

Expresión de citoquinas y receptores de migración y maduración en células dendríticas expuestas a modelo tumoral de hepatocarcinoma

Expression of cytokines and migration and maturation receptors in dendritic cells exposed to a hepatocarcinoma tumor model

Stefany Fiorella Infante Varillas ^{1,a}, Fabio Marcelo Reategui Díaz ^{1,b}

¹ Facultad de Medicina Humana, Universidad de Piura. Lima, Perú.

^a Magíster en investigación biomédica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3067-233X>

^b Estudiante de medicina humana. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5740-1898>

An Fac med. 2024;85(2)./ DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i2.25425>

Correspondencia:

Stefany Fiorella Infante Varillas
stefany.infante@udep.edu.pe

Recibido: 11 de diciembre 2023

Aprobado: 27 de abril 2024

Publicación en línea: 13 de mayo 2024

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés en este estudio.

Fuente de financiamiento: El proyecto fue financiado por la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de Piura (Proyecto código PI2003).

Contribuciones de autoría: SFIV participó en la conceptualización de la idea de investigación, metodología, investigación, análisis de datos obtenidos a partir de los experimentos, administración del proyecto, redacción y aprobación de la versión final. FMRD participó en ejecución metodológica, análisis de datos y aportes en la redacción.

Citar como: Infante S, Reategui F. Expresión de citoquinas y receptores de migración y maduración en células dendríticas expuestas a modelo tumoral de hepatocarcinoma. An Fac med. 2024;85(2). DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i2.25425>

Resumen

Introducción. Las células dendríticas (CD) desempeñan un papel clave en la presentación antigénica y la activación de linfocitos T, pero su función puede ser modulada por el microambiente tumoral, lo que afecta la respuesta inmunitaria antitumoral. Este estudio se centra en la interacción entre las CD y el hepatocarcinoma (HCC), explorando cómo el entorno tumoral influye en la actividad de las CD. **Objetivo.** Evaluar la variación en la actividad de las CD en respuesta a la expresión de citoquinas proinflamatorias, IL-10 y receptores CXCR4 y CCR7 en un modelo murino de hepatocarcinoma (PM299L). **Métodos.** Se realizaron ensayos in vitro cocultivando CD murinas y una línea tumoral murina de HCC. Se evaluó la expresión de citoquinas proinflamatorias (IL-12, IL-6, IL-1 β , TNF- α), inmunosupresora (IL-10) y receptores asociados a migración y maduración (CXCR4 y CCR7) mediante Qpcr a las 24, 48 y 72 horas. Los ensayos se repitieron tres veces. **Resultados.** Las CD expuestas al entorno tumoral de HCC mostraron una mayor expresión de citoquinas proinflamatorias y IL-10 en comparación al grupo control. Además, se observó una expresión elevada de receptores CXCR4 y CCR7 en las CD expuestas al HCC. Estos cambios en la expresión de genes ocurrieron en un período de 72 horas de cocultivo. **Conclusión.** La actividad de las CD se ve influenciada por el entorno tumoral de HCC y el tiempo de interacción, lo que modula su función proinflamatoria y de presentación antigénica. Estos hallazgos destacan la importancia de comprender la dinámica de la respuesta inmunitaria en el hepatocarcinoma.

Palabras clave: Células Dendríticas; Citocinas; Técnicas de Cocultivo; Expresión Génica; Neoplasias Hepáticas (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Introduction. Dendritic cells (DCs) play a key role in antigen presentation and T cell activation, but their function can be modulated by the tumor microenvironment, affecting the antitumor immune response. This study focuses on the interaction between DCs and hepatocellular carcinoma (HCC), exploring how the tumor environment influences DC activity. **Objective.** To evaluate the variation in DC activity in response to the expression of proinflammatory cytokines, IL-10 and CXCR4 and CCR7 receptors in a murine model of hepatocellular carcinoma (PM299L). **Methods.** In vitro assays were performed co-culturing murine DCs and HCC tumor line. The expression of proinflammatory cytokines (IL-12, IL-6, IL-1 β , TNF- α), immunosuppressive (IL-10) and receptors associated with migration and maturation (CXCR4 and CCR7) was evaluated by Qpcr at 24, 48 and 72 hours. The tests were repeated three times. **Results.** DCs exposed to the HCC tumor environment showed increased expression of proinflammatory cytokines and IL-10 compared to the control group. Furthermore, elevated expression of CXCR4 and CCR7 receptors will be observed in DCs exposed to HCC. These changes in gene expression occurred within a 72-h period of coculture. **Conclusion.** DC activity is influenced by HCC tumor environment and interaction time, which modulates their proinflammatory and antigen presentation function. These findings highlight the importance of understanding the dynamics of the immune response in hepatocarcinoma.

Keywords: Dendritic Cells; Cytokines; Coculture Techniques; Gene Expression; Liver Neoplasms (Source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

Las células dendríticas (CD) son consideradas presentadoras profesionales de antígenos, pues reconocen, capturan, procesan y presentan los antígenos a los linfocitos T (LT) para inducir su activación^(1,2). Las CD al ser estimuladas por citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 y TNF- α) o por ligandos de CD40 —expresado en el LT CD4+—, se activan y expresan un perfil de maduración (CD80, CD86, CD54). A su vez, modifican su patrón de expresión perdiendo los receptores CCR1 y CCR5, y expresando CCR7 y CXCR4 permitiéndoles migrar a los órganos linfoides secundarios^(3,4).

Las CD reclutadas al entorno tumoral pueden verse afectadas en su maduración, diferenciación y presentación antigénica resultando en CD tolerogénicas o inmunosupresoras^(5,6), de esta manera contribuyen al crecimiento y diseminación tumoral⁽⁷⁾. En el microambiente tumoral, las señales estimuladoras y supresoras condicionan la capacidad funcional y fenotipo de las CD⁽⁸⁾. Se ha demostrado el efecto del microambiente tumoral sobre un fenotipo polarizado de CD reguladoras protumorales en exposición a un modelo murino de cáncer del pulmón⁽⁹⁾. Además, se ha descrito variación en los niveles de secreción de citoquinas proinflamatorias e inmunosupresoras cuando son expuestas a entornos tumorales^(10,11), como la producción de VEGF, IL-6, IL-10 que conducen a la inhibición de la maduración y activación de CD *in vitro*⁽¹²⁾. Por otro lado, se ha identificado la expresión de IL-10 en entornos tumorales como melanoma, mieloma múltiple, cáncer de pulmón que han contribuido a la proliferación tumoral^(8,9).

Las CD son versátiles en su función durante el proceso de maduración, presentación antigénica y posterior activación de linfocitos T, y como se ha descrito, su funcionalidad varía según las señales a las que se encuentran expuestas en el entorno y según el tipo tumoral. Sin embargo, este fenómeno requiere de más estudios y descripción de los mecanismos involucrados. Los resultados de estos estudios podrían ayudar a mejorar la eficacia en la respuesta antitumoral de las CD^(13–15). Por lo descrito,

nuestro objetivo fue evaluar la variación en la actividad de las CD en función a la secreción de citoquinas proinflamatorias, inmunosupresora y de la expresión de CXCR4 Y CCR7 frente a un entorno tumoral de células hepatocarcinoma (HCC, por sus siglas en inglés).

MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental según las etapas que se muestran en la figura 1. Los ensayos *in vitro* se realizaron con CD extraídas de ratón y una línea tumoral murina de hepatocarcinoma. Los ensayos se realizaron tres veces y por triplicado. El experimento fue realizado en el laboratorio de investigación: Cultivo Celular, Inmunología y Biología Celular, de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de Piura, Lima-Perú, y en el Centro de Investigación Médica Aplicada de la Universidad de Navarra, España, entre enero y mayo del año 2022.

Línea celular murina de hepatocarcinoma

La línea murina tumoral de HCC: PM299L (MYC^{oe}-LucOS CTNNB1^{deltaNT}) fue generada simultáneamente mediante la

sobreexpresión constitutiva del oncogén c-Myc y el noqueo del anti-oncogén Tp53, El procedimiento consistió en la inyección hidrodinámica de los plásmidos: pT3-EF1a-Myc o pT3-EF1a-Myc-IRES-lucOS, px330-sg-p53 y CMV-SB13 en el lóbulo derecho del modelo murino generando. A partir de dichos tumores, se aislaron las líneas y se mantuvieron en cultivo⁽¹⁶⁾.

Para los ensayos de este estudio, la línea tumoral murina descrita fue donada por Ruiz de Galarreta y colaboradores (Tisch Cancer Institute, Precision Immunology Institute, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA)⁽¹⁶⁾ y fue cultivada en medio RPMI-1640 con 10% Suero Bovino Fetal (SBF), 100 U/mL penicilina/estreptomicina (P4333, Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,1% de 2-mercaptoetanol (Gibco, UK) manteniéndose en crecimiento celular y realizando pases cada 3 días.

Aislamiento de células dendríticas

A partir de muestras de fémur y tibia de ratones macho BALB/c de 5 semanas se extrajeron las médulas óseas en condiciones de esterilidad.

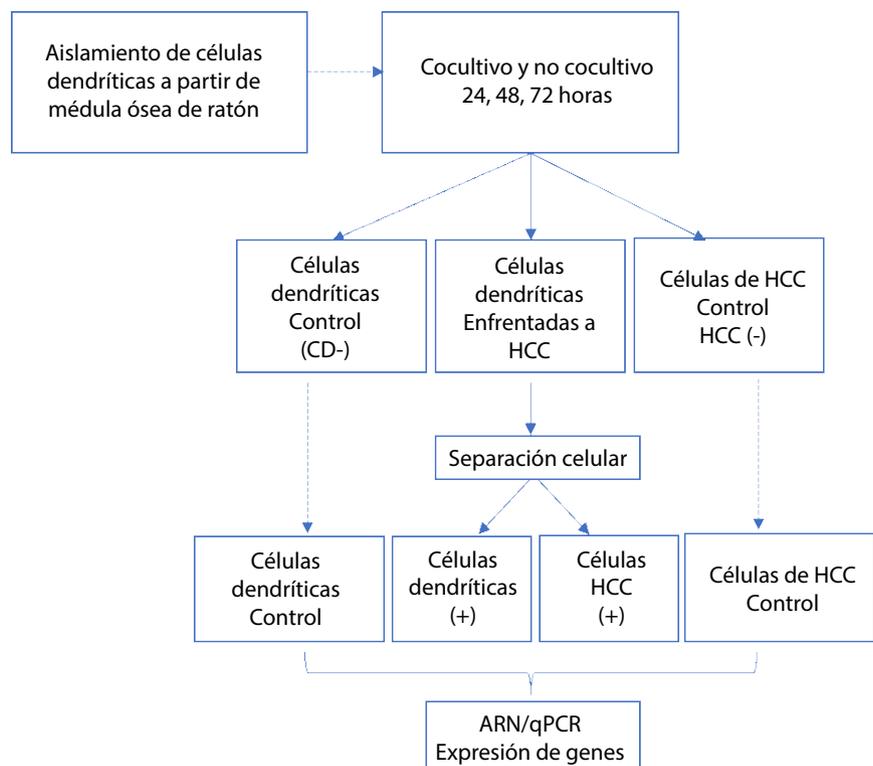


Figura 1. Diagrama del diseño del estudio experimental.

Se disgregaron en placas de cultivo celular con medio RPMI-1640 (Sigma, St. Louis, MO, USA). Se realizaron lavados mediante centrifugaciones (1800 rpm por 5 minutos a 4 °C) y se adicionó buffer de lisis para eritrocitos durante un 1 minuto con lavados consecutivos. Finalmente, se realizó un recuento celular y se sembraron en una densidad de $0,5 \times 10^6$ células/mL suplementado con 20 ng/mL de GM-CSF (SRP3201, Sigma, St. Louis, MO, USA) en placas de cultivo celular de 12 pocillos en 3 mL de medio RPMI-1640 con 10% Suero Bovino Fetal (SBF), 100 U/mL penicilina/estreptomicina (P4333, Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,1% de 2-mercaptoetanol (Gibco, UK). A los 3 y 5 días fue realizado un cambio de medio de cultivo completo suplementado con 20 ng/mL GM-CSF. Al quinto día el volumen de renovación de medio fue de 2,5 mL. Al sexto día se utilizaron para realizar los cocultivos

Cocultivo de células dendríticas y línea tumoral de hepatocarcinoma

La línea tumoral fue cocultivada en una densidad de $0,5 \times 10^6$ células/pocillo en 500 μ L sobre las CD previamente cultivadas en placa de 12 pocillos (relación de cocultivo CD a línea tumoral fue 1:1). Se incubaron durante 24, 48 y 72 horas a 37° C con 5% de CO₂. A las 24 horas se recogieron las líneas celulares y se realizó una separación celular empleando kit de selección positiva CD11c+ MicroBeads (Life Technologies), siguiendo las especificaciones del fabricante. Mediante la separación celular MACS Dissociator (Miltenyi Biotec) se obtuvo una fracción positiva de células dendríticas y una fracción negativa con la línea tumoral. Se procedió de la misma manera para las incubaciones de 48 y 72 horas. Los cocultivos fueron realizados en pocillos por triplicado y cada ensayo se realizó tres veces.

Expresión de genes asociados a la maduración, activación y regulación de células dendríticas

Posterior a la separación celular se extrajo ARN empleando TRI Reagent (T9424, Invitrogen), se siguieron las especificaciones del protocolo hasta la cuantificación del ARN. Seguidamente, se realizó la reacción de retro-transcripción con

DNase, EDTA, DTT, RP, RNAsa Out, MMLV (Invitrogen). Finalmente, se realizó una qPCR (CFX96 Dx System-Bio-Rad) usando Syber-green dye (Applied Biosystems) para evaluar la expresión de los genes del perfil proinflamatorio: IL-12, IL-6, IL-1, TNF α ; citoquina inmunosupresora: IL-10; receptores de maduración y migración celular: CCR7, CXCR4.

Análisis estadístico

La comparación de las concentraciones de ARNm de las citoquinas y receptores expresados por las CD expuestas a las líneas tumorales versus las no expuestas fue realizada con la prueba U de Mann-Whitney. Esta prueba de hipótesis fue aplicada para las 24, 48 y 72 horas. Seguimos el mismo procedimiento para comparar las HCC cocultivadas versus no cocultivadas. Para comparar las concentraciones de las citoquinas y receptores en cada punto de tiempo (tres grupos: 24, 48 y 72 horas) aplicamos la prueba Kruskal-Wallis, y realizamos la comparación entre pares de puntos con la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Se usó un nivel de significancia estadística del 5%. Los datos fueron analizados y los gráficos generados mediante el programa GraphPad Prism 9.5.0.

Consideraciones éticas

El desarrollo metodológico fue realizado en modelos celulares (línea celular murina de HCC y cultivo primario de células dendríticas). El estudio no involucró la participación de seres humanos, ni requirió experimentar con animales de laboratorio.

RESULTADOS

Perfil de expresión de citoquinas proinflamatorias

A las 24 y 48 horas las CD en presencia de un entorno tumoral de HCC expresaron una mayor concentración de ARNm de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α) comparadas con las del grupo control (Figura 2). Las diferencias se mantuvieron significativas a las 72 horas, pero con una menor magnitud. La concentración de estas citoquinas mostró un incremento entre las 24 y 48 horas, pero

tuvieron una disminución marcada a las 72 horas; en el caso de la IL-6 los niveles llegaron a ser similares, y en la IL-12 y TNF- α los niveles fueron inferiores que el medido a las 24 horas (Material Suplementario S1).

Expresión de IL-10

La expresión de IL-10, tanto en CD y HCC expuestas en cocultivo, fue mayor en comparación con sus grupos controles, estas diferencias fueron observadas a las 24, 48 y 72 horas (Figura 3). Además, observamos un incremento significativo en los niveles de expresión desde las 24 hasta las 72 horas, especialmente, en las CD cocultivadas (Material Suplementario S2).

Expresión de receptores asociados a migración y maduración

Los niveles de expresión de los receptores CXCR4 y CCR7 de las CD expuestas a la línea tumoral fueron superiores comparados con aquellas no expuestas; sin embargo, la magnitud de dicha diferencia, aunque significativa, se fue reduciendo de las 24 a las 72 horas. Las HCC enfrentadas a las CD expresaron mayores niveles de CXCR4 y CCR7 comparadas con las HCC control, estas diferencias se incrementaron a mayor tiempo de cocultivo (Figura 4). Los niveles de CXCR4 y CCR7 en las CD expuestas disminuyeron en el transcurso del tiempo de cocultivo, mientras que en las HCC cocultivadas dichos niveles se incrementaron (Material Suplementario S3).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados revelan un perfil dinámico de expresión de citoquinas proinflamatorias, IL-10, y receptores asociados a migración y maduración en CD expuestas a un entorno tumoral de HCC durante diferentes periodos de tiempo. Estos hallazgos ofrecen una visión detallada de la interacción entre las CD y un entorno tumoral mostrando la complejidad de la respuesta inmunitaria en el contexto del HCC.

Los resultados mostraron un incremento significativo en la expresión del ARN mensajero (ARNm) de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α) asociadas a la actividad inmunogénica y respuesta antitumoral, en las CD

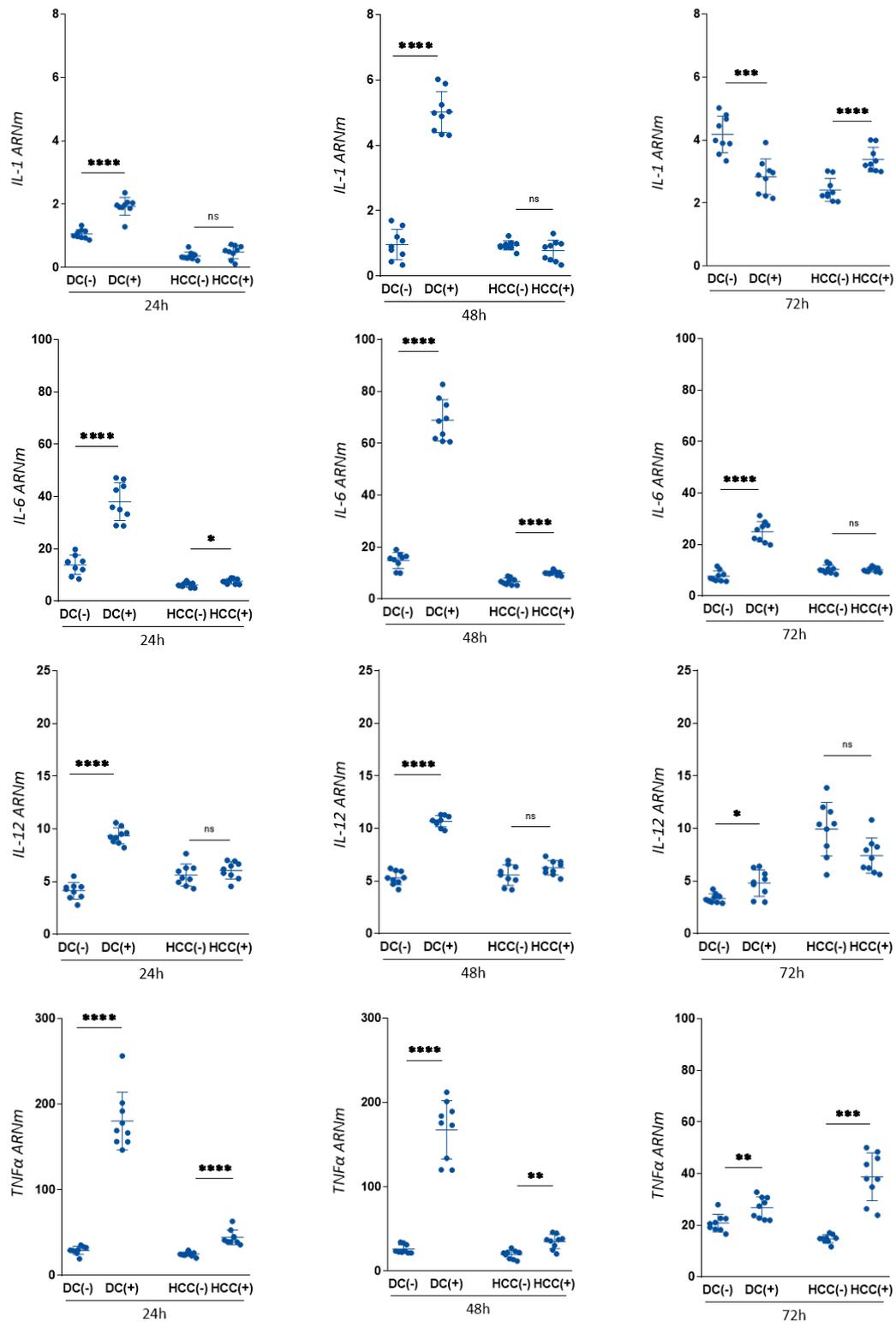


Figura 2. Expresión de IL-1, IL-6, IL-12, TNFα en células dendríticas (CD) enfrentadas a la línea tumoral de hepatocarcinoma (HCC) durante 24, 48 y 72 horas de exposición.

DC (-): Células dendríticas control, sin exposición a la línea tumoral; DC (+): Células dendríticas expuestas a la línea tumoral; HCC (-): Línea tumoral control no cocultivada; HCC (+): línea tumoral tras cocultivo con CD. Niveles de expresión de genes normalizados por valores Ct del gen de histona. Los gráficos muestran valores de expresión relativa calculados usando el método $\Delta\Delta C_t$.

ns: $p \geq 0,05$; * $0,01 \leq p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; prueba U de Mann-Whitney.

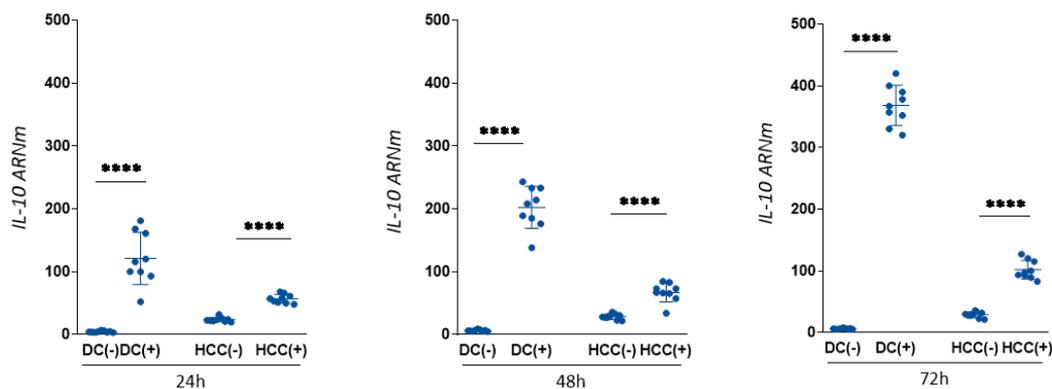


Figura 3. Expresión de IL-10 en células dendríticas (CD) enfrentadas a la línea tumoral de hepatocarcinoma (HCC) durante 24, 48 y 72 horas de exposición.

CD (-): Células dendríticas control, sin exposición a la línea tumoral; CD (+): Células dendríticas expuestas a la línea tumoral; HCC (-): Línea tumoral control no cocultivada; HCC (+): línea tumoral tras cocultivo con CD. Niveles de expresión de genes normalizados por valores Ct del gen de histona. Los gráficos muestran valores de expresión relativa calculados usando el método $\Delta\Delta Ct$. ns: $p \geq 0,05$; * $0,01 \leq p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; prueba U de Mann-Whitney.

expuestas al entorno tumoral en comparación al grupo control, especialmente a las 24 y 48 horas. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han medido la participación de estas citoquinas en la promoción de la inflamación y la modulación de la respuesta inmunitaria en el contexto del cáncer. Estudios previos han demostrado que las CD pulgadas con antígenos asociados al tumor o lisados tumorales produjeron citoquinas con capacidad inflamatorias⁽¹⁷⁾, y que las CD expuestas a modelos tumorales de melanoma y cáncer colorrectal produjeron niveles altos IL-12, IL-6, TNF- α ⁽¹⁸⁾. Así mismo, se sabe que la expresión de IL-6 y TNF- α pueden promover la progresión tumoral y la angiogénesis en el HCC⁽¹⁹⁾.

Un hallazgo resaltante en nuestro estudio fue la notoria disminución de las mismas citoquinas a las 72 horas de exposición, con la posibilidad de una disminución de la respuesta funcional de las CD. Estudios en modelos murinos de HCC a los cuáles se les inoculó CD intratumoralmente, reportaron incremento en la inmuoestimulación mediante el aumento de las moléculas de activación y maduración como CD80 y CD86⁽²⁰⁾. Con ello, los resultados sugieren que el entorno tumoral conduce a la expresión de citoquinas proinflamatorias por parte de las CD contribuyendo a la actividad antitumoral,

sin embargo, en nuestro estudio, a mayor tiempo de exposición, estos niveles disminuyen lo que indicaría que la actividad proinflamatoria se vería comprometida por una posible modulación de la actividad de las CD.

Respecto a la expresión de la IL-10 —citoquina relacionada con la actividad inmunosupresora—, nuestros resultados muestran un aumento significativo de su expresión a lo largo del tiempo de cocultivo (24, 48 y 72 horas), especialmente notable en las CD expuestas a la línea tumoral de HCC. Este resultado es relevante dado el conocido papel de IL-10 como un regulador clave de la respuesta inmunitaria, promoviendo la inmunosupresión en el microambiente tumoral. Nuestros resultados sugieren que las CD pueden contribuir a la generación de un microambiente inmunosupresor favoreciendo la progresión tumoral. Además, en la misma línea tumoral detectamos la expresión de la IL-10 especialmente a mayor tiempo de exposición, contribuyendo de esta manera a la inhibición de la respuesta antitumoral. Estos resultados guardan concordancia con el aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias durante las primeras horas, las cuales a mayor tiempo de exposición disminuyeron su expresión, en contraposición a la expresión de IL-10 durante las 24 a

72 horas. Estos resultados son coherentes con la literatura descrita sobre la disminución de la capacidad migratoria, presentación antigénica y activación de LT, en CD productoras de IL-10 en entornos tumorales⁽¹⁰⁾. La expresión de IL-10 por las CD, las induce —así mismas— a un perfil tolerogénico con capacidad de promover LT reguladores^(13,15,21).

En cuanto a la expresión de receptores asociados a migración y maduración, nuestros hallazgos indican que las CD expuestas a la línea tumoral de HCC expresaron niveles aumentados de CXCR4 y CCR7 en comparación con las no expuestas, aunque la magnitud de esta diferencia disminuyó con el tiempo de cocultivo de 48 y 72 horas. Este hallazgo sugiere que el tiempo de comunicación intercelular puede modular la expresión de receptores en células dendríticas, lo que potencialmente afecta su migración y función en el contexto del cáncer. Este resultado es consistente con estudios previos donde han observado que la exposición prolongada de las CD al microambiente tumoral resultaba en un aumento gradual en la expresión de CXCR4 y CCR7 en comparación con una exposición a corto plazo^(22,23).

Así mismo, encontramos una relación entre las CD células cocultivadas con niveles

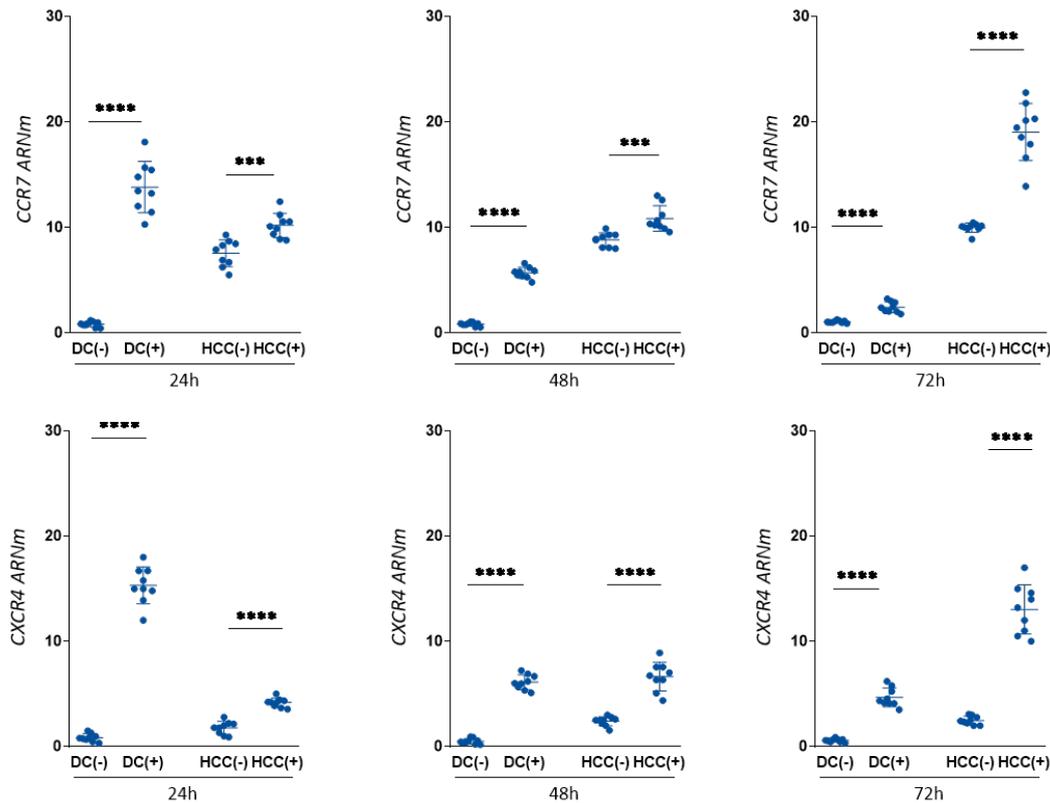


Figura 4. Expresión receptores CCR7 y CXCR4 en células dendríticas (CD) enfrentadas a la línea tumoral de hepatocarcinoma (HCC) durante 24, 48 y 72 horas de exposición.

CD (-): Células dendríticas control, sin exposición a la línea tumoral; CD (+): Células dendríticas expuestas a la línea tumoral; HCC (-): Línea tumoral control no cocultivada; HCC (+): línea tumoral tras cocultivo con CD. Niveles de expresión de genes normalizados por valores Ct del gen de histona. Los gráficos muestran valores de expresión relativa calculados usando el método $\Delta\Delta C_t$.

ns: $p \geq 0,05$; * $0,01 \leq p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; prueba U de Mann-Whitney.

altos de receptores CXCR4 y CCR7 a las 24 horas de exposición, luego los receptores CXCR4 y CCR7 decrecieron en su expresión a mayor tiempo de cocultivo, lo cual conduciría a una respuesta inmunitaria suprimida y mayor susceptibilidad al crecimiento tumoral. Por otro lado, el incremento de expresión de CXCR4 y CCR7 en líneas celulares tumorales está asociada con la capacidad metastásica, y la progresión tumoral en varios tipos de cáncer, incluido el hepatocarcinoma^(24,25). Estos receptores pueden promover la migración de las células tumorales hacia tejidos distantes que expresan sus ligandos, lo que facilita la diseminación del cáncer⁽²⁶⁾. Estudios en cáncer gástrico⁽²⁷⁾, de esófago⁽²⁸⁾, de mama, colorrectal y de próstata han evidenciado que la expresión aumentada de CXCR4 en las células tumorales se correlacio-

naba con una mayor invasión, metástasis y peor pronóstico en estos cánceres⁽²⁹⁾.

Nuestros resultados son consistentes con los estudios previos, sin embargo, no se había reportado un incremento de la expresión de ambos receptores durante un periodo de observación mayor de 72 horas en modelos tumorales de hepatocarcinoma. Estos datos nos sugieren que la expresión de ambos receptores CXCR4 y CCR7 en modelos de HCC desempeñan un papel importante en la progresión y metástasis del cáncer de hígado, de modo que pueden ser de utilidad como marcadores de mal pronóstico de HCC.

A pesar de los reportes existentes; replicar y validar estos hallazgos en diferentes condiciones experimentales y

periodos de tiempo contribuye a fortalecer la evidencia y la comprensión de los mecanismos inmunológicos involucrados en la modulación de la actividad en CD y progresión tumoral del HCC. De tal manera, aunque los reportes previos hayan analizado la expresión de citoquinas proinflamatorias, IL-10 y receptores CXCR4 y CCR7, en células dendríticas expuestas a modelos tumorales, nuestro estudio ha considerado 3 tiempos de cocultivo de manera progresiva, no considerados previamente, lo que ha permitido una mayor comprensión sobre la caracterización temporal de la respuesta inmunitaria. Así mismo, el estudio ha empleado una línea tumoral de HCC que porta las más frecuentes mutaciones en la patogénesis del HCC, este diseño experimental no ha

sido empleado previamente en estudios sobre la modulación de CD.

Entre las limitaciones del estudio, en vista de tratarse de un estudio *in vitro* debemos considerar en la interpretación de resultados que el HCC es un tumor que se desarrolla a través de un lento proceso basado en fenómenos de inflamación crónica, por ende, el estudio sobre una línea tumoral de HCC —con procesos más rápidos—, no reflejan los eventos que ocurren en la patogenia del hepatocarcinoma. Sin embargo, hemos tratado de simular algunas de las particularidades inmunológicas del HCC, mediante la utilización de una línea que genera tumores con propiedades equivalentes a las observadas en seres humano. En concreto, la línea PM299L (MYC^{OE}-LucOS CTNNB1^{deltaNT}) deriva de un HCC primario generado tras la administración hidrodinámica de plásmidos que codifican el oncogén Myc y una versión modificada activada de beta-catenina, rasgos frecuentes en HCC. Este modelo celular ha sido empleado en diversos estudios *in vitro* de HCC ⁽¹⁶⁾. Por estos motivos, creemos que el modelo empleado ha permitido analizar los mecanismos de respuesta inmunológica de las CD.

Concluimos que la actividad de las CD se encuentra influenciada por el entorno tumoral de HCC y el tiempo de interacción. Esta exposición se expresa en la modulación de su función proinflamatoria, de presentación antigénica, maduración y activación. Los resultados obtenidos sugieren potenciales dianas terapéuticas, al observar un aumento significativo en la expresión de receptores y citoquinas supresoras. Basado en estos hallazgos es plausible plantear el desarrollo de terapias dirigidas a modular estas respuestas inmunitarias y mejorar la eficacia del tratamiento contra el cáncer de hígado.

AGRADECIMIENTO

A la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de Piura, por la revisión del manuscrito y

apoyo en el levantamiento de observaciones de los revisores del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jhunjhunwala S, Hammer C, Delamarre L. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion. *Nat Rev Cancer*. 2021;21(5):298-312. DOI: 10.1038/s41568-021-00339-z.
- Coillard A, Segura E. Antigen presentation by mouse monocyte-derived cells: Re-evaluating the concept of monocyte-derived dendritic cells. *Mol Immunol*. 2021;135:165-169. DOI: 10.1016/j.molimm.2021.04.012.
- Korbecki J, Grochans S, Gutowska I, Barczak K, Baranowska-Bosiacka I. CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of Receptors CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, and CCR10 Ligands. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(20):7619. DOI: 10.3390/ijms21207619.
- Gallego C, Vétillard M, Calmette J, Roriz M, Marin-Esteban V, Evrard M, *et al*. CXCR4 signaling controls dendritic cell location and activation at steady state and in inflammation. *Blood*. 2021; 137(20):2770-2784. DOI: 10.1182/blood.2020006675.
- Shurin GV, Ma Y, Shurin MR. Immunosuppressive mechanisms of regulatory dendritic cells in cancer. *Cancer Microenviron*. 2013; 6(2):159-67. DOI: 10.1007/s12307-013-0133-3.
- Vuckovic S, Clark GJ, Hart DN. Growth factors, cytokines and dendritic cell development. *Curr Pharm Des*. 2002;8(5):405-18. DOI: 10.2174/1381612023396023.
- Scarlett UK, Rutkowski MR, Rauwerdink AM, Fields J, Escovar-Fadul X, Baird J, *et al*. Ovarian cancer progression is controlled by phenotypic changes in dendritic cells. *J Exp Med*. 2012; 209(3):495-506. DOI: 10.1084/jem.20111413.
- Zong J, Keskinov AA, Shurin GV, Shurin MR. Tumor-derived factors modulating dendritic cell function. *Cancer Immunol Immunother*. 2016; 65(7):821-33. DOI: 10.1007/s00262-016-1820-y.
- Zhong H, Gutkin DW, Han B, Ma Y, Keskinov AA, Shurin MR, *et al*. Origin and pharmacological modulation of tumor-associated regulatory dendritic cells. *Int J Cancer*. 2014; 134(11):2633-45. DOI: 10.1002/ijc.28590.
- Llopiz D, Ruiz M, Silva L, Sarobe P. Enhancement of Antitumor Vaccination by Targeting Dendritic Cell-Related IL-10. *Front Immunol*. 2018; 9:1923. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01922.
- Sadeghzadeh M, Bornehdeli S, Mohahammadrezakhani H, Abolghasemi M, Poursaei E, Asadi M, *et al*. Dendritic cell therapy in cancer treatment; the state-of-the-art. *Life Sci*. 2020; 254:117580. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117580.
- Gardner A, Ruffell B. Dendritic Cells and Cancer Immunity. *Trends Immunol*. 2016; 37(12):855-865. DOI: 10.1016/j.it.2016.09.006.
- Llopiz D, Ruiz M, Villanueva L, Iglesias T, Silva L, Egea J, *et al*. Enhanced anti-tumor efficacy of checkpoint inhibitors in combination with the histone deacetylase inhibitor Belinostat in a murine hepatocellular carcinoma model. *Cancer Immunol Immunother*. 2019; 68(3):379-393. DOI: 10.1007/s00262-018-2285-0.
- Sangro B, Sarobe P, Hervás-Stubbs S, Melero I. Advances in immunotherapy for hepatocellular

carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021; 18(8):525-543. DOI: 10.1038/s41575-021-00433-0.

- Qiao J, Liu Z, Dong C, Luan Y, Zhang A, Moore C, *et al*. Targeting Tumors with IL-10 Prevents Dendritic Cell-Mediated CD8+ T Cell Apoptosis. *Cancer Cell*. 2019; 35(6):901-915.e4. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.05.005.
- Ruiz de Galarreta M, Bresnahan E, Molina-Sánchez P, Lindblad KE, Maier B, Sia D, *et al*. β -Catenin Activation Promotes Immune Escape and Resistance to Anti-PD-1 Therapy in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Discov*. 2019; 9(8):1124-1141. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0074.
- Guo J, Zhang Y, Qin Q, Chao N, Huang T, Chen C, *et al*. Dendritic cells modified by tumor associated antigen SMP30 have enhanced antitumor effect against mouse hepatocarcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Am J Transl Res*. 2022;14(8):5785-5799. DOI: 10.4251/ajtr.271100
- Rommel E, Terracciano L, Noppen C, Zajac P, Heberer M, Spagnoli GC, *et al*. Modulation of dendritic cell phenotype and mobility by tumor cells *in vitro*. *Hum Immunol*. 2001; 62(1):39-49. DOI: 10.1016/s0198-8859(00)00221-4.
- Li Y, Zhang D, Wang X, Yao X, Ye C, Zhang S, *et al*. Hypoxia-responsive miRNAs target argonaute 1 to promote angiogenesis. *J Clin Invest*. 2019; 123(3):1057-1067. DOI: 10.1172/JCI123450.
- Mishan MA, Ahmadiankia N, Bahrami AR. CXCR4 and CCR7: Two eligible targets in targeted cancer therapy. *Cell Biol Int*. 2016; 40(9):955-67. DOI: 10.1002/cbin.10631.
- Cubillos-Ruiz, J. R., Silberman, P. C., Rutkowski, M. R., Chopra, S., Perales-Puchalt, A., Song, M., *et al*. Innate immune sensing of cancer: Clues from an identified role for type I IFNs. *Cancer Immunol Immunother*. 2017; 66(9):1163-1173. DOI: 10.1007/s00262-017-2046-x.
- Chen, W., Kong, X., Zhang, F., & Gorczyca, W. Integration of external signaling pathways with the core transcriptional network in embryonic stem cells. *Cell*. 2008; 133(6):1106-1117. DOI: 10.1016/j.cell.2008.04.043.
- Chen, Y., Ramjiawan, R. R., Reiberger, T., Ng, M. R., Hato, T., Huang, Y. *et al*. Myeloid-specific overexpression of CXCR4 impairs immune responses and host tumor resistance. *Cancer Immunol Res*. 2019; 7(1):141-154. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0349.
- Li, T., Zhong, J., Chen, Y., Qiu, X., Zhang, T., Ma, X., *et al*. CCR7 signaling promotes the invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma via MMP-9 pathway. *Scand J Gastroenterol*. 2020; 55(11):1313-1323. DOI: 10.1080/00365521.2020.1803240.
- Zhang, Q., Guo, Z., Ma, P., Wei, R., Fan, J., Zhan, Q, *et al*. Downregulation of CXCR4 inhibits proliferation, invasion, and migration of laryngeal squamous cell carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Res*. 2020; 28(4):409-418. DOI: 10.3727/096504020X15815487489757.
- Gonzalez-Carmona MA, Lukacs-Kornek V, Timmerman A, Shabani S, Kornek M, Vogt A, *et al*. CD40ligand-expressing dendritic cells induce regression of hepatocellular carcinoma by activating innate and acquired immunity *in vivo*. *Hepatology*. 2008; 48(1):157-68. DOI: 10.1002/hep.22296.
- Zhao J, Ou B, Han D, Wang P, Zong Y, Zhu C, *et al*. CXCR4 in gastric cancer prognosis: Meta-analysis. *Gene*. 2019; 703:24-32. DOI: 10.1016/j.gene.2019.01.045.

28. Li Y, Cui L, Teng Y, Chen X, Xu J, Zhang Z. CXCR4 expression in esophageal cancer tissue and its relationship with lymph node metastasis. *Oncol Lett.* 2020; 20(5):217. DOI: 10.3892/ol.2020.12095.
29. Domanska UM, Kruizinga RC, Nagengast WB, Timmer-Bosscha H, Huls G, de Vries EG, *et al.* A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: No place to hide. *Eur J Cancer.* 2013; 49(1):219-230. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.05.005.