

P

IL PUNTO

I vaccini antitumorali: passo dopo passo verso il traguardo

Daniela Peruzzi - Prof.ssa Associata di Biologia Applicata - Consulente Gruppo Bios SpA

Grande risonanza hanno avuto negli ultimi anni i vaccini antitumorali, grazie ad alcuni successi ottenuti nei protocolli sperimentali su pazienti.

Per vaccino antitumorale non si intende il classico vaccino che viene somministrato prima dell'insorgenza della malattia, bensì la somministrazione di molecole (antigeni), espresse dal tumore, capaci di indurre una risposta immunitaria ovvero di attivare i linfociti T, cellule immuno-competenti contro il tumore stesso, quando quest'ultimo è già presente. Non dunque preventivo, ma in un certo qual modo curativo.

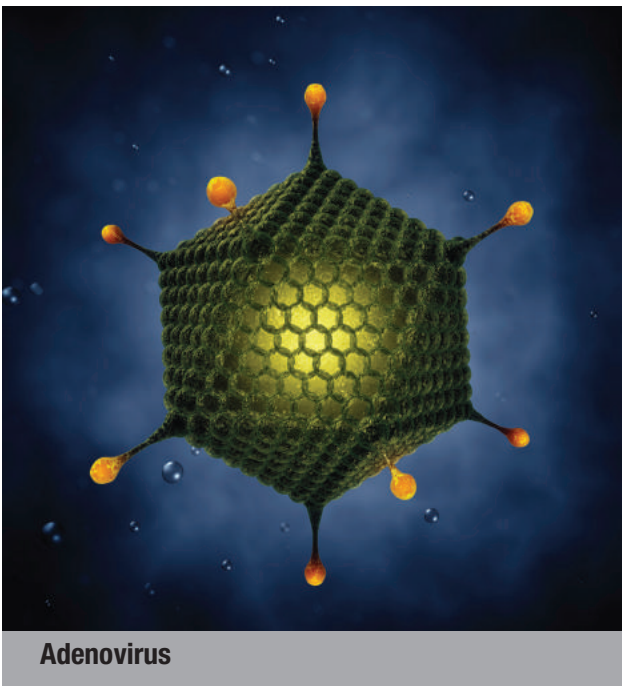
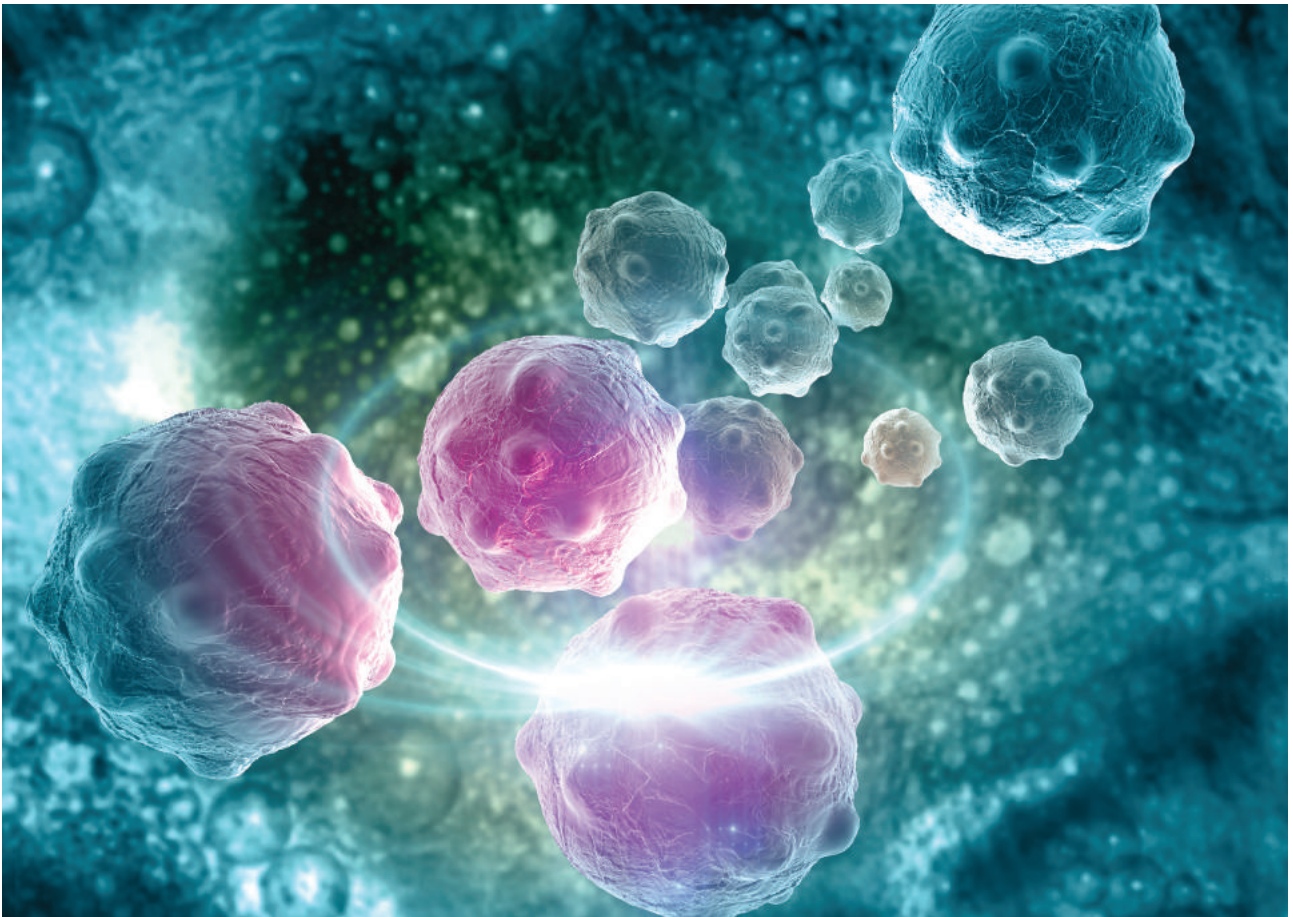
La molecola scelta per un vaccino deve essere anche presentata nella maniera giusta per indurre la miglior risposta. Spesso sono stati utilizzati diversi tipi di virus, come per esempio gli Adenovirus modificati geneticamente per non essere in grado di replicarsi. Nel DNA del virus viene, così, inserito il DNA della molecola di interesse. Il virus in questo modo modificato è in grado di infettare tipi diversi di cellule,

esprimendo così le molecole in esso inserite. Inoltre il virus richiama altre cellule del sistema immunitario, creando l'ambiente idoneo per iniziare una risposta immunitaria globale. ^[1]

In passato l'utilizzo di virus non è stato sempre approvato dalla comunità scientifica, ma quelli di ultima generazione sono più sicuri, essendo modificati, non integrandosi nel DNA della cellula ospitante e in dose ridotta rispetto ai protocolli usati in passato per la terapia genica.

L'utilizzo di Adenovirus può essere, comunque, limitata dal fatto che spesso infezioni preesistenti dei più comuni Adenovirus possono aver creato anticorpi anti-Adenovirus capaci di bloccare l'efficacia del vaccino stesso. Ecco perché si utilizzano Adenovirus meno comuni ed anche derivanti da altre specie non umane. ^[2]

Recentemente stanno assumendo sempre più importanza l'impiego di nanoparticelle lipidiche, che



una volta inoculate, forniscono una protezione a biomolecole in esse incorporate, tipo acidi nucleici, pep-

tidi e proteine, che altrimenti sarebbero velocemente degradate. Queste nanoparticelle possono essere facilmente associate con adiuvanti per facilitare il loro rilascio e sono generalmente usate in quantità ridotte, sfruttando la loro caratteristica di non disperdersi nell'organismo. È così possibile una distribuzione ristretta e mirata (fig 1).

Negli anni sono stati studiati diversi tipi di vaccini, creati con DNA, con RNA, con cellule dendritiche o con peptidi, ma i risultati ottenuti sono stati spesso deludenti in quanto ciò che veniva osservato nei modelli sui topi non era possibile trasferirlo all'uomo.

L'impossibilità di indurre una risposta immunitaria nell'uomo era dovuta al fatto che noi già esprimiamo questi antigeni nei tessuti. Gli antigeni, dunque, non sono visti come elementi estranei, per cui si rendeva necessario rompere la tolleranza ed indurre una risposta più forte. Per tale motivo sono stati utilizzati nella ricerca topi "transgenici", cioè animali generati in

modo da esprimere una determinata molecola nei loro tessuti, al fine di ricreare una situazione simile a quella umana, utilizzando anche diversi adiuvanti per cercare di aumentare la risposta immunitaria.

Considerato che i topi di laboratorio non sviluppano spontaneamente tumori, uno studio di immunoterapia è stato eseguito pure sui cani con linfosarcoma, i quali sviluppano il tumore, vivono nello stesso ambiente umano ed ai quali può essere somministrato il protocollo sperimentale di chemioterapia fatto all'uomo. I cani rappresentano, quindi, un valido modello di ricerca più simile all'uomo. [3]

Quanto agli antigeni, negli anni sono state studiate diverse molecole, alcune espresse da più tipi di tumori tipo *CEA*, *TERT*, oppure più specifiche come *MAGE*. Gli studiosi, in passato, erano continuamente alla ricerca della molecola, o della parte di molecola, maggiormente "immunogenica", capace di indurre la risposta più forte e alla ricerca di tossine batteriche o ligandi dei Toll like receptors per aumentare la risposta immunitaria.

Il problema però non era ancora risolto, perché il tumore stesso è in grado di modificarsi, evolversi ed anche di agire sull'ambiente e sulle cellule circostanti. È stato studiato, per esempio, che vaccinando contro una molecola specifica, il tumore, per sfuggire, è capace di diminuire l'espressione dell'antigene stesso. Da qui l'idea di creare vaccini che utilizzano più antigeni dello stesso tumore contemporaneamente, perché se una molecola viene alterata dal tumore, è possibile indurre una risposta immunitaria contro un'altra molecola.

Negli ultimi anni si stanno pure studiando vaccini contro antigeni espressi dallo "stroma" del tumore, cioè dal quel supporto che il tumore stesso si crea per continuare a rigenerarsi e crescere. In questo modo si cerca di colpire il sostentamento del tumore e quelle molecole più stabili e meno modificate dal tumore stesso.

Nel corso degli anni inoltre sono stati scoperti molti dei meccanismi che le cellule tumorali adottano per sopprimere il sistema immunitario e diversi di questi si trovano proprio nel microambiente tumorale come

per esempio, cellule T regolatorie CD4+FOXP3+, macrofagi associati al tumore, fibroblasti, adipociti, cellule mieloidi soppressorie che possono inibire i linfociti T CD8+ citotossici oppure le cellule Natural Killer (NK). Fattori solubili, quali per esempio Tumor Growth Factor-β (TGFβ), l'interleuchina 10 (IL-10), il Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A), ed altri, possono bloccare le funzioni delle cellule T nel microambiente tumorale. [4]

È stato anche scoperto, per esempio, che cellule umane di melanoma producono un fattore del loro metabolismo che è in grado di inibire la maturazione delle cellule chiamate "dendritiche", cellule mieloidi che sono le prime a presentare l'antigene ai linfociti T per attivarli contro il tumore. La mancata maturazione non permette la successiva migrazione ai linfonodi delle cellule dendritiche, non consentendo, così, la presentazione antigenica con l'innesco della risposta immunitaria. [5]

Le nuove prospettive dei vaccini antitumorali

I recenti successi che hanno riportato in auge l'immunoterapia dei tumori riguardano lo studio di anticorpi in grado di bloccare molecole espresse dal tumore per impedire il riconoscimento dell'antigene da parte dei linfociti T chiamati "Immune Checkpoint Blockade", anti CTLA-4 e anti PD-1, PDL-1. Infatti, specifici ligandi espressi dalle cellule tumorali sono in grado di legarsi a recettori sulla superficie di cellule immunitarie, innescando segnali inibitori che rendono le cellule immuni inerti oppure tolleranti. Per esempio il legame tra il recettore PD-1 sulla superficie delle cellule T ed i recettori inibitori PD-L1 su cellule tumorali inibisce la proliferazione della cellula T rendendo quest'ultima non funzionale.

Questo tipo di trattamento su pazienti con stadi avanzati di diversi tipi di tumore, ha evidenziato una risposta clinica ed un blocco nella progressione della malattia. Ma nonostante il grande successo, non tutti i pazienti, purtroppo, reagiscono positivamente al protocollo e molti studi dimostrano come la capacità di rispondere alla terapia dipende da mutazioni genetiche.

Nuovi antigeni chiamati "neo-antigen" rappresen-

tano il futuro dell'immunoterapia. Infatti, i tumori umani durante il loro sviluppo generano nel loro DNA molte mutazioni, alcune centinaia nei geni espressi, contro le quali è possibile indurre una risposta immunitaria. L'identificazione di linfociti T indirizzati contro mutazioni presenti nel tumore, ha dimostrato l'esistenza di una importante classe di antigeni tumorali,

non espressi in cellule normali. [6]

A tutto questo si aggiunge lo sviluppo di nuove tecnologie che permettono lo screening sia di linfociti T che di sequenze genomiche del tumore. Tecnologie che porteranno in breve tempo all'identificazione di tanti "neo-antigen", rendendo l'immunoterapia sempre più una terapia personalizzata.

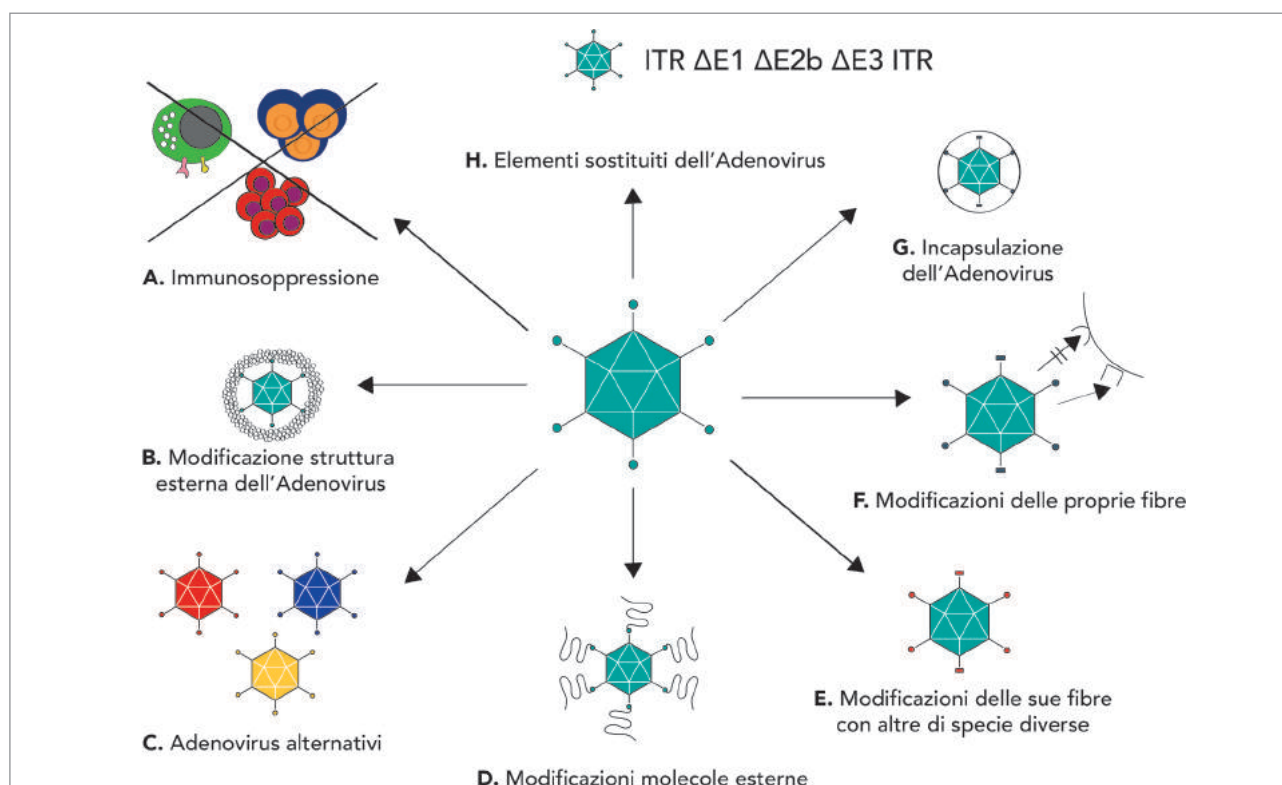


Fig 1 - Un adenovirus usato come vettore per un antigene tumorale.

Didascalia:

Fig. 1 - Modificazioni di Adenovirus utilizzati come vettori di antigeni tumorali per vaccini di immunoterapia. Il tumore induce immunosoppressione (A).

Per contrastare ciò l'immunoterapia utilizza Adenovirus che vengono modificati per impedire il riconoscimento - e dunque l'attacco - da parte del sistema immunitario e per permettergli di in-

filtrarsi in più tipi di cellule con: **B)** Modificazione della struttura esterna; **C)** Adenovirus di specie non umane; **D)** Modificazione delle molecole esposte esternamente; **E)** Modificazione di alcune strutture con altre di specie diverse; **F)** Modificazioni delle proprie strutture; **G)** Incapsulazione dell'Adenovirus.

H) Generazione di Adenovirus con antigeni tumorali con sostituzioni delle parti dell'adenovirus che gli servono per la replicazione.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Stanley DA, Honko AN, Asiedu C, et al **Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge.** Nat Med. 2014 Oct;20(10):1126-9. doi: 10.1038/nm.3702. Epub 2014 Sep 7.
- 2 Green CA, Scarselli E, Sande CJ, et al **Chimpanzee adenovirus- and MVA-vectored respiratory syncytial virus vaccine is safe and immunogenic in adults.** Sci Transl Med. 2015 Aug 12;7(300):300ra126. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5745.
- 3 Peruzzi D, Gavazza A, Mesiti G et al **A vaccine targeting telomerase enhances survival of dogs affected by B-cell lymphoma.** Mol Ther. 2010 Aug;18(8):1559-67. doi: 10.1038/mt.2010.104. Epub 2010 Jun 8.
- 4 Schreiber RD1, Old LJ, Smyth MJ. **Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion.** Science. 2011 Mar 25;331(6024):1565-70. doi: 10.1126/science.1203486.
- 5 Villablanca EJ, Raccosta L, Zhou D, et al **Tumor-mediated liver X receptor-alpha activation inhibits CC chemokine receptor-7 expression on dendritic cells and dampens antitumor responses.** Nat Med. 2010 Jan;16(1):98-105. doi: 10.1038/nm.2074. Epub 2009 Dec 27.
- 6 Linnemann C, van Buuren MM, Bies L, Verdegaal EM, et al **Corrigendum: High-through put epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4+ T cells in human melanoma.** Nat Med. 2016 Oct 6;22(10):1192. doi: 10.1038/nm1016-1192d.