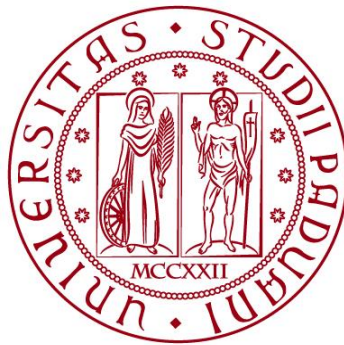


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**Ruolo della vaccinazione antitumorale nello
sviluppo di vaccini contro il Covid19**

**Tutor: Prof.ssa Susanna Mandruzzato
Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Oncologiche e
gastroenterologiche - DiSCOG**

Laureando: Mattia Rampado

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

ABSTRACT

In questo elaborato verranno analizzate le analogie tra i vaccini in uso contro gli agenti infettivi e i nuovi vaccini antitumorali in via di sviluppo, per poi valutare quanto questi ultimi siano stati essenziali per sviluppare i nuovi vaccini anti Sars-Cov 2, virus che ha messo in seria difficoltà la vita della popolazione mondiale causando oltre 6 milioni di decessi. Tra i vaccini sviluppati contro il Sars-Cov2 quelli a mRNA erano stati precedentemente sviluppati come una piattaforma promettente per l'immunoterapia dei tumori. In seguito a inoculazione, i vaccini a mRNA esprimono in modo efficiente gli antigeni codificati da mRNA nelle cellule presentanti l'antigene (APC), facilitano l'attivazione delle APC e la stimolazione immunitaria innata/adattativa. Il vaccino a mRNA contro il cancro si distingue dalle altre piattaforme di vaccini convenzionali grazie all'elevata potenza, alla somministrazione sicura, ai potenziali di sviluppo rapido e alla produzione economicamente vantaggiosa.

INTRODUZIONE

Un nuovo coronavirus, SARS-CoV-2, è apparso a dicembre 2019, seguito da un'epidemia segnalata per la prima volta a Wuhan, in Cina. Oramai è noto che il nuovo coronavirus è un virus respiratorio che si diffonde principalmente attraverso il contatto stretto con una persona infetta. La via primaria di trasmissione sono le goccioline del respiro (droplets) delle persone infette ad esempio tramite:

- saliva (tossendo e starnutando);
- contatti diretti personali (quando si parla o respira in prossimità di altre persone);
- mani, ad esempio toccando con le mani contaminate (non ancora lavate) bocca, naso o occhi.

La possibilità di trasmissione aumenta se il contatto stretto avviene al chiuso e dipende dal tempo trascorso in prossimità (15 minuti e oltre). È stata infatti dimostrata la possibilità di trasmissione per via aerea in determinate circostanze come appunto l'esposizione prolungata in uno spazio chiuso senza un adeguato riciclo dell'aria.

Il virus si è rapidamente diffuso in tutto il mondo attraverso i viaggiatori e il numero dei casi ad ora ha superato i 554 milioni, con oltre 6 milioni di decessi. Il periodo di incubazione successivo alla prima esposizione dura circa 2-14 giorni ed è probabile si differenzi significativamente tra i diversi gruppi di età o in individui con patologie anche pregresse. I sintomi COVID-19 più comuni sono febbre, tosse

secca, affaticamento e dispnea, mentre i sintomi gravi sono accompagnato da infezione sistemica e polmonite.

Negli ultimi 100 anni, i vaccini hanno aumentato significativamente l'aspettativa di vita, rimodellando radicalmente la comunità e l'economia. Grazie alla aumentata disponibilità dei vaccini ed al loro sempre più diffuso utilizzo l'impatto devastante di molte malattie infettive si è drasticamente ridimensionato. I vaccini sono una tipologia di farmaci molto particolare perché vengono somministrati alla popolazione sana per prevenire l'insorgenza della malattia. Possono essere costituiti da parti del microrganismo o dal microrganismo stesso nella sua completezza, attenuato o inattivato. Sviluppati per proteggere l'essere umano e gli animali da numerose malattie infettive, causate da vari microrganismi (quali virus e batteri), e somministrati alla popolazione secondo una ben definita scheda vaccinale predisposta in Italia dal Ministero della Salute.

Questi agiscono attraverso l'induzione di una risposta immunitaria, umorale e cellulare, e richiedono, in genere, l'associazione di un adiuvante immunologico per raggiungere una adeguata efficacia protettiva.

Vaccini tradizionali contro le malattie infettive

Si può indurre l'immunità:

- Attivamente attraverso vaccinazione.
- Passivamente utilizzando anticorpi (p. es., le immunoglobuline, le antitossine).

La vaccinazione è stata estremamente efficace nel prevenire gravi patologie e nel migliorare la salute della popolazione nel mondo. Grazie ai vaccini le infezioni che una volta erano molto comuni e/o fatali (p. es., il vaiolo, la poliomielite, il morbillo, la difterite) oggi sono poco frequenti. Tuttavia, tranne per il vaiolo, queste infezioni sono ancora presenti in alcune parti del mondo in via di sviluppo. Alcuni vaccini vengono somministrati di routine a tutti i bambini, altri vaccini non vengono effettuati di routine, ma sono indicati solo per alcune persone e in particolari circostanze. Nonostante tutto ciò parte della popolazione adulta non si è sottoposta alla vaccinazione prevista. Per esempio, solo il 55,1% delle persone di > 65 anni di età ha effettuato il vaccino contro il tetano entro i 10 anni. Inoltre, i tassi di vaccinazione tendono a essere più bassi nei neri, negli asiatici e negli ispanici, rispetto ai bianchi.

La somministrazione dei vaccini avviene come da indicazione presente nel foglietto illustrativo. Normalmente questa avviene per via intramuscolare nella regione medio-laterale della coscia (nei neonati e nei bambini più piccoli) o nel muscolo deltoide (nei bambini in età scolare e negli adulti). Alcuni vaccini vengono

somministrati sottocute. Per la maggior parte dei vaccini, gli intervalli tra una somministrazione e l'altra possono variare senza perdita di efficacia. Fatta eccezione per alcuni casi, la **somministrazione simultanea** di vaccini è sicura, efficace, e utile; è particolarmente indicata su quei bambini che non si possono sottoporre a vaccinazioni future o su quegli adulti che richiedono più vaccini prima di effettuare un viaggio internazionale. Una eccezione è data dalla somministrazione simultanea del vaccino coniugato pneumococcico 13-valente (PCV13) e del vaccino anti-meningococco coniugato MenACWY-D in bambini con asplenia funzionale o anatomica; queste vaccinazioni non devono essere somministrate durante la stessa visita, ma devono avere una differenza di ≥ 4 settimane. La somministrazione simultanea può comportare la somministrazione di vaccini combinati o l'uso di ≥ 1 vaccino a antigene singolo. Utilizzando sedi di inoculo diverse e siringhe separate, possono essere somministrati più vaccini contemporaneamente. Se i vaccini a virus vivo e inattivato (varicella e morbillo-parotite-rosolia) non sono somministrati contemporaneamente, devono essere somministrati a ≥ 4 settimane di distanza.

Le **restrizioni** e le **precauzioni** sono condizioni che possono aumentare il rischio di sviluppare effetti collaterali causati dal vaccino oppure possono compromettere la capacità di un vaccino di indurre una risposta immunitaria. Queste condizioni sono generalmente temporanee motivo per cui il vaccino può essere somministrato in un secondo momento. A volte la vaccinazione è indicata quando esiste una precauzione effettiva, dato che gli effetti benefici del vaccino superano il rischio di una reazione avversa al vaccino.

Le **controindicazioni** sono condizioni che aumentano il rischio di sviluppare reazioni gravi. Un vaccino non deve essere somministrato quando è presente una controindicazione.

I vaccini utilizzati contro le principali malattie infettive attualmente in uso sono i seguenti:

- **Il vaccino contro la Poliomelite**: è una malattia causata da un virus che, dopo avere provocato un'infezione a livello intestinale, può localizzarsi nel sistema nervoso, causando la paralisi di uno o più arti e/o dei muscoli respiratori;
- **Il vaccino contro la Difterite**: è una malattia batterica grave (mortale nel 5-10% dei casi, anche in presenza di terapia) trasmessa principalmente per via aerea. La difterite è dovuta all'azione di una tossina che può agire sul tessuto cardiaco, sui reni, sul fegato, sul sistema nervoso, causando danni anche permanenti;

- **Il vaccino contro la Pertosse:** è una malattia batterica che può presentare quadri di gravità variabile a seconda dell'età: sono caratteristici gli accessi di tosse convulsiva, cui segue un periodo di assenza di respiro (apnea) più o meno prolungato e vomito;
- **Il vaccino contro il Tetano:** è una grave malattia batterica, causata da un bacillo presente nell'ambiente, che può penetrare attraverso ferite, anche banali, e produce una tossina potentissima, che agisce sulle terminazioni nervose, provocando spasmi muscolari incontenibili;
- **Il vaccino contro l'Epatite virale B:** è un'infezione del fegato causata da un virus a DNA appartenente al genere degli Orthohepadnavirus della famiglia degli Hepadnaviridae. È uno dei virus più infettivi al mondo. La malattia si trasmette attraverso il contatto con sangue o con altri liquidi biologici infetti, o può essere trasmessa da madre infetta a figlio durante la gravidanza. Molto spesso l'infezione non si presenta con una sintomatologia definita. Sia le forme manifeste che quelle inapparenti possono andare incontro a cronicizzazione, in percentuali tanto maggiori quanto minore è l'età al momento dell'infezione, con conseguenze quali epatite cronica attiva, cirrosi epatica, cancro del fegato, che si manifestano a distanza di molti anni;
- **Il vaccino contro le meningiti:** sono malattie infettive che provocano un'infiammazione delle membrane che avvolgono il cervello e il midollo spinale (le meningi). La forma virale (meningite asettica) è quella più comune, solitamente non ha conseguenze gravi e si risolve nell'arco di una decina di giorni. La forma batterica, invece, è più rara ma estremamente più seria e può avere conseguenze letali;
- **Il vaccino contro l'infezione da Rotavirus:** l'infezione è causata da un virus trasmesso principalmente per via oro-fecale, ma anche per via respiratoria, per contatto interpersonale e attraverso il contatto con superfici contaminate. Nella maggior parte dei casi l'infezione si risolve entro pochi giorni, ma a volte, soprattutto nei bambini al di sotto dei 5 anni, può determinare pericolose gastroenteriti, che possono portare a considerevole perdita di liquidi e grave disidratazione, a causa della distruzione da parte del virus delle cellule dell'intestino tenue, responsabili del riassorbimento di acqua;

- **Il vaccino contro il Morbillo**: è una malattia provocata da un virus che si trasmette per via aerea, causando febbre alta, faringite, congiuntivite ed una caratteristica eruzione cutanea (esantema). Otiti, laringiti, broncopolmoniti e encefaliti sono complicanze frequenti del morbillo;
- **Il vaccino contro la Parotite**: è una malattia virale trasmessa per via aerea, che si manifesta solitamente con una caratteristica tumefazione delle ghiandole salivari. La malattia può decorrere in forma asintomatica o subclinica nel 30% dei casi. La parotite può determinare importanti conseguenze a carico dell'udito: è, infatti, la prima causa di sordità neurosensoriale infantile acquisita con un'incidenza pari a 5/100.000 casi di malattia. Il virus esercita la sua azione anche su altre ghiandole e su altri tessuti con possibili complicanze quali pancreatiti, meningo-encefaliti, tiroiditi, nefriti, pericarditi e, nei soggetti in età adulta, infiammazione degli organi della riproduzione;
- **Il vaccino contro la Rosolia**: è una malattia virale esantematica trasmessa per via aerea, che, in età infantile, ha generalmente un andamento benigno, anche se non sono rare le complicanze (miocarditi, pericarditi, epatiti, infiammazioni del sistema nervoso, sordità). L'infezione contratta da una donna in gravidanza può essere causa di aborto o di gravi anomalie fetali (Sindrome da rosolia congenita);
- **Il vaccino contro la Varicella**: è una malattia infettiva altamente contagiosa trasmessa per via aerea o contatto diretto con il contenuto delle vescicole disseminate sulla pelle; è provocata da un virus a DNA, il virus della Varicella zoster (VZV), appartenente alla famiglia degli Herpesvirus. È una malattia benigna, ma, se il virus che resta latente si riattiva, può provocare, anche a distanza di decenni, una manifestazione clinica localizzata, l'herpes zoster (Fuoco di S. Antonio);
- **Il vaccino contro l'Herpes Zoster**: è una patologia debilitante causata dallo stesso virus della Varicella Zoster, che resta latente a livello dei gangli dei nervi sensoriali e può riattivarsi, anche a distanza di molti anni dall'infezione primaria. L'incidenza dell'HZ aumenta notevolmente con l'avanzare dell'età ed è direttamente correlata al decadimento della

risposta cellulo-mediata. La localizzazione più frequente è a livello toracico, con rash cutaneo e nevralgia, solitamente limitati ad un lato del corpo, a fascia (il termine “zoster”, in greco significa, infatti, “cintura”). La localizzazione oftalmica coinvolge la branca oftalmica del nervo trigemino; può essere particolarmente dolorosa e rappresenta la localizzazione più frequente con l'aumentare dell'età;

- **Il vaccino contro infezione da Papilloma Virus umano (HPV)**: è responsabile di un'ampia gamma di patologie dell'apparato genitale tra cui i condilomi, le lesioni cervicali e le neoplasie anogenitali, in particolare il tumore del collo dell'utero;
- **Il vaccino contro l'Influenza**: è una malattia provocata da virus del genere Orthomixovirus, che infettano le vie aeree (naso, gola, polmoni). È molto contagiosa, perché si trasmette facilmente attraverso goccioline di muco e di saliva, con tosse e starnuti, ma anche semplicemente parlando vicino a un'altra persona, o per via indiretta, attraverso il contatto con mani contaminate dalle secrezioni respiratorie;
- **Il vaccino contro l'Epatite virale A**: è una malattia infettiva acuta causata da un virus a RNA appartenente al genere Heparnavirus della famiglia dei Picornaviridae, che aggredisce le cellule del fegato. Si trasmette prevalentemente per via oro-fecale. Non cronicizza mai.

I vaccini antitumorali: basi teoriche e sviluppo tecnologico negli ultimi 20 anni

Un passo importante nell'ambito vaccinale è stato l'avvento dei vaccini antitumorali che al giorno d'oggi sono ormai una realtà. Si possono prevenire tumori provocati dal virus dell'epatite B come l'epatocarcinoma o anche altri tipi di cancro come il cancro della cervice uterina, il linfoma a cellule B provocato quest'ultimo dal virus Epstein-Barr e il cancro dello stomaco dovuto all'Helicobacter Pylori.

I vaccini terapeutici, a differenza dei vaccini convenzionali utili a prevenire alcune patologie infettive, sono strumenti di cura che possono essere utilizzati per combattere tumori e malattie infettive croniche in atto. Negli ultimi decenni la ricerca oncologica ha fatto passi da gigante nella comprensione della relazione tra sistema immunitario e cancro. Queste scoperte hanno posto le basi per sfruttare il riconoscimento dei tumori da parte del sistema immunitario utilizzando un'immunizzazione simile a quella che allerta il sistema immunitario contro le

malattie infettive. Per analogia, questa nuova modalità terapeutica di intervento contro le malattie neoplastiche è stata denominata vaccinazione antitumorale. La vaccinazione in questo ambito negli ultimi 20 anni ha sfruttato avanzamenti tecnologici importanti nell'ambito delle biotecnologie, e sono state messe a punto nuove modalità di vaccinazione che hanno rivoluzionato le tipologie di preparazione dei vaccini contro COVID19. È tuttavia da sottolineare che la maggioranza di questi vaccini antitumorali di nuova generazione avevano avuto un ampio sviluppo preclinico, ma solo un iniziale sviluppo clinico: l'avvento della pandemia ha accelerato il loro sviluppo contro SARS-Cov-2 ed ha portato a dei successi importanti.

In questa tesi tratteremo in particolar modo di 2 tipologie di nuovi vaccini antitumorali che poi sono stati approvati per l'uso nel contrastare COVID19: quelli a mRNA e quelli basati su adenovirus.

Quali requisiti deve avere un'immunoterapia antineoplastica?

- Deve avere la capacità di avviare una risposta immune verso antigeni espressi dal tumore E/O e favorire la cross-presentazione di antigeni tumorali endogeni;
- Capacità di indurre il reclutamento di cellule effettrici immunitarie nel sito tumorale;
- Capacità di mantenere la funzionalità delle cellule immunitarie che riconoscono gli antigeni tumorali.

Quali sono i requisiti di un vaccino antitumorale ideale?

- Deve avere come bersaglio della risposta immunitaria preferibilmente un antigene di natura proteica presente sulle cellule neoplastiche, contro cui indirizzare la risposta immune;
- Una valida capacità di presentare l'antigene al sistema immunitario per stimolarne l'attivazione;
- Contenere anche un adiuvante in grado di potenziare l'attivazione del sistema immunitario;
- Appropriate tecniche di monitoraggio immunologico, per verificare l'andamento della vaccinazione.

Attualmente molti dei vaccini antitumorali sono in corso di sviluppo clinico. Un gran numero di studi che si sono sviluppati negli ultimi 25 anni hanno indicato che la mancata efficacia clinica è dovuta all'esistenza di numerosi meccanismi di elusione del sistema immunitario da parte della neoplasia: quali anergia delle

cellule T, tolleranza al tumore, down-regulation o perdita degli antigeni del sistema HLA nelle cellule tumorali. È inoltre di grande rilievo la presenza di diversi meccanismi di immunosoppressione della risposta immunitaria messi in moto dalle cellule mieloidi.

Sviluppo biotecnologico dei nuovi vaccini antitumorali

Per meglio comprendere come si è arrivati allo sviluppo dei nuovi vaccini a mRNA contro il Covid, è interessante leggere l'intervista al fondatore di BioNTech Christoph Huber, che insieme a Moderna sono le due aziende pioniere dei vaccini a mRNA, sviluppate a partire dai vaccini antitumorali.

I. Come siete riusciti a realizzare in così poco tempo il vaccino per il Covid?

"La tecnologia a mRNA era pronta: l'avevamo sviluppata nell'area oncologica, con già dieci anni di sperimentazioni cliniche. I primi studi risalgono addirittura a trent'anni fa. A metà gennaio del 2020, quando si sono diffuse le informazioni sul genoma del Sars-CoV-2, il mio amico e cofondatore di BioNTech, Ugur Sahin, in pochi giorni ha preparato il progetto di sviluppo del vaccino: gli ci è voluto così poco proprio perché ormai avevamo una prassi consolidata e due aziende altamente digitalizzate e robotizzate per sviluppare i vaccini in poco tempo. Poi, in un paio di settimane, abbiamo stretto il patto con Pfizer. Questo perché le società biotech piccole e medie come BioNTech sono eccellenti nello sviluppare cure innovative e superare le prime fasi di sviluppo, ma quando si arriva alla sperimentazione clinica di fase 3, con oltre 40 mila soggetti coinvolti, servono i mezzi e l'esperienza delle grandi case farmaceutiche, che sono anche più efficaci nello stringere accordi con i governi".

II. Cosa vi ha spinto a puntare tutto sull'mRNA?

"L'estrema duttilità di questa tecnologia. Tutte le azioni più importanti per mantenerci in vita sono compiute, nel nostro corpo, dalle proteine. Il Dna contiene le istruzioni necessarie a produrre tutte le proteine che ci servono. Ma il DNA resta al sicuro nel nucleo della cellula, non si arrischia a fuoriuscirne. Ciò che esce dal nucleo per raggiungere i ribosomi, ovvero le "fabbriche" delle proteine, è la molecola mRNA, o RNA messaggero. Quando i ribosomi sono raggiunti da un filamento mRNA si mettono a produrre le proteine da loro specificate. Noi oggi possiamo intervenire in questo processo grazie a degli mRNA prodotti in laboratorio e capaci di far fabbricare alle nostre cellule qualsiasi proteina possa servire per curare una malattia o per stimolare il sistema immunitario".

III. Oltre a questa straordinaria duttilità, ci sono altri vantaggi?

"I vaccini a mRNA sono più facili e più veloci da produrre rispetto ai vaccini basati su proteine (come il vaccino annuale contro l'influenza, che inocula una piccola proteina del virus nel corpo) o a quelli con vettore virale, che usano tipicamente un adenovirus per portare nel nucleo delle cellule le istruzioni necessarie a produrre gli antigeni. Le nostre cellule, poi, nel caso del vaccino per il Covid, non continuano a produrre proteine Spike ad libitum, perché una volta inoculato, e dopo aver fatto il suo lavoro, l'mRNA ha vita breve, si degrada in poche ore e viene eliminato".

IV. Come funzionano i vaccini antitumorali?

"Ne abbiamo realizzati più tipi. Il primo vaccino scatena il sistema immunitario contro un gruppo di antigeni che sono condivisi dalla maggioranza dei tumori di un certo tipo. La sperimentazione clinica ci dice che per i melanomi in fase avanzata otteniamo remissioni della malattia in più di un terzo dei pazienti, che rimangono stabili anche dopo due anni. Contiamo di mettere sul mercato il nostro vaccino entro il 2024. Nel frattempo abbiamo esteso questo progetto ai tumori al seno, alla prostata, al polmone. Il secondo tipo di vaccino anticancro che stiamo sviluppando ha un approccio diverso, personalizzato sul paziente".

V. Cosa si intende per "vaccino personalizzato"?

"Il cancro è causato da mutazioni genetiche. Ogni singolo tumore ne contiene un centinaio. Purtroppo circa il 97 per cento di queste mutazioni non è condiviso tra malati: sono come un'impronta digitale del paziente. Per questo serve un trattamento personalizzato. Noi confrontiamo, per ogni paziente, i genomi delle cellule cancerose e di quelle sane: così individuiamo le mutazioni. Poi selezioniamo quelle a più alto potere immunogenico, cioè più facilmente riconoscibili come "nemico" dal nostro sistema immunitario. E per ogni paziente sviluppiamo un vaccino contro le sue venti mutazioni più immunogeniche. Abbiamo i risultati di una prima sperimentazione clinica su 500 pazienti, ma non li abbiamo ancora pubblicati: posso dire che questo approccio sembra soprattutto efficace nel prevenire la ricorrenza del tumore".

VI. Ma potete produrre in tempo utile un vaccino diverso per ogni paziente, che nell'attesa può aggravarsi?

"Per come abbiamo organizzato il processo, riusciremo a produrre, per ogni paziente, il suo vaccino in meno di un mese dall'arrivo del campione tumorale: è un tempo incredibile. E proprio l'expertise che siamo stati costretti a maturare per bruciare sul tempo i tumori ci ha permesso anche di accelerare lo sviluppo del vaccino anti-Covid".

VII. In molti casi le cellule cancerose sanno diventare "invisibili" al sistema immunitario. Come affrontate questo problema?

"L'mRNA è ottimo per comandare alle cellule di produrre proteine a piacimento. Un approccio su cui stiamo lavorando lo usa per far produrre alle cellule cancerose delle citochine, ovvero sostanze che funzionano da sistema d'allarme segnalando la presenza di un nemico. In questo modo è come se la cellula cancerosa si "autodenunciasse" richiamando l'attenzione del sistema immunitario, che la distrugge".

VIII. Qual è il futuro di questi studi?

"Da un paio di anni stiamo lavorando a un vaccino a mRNA contro l'influenza, ma siamo ancora alla fase preclinica. E abbiamo iniziato a sviluppare vaccini mRNA contro l'HIV e la tubercolosi. In linea di principio, con questa tecnologia si possono rimpiazzare tutti i vaccini già esistenti. E si possono affrontare infezioni micobatteriche come la tubercolosi. E si può fare anche molto altro: per esempio, spingere le cellule a produrre piccole quantità di allergeni sufficienti ad abituare il sistema immunitario a non reagire in modo troppo aggressivo e così aumentare la nostra tolleranza alle allergie".

Tutto ciò fa intendere che lo sviluppo biotecnologico per quanto riguarda i vaccini antitumorali è da molti anni in via di sviluppo e perfezionamento, ciò ci porta ad un grande passo in avanti contro una delle malattie più incurabili della storia dell'umanità: il cancro. Poter dire finalmente che esiste una via più che percorribile per abbattere questa grande barriera, se così possiamo chiamarla, è quantomeno sensazionale.

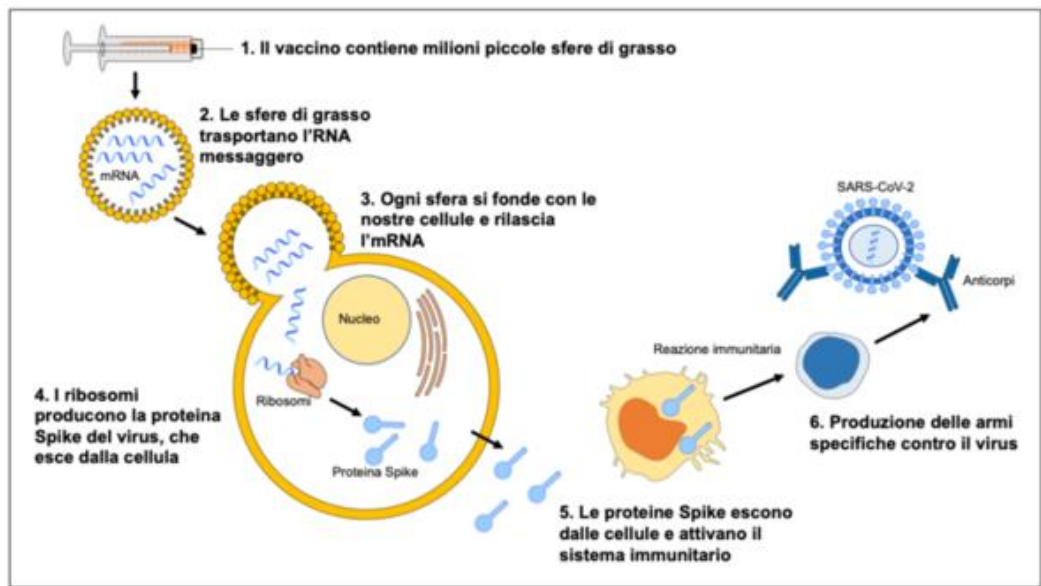
I vaccini a mRNA

I vaccini a mRNA, infatti, sono la nuova frontiera contro il cancro e combinano le conoscenze della biologia molecolare e dell'immunologia. Gli antigeni codificanti estranei al corpo umano vengono introdotti nelle cellule somatiche per sintetizzare gli antigeni grazie al sistema di espressione. L'importanza fondamentale degli antigeni endogeni è che inducono una forte risposta

immunitaria ed è ciò che si desidera per contrastare gli agenti patogeni in questione. Agli inizi degli anni 90' iniziava il vero sviluppo dei vaccini a mRNA studiandone gli effetti su cellule di topo in vivo per esprimere luciferasi, beta-galattosidasi e clorafenicolacetiltrasferasi. Sebbene i risultati raggiunti da questi studi fossero notevoli da quel momento in poi non si fecero più passi in avanti sostanziali per quanto riguarda l'mRNA: le sfide erano l'instabilità dell'mRNA, l'eccessiva immunogenicità e la mancanza di un efficace sistema di rilascio dell'mRNA. Ma durante questi decenni studi e ricerche sono stati effettuati e grazie anche all'avanzamento di tecniche sperimentali innovative hanno portato a progressi per quanto riguarda la sicurezza, l'efficacia e la produzione industriale dei vaccini a mRNA.

I vaccini che usano come bersaglio gli antigeni associati al tumore o specifici del tumore possono specificamente attaccare e distruggere le cellule tumorali che sovra esprimono gli antigeni e stimolano la memoria immunologica.

Perciò, i vaccini contro il cancro offrono un trattamento specifico, sicuro e tollerabile rispetto ad altri agenti immunoterapici, ma uno tra i tanti problemi riscontrati durante questi studi è stata la grande variabilità delle cellule cancerose e quindi l'impossibilità da parte dei ricercatori di formulare una risposta efficace verso tutti i tipi di tumori.



I vaccini a vettore adenovirale

Un altro tipo di vettore in grado di veicolare il vaccino all'interno delle cellule è l'Adenovirus. Gli adenovirus sono considerati vettori eccellenti per il rilascio degli antigeni alle cellule di mammifero a causa della loro capacità di indurre sia le risposte immunitarie innate che adattative. I vaccini basati su adenovirus sono

usati contro un'ampia gamma di agenti patogeni, compreso il *Mycobacterium tuberculosis*, il virus dell'immunodeficienza umana (HIV) e il *Plasmodium falciparum*. Sono virus a doppia elica (dimensione del genoma: 34-43 KB; dimensione del virione: 70-90 nanometri).

Un vaccino a vettore virale utilizza un virus (generalmente non in grado di replicarsi) per portare all'interno della cellula la sequenza del codice genetico che codifica per la proteina di interesse, nel caso dei vaccini contro il COVID-19 la proteina *spike*. Il sistema immunitario si attiva contro la proteina e produce una risposta immunitaria, incluso la produzione di anticorpi che, qualora il soggetto entrasse a contatto con il virus, lo proteggerebbero dall'infezione.

Ci sono parecchi vantaggi nell'utilizzare i vettori adenovirali per il trasferimento degli antigeni desiderati nelle cellule ospiti, allo scopo di ottenere le risposte immunitarie desiderate. Per esempio, a causa di un genoma relativamente grande e ben-caratterizzato, gli adenovirus sono facili da manipolare geneticamente. Poiché essi causano infezioni negli esseri umani la loro replicazione virale può essere inibita tramite appunto modificazioni genetiche. Per questo i vaccini basati su adenovirus sono sicuri e presentano pochi effetti collaterali.

Questi virus sono capaci di infettare una vasta gamma di cellule in divisione e non, a causa di un vasto tropismo del tessuto. Altri fattori che rendono i vaccini basati su adenovirus più vantaggiosi sono costituiti da una più alta termo-stabilità e da una facile applicazione attraverso le mucose respiratorie e sistemiche.

A differenza di altri vettori virali, quali il lentivirus ed il retrovirus, il rischio di mutagenesi di inserzione è minore in caso degli adenovirus poiché non integrano il genoma virale con il genoma ospite.

Un altro vantaggio dei vaccini basati su adenovirus è la loro capacità di indurre forti risposte immunitarie sia di tipo innato che adattativo. In particolare, gli adenovirus possono indurre sia le cellule T CD4⁺ che le risposte immunitarie mediate dalle cellule T CD8⁺.

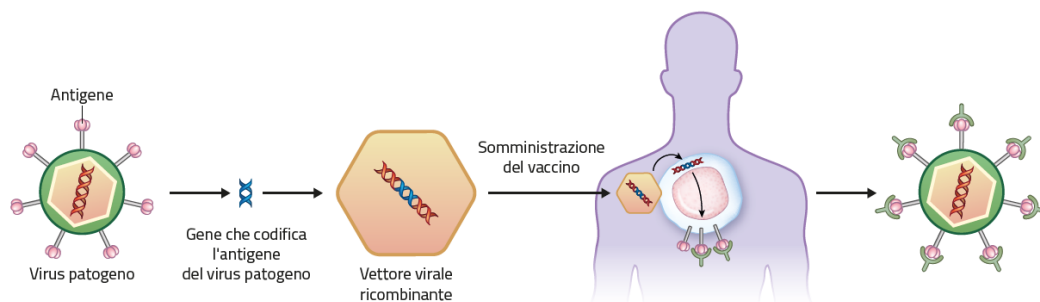
Inoltre, gli adenovirus esprimono i PAMPs che stimolano il sistema immunitario innato. L'associazione dei PAMPs al recettore in grado di riconoscere l'agente patogeno della cellula ospite porta alla produzione di citochine pro-infiammatorie ed alla maturazione delle cellule che presentano l'antigene.

Attualmente l'Agenzia Europea per i medicinali e l'AIFA hanno finora autorizzato due vaccini anti COVID-19 a vettore virale:

- **Il vaccino Vaxzevria** prodotto da AstraZeneca è un vaccino destinato a prevenire la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) nelle persone di età pari o superiore ai 18 anni. È progettato per preparare il sistema immunitario a identificare e contrastare il coronavirus (SARS-CoV-2)

responsabile della malattia COVID-19. Il vaccino è composto da un adenovirus di scimpanzé incapace di replicarsi (ChAdOx1 - Chimpanzee Adenovirus Oxford 1) e modificato per veicolare l'informazione genetica destinata a produrre la proteina Spike del virus SARS-CoV-2. La tecnologia del vettore virale utilizzata per questo vaccino è già stata testata con successo ed è utilizzata per prevenire altre malattie.

- Anche il **vaccino Jcovden** (ex COVID-19 Vaccine Janssen) è usato per prevenire la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) nelle persone di età pari o superiore a 18 anni. È un vaccino monovalente composto da un vettore ricombinante basato su adenovirus umano di tipo 26 incompetente per la replicazione, che codifica per la sequenza completa della glicoproteina spike (S) di SARS-CoV-2 in una conformazione stabilizzata. Dopo la somministrazione, la glicoproteina S di SARS-CoV-2 viene espressa in maniera transitoria, stimolando sia anticorpi anti-S neutralizzanti che altri anticorpi specifici anti-S funzionali, così come risposte immunitarie cellulari dirette contro l'antigene S, che possono contribuire a proteggere contro COVID-19.



CONCLUSIONE

Prima del ventunesimo secolo i vaccini a mRNA erano meno attraenti. Il motivo è riassunto in due aspetti. Da un lato, gli mRNA non sono facili da ottenere modificati, non sono stabili come il DNA e le proteine e sono vulnerabili alla degradazione, ma non pongono rischi sostanziali per quanto riguarda la sicurezza. Per quanto riguarda il problema della loro immunogenicità, nel 2005, Katalin Kariko e Drew Weissman, dell'Università della Pennsylvania, avevano realizzato una svolta scoprendo che la chiave per indurre le risposte immunitarie mediate dall'mRNA era un nucleotide (l'uracile). Esso sfugge alla sorveglianza del sistema immunitario una volta modificato in pseudouracile. Dopo aver risolto il problema anche della loro stabilità, realizzando dei liposomi che li inglobano e li proteggono dalla degradazione, lo sviluppo dei vaccini a mRNA diventò più rapido. Durante questi anni, i vaccini a mRNA si sono evoluti in sintesi, modifica, e produzione.

Durante l'epidemia di COVID 19, i vaccini a mRNA hanno attratto maggiormente l'attenzione pubblica per la loro sicurezza, efficacia e produzione industriale.

Ciò ha portato ad un'evoluzione piuttosto rapida dei vaccini a mRNA che prima dell'avvento del COVID 19 erano in corso di studio in trial clinici per lo sviluppo dei vaccini antitumorali. Questi ultimi si ritengono la nuova frontiera per la guerra contro uno dei peggiori nemici della salute umana: il cancro.

Parallelamente anche i vaccini ad adenovirus sono stati sviluppati come vaccini antitumorali, e sono stati proposti come vaccini contro il COVID19 durante la pandemia.

Tuttavia, alcuni rari eventi avversi sviluppati in persone vaccinate con i vaccini ad adenovirus hanno rapidamente portato ad una loro dismissione, a favore dei vaccini a RNA.

Entrambe le tipologie di vaccini, mRNA e Adenovirus, sono quindi nate dalla ricerca in ambito oncologico, e sono state rapidamente traslate in vaccini nella lotta contro il COVID19.

È possibile ipotizzare ora che l'ampio utilizzo di questi vaccini contro una malattia infettiva nella popolazione mondiale possa ora generare una quantità di informazioni che potranno essere sfruttate in futuro per fornire dei nuovi strumenti nella lotta contro il cancro.

BIBLIOGRAFIA

- 1) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33632261/>
- 2) <https://www.aifa.gov.it/>
- 3) https://www.repubblica.it/venerdi/2021/10/05/news/cureremo_il_cancro_con_i_vaccini-319935137/
- 4) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33593376/>
- 5) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33632261/>