

Impiego di cristalli lamellari in polilattide adsorbiti con l'antigene tumorale HPV16 E7 nello sviluppo del vaccino HPV terapeutico

Di Bonito P¹, Petrone L, Casini G, Francolini I², Accardi L¹, C. Gidaro, D'Ilario L²,
Cesolini A¹, Piozzi A² and Martinelli A²

¹Departmento Malattie Infettive Parassitarie ed Immunomediate Istituto Superiore di Sanità Roma Italia.

²Departmento di Chimica, Sapienza, Università di Roma, Italia.

paola.dibonito@iss.it

Il Poli-L-lattide (PLLA) è un polimero biodegradabile derivato dall'acido lattico utilizzato nella produzione di nano-e microparticelle per il rilascio controllato di farmaci. Particelle di PLLA sono state utilizzate anche nel delivery di antigeni per lo sviluppo di vaccini. Su cristalli singoli lamellari tal quali (PLLA) ed aminolizzati (APLLA) è stato adsorbito l'antigene tumorale E7 del Papillomavirus umano di tipo 16 (HPV16). Tali complessi E7-PLLA ed E7-APLLA sono stati utilizzati come vaccino nel modello tumorale murino di HPV16. I cristalli singoli di PLLA ($M_w \approx 152 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$) sono stati accresciuti a 90 °C da una soluzione in p-xilene (0, 25% w/v). Gruppi amminici liberi sono stati introdotti sulla superficie dei cristalli lamellari di PLLA mediante una amminolisi controllata con tetraetilenpentammina (APLLA). Le caratteristiche morfologiche di entrambi i tipi di particelle sono state studiate al microscopio elettronico a scansione (SEM). Entrambi i cristalli mostrano di possedere una forma esagonale, con una dimensione laterale di circa 15-20 μm ed uno spessore di 11-12 nm. La proteina HPV16-E7 è stata adsorbita su entrambi i cristalli. I due tipi di supporto adsorbano simili quantità di proteina come valutato in SDS-PAGE (Casini et al 2010). Particelle E7-PLLA e E7-APLLA sono state utilizzate nel modello tumorale di HPV16. Gruppi di 10 topi C57BL/6 sono stati immunizzati mediante iniezione sottocutanea con 3 dosi da 10 μg /topo con E7-PLLA o E7-APLLA. Ciascuna dose conteneva circa 26 mg/topo di polimero biodegradabile. Le dosi sono state somministrate a distanza di 2 settimane l'una dall'altra. Come controllo positivo, un gruppo di animali è stato immunizzato con la proteina E7 in forma di oligomeri (Petrone et al. 2011), mentre un quarto gruppo (naive) ha ricevuto soltanto una soluzione fisiologica. Una settimana dopo l'ultima immunizzazione una parte degli animali è stata processata per l'analisi della risposta immunitaria mentre la restante parte è stata sfidata con cellule tumorali TC-1 esprimenti i geni E6 ed E7 di HPV16. La crescita del tumore è stata controllata per 2 mesi. I risultati dimostrano che il campione E7-APLLA induce una risposta immunitaria E7-specifica superiore rispetto al campione E7-PLLA. La risposta immunitaria è sia umorale che cellulo-mediata. L'analisi degli isotipi IgG anti-E7 e delle cellule E7-specifiche producenti γ -IFN suggeriscono l'induzione di una risposta mista Th1/Th2. Gli animali immunizzati con E7-APLLA sono risultati protetti rispetto alla crescita del tumore mentre tutti gli animali che hanno ricevuto E7-PLLA hanno sviluppato un tumore dopo 2, 3 settimane.

In conclusione E7-PLLA e E7-APLLA mostrano una diversa immunogenicità nel topo C57BL/6, le particelle aminolizzate usate come sistema di delivery potrebbero migliorare l'efficacia del vaccino HPV terapeutico basato sulla proteina E7 di HPV16.

Casini et al. Functionalized poly(l-lactide) single crystals coated with antigens in development of vaccines. *J Control Release*. 2010;148(1):e106-8.

Petrone L et al. Recombinant HPV16 E7 assembled into particles induces an immune response and specific tumour protection administered without adjuvant in an animal model. *J Transl Med*. 2011;9:69.