

# Principales mecanismos inmunorreguladores que favorecen el desarrollo del cáncer de mama

Gina Stella García-Romo<sup>1</sup>, Karen Guadalupe García-Castillo<sup>2</sup>, Álvaro Díaz-Rodríguez<sup>2</sup>,  
Diana Reyes-Hernández<sup>2</sup> y Alexander Pedroza-González<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Médico Cirujano; <sup>2</sup>Unidad de Morfología y Función; <sup>3</sup>Unidad de Investigación en Biomedicina. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Edo. de México, México

## Resumen

A pesar de los avances hechos en los últimos años en el diagnóstico temprano y los tratamientos, el cáncer de mama continúa siendo el de mayor frecuencia y mortalidad en las mujeres de todo el mundo. Terapias alternativas como la inmunoterapia se han evaluado en ensayos clínicos, pero han demostrado una eficacia limitada. El fracaso de la inmunoterapia puede estar relacionado con mecanismos inmunosupresores presentes en el microambiente tumoral. En consecuencia, para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en inmunoterapia es muy importante entender los mecanismos inmunorreguladores presentes en los tumores mamarios. En esta revisión se discuten algunos de los mecanismos inmunorreguladores descritos en el cáncer de mama.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer de mama. Inmunoterapia. Inmunorregulación. Inmunosupresión.

## Abstract

Even after the improvements made in recent years in early diagnosis and treatments, breast cancer is still the most common cancer and the leading cause of cancer death in women around the world. Several attempts to design new alternative therapies like immunotherapy have been evaluated in clinical trials, but they have shown limited efficacy. The failure of immunotherapy may be related to suppressive mechanisms in the tumor environment. Consequently, the development of new immunotherapy based treatment strategies is very important to understand the immunoregulatory mechanisms present in the tumor microenvironment. Some of the immunoregulatory mechanisms described in breast cancer will be discussed in this review. (Gac Med Mex. 2017;153:229-37)

**Corresponding author:** Alexander Pedroza-González, alexander\_pg@yahoo.com.mx

**KEY WORDS:** Breast cancer. Immunotherapy. Immunoregulation. Immunosuppression.

### Correspondencia:

\*Alexander Pedroza-González  
Unidad de Investigación en Biomedicina  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Av. de los Barrios, 1  
Col. Los Reyes Iztacala  
C.P. 54090, Tlalnepantla, Edo. de México, México  
E-mail: alexander\_pg@yahoo.com.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 01-03-2016

Fecha de aceptación: 09-05-2016

## Introducción

El cáncer es una enfermedad que afecta a un gran número de personas y constituye una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Entre las neoplasias más importantes se encuentra el cáncer de mama, el cual es el de mayor incidencia y mortalidad en las mujeres de todo el mundo<sup>1</sup>. En México, el cáncer de mama es el de mayor incidencia y mortalidad<sup>2</sup>. El tipo más común de cáncer de mama es el carcinoma ductal, que comienza en las células de los conductos galactóforos que transportan la leche desde los lobulillos hasta el pezón. El cáncer de mama también puede comenzar en las células de los lobulillos (carcinoma lobular), que son las glándulas productoras de leche. Con menor frecuencia, el cáncer de mama puede originarse en los tejidos estromales, que incluyen los tejidos conjuntivos grasos y fibrosos de la mama<sup>3</sup>. El carcinoma inflamatorio es una variante poco frecuente de cáncer de mama, muy agresiva, que tiene una sobrevivencia a 5 años del 40% y afecta principalmente a mujeres jóvenes<sup>4,5</sup>. Las células cancerígenas pueden invadir el tejido mamario sano circundante y llegar a los ganglios linfáticos axilares, obteniendo con ello una puerta de acceso hacia otras partes del cuerpo. Además de la clasificación histológica, existen subtipos de cáncer mamario dependiendo de las alteraciones genéticas, la expresión diferencial de genes y el tipo de infiltrado leucocitario, entre otros factores<sup>6</sup>. En conjunto, dichos factores determinan el comportamiento biológico y la respuesta a los tratamientos de cada tumor<sup>7</sup>.

El tratamiento para el cáncer de mama depende del tipo de cáncer y del grado de diseminación<sup>8</sup>. Los tratamientos actuales son muy agresivos para las pacientes y consisten en la remoción quirúrgica del tumor y terapias adyuvantes, como radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia y hormonoterapia. Su eficacia depende en gran medida de un diagnóstico temprano que permita la eliminación de pequeños tumores mediante métodos quirúrgicos o químicos; sin embargo, aun en estadios tempranos el tratamiento no puede garantizar la total eliminación de las células tumorales, lo que provoca una alta tasa de reincidencia de la enfermedad. El riesgo de recaídas del cáncer de mama viene condicionado tanto por la extensión del tumor como por las características biológicas del mismo. El estado de afectación de los ganglios linfáticos es uno de los factores pronósticos de mayor uso, existiendo una clara correlación entre el número de ganglios afectados y el riesgo de recaídas. El cáncer recurrente puede

aparecer en el mismo sitio (recurrencia local), en una zona cercana como la pared torácica y los ganglios infraclaviculares o supraclaviculares (recurrencia regional), o en sitios distantes tales como el hígado, el pulmón o el cerebro (recurrencia distal)<sup>9</sup>. Desafortunadamente, el cáncer recurrente resulta muy agresivo y de rápido desarrollo, limitando en gran medida las opciones y la eficacia de los tratamientos. Una alternativa de tratamiento que se ha investigado en los últimos años es la inmunoterapia, pero se ha observado que los mecanismos de tolerancia inmunitaria que normalmente protegen contra el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias pueden ser utilizados por diversos tumores para evadir o suprimir la respuesta inmunitaria local, obstaculizando con ello el desarrollo de una inmunidad antitumoral efectiva y limitando los efectos terapéuticos de diversas estrategias inmunológicas, como el uso de vacunas a base de células dendríticas<sup>10-12</sup>. En consecuencia, para el desarrollo de nuevas estrategias de inmunoterapia es de gran importancia el entendimiento de los mecanismos inmunorreguladores presentes en el microambiente tumoral. A continuación se discutirán algunos de los mecanismos inmunorreguladores descritos en el cáncer de mama.

## Antígenos tumorales

Las células tumorales pueden expresar proteínas que son reconocidas como antígenos por las células del sistema inmunitario. Dichas proteínas pueden ser antígenos tumorales específicos (TSA, *tumor-specific antigens*), como son los derivados de proteínas mutadas, de aberraciones cromosómicas o de algunas proteínas virales. También existen los llamados antígenos asociados a tumores (TAA, *tumor-associated antigens*), que no son específicos del tumor y pueden encontrarse en tejidos sanos, pero son más comúnmente expresados por las células tumorales que los TSA<sup>13</sup>. Los TAA pueden originarse por la sobreexpresión de proteínas celulares que normalmente no están expuestas al sistema inmunitario, como las proteínas embrionarias<sup>14</sup>. La mayoría de los TAA son inmunógenos débiles debido a que derivan de proteínas propias, limitando el reconocimiento inmunitario. Además, los linfocitos capaces de reconocer a dichos TAA son de baja afinidad debido a los procesos de tolerancia tímica<sup>13</sup>. Las características antes mencionadas de los TAA han dificultado la búsqueda de dianas terapéuticas. A pesar de ello, se ha logrado identificar ciertos TAA en el cáncer de mama que presentan algunas de las características necesarias para ser usados terapéuticamente, como

son el ser inmunogénicos y estar sobreexpresados en las células tumorales y en un porcentaje significativo de pacientes. Entre ellos, uno de los más importantes es HER2 (*human epidermal growth factor receptor 2*), que se expresa aproximadamente en el 25% de los tumores primarios. HER2 es una oncoproteína transmembrana tipo 1 que fue inicialmente descrita en la patogénesis del cáncer de mama en 1987<sup>15</sup>. La expresión de HER2 está asociada con mal pronóstico, ya que dichos tumores son de rápida evolución y diseminación. Actualmente se han generado anticuerpos monoclonales en contra de HER2, como el trastuzumab, que es un anticuerpo monoclonal humanizado que reconoce el dominio extracelular de HER2 y que fue aprobado en 1998 por la Food and Drug Administration de los EE.UU.<sup>16</sup>. Su uso clínico ha mejorado la supervivencia de las pacientes con cáncer de mama en etapas tempranas y en estadios avanzados<sup>17</sup>. El mecanismo de acción del trastuzumab es impedir la dimerización del receptor HER2, bloqueando con ello la señalización y la activación de proteínas cinasas que promueven la proliferación celular. Sin embargo, cerca del 15% de las pacientes tratadas recaen en un lapso de 12 meses<sup>10,18</sup>. El mecanismo de resistencia al trastuzumab es la dimerización alterna de HER2 con otras proteínas de la misma familia, como HER3<sup>19</sup>. Ante tal resistencia al tratamiento se han desarrollado nuevos agentes, entre los que sobresale el pertuzumab, otro anticuerpo monoclonal humanizado anti-HER2 que reconoce un epítipo diferente al reconocido por el trastuzumab. El pertuzumab impide la dimerización de HER2 con HER3<sup>20</sup>. La combinación de pertuzumab con trastuzumab y quimioterapia con docetaxel ha demostrado una mayor eficacia en el tratamiento del cáncer de mama que cualquiera de los dos por separado con docetaxel<sup>18,21</sup>. Adicionalmente se han desarrollado otros compuestos contra HER2, como el lapatinib y el conjugado de trastuzumab con emtansina, que son principalmente usados como segunda línea de tratamiento ante la resistencia al trastuzumab combinado con docetaxel<sup>22,23</sup>. Además del bloqueo de la dimerización de HER2, dichos anticuerpos activan la citotoxicidad dependiente de anticuerpos<sup>24</sup>. El éxito terapéutico de estos anticuerpos monoclonales también se debe a que las pacientes con tumores que sobreexpresan HER2 no presentan múltiples mecanismos de inmunosupresión, como se ha observado en pacientes con tumores negativos para HER2<sup>25,26</sup>. El ertumaxomab es un anticuerpo bivalente que reconoce a HER2 y a CD3, lo cual permite la activación de linfocitos infiltrantes del tumor, con lo cual podría tener un mayor efecto

terapéutico; actualmente se encuentra en evaluación para encontrar la dosis máxima y su eficacia clínica (ClinicalTrials.gov, NCT01569412)<sup>26,27</sup>.

En conclusión, el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra los TAA es una opción terapéutica muy prometedora, pero que depende de la expresión específica de dichos antígenos en las células tumorales, así como de la ausencia de mecanismos inmunosupresores que pudieran inactivar su efecto de citotoxicidad dependiente de anticuerpos.

## Mecanismos inmunorreguladores mediados por linfocitos T

Entre los principales mecanismos inmunorreguladores que se han descrito en el cáncer de mama se encuentran los mediados por linfocitos T. La presencia de linfocitos T CD4+ en el infiltrado tumoral se ha asociado con un pronóstico negativo, contrario a la presencia de linfocitos T CD8+<sup>28</sup>. Una de las subpoblaciones de linfocitos T CD4 que desempeña un papel importante en la patogenia del cáncer de mama son los linfocitos Th2 productores de las interleucinas 4 y 13 (IL-4 e IL-13), las cuales promueven el desarrollo tumoral al inducir la producción de factores de crecimiento que aceleran la proliferación de las células cancerosas<sup>29-31</sup>. Además, se ha observado que estas dos citocinas están involucradas en la supresión local de la respuesta inmunitaria antitumoral<sup>32,33</sup>, en la promoción de metástasis<sup>34</sup> y en la resistencia a la apoptosis de las células tumorales<sup>35</sup>. La IL-13 se puede observar tanto en el tejido tumoral como en el tejido adyacente al tumor; sin embargo, hay una mayor expresión dentro del tejido tumoral, que se correlaciona positivamente con el tamaño de los tumores<sup>36</sup>. La función promotora del desarrollo tumoral de la IL-13 en el cáncer de mama se ha confirmado en modelos animales, en los que se bloquea su actividad biológica<sup>29,33</sup>. Se ha descrito que la presencia de la quimiocina CCL5 promueve el crecimiento y la metástasis de tumores mamarios al atraer linfocitos CD4, que expresan el receptor CCR3, y promover su diferenciación a células Th2<sup>37-40</sup>. Mediante la modulación de la respuesta de células T en modelos animales se ha observado que, al disminuir la inducción de linfocitos Th2 y favorecer la presencia de linfocitos Th1, hay una inducción de células citotóxicas CD8 capaces de controlar el crecimiento tumoral<sup>41</sup>. Dicha estrategia está siendo investigada como alternativa de tratamiento.

Otra población de linfocitos T CD4 que ha sido asociada con el desarrollo tumoral son las células T

reguladoras (Treg), caracterizadas por la expresión del factor de transcripción FoxP3 (*Forkhead Box P3*)<sup>42</sup>. Las células Treg normalmente participan en los mecanismos de tolerancia periférica, previniendo procesos de autoinmunidad e hiperreactividad inmunitaria<sup>43</sup>. En diversas neoplasias, incluyendo el cáncer de mama, se ha observado una importante infiltración de células Treg FoxP3+ dentro de los tumores y en la región peritumoral; especialmente en el área peritumoral, dicha infiltración está asociada con mal pronóstico<sup>44-48</sup>. Las células Treg derivadas de tumores de mama muestran especificidad por los TAA, reconociendo los mismos epítomos que las células T efectoras<sup>49</sup>, lo cual evidencia su potencial participación en la supresión de la respuesta antitumoral. En apoyo a lo anterior, en modelos animales se ha demostrado la capacidad de las células Treg tumorales para suprimir la actividad citotóxica de linfocitos T CD8+ específicos hacia TAA, como HER2<sup>50</sup>. El incremento en la frecuencia de células Treg no solo ocurre en el sitio de la lesión; en sangre periférica también se ha reportado una mayor frecuencia de estas células en pacientes con cáncer de mama, en especial en estadios avanzados<sup>51</sup>. Sin embargo, a pesar de existir un incremento de células Treg en sangre de pacientes con cáncer, su estado de activación y su capacidad supresora no se encuentran elevadas, a diferencia de lo que ocurre en las células derivadas del tejido tumoral, que presentan un estado de activación y una capacidad supresora muy elevados<sup>47,52</sup>. Las células Treg son atraídas al tejido tumoral por la quimiocina CCL-22 producida por las células tumorales, que es reconocida por el receptor CCR4 expresado por las células Treg<sup>52</sup>. Adicionalmente a la migración, la acumulación de células Treg en el microambiente tumoral se debe a la proliferación *in situ* de dichas células<sup>52</sup>. Entre las moléculas con función reguladora que se encuentran altamente expresadas en las células Treg tumorales se encuentran CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*), ICOS (*inducible T-cell co-stimulator*) y GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*)<sup>52-54</sup>. Dichas moléculas, al ser importantes para la funcionalidad de las células Treg y estar altamente expresadas, han sido estudiadas como posibles dianas terapéuticas que permitan bloquear el efecto supresor de las células Treg tumorales, y con ello permitir el desarrollo de una respuesta antitumoral<sup>55-57</sup>. Actualmente, en la clínica se usa un anticuerpo anti-CTLA4 (ipilimumab) para el tratamiento del melanoma, y está siendo evaluado su efecto en el cáncer de mama (ClinicalTrials.gov, NCT01502592). Así mismo, se encuentra en

estudios clínicos otro anticuerpo anti-CTLA-4, el tremelimumab<sup>58</sup> (ClinicalTrials.gov, NCT02536794). Igualmente existen estudios preclínicos que muestran que la modulación de GITR puede favorecer el desarrollo de respuestas antitumorales<sup>56,59-61</sup>. El uso combinado de estos agentes podría tener un impacto en el desarrollo tumoral al inhibir uno de los principales mecanismos supresores en tumores humanos, como lo son las células Treg.

## Células presentadoras de antígenos en el cáncer de mama

La generación de linfocitos Th2 en el cáncer de mama es inducida por células dendríticas (DC, *dendritic cells*) que han sido condicionadas por el microambiente tumoral y se caracterizan por expresar OX40L, que es una de las moléculas directamente implicadas en la polarización de los linfocitos T CD4+ hacia un perfil Th2<sup>62,63</sup>. Las DC son condicionadas en el microambiente tumoral por la presencia de la TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*), que es producida y secretada por las células tumorales, y que hace que las DC expresen grandes cantidades de OX40L y no expresen IL-12<sup>63</sup>. Al interactuar con los linfocitos T CD4+, las DC tumorales inducen la polarización de las células T para producir IL-4, IL-13 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor alpha*), pero no IL-10<sup>63</sup>; dicha variante de células Th2 es conocida como células Th2 proinflamatorias<sup>64</sup>. Así mismo, se ha observado que las DC expuestas a TSLP adquieren la capacidad para inducir linfocitos Treg a partir de células T CD4+<sup>65</sup>. Además de la inducción de células Th2 y Treg, que favorecen el desarrollo tumoral, las DC aisladas de tumores mamarios tienen disminuida su capacidad de presentación antigénica, fagocítica y de maduración, así como la expresión de moléculas de coestimulación, tales como CD40 y la familia B7<sup>66,67</sup>. Por otro lado, se ha observado que las DC plasmacitoides (pDC) que infiltran los tumores de mama tienen una deficiente producción de IFN $\alpha$  provocada por la mayor cantidad de factor transformante del crecimiento beta (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor beta*) y de TNF- $\alpha$  presente en el microambiente tumoral<sup>53,68</sup>. Estas células tienen una elevada capacidad para inducir y activar a linfocitos Treg, provocando su acumulación y activación en el sitio de la lesión<sup>69</sup>. De hecho, la infiltración de ambas poblaciones celulares en los tumores mamarios se ha asociado con un mal pronóstico de la enfermedad<sup>69-71</sup>. Las pDC tumorales expresan elevados niveles del ligando de ICOS, y es a través de dicha molécula que

las pDC activan a las células Treg provocando que produzcan grandes cantidades de IL-10, lo que tiene un efecto inmunosupresor<sup>69,70</sup>.

Dentro del infiltrado celular en los tumores de mama también se encuentran macrófagos; estas células son conocidas como macrófagos asociados a tumores (TAM, *tumor-associated macrophages*)<sup>72,73</sup>. La presencia de TAM en el cáncer de mama está asociada con mal pronóstico y un mayor riesgo de desarrollar metástasis<sup>74-76</sup>. La mayoría de los TAM presentan un fenotipo antiinflamatorio M2 y expresan elevados niveles de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), lo que conlleva la producción de prostaglandinas que, a su vez, favorecen la generación de linfocitos Th2 y el crecimiento tumoral<sup>77-79</sup>. Se ha descrito que los TAM favorecen la proliferación y la supervivencia de las células tumorales al inducir la expresión de moléculas como bcl-2<sup>79</sup>. Los TAM pueden inducir la expresión de COX-2 en las células tumorales mediante la producción de IL-1 $\beta$ , la cual induce la polarización de los TAM en M2 generando con ello un sistema de retroestimulación que favorece el desarrollo tumoral<sup>79,80</sup>. Los TAM pueden afectar directamente la activación linfocitaria al secretar grandes cantidades de IL-10 y TGF- $\beta$ <sup>81</sup>, y promover el crecimiento tumoral mediante la secreción de factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento epidérmico<sup>82</sup>. También son capaces de producir la quimiocina CCL22 para atraer células Treg dentro del microambiente tumoral<sup>83</sup>.

### Interacciones de las células del sistema inmunitario y del estroma tumoral

El microambiente tumoral consta de células cancerosas, células inflamatorias y células estromales. Las interacciones dinámicas de las células que forman parte del microambiente tumoral dictaminan las condiciones ambientales en las que se produce el desarrollo de tumores<sup>84</sup>. Evidencia experimental reciente ha demostrado que un componente importante del estroma tumoral son las células mesenquimales multipotenciales (MSC, *mesenchymal stem cells*)<sup>85</sup>. Las MSC, que originalmente fueron reportadas en el estroma de la médula ósea, tienen una fuerte atracción por el microambiente tumoral y pueden diferenciarse en células que favorecen el nicho tumoral<sup>86-89</sup>. Estas células son capaces de promover el crecimiento tumoral en modelos animales de cáncer de mama y de colon<sup>90-93</sup>. Sin embargo, los mecanismos por los cuales inducen el desarrollo de tumores no se conocen, y se ha sugerido

que ello puede ser mediado en parte por sus propiedades angiogénicas e inmunorreguladoras, que se han descrito *in vitro* para las células MSC derivadas de médula ósea<sup>91,94,95</sup>. Uno de los mecanismos es la inducción de proliferación y migración en las células tumorales por medio de la secreción de IL-6 e IL-8<sup>96,97</sup>. También se ha reportado que la exposición a TNF- $\alpha$ , el cual está presente en el microambiente tumoral, induce la expresión de las quimiocinas CXCL9, CXCL10 y CXCL11 en las MSC, lo cual promueve la atracción y la movilización de las células tumorales que expresan el receptor CXCR3 para dichas quimiocinas<sup>98</sup>. Finalmente, se ha observado que las MSC producen grandes cantidades de TGF- $\beta$ , lo que directamente afecta la funcionalidad de los leucocitos e induce la generación de células Treg en el microambiente tumoral<sup>99</sup>.

### Inhibición de moléculas reguladoras

En las células del infiltrado tumoral se expresan una serie de moléculas capaces de suprimir la respuesta inmunitaria local, denominadas *immune check points*<sup>11</sup>. Entre las más estudiadas se encuentran CTLA-4 y PD-1 (*programmed cell death*), principalmente en pacientes con melanoma o carcinoma renal<sup>100-102</sup>. Para CTLA-4 existen anticuerpos monoclonales humanizados desarrollados para el tratamiento de pacientes con melanoma avanzado. El ipilimumab fue aprobado en el año 2011 y ha mostrado un incremento de 3,7 meses en la supervivencia de los pacientes<sup>100</sup>. En el cáncer de mama, actualmente se encuentran en proceso de evaluación dos anticuerpos anti-CTLA-4, como ya se ha mencionado. El bloqueo de CTLA-4 inhibe el efecto supresor de las células Treg, como se discutió anteriormente, pero también favorece una prolongada activación de los linfocitos T efectores al impedir la regulación negativa mediada por CTLA-4, que se expresa en los linfocitos T activados. En estos, CTLA-4 utiliza dos mecanismos inhibidores: uno de ellos es la transmisión de una señal negativa a través de su región intracelular, y el segundo es el antagonismo competitivo de la señal coestimuladora mediada por CD28, y compite por CD80 y CD86 durante la interacción con células presentadoras de antígenos<sup>103-106</sup>. El PD-1 es un receptor inhibitorio expresado en los linfocitos T que limita su capacidad de respuesta<sup>107</sup>; su ligando PD-L1 se expresa en células tumorales y el infiltrado linfocitario tumoral, y su expresión se correlaciona con mal pronóstico en algunos tumores<sup>12</sup>. En el cáncer de mama, la expresión de PD-L1 en las células tumorales está asociada con características clínicas y patológicas negativas<sup>108-110</sup>,



con metástasis<sup>111</sup> y con una disminuida frecuencia de linfocitos T CD8<sup>112,113</sup>. La expresión de PD-L1 también se ha observado en el infiltrado leucocitario, pero su significado clínico es controvertido<sup>114-116</sup>. Actualmente se realizan diversos estudios clínicos con anticuerpos anti-PD1, en pacientes con cáncer de mama, para conocer su seguridad y su eficacia clínica<sup>117</sup>.

## Impacto de la quimioterapia en la respuesta inmunitaria antitumoral

Se ha descrito que muchos de los medicamentos utilizados en quimioterapia son capaces de promover la inmunidad antitumoral principalmente por su capacidad para inducir una muerte inmunogénica de las células tumorales<sup>118,119</sup>. Como ejemplo están las antraciclinas, que provocan que las células tumorales expongan en su superficie calreticulina y la liberación de HMGB1 (*chromatin-binding protein high-mobility group B1*) y trifosfato de adenosina, que en conjunto inducen la activación de DC<sup>120-122</sup>. Así mismo, se ha observado que la doxorubicina aumenta la proliferación de linfocitos T CD8 específicos para antígenos tumorales<sup>123</sup>. El 5-fluorouracilo estimula la captura antigénica y la presentación cruzada en DC<sup>124</sup>, mientras que los taxanos incrementan la actividad de las células *natural killer* y favorecen la infiltración leucocitaria<sup>125,126</sup>. La ciclofosfamida, a dosis bajas (50 mg/día), inhibe la actividad de las células Treg por la disminución del factor de transcripción FoxP3<sup>127</sup>; su uso se ha evaluado en combinación con trastuzumab y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, observando una mayor sobrevida en aquellos pacientes que desarrollaron una respuesta inmunitaria antitumoral<sup>128</sup>. Finalmente, la terapia combinada de trastuzumab y pertuzumab tiene como uno de sus principales mecanismos de acción la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos<sup>11,129</sup>.

Los datos anteriores ilustran claramente la importancia de la respuesta inmunitaria en el tratamiento del cáncer de mama, demostrando que, en gran medida, el éxito terapéutico de muchos compuestos usados en quimioterapia se debe a su capacidad de estimular una respuesta inmunitaria antitumoral en los pacientes.

## Transferencia adoptiva de células T

Mediante el uso de células T con receptores específicos hacia algunos antígenos tumorales se pueden generar células citotóxicas capaces de reconocer y reaccionar con las células tumorales. En sus inicios,

esta tecnológica utilizaba linfocitos aislados del mismo infiltrado leucocitario de los tumores, pero esto tiene la gran limitante de la obtención de un número suficiente de linfocitos específicos a partir de muestras clínicas<sup>130</sup>. Posteriormente se ha desarrollado la generación de receptores quiméricos que contienen un sitio de reconocimiento del antígeno y un dominio de señalización intracelular, para garantizar la activación linfocitaria al contacto con las células tumorales<sup>131,132</sup>. La principal limitante es encontrar antígenos tumorales que no sean similares a antígenos propios, lo cual puede provocar un reconocimiento a lo propio y generar graves problemas de toxicidad y efectos adversos<sup>133</sup>. El uso de esta tecnología en el cáncer de mama comienza a ser evaluado en algunos estudios clínicos (clinicaltrials.gov, NCT01837602 y NCT02547961).

## Conclusiones

El cáncer de mama continúa siendo un problema de salud pública que afecta a un gran número de mujeres. Los tratamientos actuales, tanto quirúrgicos como de quimioterapia y radioterapia, son muy agresivos para las pacientes y su eficacia se centra en estadios tempranos de la enfermedad, y disminuye considerablemente en estadios avanzados. Dichos tratamientos no siempre logran la total eliminación de las células cancerosas y la enfermedad puede reaparecer en poco tiempo. Ante tal panorama, la inmunoterapia resulta muy atractiva para el tratamiento de las neoplasias debido a la especificidad de la respuesta inmunitaria, lo cual puede evitar los daños colaterales observados con la quimioterapia y la radioterapia, que afectan tanto a células tumorales como a células normales del organismo. Otro factor importante es la memoria inmunitaria, que potencialmente podría disminuir la tasa de recurrencia. Sin embargo, a la fecha, muchos de los tratamientos inmunológicos han mostrado un efecto limitado en la sobrevida de los pacientes. En gran medida esto se debe a la presencia de mecanismos inmunosupresores en el sitio de la lesión, como son la presencia de células Treg y de linfocitos Th2, y la producción de citocinas supresoras, como IL-10 y TFG- $\beta$ . La identificación y la caracterización de los mecanismos inmunorreguladores que afectan la respuesta inmune antitumoral son esenciales para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas que puedan impactar la sobrevida de los pacientes. En la actualidad, uno de los tratamientos con mayor eficacia en el cáncer de mama es precisamente el uso de anticuerpos monoclonales anti-HER-2 (trastuzumab y pertuzumab), que conjuntamente con quimioterapia logran

una disminución importante de la enfermedad y pueden eliminar en algunos casos la totalidad de las células tumorales. Sin embargo, solo es aplicable a las pacientes con tumores que expresan la proteína HER-2. La eficacia de dichos anticuerpos monoclonales constituye una clara muestra del potencial del uso de la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer. Actualmente se están evaluando diversos anticuerpos dirigidos contra moléculas inmunorreguladoras, como PD-1 y CTLA-4, con la idea de bloquear los mecanismos inmunosupresores que inhiben la generación de una respuesta antitumoral. El uso combinado de bloqueadores de moléculas inmunorreguladoras con activadores del sistema inmunitario, como son las vacunas a base de DC o la transferencia de linfocitos citotóxicos dirigidos contra TAA, constituye una de las estrategias inmunológicas más prometedoras en el tratamiento del cáncer de mama y de otras neoplasias. Definitivamente, en los próximos años la oncoinmunología tendrá un auge muy importante en el desarrollo de nuevos tratamientos contra el cáncer.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por el proyecto PAPIIT IA204515/RA204515, UNAM. Diana Reyes Hernández y Álvaro Díaz Rodríguez son becarios del proyecto PAPIIT IA204515/RA204515.

## Bibliografía

- WHO. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country, 2000-2012. Geneva, World Health Organization, 2014.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>
- Viale G. The current state of breast cancer classification. *Ann Oncol.* 2012;23(Suppl 10): X207-10.
- González-Angulo AM, Hennessey BT, Broglio K, et al. Trends for inflammatory breast cancer: is survival improving? *Oncologist.* 2007;12:904-12.
- Cristofanilli M, Valero V, Buzdar AU, et al. Inflammatory breast cancer (IBC) and patterns of recurrence: understanding the biology of a unique disease. *Cancer.* 2007;110:1436-44.
- Zardavas D, Irrthum A, Swanton C, Piccart M. Clinical management of breast cancer heterogeneity. *Nat Rev Clin Oncol.* 2015;12:381-94.
- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747-52.
- Santa-María CA, Gradishar WJ. Changing treatment paradigms in metastatic breast cancer: lessons learned. *JAMA Oncol.* 2015;1:528-34.
- Lasso Varela A, Cobos Campos R, Alia Ramos A. Recurrencias loco-regionales en pacientes con cáncer de mama invasivo que presentan 3 ganglios positivos o menos. ¿Está indicada la radioterapia? *Clinica e Investigación en Ginecología y Obstetricia.* 2012;39:203-9.
- Spector NL, Blackwell KL. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:5838-47.
- Ravelli A, Reuben JM, Lanza F, et al. Immune-related strategies driving immunotherapy in breast cancer treatment: a real clinical opportunity. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2015;15:689-702.
- Ernst B, Anderson KS. Immunotherapy for the treatment of breast cancer. *Curr Oncol Rep.* 2015;17:5.
- Finn OJ. Cancer immunology. *N Engl J Med.* 2008;358:2704-15.
- Criscitelli C. Tumor-associated antigens in breast cancer. *Breast Care (Basel).* 2012;7:262-6.
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235:177-82.
- McKeage K, Perry CM. Trastuzumab: a review of its use in the treatment of metastatic breast cancer overexpressing HER2. *Drugs.* 2002;62:209-43.
- Maly JJ, Macrae ER. Pertuzumab in combination with trastuzumab and chemotherapy in the treatment of HER2-positive metastatic breast cancer: safety, efficacy, and progression free survival. *Breast Cancer (Auckl).* 2014;8:81-8.
- Nahta R, Hung MC, Esteva FJ. The HER-2-targeting antibodies trastuzumab and pertuzumab synergistically inhibit the survival of breast cancer cells. *Cancer Res.* 2004;64:2343-6.
- Baselga J, Swain SM. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3. *Nat Rev Cancer.* 2009;9:463-75.
- Franklin MC, Carey KD, Vajdos FF, Leahy DJ, de Vos AM, Sliwkowski MX. Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer Cell.* 2004;5:317-28.
- Gianni L, Pienkowski T, Im YH, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13:25-32.
- Verma S, Miles D, Gianni L, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2012;367:1783-91.
- Lewis Phillips GD, Li G, Dugger DL, et al. Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate. *Cancer Res.* 2008;68:9280-90.
- Musolino A, Naldi N, Bortesi B, et al. Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:1789-96.
- Muraro E, Martorelli D, Turchet E, et al. A different immunologic profile characterizes patients with HER-2-overexpressing and HER-2-negative locally advanced breast cancer: implications for immune-based therapies. *Breast Cancer Res.* 2011;13:R117.
- Perez EA, Thompson EA, Ballman KV, et al. Genomic analysis reveals that immune function genes are strongly linked to clinical outcome in the North Central Cancer Treatment Group n9831 Adjuvant Trastuzumab Trial. *J Clin Oncol.* 2015;33:701-8.
- Kiewe P, Hasmuller S, Kahler S, et al. Phase I trial of the trifunctional anti-HER2 x anti-CD3 antibody ertumaxomab in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12:3085-91.
- Huang Y, Ma C, Zhang Q, et al. CD4+ and CD8+ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome. *Oncotarget.* 2015;6:17462-78.
- Aspord C, Pedroza-González A, Gallegos M, et al. Breast cancer instructs dendritic cells to prime interleukin 13-secreting CD4+ T cells that facilitate tumor development. *J Exp Med.* 2007;204:1037-47.
- Faghhih Z, Erfani N, Haghshenas MR, Safaei A, Talei AR, Ghaderi A. Immune profiles of CD4+ lymphocyte subsets in breast cancer tumor draining lymph nodes. *Immunol Lett.* 2014;158:57-65.
- Li B, Li Y, Wang XY, et al. Profile of differentially expressed intratumoral cytokines to predict the immune-polarizing side effects of tamoxifen in breast cancer treatment. *Am J Cancer Res.* 2015;5:726-37.
- Terabe M, Matsui S, Noben-Trauth N, et al. NKT cell-mediated repression of tumor immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R-STAT6 pathway. *Nat Immunol.* 2000;1:515-20.
- Park JM, Terabe M, Donaldson DD, Forni G, Berzofsky JA. Natural immunosurveillance against spontaneous, autochthonous breast cancers revealed and enhanced by blockade of IL-13-mediated negative regulation. *Cancer Immunol Immunother.* 2008;57:907-12.
- Faghhih Z, Rezaeiard S, Safaei A, Ghaderi A, Erfani N. IL-17 and IL-4 producing CD8+ T cells in tumor draining lymph nodes of breast cancer patients: positive association with tumor progression. *Iran J Immunol.* 2013;10:193-204.
- Zhang WJ, Li BH, Yang XZ, et al. IL-4-induced Stat6 activities affect apoptosis and gene expression in breast cancer cells. *Cytokine.* 2008;42:39-47.
- Srabovici N, Mujagic Z, Mujanovic-Mustedanagic J, Muminovic Z, Softic A, Begic L. Interleukin 13 expression in the primary breast cancer tumour tissue. *Biochem Med (Zagreb).* 2011;21:131-8.
- Luboshits G, Shina S, Kaplan O, et al. Elevated expression of the CC chemokine regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in advanced breast carcinoma. *Cancer Res.* 1999;59:4681-7.
- Yaal-Hahoshen N, Shina S, Leider-Trejo L, et al. The chemokine CCL5 as a potential prognostic factor predicting disease progression in stage II breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006;12:4474-80.
- Niwa Y, Akamatsu H, Niwa H, Sumi H, Ozaki Y, Abe A. Correlation of tissue and plasma RANTES levels with disease course in patients with breast or cervical cancer. *Clin Cancer Res.* 2001;7:285-9.
- Zhang Q, Qin J, Zhong L, et al. CCL5-mediated Th2 immune polarization promotes metastasis in luminal breast cancer. *Cancer Res.* 2015;75:4312-21.

41. Wu TC, Xu K, Banchereau R, et al. Reprogramming tumor-infiltrating dendritic cells for CD103+ CD8+ mucosal T-cell differentiation and breast cancer rejection. *Cancer Immunol Res.* 2014;2:487-500.
42. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003;299:1057-61.
43. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 2008;133:775-87.
44. Kim S, Lee A, Lim W, et al. Zonal difference and prognostic significance of foxp3 regulatory T cell infiltration in breast cancer. *J Breast Cancer.* 2014;17:8-17.
45. Takenaka M, Seki N, Toh U, et al. FOXP3 expression in tumor cells and tumor-infiltrating lymphocytes is associated with breast cancer prognosis. *Mol Clin Oncol.* 2013;1:625-32.
46. Lee S, Cho EY, Park YH, Ahn JS, Im YH. Prognostic impact of FOXP3 expression in triple-negative breast cancer. *Acta Oncol.* 2013;52:73-81.
47. Pedroza-González A, Verhoef C, Ijzermans JN, et al. Activated tumor-infiltrating CD4+ regulatory T cells restrain antitumor immunity in patients with primary or metastatic liver cancer. *Hepatology.* 2013;57:183-94.
48. Tang Y, Xu X, Guo S, et al. An increased abundance of tumor-infiltrating regulatory T cells is correlated with the progression and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS One.* 2014;9:e91551.
49. Schmidt HH, Ge Y, Hartmann FJ, et al. HLA class II tetramers reveal tissue-specific regulatory T cells that suppress T-cell responses in breast carcinoma patients. *Oncoimmunology.* 2013;2:e24962.
50. Weiss VL, Lee TH, Song H, et al. Trafficking of high avidity HER-2/neu-specific T cells into HER-2/neu-expressing tumors after depletion of effector/memory-like regulatory T cells. *PLoS One.* 2012;7:e31962.
51. Wang ZK, Yang B, Liu H, et al. Regulatory T cells increase in breast cancer and in stage IV breast cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2012;61:911-6.
52. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer Res.* 2009;69:2000-9.
53. Sisirak V, Faget J, Gobert M, et al. Impaired IFN-alpha production by plasmacytoid dendritic cells favors regulatory T-cell expansion that may contribute to breast cancer progression. *Cancer Res.* 2012;72:5188-97.
54. Krausz LT, Fischer-Fodor E, Major ZZ, Fetica B. GITR-expressing regulatory T-cell subsets are increased in tumor-positive lymph nodes from advanced breast cancer patients as compared to tumor-negative lymph nodes. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012;25:59-66.
55. Le Mercier I, Poujol D, Sanlaville A, et al. Tumor promotion by intratumoral plasmacytoid dendritic cells is reversed by TLR7 ligand treatment. *Cancer Res.* 2013;73:4629-40.
56. Pedroza-González A, Kwekkeboom J, Sprengers D. T-cell suppression mediated by regulatory T cells infiltrating hepatic tumors can be overcome by GITRL treatment. *Oncoimmunology.* 2013;2:e22450.
57. Pedroza-González A, Zhou G, Singh SP, et al. GITR engagement in combination with CTLA-4 blockade completely abrogates immunosuppression mediated by human liver tumor-derived regulatory T cells *in vivo*. *Oncoimmunology.* 2015;4:e1051297.
58. Vonderheide RH, LoRusso PM, Khalil M, et al. Tremelimumab in combination with exemestane in patients with advanced breast cancer and treatment-associated modulation of inducible costimulator expression on patient T cells. *Clin Cancer Res.* 2010;16:3485-94.
59. Lu L, Xu X, Zhang B, Zhang R, Ji H, Wang X. Combined PD-1 blockade and GITR triggering induce a potent antitumor immunity in murine cancer models and synergizes with chemotherapeutic drugs. *J Transl Med.* 2014;12:36.
60. Pruitt SK, Boczkowski D, De Rosa N, et al. Enhancement of anti-tumor immunity through local modulation of CTLA-4 and GITR by dendritic cells. *Eur J Immunol.* 2011;41:3553-63.
61. Liu Z, Tian S, Falo LD Jr, Sakaguchi S, You Z. Therapeutic immunity by adoptive tumor-primed CD4(+) T-cell transfer in combination with *in vivo* GITR ligation. *Mol Ther.* 2009;17:1274-81.
62. Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, et al. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol.* 2007;25:193-219.
63. Pedroza-González A, Xu K, Wu TC, et al. Thymic stromal lymphopoietin fosters human breast tumor growth by promoting type 2 inflammation. *J Exp Med.* 2011;208:479-90.
64. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol.* 2002;3:673-80.
65. Hanabuchi S, Ito T, Park WR, et al. Thymic stromal lymphopoietin-activated plasmacytoid dendritic cells induce the generation of FOXP3+ regulatory T cells in human thymus. *J Immunol.* 2010;184:2999-3007.
66. Pockaj BA, Basu GD, Pathangey LB, et al. Reduced T-cell and dendritic cell function is related to cyclooxygenase-2 overexpression and prostaglandin E2 secretion in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2004;11:328-39.
67. Gabrilovich DI, Corak J, Ciernik IF, Kavanaugh D, Carbone DP. Decreased antigen presentation by dendritic cells in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res.* 1997;3:483-90.
68. Sisirak V, Faget J, Vey N, et al. Plasmacytoid dendritic cells deficient in IFNalpha production promote the amplification of FOXP3 regulatory T cells and are associated with poor prognosis in breast cancer patients. *Oncoimmunology.* 2013;2:e22338.
69. Faget J, Bendriss-Vermare N, Gobert M, et al. ICOS-ligand expression on plasmacytoid dendritic cells supports breast cancer progression by promoting the accumulation of immunosuppressive CD4+ T cells. *Cancer Res.* 2012;72:6130-41.
70. Faget J, Sisirak V, Blay JY, Caux C, Bendriss-Vermare N, Menetrier-Caux C. ICOS is associated with poor prognosis in breast cancer as it promotes the amplification of immunosuppressive CD4 T cells by plasmacytoid dendritic cells. *Oncoimmunology.* 2013;2:e23185.
71. Treilleux I, Blay JY, Bendriss-Vermare N, et al. Dendritic cell infiltration and prognosis of early stage breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:7466-74.
72. Komohara Y, Fujiwara Y, Ohnishi K, Takeya M. Tumor-associated macrophages: potential therapeutic targets for anti-cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;99:180-5.
73. Brady NJ, Chuntova P, Schwertfeger KL. Macrophages: regulators of the inflammatory microenvironment during mammary gland development and breast cancer. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:4549676.
74. Gwak JM, Jang MH, Kim DI, Seo AN, Park SY. Prognostic value of tumor-associated macrophages according to histologic locations and hormone receptor status in breast cancer. *PLoS One.* 2015;10:e0125728.
75. Yuan ZY, Luo RZ, Peng RJ, Wang SS, Xue C. High infiltration of tumor-associated macrophages in triple-negative breast cancer is associated with a higher risk of distant metastasis. *Oncotargets Ther.* 2014;7:1475-80.
76. Mahmoud SM, Lee AH, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer. *J Clin Pathol.* 2012;65:159-63.
77. Kalinski P, Hilkens CM, Snijders A, Snijder FG, Kapsenberg ML. IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E2, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells. *J Immunol.* 1997;159:28-35.
78. Li H, Yang B, Huang J, et al. Cyclooxygenase-2 in tumor-associated macrophages promotes breast cancer cell survival by triggering a positive-feedback loop between macrophages and cancer cells. *Oncotarget.* 2015;6:29637-50.
79. Sousa S, Brion R, Lintunen M, et al. Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status. *Breast Cancer Res.* 2015;17:101.
80. Hou S, Falcone DJ, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Macrophages induce COX-2 expression in breast cancer cells: role of IL-1beta autoamplification. *Carcinogenesis.* 2011;32:695-702.
81. Chanmee T, Ontong P, Konno K, Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel).* 2014;6:1670-90.
82. Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity.* 2014;41:49-61.
83. Ostuni R, Kratochvill F, Murray PJ, Natoli G. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications. *Trends Immunol.* 2015;36:229-39.
84. Protti MP, De Monte L. Cross-talk within the tumor microenvironment mediates Th2-type inflammation in pancreatic cancer. *Oncoimmunology.* 2012;1:89-91.
85. Hall B, Andreeff M, Marini F. The participation of mesenchymal stem cells in tumor stroma formation and their application as targeted-gene delivery vehicles. *Handb Exp Pharmacol.* 2007;(180):263-83.
86. Direkze NC, Hodiava-Dilke K, Jeffery R, et al. Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res.* 2004;64:8492-5.
87. Kidd S, Spaeth E, Watson K, et al. Origins of the tumor microenvironment: quantitative assessment of adipose-derived and bone marrow-derived stroma. *PLoS One.* 2012;7:e30563.
88. Mishra PJ, Mishra PJ, Humeniuk R, et al. Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells. *Cancer Res.* 2008;68:4331-9.
89. Quante M, Tu SP, Tomita H, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth. *Cancer Cell.* 2011;19:257-72.
90. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med.* 1986;315:1650-9.
91. Hogan NM, Dwyer RM, Joyce MR, Kerin MJ. Mesenchymal stem cells in the colorectal tumor microenvironment: recent progress and implications. *Int J Cancer.* 2012;131:1-7.
92. Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, et al. Mesenchymal stem cells within tumor stroma promote breast cancer metastasis. *Nature.* 2007;449:557-63.
93. Shinagawa K, Kitada Y, Tanaka M, et al. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer. *Int J Cancer.* 2010;127:2323-33.
94. Peddareddigari VG, Wang D, Dubois RN. The tumor microenvironment in colorectal carcinogenesis. *Cancer Microenviron.* 2010;3:149-66.



95. Hernanda PY, Pedroza-González A, van der Laan LJ, et al. Tumor promotion through the mesenchymal stem cell compartment in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*. 2013;34:2330-40.
96. Ma F, Chen D, Chen F, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells promote breast cancer metastasis by interleukin-8 and interleukin-6 dependent induction of CD44/CD24 cells. *Cell Transplant*. 2015;24:2585-99.
97. Di GH, Liu Y, Lu Y, Liu J, Wu C, Duan HF. IL-6 secreted from senescent mesenchymal stem cells promotes proliferation and migration of breast cancer cells. *PLoS One*. 2014;9:e113572.
98. Shin SY, Nam JS, Lim Y, Lee YH. TNF $\alpha$ -exposed bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote locomotion of MDA-MB-231 breast cancer cells through transcriptional activation of CXCR3 ligand chemokines. *J Biol Chem*. 2010;285:30731-40.
99. Patel SA, Meyer JR, Greco SJ, Corcoran KE, Bryan M, Rameshwar P. Mesenchymal stem cells protect breast cancer cells through regulatory T cells: role of mesenchymal stem cell-derived TGF- $\beta$ . *J Immunol*. 2010;184:5885-94.
100. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363:711-23.
101. Sznol M, Chen L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19:1021-34.
102. Nahas GR, Walker ND, Bryan M, Rameshwar P. A perspective of immunotherapy for breast cancer: lessons learned and forward directions for all cancers. *Breast Cancer (Auckl)*. 2015;9(Suppl 2):35-43.
103. Baroja ML, Vijayakrishnan L, Bettelli E, et al. Inhibition of CTLA-4 function by the regulatory subunit of serine/threonine phosphatase 2A. *J Immunol*. 2002;168:5070-8.
104. Tai X, Van Laethem F, Pobezinsky L, et al. Basis of CTLA-4 function in regulatory and conventional CD4(+) T cells. *Blood*. 2012;119:5155-63.
105. Ise W, Kohyama M, Nutsch KM, et al. CTLA-4 suppresses the pathogenicity of self antigen-specific T cells by cell-intrinsic and cell-extrinsic mechanisms. *Nat Immunol*. 2010;11:129-35.
106. Schneider H, Rudd CE. Diverse mechanisms regulate the surface expression of immunotherapeutic target CTLA-4. *Front Immunol*. 2014;5:619.
107. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11:3887-95.
108. Cimino-Mathews A, Thompson E, Taube JM, et al. PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas. *Hum Pathol*. 2016;47:52-63.
109. Baptista MZ, Sarian LO, Derchain SF, Pinto GA, Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum Pathol*. 2016;47:78-84.
110. Mittendorf EA, Philips AV, Meric-Bernstam F, et al. PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Res*. 2014;2:361-70.
111. Mazel M, Jacot W, Pantel K, et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. *Mol Oncol*. 2015;9:1773-82.
112. Park IH, Kong SY, Ro JY, et al. Prognostic implications of tumor-infiltrating lymphocytes in association with programmed death ligand 1 expression in early-stage breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2016;16:51-8.
113. Schalper KA. PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes: revisiting the antitumor immune response potential in breast cancer. *Oncoimmunology*. 2014;3:e29288.
114. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6:5449-64.
115. Muenst S, Schaerli AR, Gao F, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146:15-24.
116. Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139:667-76.
117. Chawla A, Philips AV, Alatrash G, Mittendorf E. Immune checkpoints: a therapeutic target in triple negative breast cancer. *Oncoimmunology*. 2014;3:e28325.
118. Criscitello C, Curigliano G. Immunotherapeutics for breast cancer. *Curr Opin Oncol*. 2013;25:602-8.
119. Tesniere A, Panaretakis T, Kepp O, et al. Molecular characteristics of immunogenic cancer cell death. *Cell Death Differ*. 2008;15:3-12.
120. Sukkurwala AQ, Adjemian S, Senovilla L, et al. Screening of novel immunogenic cell death inducers within the NCI Mechanistic Diversity Set. *Oncoimmunology*. 2014;3:e28473.
121. Ghiringhelli F, Apetoh L, Tesniere A, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1 $\beta$ -dependent adaptive immunity against tumors. *Nat Med*. 2009;15:1170-8.
122. Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med*. 2007;13:54-61.
123. Mattarollo SR, Loi S, Duret H, Ma Y, Zitvogel L, Smyth MJ. Pivotal role of innate and adaptive immunity in anthracycline chemotherapy of established tumors. *Cancer Res*. 2011;71:4809-20.
124. Galetto A, Buttiglieri S, Forno S, Moro F, Mussa A, Matera L. Drug- and cell-mediated antitumor cytotoxicities modulate cross-presentation of tumor antigens by myeloid dendritic cells. *Anticancer Drugs*. 2003;14:833-43.
125. Carson WE 3rd, Shapiro CL, Crespin TR, Thornton LM, Andersen BL. Cellular immunity in breast cancer patients completing taxane treatment. *Clin Cancer Res*. 2004;10:3401-9.
126. Demaria S, Voim MD, Shapiro RL, et al. Development of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2001;7:3025-30.
127. Ghiringhelli F, Menard C, Puig PE, et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2007;56:641-8.
128. Chen G, Gupta R, Petrik S, et al. A feasibility study of cyclophosphamide, trastuzumab, and an allogeneic GM-CSF-secreting breast tumor vaccine for HER2+ metastatic breast cancer. *Cancer Immunol Res*. 2014;2:949-61.
129. Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yorozu K, et al. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res*. 2011;17:5060-70.
130. Kunert A, Straetemans T, Govers C, et al. TCR-engineered T cells meet new challenges to treat solid tumors: choice of antigen, T cell fitness, and sensitization of tumor milieu. *Front Immunol*. 2013;4:363.
131. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368:1509-18.
132. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*. 2011;3:95ra73.
133. Maus MV, Haas AR, Beatty GL, et al. T cells expressing chimeric antigen receptors can cause anaphylaxis in humans. *Cancer Immunol Res*. 2013;1:26-31.