desarrollar estrategias terapéuticas, que mediante el bloqueo de la Galectina-1 permitan potenciar la respuesta inmunológica y lograr así eliminar el crecimiento tumoral.

Gabriel A. Rabinovich, Natalia Rubinstein, Marta A. Toscano, Juan M. Illarregui y Germán Bianco.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. G.A.R es investigador del CONICET. M.A.T Y N.R. son becarias del CONICET, J.M.I. es becario del Ministerio de Salud de la Nación.

1. Los tumores aprenden del "Gran Houdini": estrategias de escape tumoral

Uno de los grandes desafíos de la medicina de este nuevo milenio consiste en el diseño de estrategias de inmunoterapia que permitan eliminar tumores y controlar las metástasis. Sin embargo, y a pesar de importantes avances, la mayoría de dichas estrategias terapéuticas han fracasado al ser aplicadas a ensayos clínicos.

¿Por qué las células de nuestras defensas, que han evolucionado para defendernos contra agentes extraños (virus, bacterias, parásitos y hongos) son incapaces de impedir el crecimiento de un tumor?

Desde hace ya algunas décadas los investigadores han observado que los tumores expresan moléculas en su superficie, llamadas antígenos tumorales, capaces de estimular a las células que forman parte de nuestro sistema de defensas y despertar una respuesta inmunológica específica. Sin embargo, se observó que esta respuesta no era lo suficientemente efectiva como para evitar que un tumor creciera de manera descontrolada, se movilizara y colonizara otros tejidos, proceso conocido como progresión tumoral o metástasis. Así surgió un nuevo concepto que permitió clasificar a los tumores como "sitios inmunológicamente privilegiados".

Hasta ese momento, este concepto era utilizado sólo para designar a algunos órganos como el cerebro, ojos, testículos, ovarios y placenta, los que, según se creía en etapas tempranas del desarrollo de la inmunología, presentaban obstáculos importantes que impedirían a través de barreras mecánicas el desarrollo de una respuesta inflamatoria y el acceso a células del sistema inmune. Sin embargo, este concepto ha sido recientemente

desafiado y reemplazado por el hallazgo de que estos órganos poseen mecanismos activos para evadir el reconocimiento inmunológico, desviar la respuesta inflamatoria o eliminar en forma selectiva células del sistema inmunológico.

Debido a que algunos tumores se encuentran expuestos físicamente a la acción del sistema inmune, surge el siguiente cuestionamiento: ¿a través de qué estrategias los tumores son capaces de eludir el reconocimiento inmunológico? A partir de este interrogante surgió el concepto de “mecanismos de escape tumoral” (Igney y col., 2002). Los mecanismos de escape pueden ser pre-existentes o ser generados por el sistema inmune mismo a través de un proceso denominado “inmunoedición tumoral” (Dunn y col., 2004). La inmunoedición es un proceso dinámico donde participan las células del tumor y las células del sistema inmune. Se halla compuesto por tres fases a las cuales se las denomina “las tres E de la inmunoedición”: Eliminación, Equilibrio y Escape. La eliminación representa el concepto clásico de inmunovigilancia a través del cual células y moléculas de la respuesta inmune intentan eliminar el tumor en desarrollo sin afectar al tejido sano circundante. Sin embargo, si este proceso no es exitoso, las células tumorales podrían alcanzar un estado de equilibrio en el cual podrían mantenerse en estado crónico o ser inmunológicamente “esculpidas o moduladas” por células del sistema inmune que funcionarían como “editores” generando una población heterogénea de células tumorales con gran inestabilidad genética (alto porcentaje de mutaciones). Algunas de estas variantes podrían evadir, finalmente, la respuesta inmune a través de diversos mecanismos de escape, fortaleciéndose y adquiriendo la capacidad de migrar e invadir nuevos tejidos (Friedl y col., 2003). Estas evidencias reflejan que los tumores pueden ser “modelados” por el microambiente inmunológico que los rodea, generando a su vez subpoblaciones tumorales más resistentes al ataque inmunológico que pueden evadir exitosamente la misma respuesta inmune que intenta destruirlos. Estos antecedentes sugieren que la identificación de nuevos mecanismos de escape tumoral y el bloqueo de señales inhibitorias en la relación “TUMOR-SISTEMA INMUNE” son elementos fundamentales para el desarrollo de nuevas estrategias de inmunoterapia y vacunación.

2. Galectina-1: una llave maestra para develar el misterio del escape tumoral

Las galectinas constituyen una familia de proteínas extremadamente conservadas a través de la evolución (Rabinovich 1999a). Durante los últimos años se las ha involucrado en diversos procesos biológicos como reguladores de la magnitud de la respuesta inmune (Rabinovich y col., 2002a; 2004). Galectina-1 (Gal-1), un miembro de esta familia, se une a azúcares específicos presentes en linfocitos T activados (células efectoras del sistema inmune de vigilancia), conduciéndolos a la muerte celular programada, fenómeno denominado apoptosis (Rabinovich y col., 1998; He & Baum, 2004).

Esta proteína se expresa particularmente en los sitios inmunológicamente privilegiados previamente mencionados (Iglesias y col., 1998; Dettin y col., 2003) regulando negativamente el desarrollo de procesos inflamatorios ya que afecta las posibilidades de defensa del sistema inmune a través de su capacidad de matar selectivamente a sus principales agentes, los linfocitos T activados (Rabinovich y col., 1999; Santucci y col., 2003) (Figura 1).



A partir de la capacidad de Gal-1 de interaccionar con azúcares específicos y de eliminar

linfocitos T activados que poseen en su superficie dichos azúcares, surgió el presente proyecto de investigación al cual denominamos metafóricamente: “Historia de un dulce beso mortal”.

Galectina-1 se expresa en diversos tipos de tumores, tales como carcinoma de próstata, ovario, vejiga y tiroides (Danguy y col., 2002). Recientemente hemos demostrado, que los melanomas humanos y murinos expresan altos niveles de Gal-1 observando una asociación importante entre los niveles de expresión de esta proteína y la agresividad de estos tumores (Rubinstein y col., 2004). A través de ensayos in vitro logramos determinar que bloqueando la expresión de Gal-1 con inhibidores específicos, disminuía alrededor del 70% la capacidad inmunosupresora de estos tumores.

En función de estas observaciones, la siguiente etapa consistió en generar un sistema in vivo en el cual pudiéramos modular los niveles de expresión de esta proteína a los fines de evaluar su relevancia en el crecimiento tumoral. Para ello, células de melanoma de ratón (células B16) fueron modificadas por una estrategia de ingeniería genética a través de la cual la expresión de Gal-1 fue bloqueada. De esta manera se impidió la síntesis de la proteína, generando poblaciones celulares con distintos niveles de expresión y secreción de Gal-1. Al inyectar estas células en ratones observamos que los tumores que tenían expresión baja de Gal-1 no crecían luego de 40 días de ser inyectados, mientras que el resto de los tumores con expresión intermedia crecían en forma moderada. Por el contrario, los tumores con expresión alta de Gal-1 se comportaron como el tumor sin modificar (Figura 2).

3. Galectina-1 contraataca

El siguiente desafío consistía en investigar la posibilidad de que Gal-1 constituya un nuevo mecanismo de evasión de la respuesta inmune antitumoral. Para ello, exploramos las bases celulares y moleculares de esta nueva estrategia de “contraataque”.

¿Qué ventaja inmunológica le estaría confiriendo Gal-1 al tumor? Para dilucidar este interrogante, analizamos la proliferación y activación de linfocitos localizados en los ganglios cercanos (drenantes) al tumor. De esta manera pudimos comprobar que, en aquellos animales inoculados con tumores con expresión baja de Gal-1, existía una respuesta inmune potenciada, la cual se manifestó por la importante proliferación y activación de linfocitos T en ganglios linfáticos de dichos animales que además producían niveles altos de citocinas como interferón-g e interleucina-2, mediadores inmunológicos claves responsables de generar una respuesta inmune anti-tumoral efectiva. Sin embargo, no encontramos diferencias en la respuesta inmunológica al enfrentar células T de ganglios linfáticos de animales tratados contra otros tumores murinos, tales como el timoma EL-4, sugiriendo que el bloqueo de Gal-1 in vivo permitiría la generación de una respuesta inmune específica contra el melanoma B16.

A partir de estas evidencias experimentales postulamos a Gal-1 como un nuevo mecanismo de escape de la respuesta inmune antitumoral, cuyo “modus operandis” consiste en la eliminación selectiva por apoptosis (muerte celular programada) de linfocitos T activados (Rubinstein y col., 2004) (Figura 3).

4. Perspectivas futuras: ¿Hacia dónde vamos?

La traducción de estos descubrimientos a estrategias terapéuticas contra el cáncer constituye un importante desafío de las ciencias biomédicas. En la actualidad nos

encontramos en la búsqueda de inhibidores o antagonistas específicos que permitan bloquear la expresión o acción biológica de Gal-1 en modelos animales para su posterior aplicación en la clínica. Nos queda un largo camino por recorrer y los próximos pasos requieren de múltiples controles de acuerdo a las pautas bioéticas de la práctica de la medicina y de un aporte sustancial por parte del Estado y de capitales privados. No obstante los avances realizados hasta el momento en ensayos preclínicos permiten visualizar un escenario en el cual el bloqueo selectivo de Gal-1 en diversos tipos de tumores permita, en combinación con otras estrategias terapéuticas, potenciar la respuesta inmunológica antitumoral y eliminar de este modo el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis.

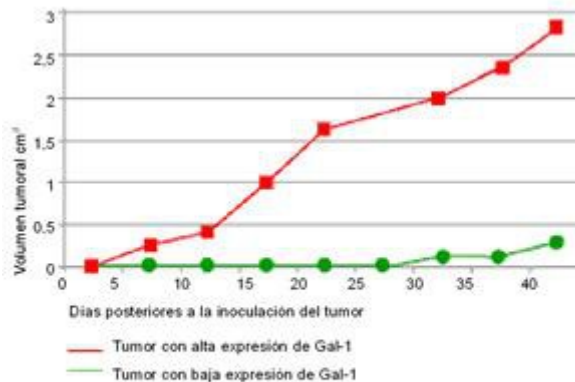


Figura 2: Curva de crecimiento de tumores con niveles bajos o altos de Gal-1 inoculados en ratones singéneos de la cepa C57BL/6.

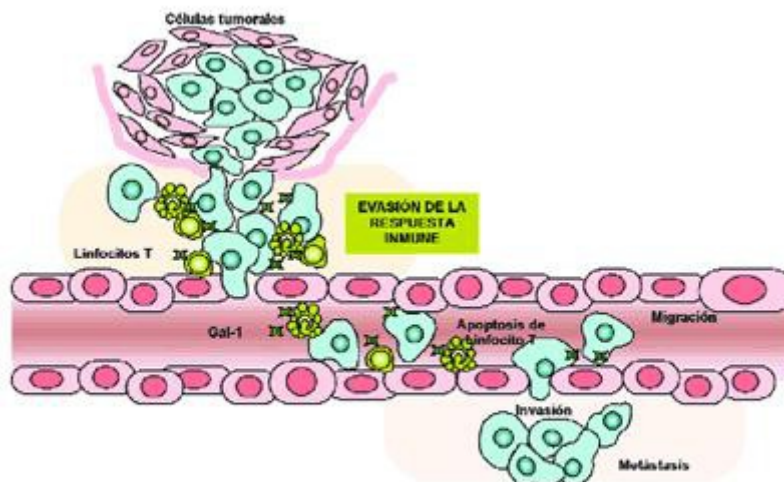


Figura 3: Gal-1 y su protagonismo en la progresión y el escape tumoral

Agradecimientos

Los autores agradecen en forma especial a los Dres. Leonardo Fainboim, Osvaldo Podhajcer, José Mordoh, Norberto W. Zwirner y Mariano Álvarez por su compromiso y excelente aporte en los estudios realizados durante los últimos años. Los autores agradecen además a las siguientes entidades nacionales por su apoyo para la realización de este trabajo: Universidad de Buenos Aires (subsido UBACYT M091), CONICET, Ministerio de Salud de la Nación (Becas Carrillo-Oñativia), subsidio de la Fundación

Antorchas (Inicio de Carrera) y Fundación Sales.

Bibliografía (por orden alfabético)

- Danguy A, Camby I & Kiss R. Galectins and cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 2002; 1572: 285-293.
- Dettin L, Rubinstein N, Aoki A, Rabinovich GA & Maldonado CA. Regulated expression and ultrastructural localization of galectin-1, a proapoptotic beta-galactoside-binding lectin, during spermatogenesis in rat testis. *Biol. Reprod.* 2003; 68:51-59.
- Dunn GP, Old LJ & Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 2004; 21:137-148.
- Friedl P & Wolf K. Tumor-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:362-374.
- He J & Baum LG. Presentation of galectin-1 by extracellular matrix triggers T cell death. *J. Biol. Chem.* 2004; 279:4705-4712.
- Iglesias MM, Rabinovich GA, Ivanovic V, Sotomayor CE & Wolfenstein-Todel C. Galectin-1 from ovine placenta: amino-acid sequence, physicochemical properties and implications in T-cell death. *Eur. J. Biochem.* 1998; 252: 400-407.
- Igney FH & Krammer PH. Immune escape of tumors: apoptosis resistance and tumor counterattack. *J. Leukoc. Biol.* 2002; 71:907-920.
- Rabinovich GA, Iglesias MM, Modesti NM, Castagna L, Todel CW, Riera CM & Sotomayor C. Rat activated macrophages produce a galectin-1-like protein which induces apoptosis of T cells: Biochemical and functional characterization. *J. Immunol.* 1998;160:4831-4840.
- Rabinovich G. Galectins, an evolutionary conserved family of animal lectins with multifunctional properties: a trip from the gene to clinical therapy. *Cell Death Diff.* 1999; 6:711-721.
- Rabinovich GA, Daly G, Dreja H, Tailor H, Riera CM, Hirabayashi J & Chernajovsky Y. Recombinant galectin-1 and its genetic delivery suppress collagen-induced arthritis via T cell apoptosis. *J. Exp. Med.* 1999; 190: 385-397.
- Rabinovich GA, Baum LG, Liu FT, Tinari N, Paganelli R & Iacobelli S. Galectins and their ligands: silencers, amplifiers or tuners of the inflammatory response? *Trends Immunol.* 2002; 23: 313-320.
- Rabinovich GA, Toscano MA, Ilarregui JM & Rubinstein N. Shedding light on the immunomodulatory properties of galectins: Novel regulators of innate and adaptive immune response. *Glycoconj. J.* 2004;19: 565-573.
- Rubinstein N, Alvarez M, Zwirner NW, Toscano MA, Ilarregui JM, Bravo A, Mordoh J, Fainboim L, Podhajcer OL & Rabinovich GA. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection: a potential mechanism of tumor-immune privilege. *Cancer Cell* 2004; 5:241-251.
- Santucci L, Fiorucci S, Rubinstein N, Mencarelli A, Palazzetti B, Federici B, Rabinovich GA, & Morelli A. Galectin-1 suppresses experimental colitis in mice. *Gastroenterology* 2003; 124: 1381-1394.