

SVILUPPO DI VACCINI IDIOTIPICI PER STUDI DI FASE I/II DI IMMUNOTERAPIA “SUBSET- SPECIFICA” PER PAZIENTI CON DISORDINI LINFOPROLIFERATIVI A CELLULE B

*Relazione dell'UO dell'Ist. Naz.
Tumori “Fond Pascale” – Napoli
Roma 21/04/2008*

Franco M. Buonaguro

Dir. UOC di Biologia Molecolare ed Oncogenesi Virale
INT - Napoli

Componenti dell'UO coordinata da INT-Napoli

Gruppi di Ricerca afferenti al DI proponente

Numero	Dipartimento/Sezione/Unità	Responsabile Scientifico
1	U.O. Oncogenesi Virale ed Immunoterapie	F.M. Buonaguro
2	U.O. Immunologia Clinica	G. Castello
3	Gruppo Epatologia-UO Chirurgia	F. Izzo
4	U.O. Anatomia Patologica	G. Botti
5	U.O. Epidemiologia	M. Montella

Gruppi di Ricerca afferenti ad altre Istituzioni di Ricerca

Numero	Istituzione	Responsabile Scientifico
6	U.O. Immunogenetics, NIH, Bethesda, USA	F.M. Marincola
7	U.O. Malattie Infettive ed Immunologia, Osp Cotugno, NA	O. Perrella

Ricerca di risposta immune anti-VK3-20 dell'Id prevalente su linfociti-B di linfomi in soggetti HCV-positivi

Per verificare la comparsa di una risposta immune anti-VK3-20 ed eventualmente definirne l'andamento temporale nel corso della storia naturale dell'infezione da HCV, sono in corso di arruolamento diverse coorti

Gruppi in arruolamento

- HCV positivi,
- HCV positivi con crioglobulinemia;
- HCV positivi con disordini linfoproliferativi;
- HCV positivi con linfomi;
- HCV positivi con epatocarcinoma;
- HCV positivi con neoplasie tiroidee;
- HCV negativi sani dalle stesse aree geografiche;
- HCV negativi con patologie corrispondenti ai casi.

Oltre all'arruolamento presso l'INT ed il Cotugno si è coinvolti anche l'ematologia (Prof. Rotoli) e l'epatologia (Prof. Nardone) della Facoltà di Medicina dell'Università Federico II - Napoli

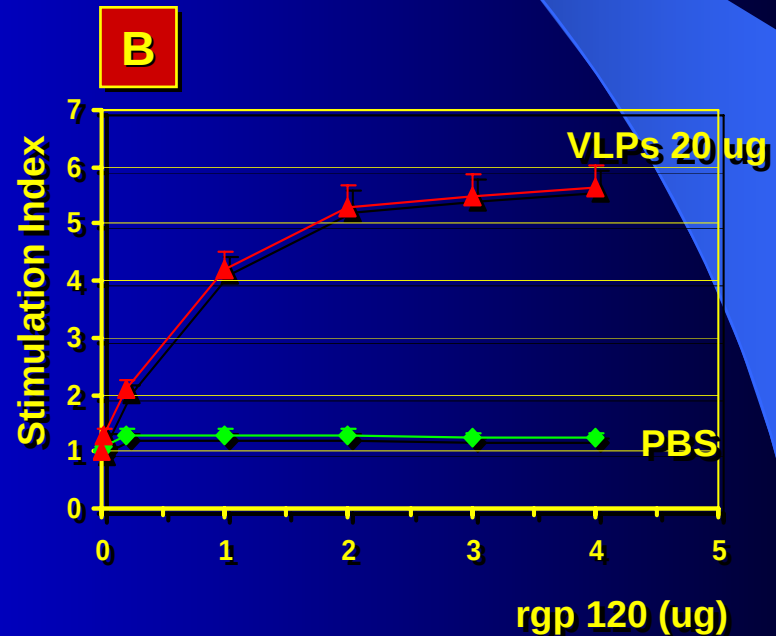
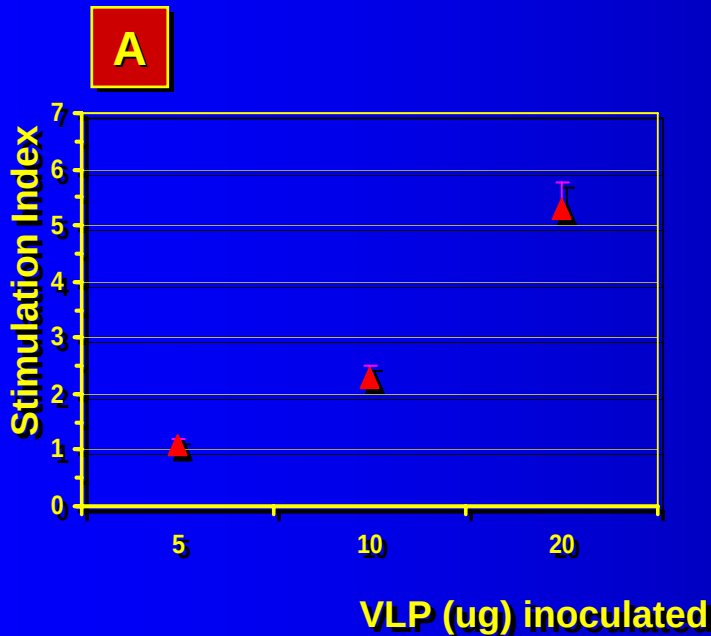
Soggetti Arruolati e campione

- **Arruolamento presso i centri presso l'INT ed il Cotugno si è coinvolti anche l'ematologia (Prof. Rotoli) e l'epatologia (Prof. Nardone) della Facoltà di Medicina dell'Università Federico II – Napoli**
- **Acquisizione del Consenso informato;**
- **Prelievo di 20ml di sangue intero in EDTA;**
 - **Plasma per test sierologici (incluso ELISA per verificare Ig anti-VK3-20;**
 - **PBMC selezionati per valutare**
 - **presenza di immunità cellulare anti-VK3-20**
 - **CD4+ indice di proliferazione**
 - **CD8+ test CTL**
 - **Inducibilità di Cellule dendritiche**
 - **Th1/Th2**
 - **Ruolo degli adiuvanti**

Test di Proliferazione

- CD4 T cell: LPA, ICC

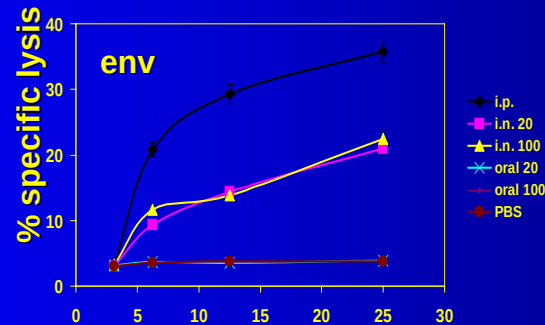
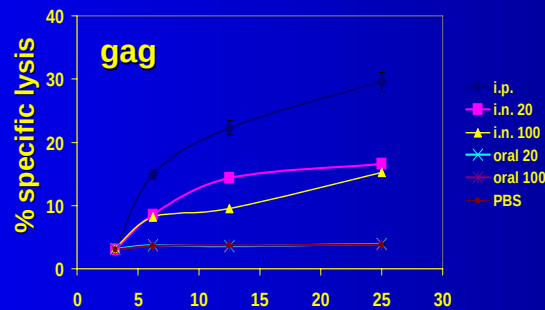
Cellular T helper response induced in Balb/c mice by HIV-VLP_A. *In vitro* proliferative responses.



Test di Citotossicità

- CD8 T cell: CTL, ICC, ELISPOT

Specific CTL activity induced in Balb/c mice by HIV-VLP_A



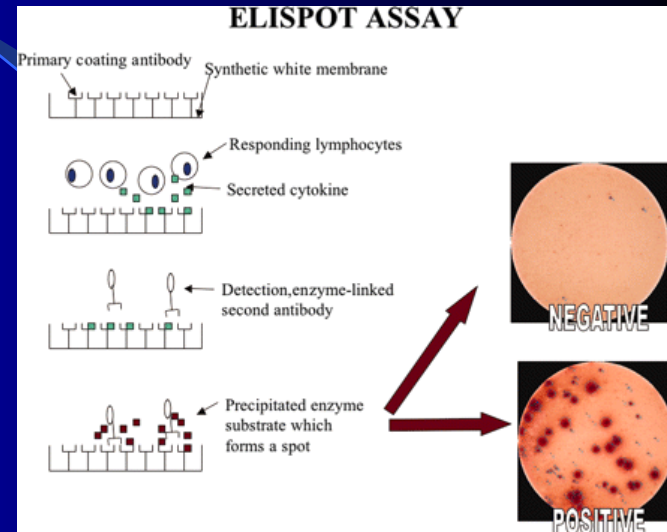
E:T ratio

Buonaguro L. et al., J. Virol (2005).

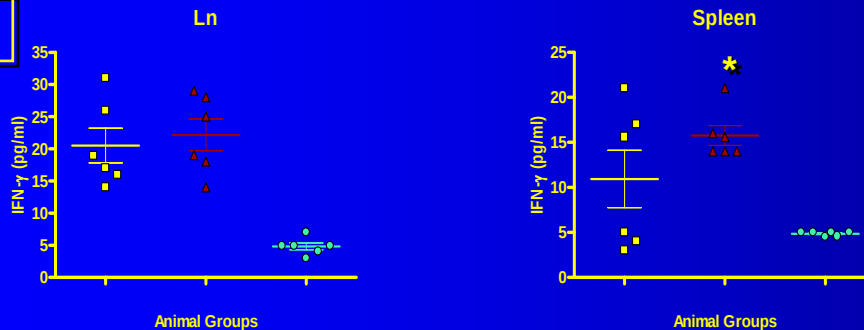
Test di Citotossicità

- CD8 T cell: CTL, ICC, ELISPOT

Cellular response in mice immunized with DNA-VLP prime-boost protocols by i.n. administration

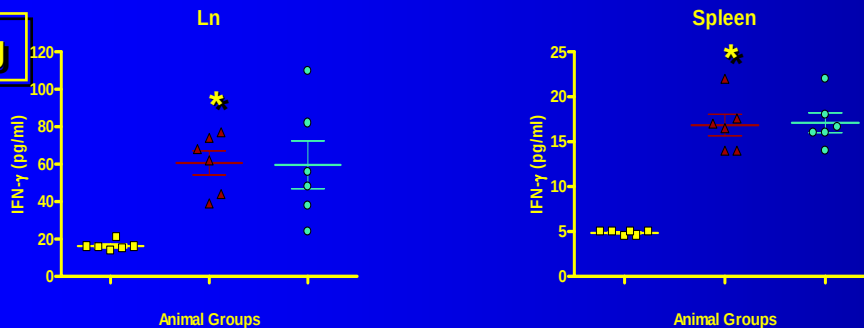


Anti-env



- DNA + VLPs
- ▲ DNA + VLPs (L3)
- VLPs + VLPs (L3)

Anti-gag



Valutazione di Attivazione Th1/Th2 in cellule dendritiche

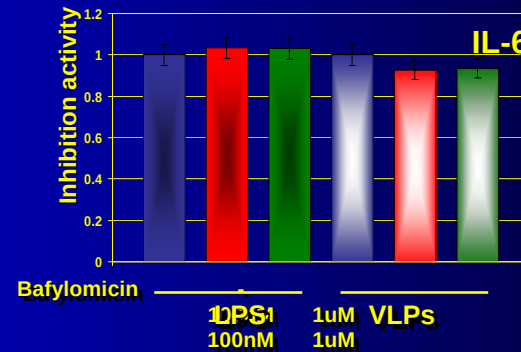
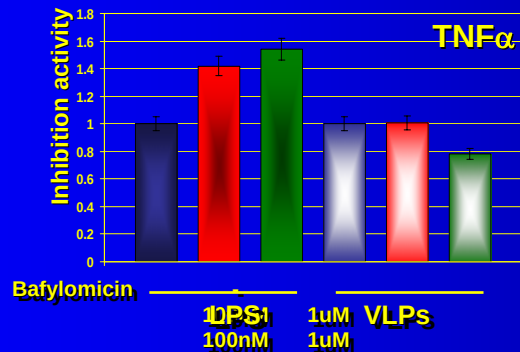
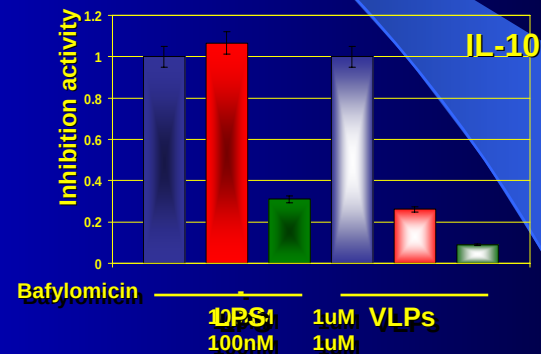
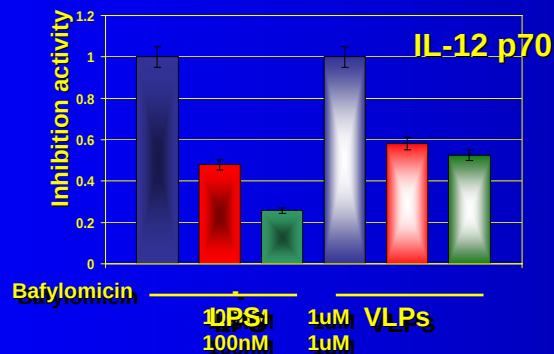
- Metodo: profilo di citochine



Valutazione di Attivazione Th1/Th2 in cellule dendritiche

- Metodo: profilo di citochine

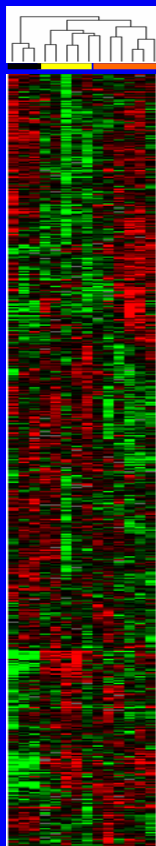
Maturation of MDDCs by HIV-VLPs is partially mediated by signaling through *intra*-cellular TLRs (3 and 8)



Valutazione di Attivazione Th1/Th2 in cellule dendritiche

- Metodo: profilo genomico

Unsupervised hierarchical clustering of genes in treated and untreated MDDCs

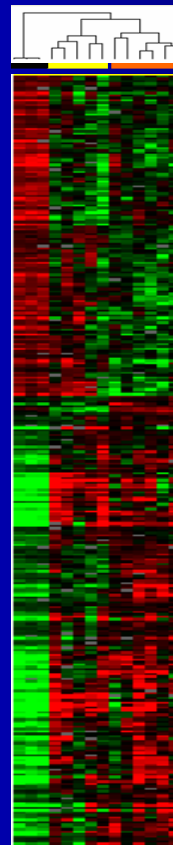


All filtered data

2329 genes

DC#8016-PBS
DC#8023-PBS
DC#8002-PBS
DC#8016-VLP8h
DC#8016-VLP4h
DC#8002-VLP8h
DC#8002-VLP4h
DC#8023-VLP4h
DC#8023-LPS4h
DC#8023-LPS8h
DC#8002-LPS8h
DC#8016-LPS8h
DC#8016-LPS4h
DC#8002-LPS4h

Negative
Zero
Positive
Missing



Differentially expressed
324 genes
($p < 0.005$)

DC#8016-PBS
DC#8023-PBS
DC#8002-PBS
DC#8002-VLP4h
DC#8016-VLP4h
DC#8023-VLP4h
DC#8016-VLP8h
DC#8002-VLP8h
DC#8023-LPS8h
DC#8023-LPS4h
DC#8016-LPS4h
DC#8002-LPS4h
DC#8016-LPS8h
DC#8002-LPS8h

Conclusione

Lo studio in corso permetterà di identificare e valutare:

- Presenza di risposta anti-VK3-20 in corso di infezioni da HCV e patologie correlate;
- Possibilità di stimolare una risposta immune in soggetti HCV+ e nelle diverse patologie;
- Possibilità di polarizzare la risposta immune (Th1/Th2);
- Messa a punto di un test biomolecolare (genechip) per verificare la responsività vaccinale individuale