

L'impiego dei modelli animali in campo biomedico: i modelli chimerici uomo-topo



Filippo Belardelli

I modelli animali rivestono un ruolo importante per la ricerca biomedica applicata alla salute dell'uomo. In particolare, sono impiegati nel saggiare in fase preclinica la sicurezza ed efficacia di nuovi farmaci per la profilassi e terapia di varie malattie umane. Ognuno dei modelli animali attualmente in uso o potenzialmente candidati alla sperimentazione preclinica di nuovi farmaci mostra vantaggi e svantaggi. Le specie maggiormente utilizzate negli studi preclinici appartengono ai roditori, i quali, malgrado la loro distanza evolutiva dall'uomo, offrono indubbiamente vantaggi di elevata praticità e manipolabilità, e per questi si dispone del più ampio bagaglio di conoscenze. Tuttavia, proprio a causa delle distanze filogenetiche dall'uomo, questi modelli non sono in grado di fornire dati predittivi della risposta clinica dell'uomo, specialmente se utilizzati per saggiare l'attività di farmaci di origine biologica. In particolare, la specie-specificità, l'immunogenicità, la cross-reattività con altri antigeni, la presenza di inibitori nella specie animale in cui si effettua la sperimentazione, possono costituire elementi di disturbo e introdurre incertezze sul profilo di tossicità, farmacocinetica e farmacodinamica delle sostanze che si intendono valutare. Tutto ciò impone delle restrizioni sulla scel-

ta dei modelli animali da utilizzare per studi preclinici di sicurezza ed efficacia.

Sulla base di tali considerazioni, l'uso dei primati non umani rimane al momento una necessità irrinunciabile, nonostante la sperimentazione in questi animali mostri limiti per un uso su larga scala (costi, spazi, tempi di valutazione).

Una delle questioni particolarmente urgenti da definire rimane la validazione di nuovi

I modelli animali sono importanti per la ricerca biomedica applicata alla salute dell'uomo

modelli animali utili per saggiare sicurezza ed efficacia preclinica di nuove strategie profilattiche e terapeutiche. Fra questi, i modelli chimerici uomo-topo hanno sollevato negli ultimi anni un certo interesse nella comunità biomedica.

I primi lavori scientifici che hanno descritto i modelli chimerici di topi immunodeficienti trapiantati con cellule umane sono apparsi quasi contemporaneamente nel 1988 come contributo di tre diversi gruppi: il modello hu-PBL-SCID, il modello SCID-hu, e quello del topo bg/nu/xid ri-

L'efficacia e la sicurezza dei nuovi farmaci vengono testati sui topi

popolato con cellule progenitrici del sistema ematopoietico umano (1-3). Negli anni successivi sono stati sviluppati altri modelli derivanti da quelli originariamente descritti, applicati allo studio di varie patologie umane, e, nel tempo, si è generato un consenso più ampio sull'utilizzo di questi sistemi chimerici come modelli preclinici per la valutazione di interventi terapeutici contro alcune malattie umane, nonché di aspetti patogenetici riguardanti un'ampia gamma di patologie di origine infettiva e non.

Questi modelli possiedono caratteristiche esclusive. Sono gli unici modelli, infatti, che permettono di studiare le interazioni *in vivo* tra cellule umane e patogeni, con potenziali vantaggi rispetto ad altri modelli che, come i primati, richiedono costi maggiori e tempi di sperimentazione più lunghi, e, inoltre, sollevano questioni etiche più importanti. Da ciò è emersa l'esigenza di considerare con maggiore attenzione questo campo della ricerca e stabilire se i topi SCID umanizzati possano, in alcuni casi, sostituire i modelli dei primati non umani per studi prelini-

Paola Rizza¹, Stefano Fais², Carlo Pini², Enrico Proietti¹ e Filippo Belardelli¹

¹ Laboratorio di Virologia, ISS

² Laboratorio di Immunologia, ISS



ci sulla sicurezza di nuovi farmaci e terapie di derivazione biologica e biotecnologica.

All'Istituto Superiore di Sanità è stato da alcuni anni allestito uno stabulario speciale per topi immunodepressi con caratteristiche di protezione di livello 3, per effettuare la sperimentazione *in vivo* con HIV in topi chimerici. Tali stabulari/laboratori P3 rappresentano un polo di riferimento, in Italia, per la sperimentazione, anche su larga scala, in questi piccoli modelli animali che mostrano oggi crescenti prospettive di attrazione come modelli preclinici. L'attivazione di tale struttura e la sperimentazione condotta in questi anni ha generato la convinzione dell'opportunità di promuovere da parte dell'Istituto Superiore di Sanità, in quanto ente impegnato nella promozione e nel coordinamento della ricerca biomedica, un dibattito critico costruttivo, focalizzato sull'uso e sulle prospettive di questi modelli chimerici come sistemi preclinici e predittivi della risposta clinica nei pazienti. Tale dibattito ha avuto

uno spazio interamente dedicato in occasione del "First International Workshop on Human/SCID Mouse Models", organizzato dal-

l'Istituto, che si è svolto nei giorni 27 e 28 novembre 2000. Il Convegno ha rappresentato un momento di incontro e di dibattito sulle applicazioni correnti di questi modelli animali in campo biomedico, e di riflessione sul loro possibile impiego come modelli preclinici per la terapia e profi-

lassi di diverse malattie umane. Scienziati di fama internazionale impegnati da anni nello sviluppo di diversi modelli chimerici applicati alla ricerca biomedica hanno partecipato attivamente al convegno, presentando la loro esperienza e discutendo i progressi più recenti e le prospettive in questo campo (J.M. McCune, USA, D.E. Mosier, USA, C.A. Stoddart, USA, R.B.

Bankert, USA, J.M. Carballido, Austria, J.E. Dick, Canada, H. Goldstein, USA, R. Ploemacher, Paesi Bassi, A. Tsicopoulos, Francia, J.A. Zack, USA, M.A. Duchosal, Svizzera, D. Camerini, USA, R.E. Jones, USA, P. Hardy, Francia, F. Belardelli, Italia, S. Fais, Italia, E. Proietti, Italia, S. Di Fabio, Italia).

Il Convegno si è articolato in diverse sessioni scientifiche che hanno affrontato tematiche specifiche, seguite al termine da una tavola rotonda finalizzata a un dibattito sullo stato dell'arte e le prospettive offerte da questi modelli per una ricerca applicativa.

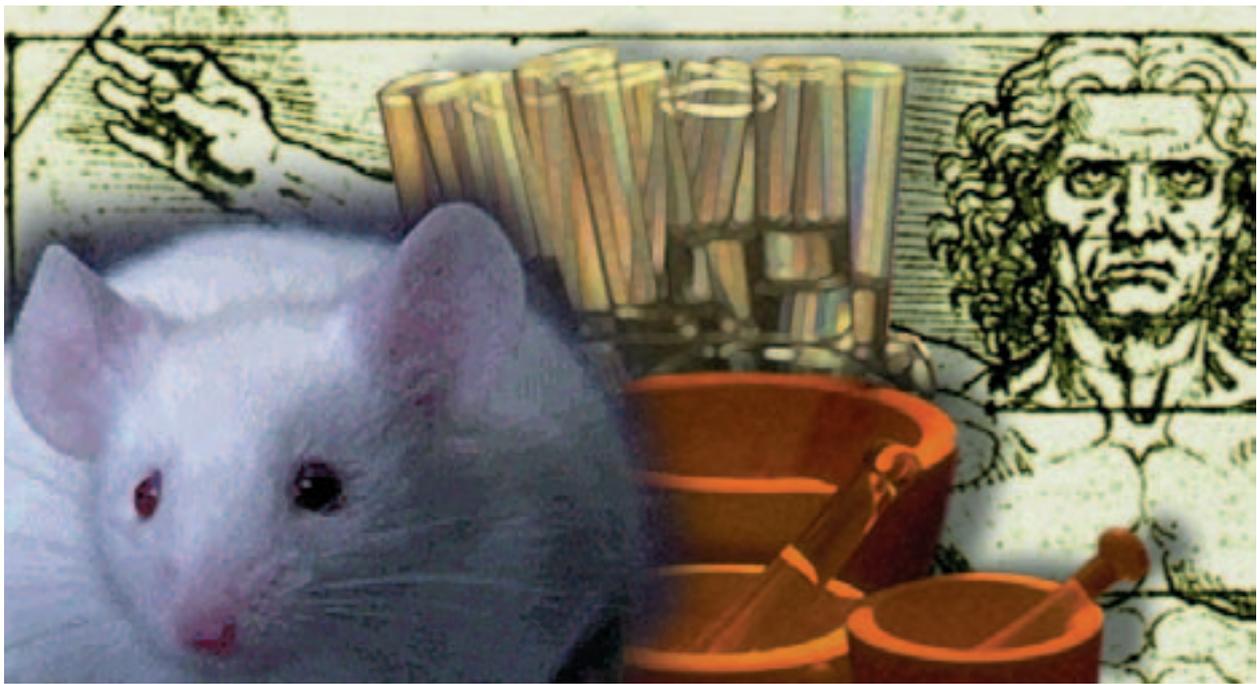
I partecipanti si sono alternati nel dibattito, fornendo esempi della loro esperienza sulle interazioni con le industrie farmaceutiche e gli enti regolatori circa l'impiego dei modelli chimerici uomo-topo SCID per valutare l'efficacia di farmaci antivirali e biologici.

Uno dei maggiori punti emersi dalla discussione è stato la tendenza, da parte delle compagnie farmaceutiche, a non tenere in considerazione l'uso dei modelli

Presso l'ISS è stato allestito uno stabulario speciale per topi immunodepressi

L'ISS è impegnato nel promuovere un dibattito costruttivo sull'uso e sulle prospettive di modelli chimerici

- Patogenesi delle Infezioni virali (HIV, HBV, EBV)
- Patologie del sistema immunitario (autoimmunità, allergie)
- Immunobiologia dei trapianti
- Funzione immunitaria
- Ematopoiesi
- Tumorigenesi (leucemie, linfomi)
- Vaccini per malattie infettive e tumorali
- Terapia (farmacologica, genica, immune) antivirale e del cancro



SCID negli ultimi dieci anni per passare direttamente alla sperimentazione nell'uomo. In realtà, l'utilizzo dei modelli SCID per pre-selezionare potenziali composti candidati all'applicazione clinica potrebbe costituire un grande vantaggio sia a livello economico che sanitario. Sarebbe auspicabile, quindi, da parte dei gruppi che lavorano sui modelli SCID, un impegno coordinato finalizzato a un'attenta verifica della validità di questi modelli, consentendone un'approvazione definitiva come modelli preclinici e/o predittivi.

Per quanto riguarda studi di terapia, sembra piuttosto evidente che i modelli chimerici uomo/SCID abbiano raggiunto uno stadio sufficientemente maturo da essere accettati come modelli preclinici. Sul fronte dei vaccini, tuttavia, ancora insufficienti risultano le conoscenze in merito alle loro potenzialità di impiego nel saggiare l'efficacia di nuovi vaccini umani, anche se recentemente sono stati ottenuti risultati incoraggianti dal gruppo co-

ordinato in Istituto da F. Belardelli, circa l'impiego di cellule dendritiche come strategia vaccinale per HIV. Numerosi sforzi devono ancora essere effettuati in

L'impiego di cellule dendritiche come strategia vaccinale ha ottenuto risultati incoraggianti nel modello hu-PBL-SCID

questa direzione al fine di migliorare e implementare i modelli attualmente disponibili per studi di efficacia preclinica di vac-

cini umani. L'uso dei topi SCID umanizzati come modelli per saggiare l'efficacia di terapie antitumorali si è andata consolidando in questi ultimi anni. La possibilità di studiare

sia il tumore che le sue interazioni con il sistema immunitario umano, una volta trapiantati nel topo SCID, ha aperto nuove frontiere, consentendo di saggiare sia approcci di chemioterapia che di immunoterapia e terapia genica.

Le considerazioni generali emerse durante la tavola rotonda sono state elaborate in un *documento consensus*, discusso e approvato da tutti i partecipanti, che viene qui di seguito riportato.

Riferimenti bibliografici

1. Mosier DE, Gulizia RJ, Baird SM, et al. *Nature* 1988; 335: 256-9.
2. McCune JM, Namikawa R, Kaneshima H, et al. *Science* 1988; 241: 1632-9.
3. Kamel-Reid S, Dick JE. *Science* 1988; 42: 1706-9.

In brief

The use of animal models in biomedical field: chimeric uman/SCID mouse models

Biomedical research needs suitable animal models for testing pre-clinical efficacy and safety of new prophylactic/therapeutic strategies, before their translation into clinical studies. In recent years, human/SCID mouse models have acquired more widespread acceptance as useful systems for selected preclinical in vivo studies. The current applications of these chimeric models and the perspectives on their possible use as preclinical models have been discussed at the "First International Workshop on Human/SCID Mouse Models", which was organized by the Istituto Superiore di Sanità on November 27-28th 2000. At the end of the conference, a consensus on major critical issues was achieved by all participants.

Documento consensus sul valore e le prospettive dell'uso dei topi SCID umanizzati come modelli validi per studi preclinici

Diversi modelli di topi SCID umanizzati sono stati sviluppati e ognuno di essi mostra vantaggi e limiti specifici, dipendentemente dal campo di applicazione.

A) L'USO DEI MODELLI SCID UMANIZZATI PER STUDI DI PATOGENESI DI MALATTIE UMANE

Numerosi studi hanno evidenziato che i meccanismi e gli eventi patogenetici operanti nei modelli di topi SCID umanizzati ripropongono per alcuni versi quelli osservabili nei pazienti, indicando quindi validità e potenzialità di questi modelli per studi di patogenesi.

Un esempio di patologia umana che ha trovato grandi opportunità di studi in tali modelli è l'infezione da HIV-1.

B) L'USO DEI MODELLI SCID UMANIZZATI PER SAGGIARE SOSTANZE ANTIVIRALI

Una consistente mole di lavori ha indicato che queste xenochimere sono in grado di fornire un valore aggiunto importante e spesso differente rispetto ai risultati raggiunti in sistemi *in vitro*. Prendendo in considerazione l'HIV-1 come esempio, numerosi studi hanno messo in evidenza una buona correlazione tra efficacia terapeutica di certi farmaci antivirali nel modello SCID-hu e quella rilevata nei pazienti, mentre studi *in vitro* sono generalmente non predittivi della risposta *in vivo*.

Quindi, i topi SCID-hu hanno raggiunto uno stadio maturo tale da consentire una piena accettazione come modelli animali validi e potenzialmente predittivi della risposta clinica ad alcune terapie anti-HIV. In anni passati, la pressione delle industrie a procedere all'applicazione clinica di nuovi farmaci anti-HIV direttamente nei pazienti ha portato ad una sottovalutazione dell'uso dei modelli SCID come fase preclinica della sperimentazione.

Tuttavia dovrebbe oggi essere incoraggiato un uso più ampio di questi piccoli modelli animali, finalizzato ad una rapida selezione di farmaci potenzialmente attivi e sicuri da introdurre successivamente in fase clinica.

Da ciò ne potrebbero derivare vantaggi cospicui sia per le industrie che per la salute pubblica, in quanto una tale procedura permetterebbe di focalizzare le risorse economiche e la ricerca su quelle applicazioni cliniche caratterizzate da una alta probabilità di essere tradotte in terapie mediche correnti.

Alcuni modelli di topi SCID-hu e hu-PBL-SCID sono stati utilizzati su scala ridotta per tali scopi con discreto successo. Il passo successivo dovrebbe consistere in un trasferimento dell'esperienza sviluppata alle industrie e a laboratori di riferimento, al fine di confermare la piena validità di questi modelli animali.

Resta tuttavia l'esigenza di implementare e conseguentemente convalidare alcuni nuovi modelli sviluppati di recente per saggiare nuove terapie per il trattamento dell'infezione da HIV e di altre malattie infettive.

C) L'USO DEI MODELLI SCID PER STUDI SUI VACCINI E STRATEGIE DI INTERVENTO IMMUNOLOGICO

Allo stato attuale, c'è una necessità di verifica e implementazione dei modelli chimerici per un loro uso finalizzato alla valutazione di vaccini umani. Ad oggi, i modelli chimerici trapiantati con cellule umane sono stati utilizzati per studiare alcune strategie vaccinali con risultati piuttosto variabili. I maggiori limiti di questi sistemi includono complessità dei modelli sviluppati, scarsa riproducibilità e, in alcuni casi, la restrizione all'uso di cellule dendritiche esposte ad antigene, per facilitare la generazione della risposta immune primaria.

Dato che il "testing" *in vivo* dei vaccini umani rappresenta un passaggio importante di verifica, è auspicabile che istituzioni pubbliche e private incoraggino e promuovano iniziative strategiche finalizzate al coordinamento di gruppi di collaborazione che si impegnino su questo fronte della ricerca.

I modelli di topi SCID umanizzati sviluppati più recentemente, in cui è ottenibile una efficiente risposta primaria sia da parte di cellule T che B, potranno essere utilizzati con successo per saggiare l'efficacia di composti biologici specificamente disegnati per modulare la funzione immune umana.

Tuttavia un fattore limitante ad un loro ampio impiego come modelli preclinici è costituito dalla complessità di allestimento. La necessità di strutture speciali e bagaglio tecnico altamente specialistico potrebbe, almeno allo stato attuale, costituire un ostacolo ad un loro uso corrente.

D) L'USO DEI MODELLI SCID UMANIZZATI PER LA TERAPIA DEL CANCRO

L'impiego del topo o del ratto come modelli per studiare la terapia o l'immunoterapia del cancro presenta alcuni vantaggi, in quanto le reazioni dell'ospite al trattamento con farmaci disegnati per modificare le risposte biologiche o alle terapie cellulari non sono predittive delle risposte nell'uomo.

Tuttavia, occorre fare una distinzione. I modelli costituiti da topi SCID semplicemente trapiantati con tumori umani hanno un valore limitato se utilizzati per studiare l'effetto di citochine o di strategie di intervento immunologico. Al contrario, questi modelli possono essere di grande utilità per saggiare l'efficacia antitumorale del trasferimento adottivo di linfociti T citotossici o di cellule "natural killer".

A tale proposito occorre tenere in considerazione il fenomeno di reazione dell'ospite *vs* il trapianto e viceversa che



potrebbero essere operanti in tali sistemi eterologhi, interferendo sia con la funzione delle cellule immunocompetenti che delle cellule tumorali trapiantate.

Topi ricostituiti con cellule immunocompetenti umane e trapiantati con tumore autologo possono rappresentare un valido modello preclinico per l'immunoterapia del cancro.

Anche in questo campo, è auspicabile che la ricerca sviluppi metodi per la standardizzazione, implementazione e verifica di alcuni di questi modelli per valutare in che misura questi modelli possano essere predittivi della risposta clinica.

Tali attività di ricerca dovrebbero essere incentivate e promosse soprattutto da

iniziative congiunte tra istituzioni pubbliche e private deputate al controllo della salute dell'uomo.

E) L'USO DI MODELLI SCID/HU PER STUDIARE IL SISTEMA EMATOPOIETICO UMANO E LA TERAPIA GENICA

Diversi sistemi chimerici uomo/topo sono stati utilizzati per studiare le cellule progenitrici del compartimento ematopoietico e per valutare approcci di terapia genica.

Questi modelli si sono rivelati estremamente utili in questo campo, e ogni modello permette applicazioni diverse dipendentemente dall'obiettivo prefisso.

In conclusione, i partecipanti al convegno hanno concordato che questi modelli chimerici offrono caratteristiche di ampia versatilità, con grandi potenzialità di implementazione per migliori opportunità di impiego nella ricerca biomedica e, in particolare, nella valutazione preclinica di nuove strategie di intervento terapeutico contro le malattie umane.

L'auspicio per il futuro è che questi modelli possano diffondersi e offrire le loro potenzialità a un numero crescente di laboratori, e che un loro utilizzo finalizzato possa essere funzionale ad una ricerca applicata al miglioramento della salute dell'uomo.

Istituto Superiore di Sanità International Meeting

CYTOKINES AS NATURAL ADJUVANTS: PERSPECTIVES FOR VACCINE DEVELOPMENT

Roma, 22-24 aprile 2002

Comitato scientifico

F. Belardelli, M. Ferrantini, A. Mantovani, G. Parmiani

Segreteria del convegno

A. Ferrigno, F. Moretti
Laboratorio di Virologia, Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Elena, 29900161, Roma
Tel: +39-06-49903247
Fax: +39-06-49902097
E-mail: fmoret@iss.it

Sono previste le seguenti sessioni:

Dendritic Cells and Immune Response
Cytokines/Chemokines and Immunity
Adjuvants and Cytokines in Infectious Diseases
Cytokines and Cancer Vaccines
Clinical Use of Cytokines in Vaccine Development

Informazioni più dettagliate sono accessibili sul sito dell'Istituto:

www.iss.it