

Sviluppo di anticorpi ricombinanti *single-chain* per la prevenzione della progressione tumorale di lesioni associate a papillomavirus umano

Carla Amici¹, Francesca Verachi^{1,2}, Paola Di Bonito², Zulema Percario³, Francesca Paolini⁴, Aldo Venuti⁴, Luisa Accardi².

¹ Università di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia, Roma; ² Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di malattie infettive, Roma; ³ Università degli studi Roma Tre, Dipartimento di Scienze, Roma; ⁴ Istituto nazionale tumori Regina Elena, Unità di Virologia, Roma.

La terapia delle lesioni associate a papillomavirus umano attualmente rappresenta un'area di studio e di grande interesse medico. Questo perché il papillomavirus ad alto rischio (hr-HPV), oltre ad essere la causa riconosciuta della totalità dei casi di tumore della cervice uterina (CC) e di tumori dell'area anogenitale, stanno emergendo come agenti eziologici di tumori in altri distretti del corpo quali l'orofaringe (HNC). Nonostante i vaccini anti hr-HPV si siano dimostrati in grado di prevenire l'infezione persistente e di conseguenza lo sviluppo delle lesioni tumorali, l'esistenza di individui immunosoppressi o con infezioni pregresse rende necessaria la messa a punto di interventi terapeutici appropriati e non invasivi in grado di prevenire la progressione tumorale delle lesioni da basso ad alto grado.

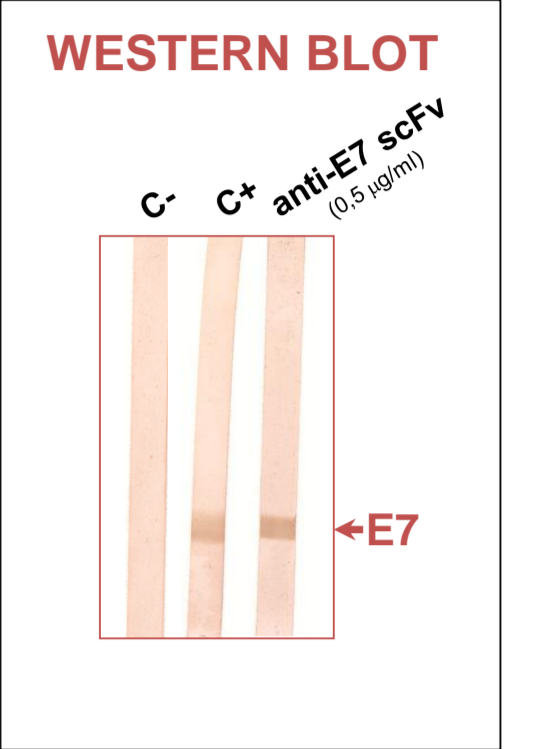
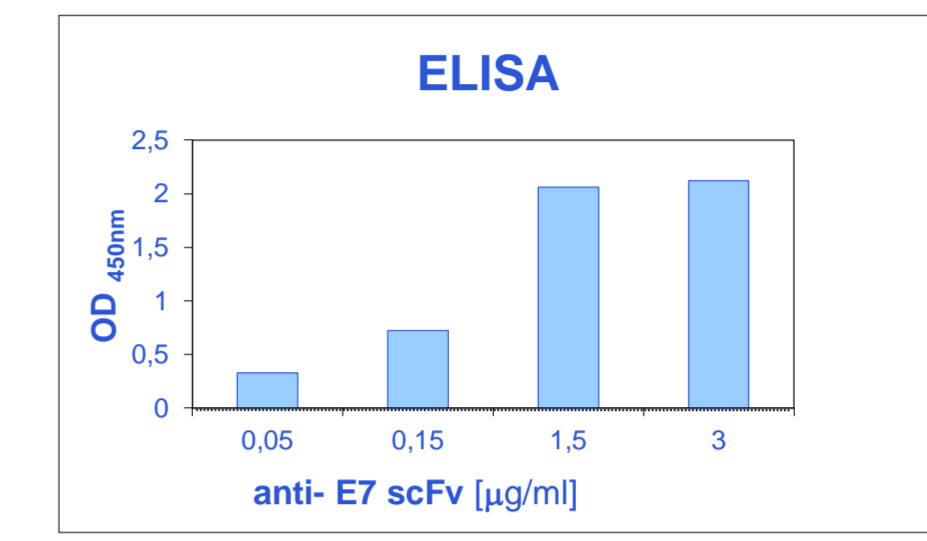
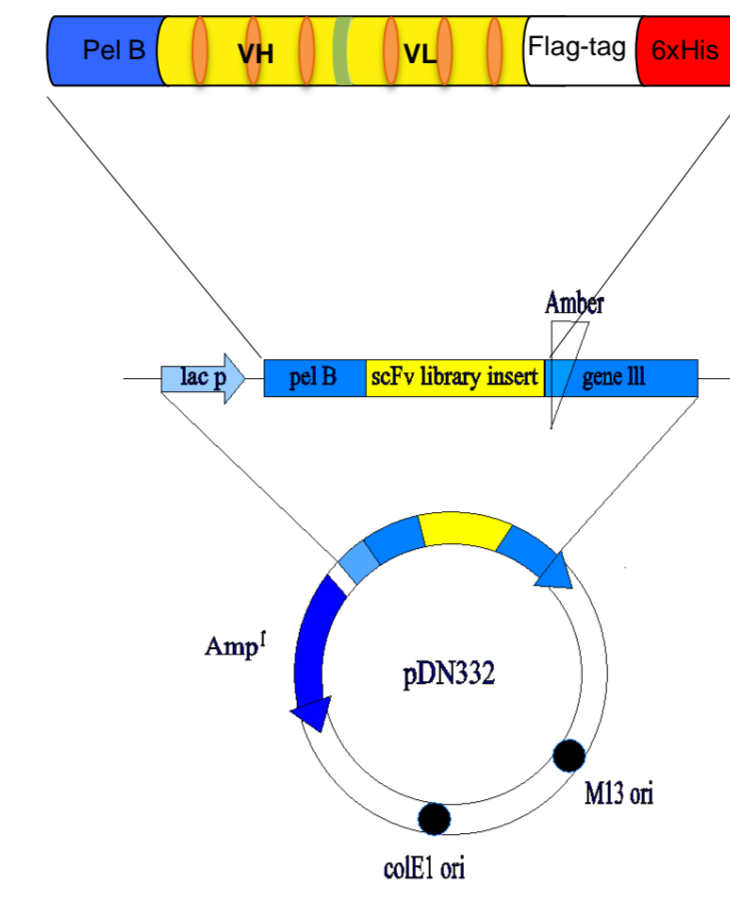
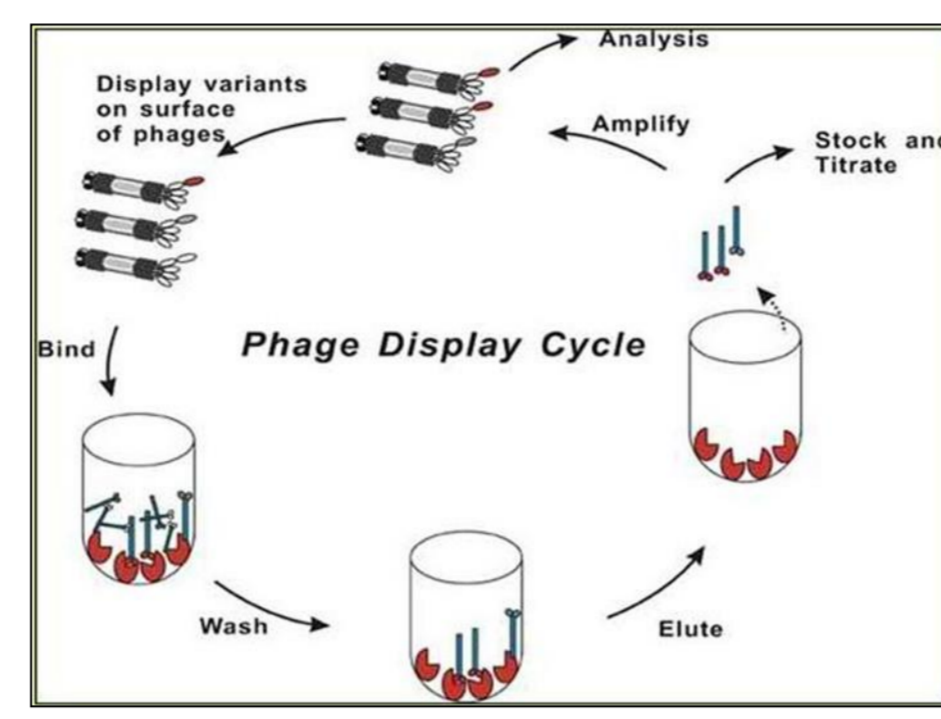
La nostra strategia terapeutica si basa sull'uso di frammenti anticorpali a singola catena (scFvs) specifici per le oncoproteine E6 ed E7 che, interferendo nei *pathways* cellulari coinvolti nel controllo della proliferazione e della sopravvivenza cellulare, sono responsabili della trasformazione tumorale delle cellule infette. In particolare, abbiamo selezionato da *libraries* di anticorpi ricombinanti alcuni scFvs contro le proteine oncogene di HPV di tipo 16, il principale hr-HPV responsabile di più del 50% dei tumori della CC e di circa il 25% dei tumori testa/collo.

Abbiamo dimostrato che gli scFvs da noi selezionati, quando espressi come *intrabodies* in compartimenti specifici delle cellule infette, sono in grado di contrastare l'attività dei loro *target* molecolari, col risultato finale di inibire la proliferazione e ripristinare l'apoptosi delle cellule tumorali HPV-positive. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'espressione di questi scFvs è in grado di prevenire lo sviluppo di tumori HPV in modelli preclinici. Attualmente sono in corso studi di efficacia antitumorale in *setting* terapeutico.

Per una possibile applicazione in medicina traslazionale, è prioritario lo studio delle modalità di *delivery* degli scFvs sia come proteine che come DNA, anche tenendo conto delle potenzialità derivanti dalla eventuale ingegnerizzazione di queste molecole.

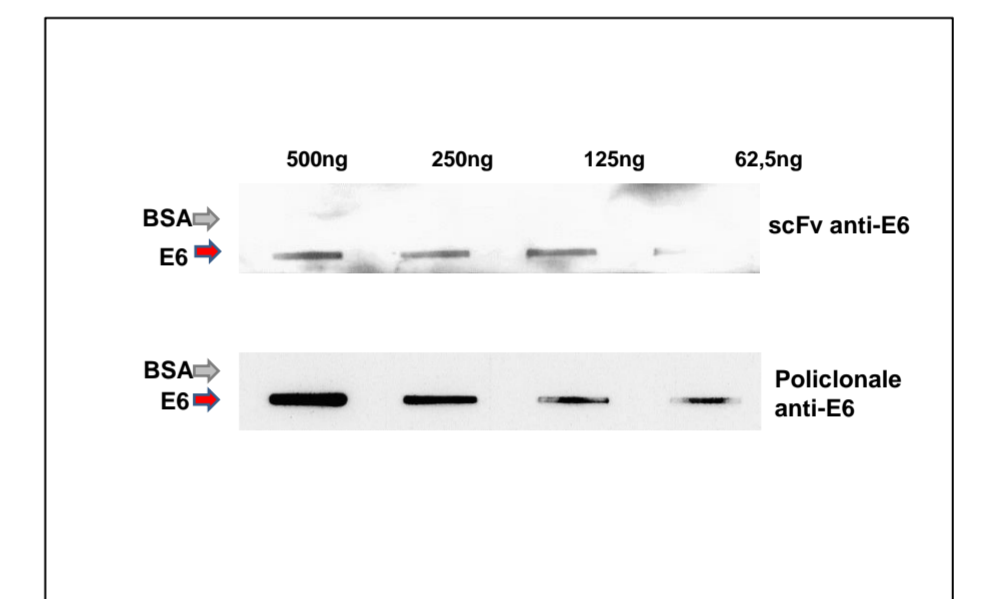
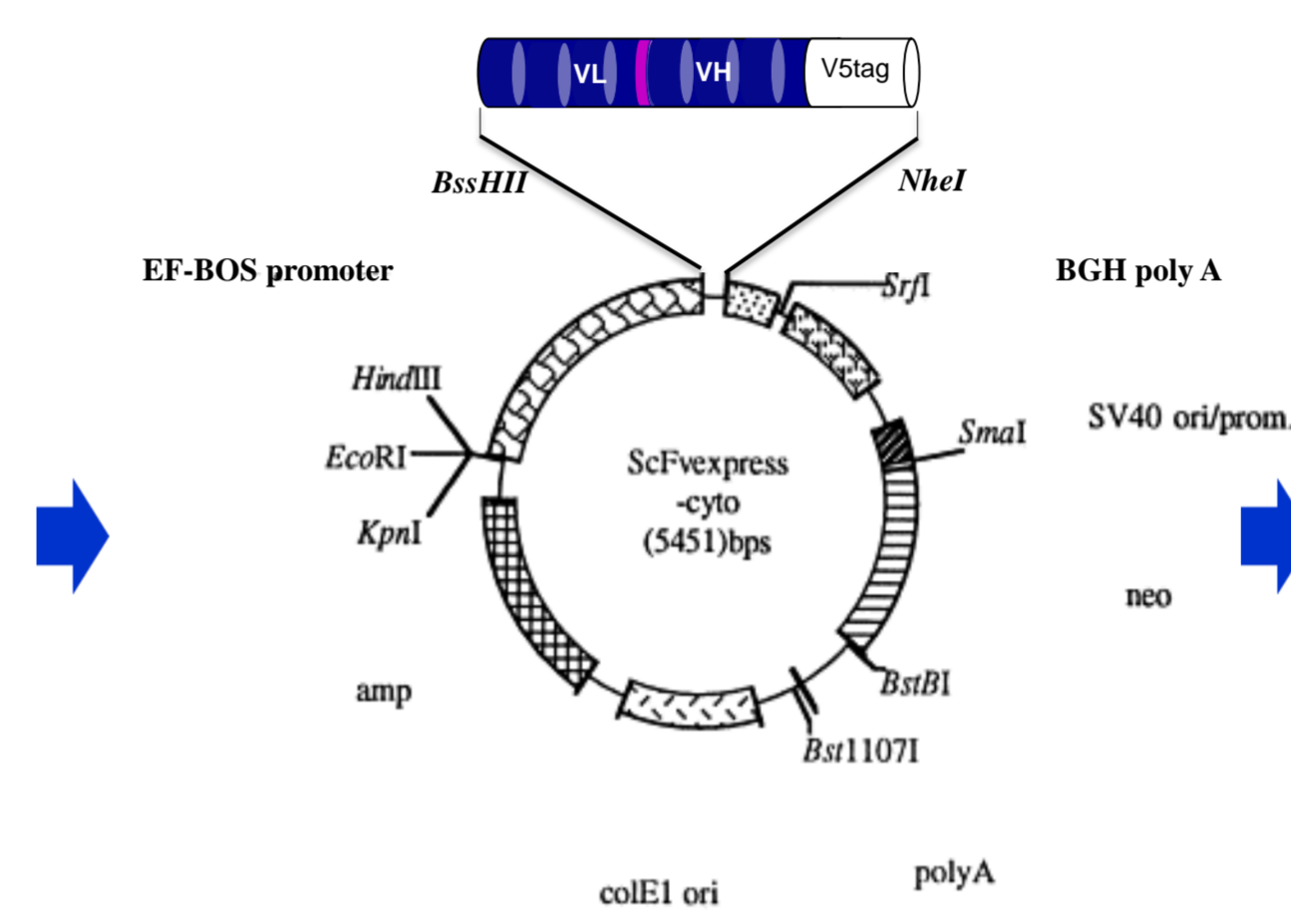
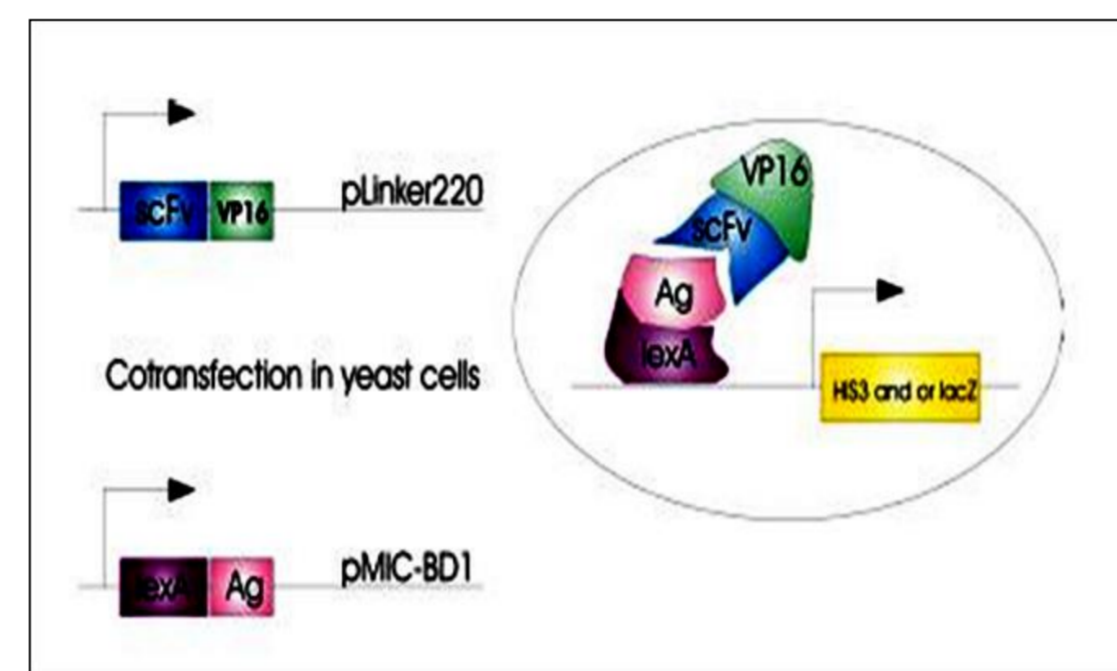
Selezione e specificità dell' anticorpo single-chain contro la proteina E7 di HPV16

Phage Display technology (ETH-2 library)

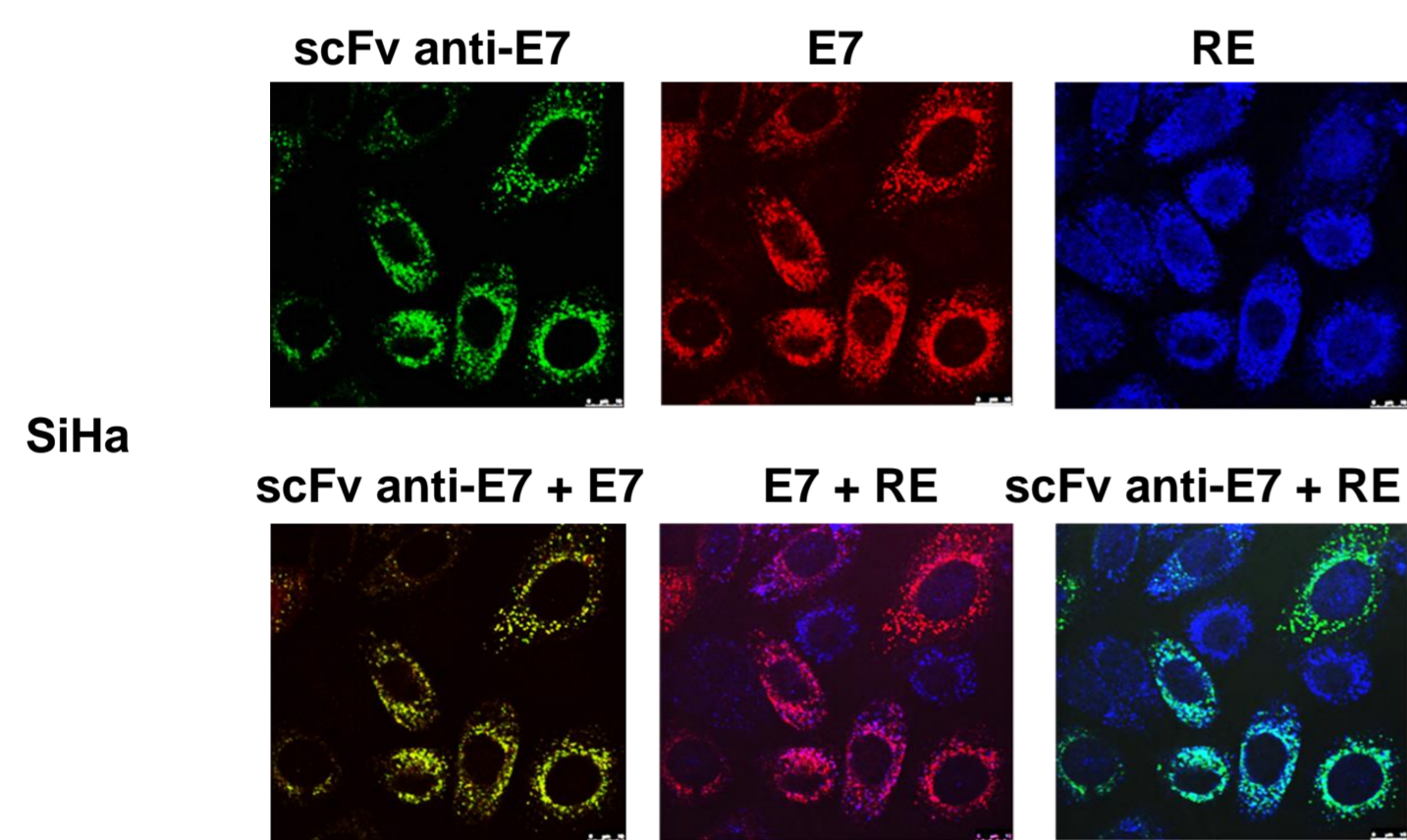


Selezione e specificità dell' anticorpo single-chain contro la proteina E6 di HPV16

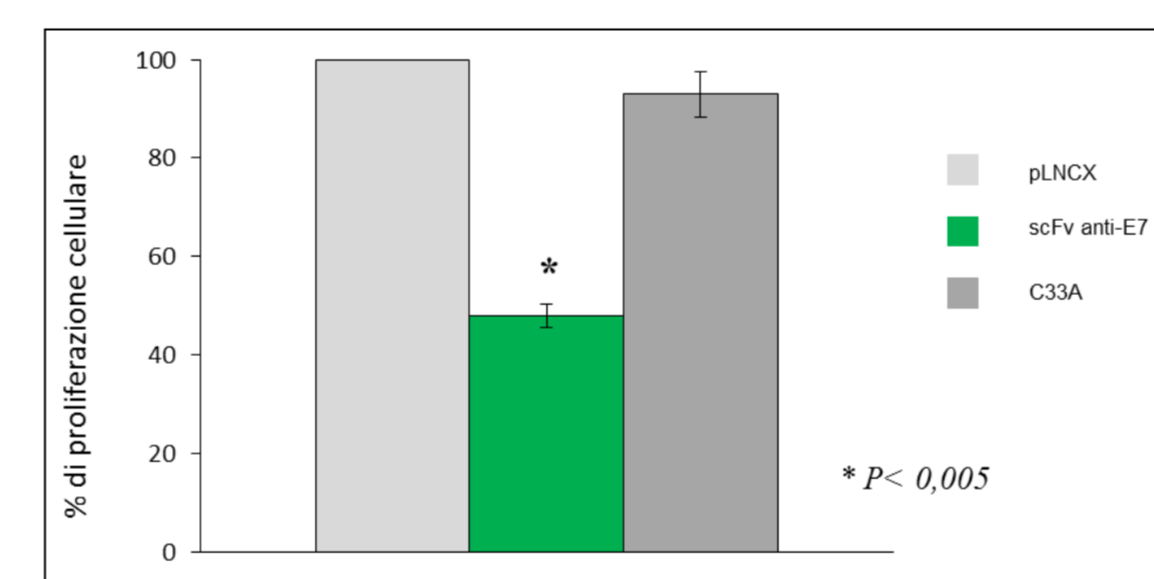
Intracellular Antibody Capture Technology (SPLINT library)



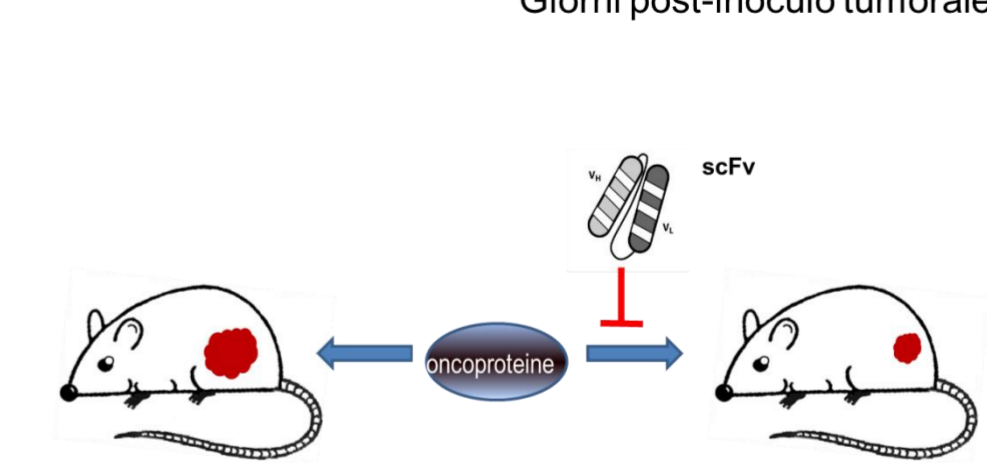
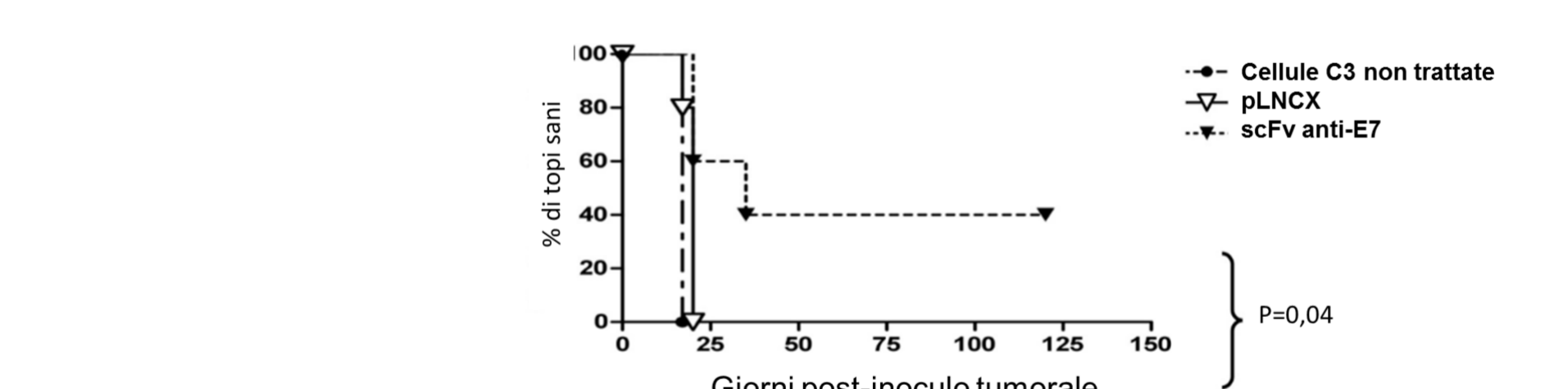
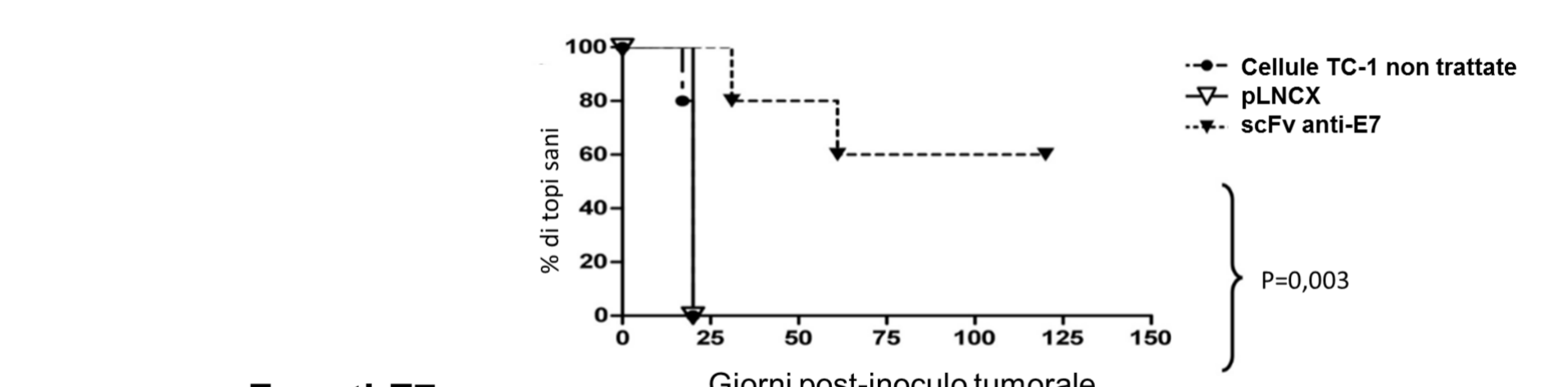
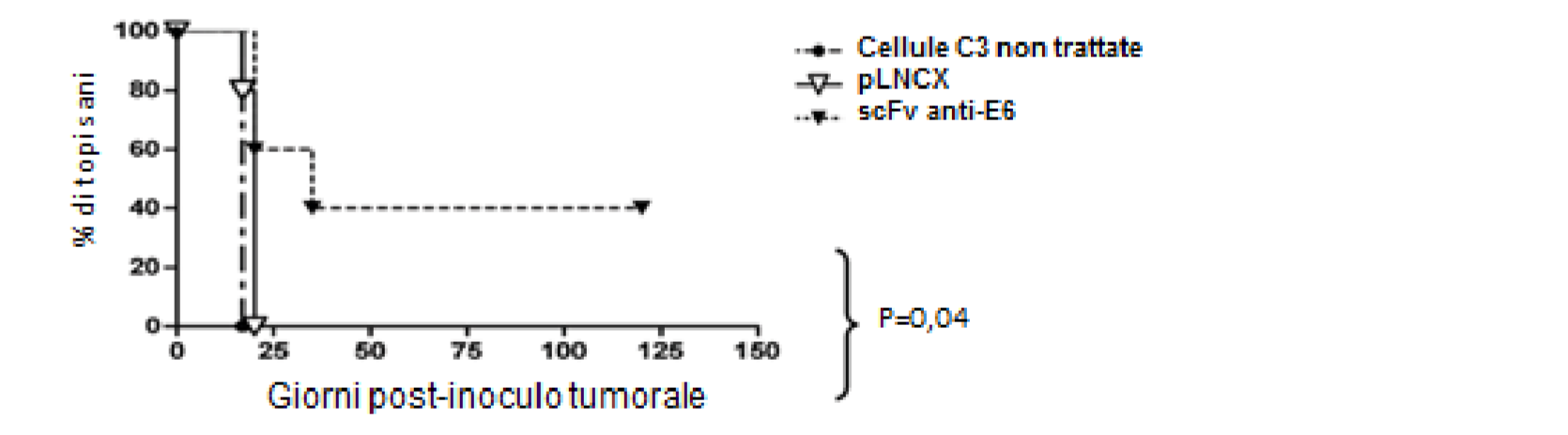
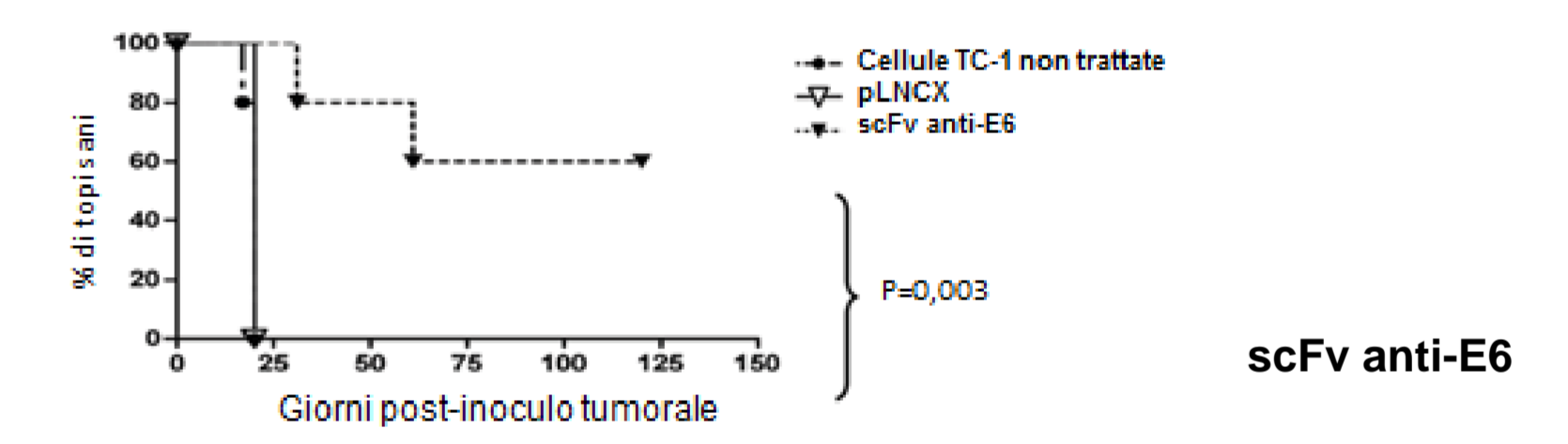
Anticorpo intracellulare anti-E7: espressione nel reticolo endoplasmatico (RE)



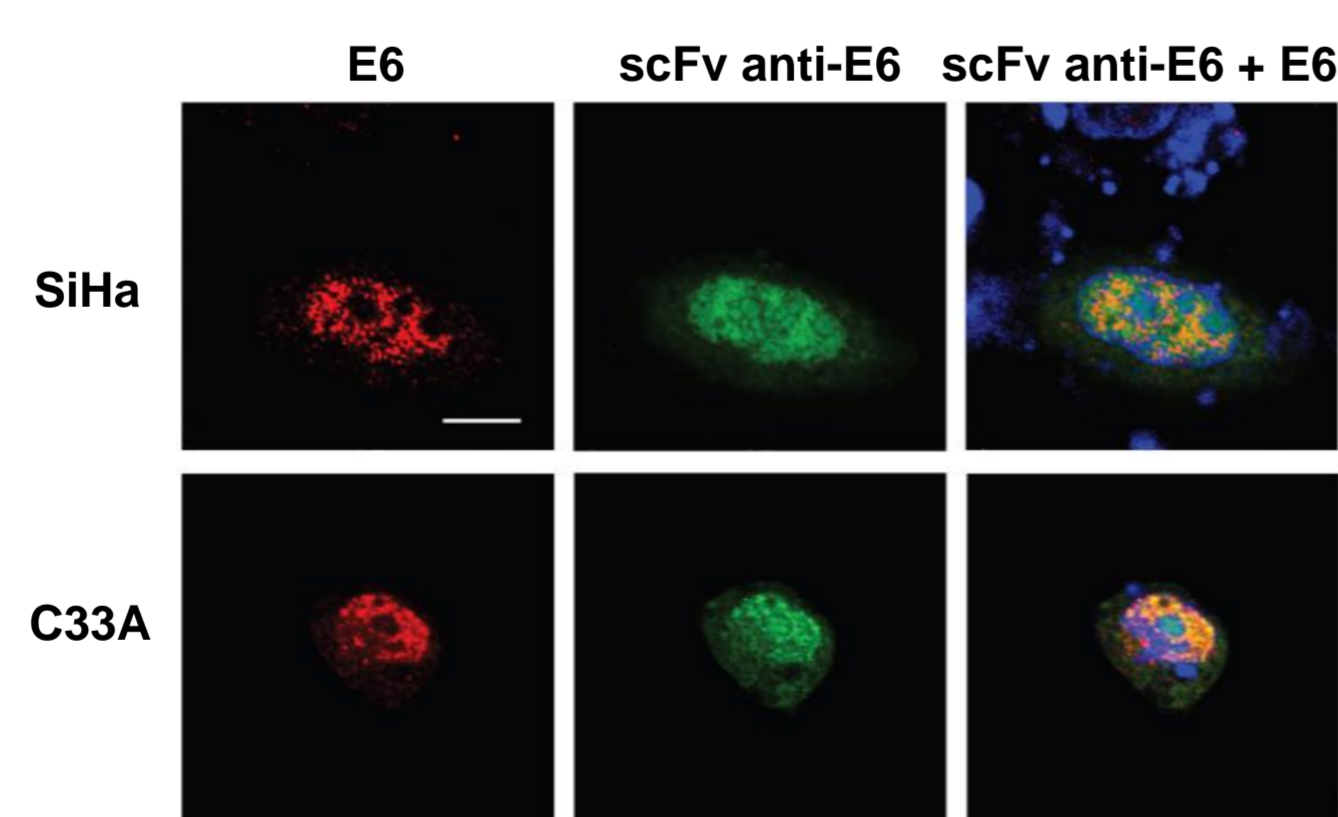
Attività anti-proliferativa in cellule HPV16+



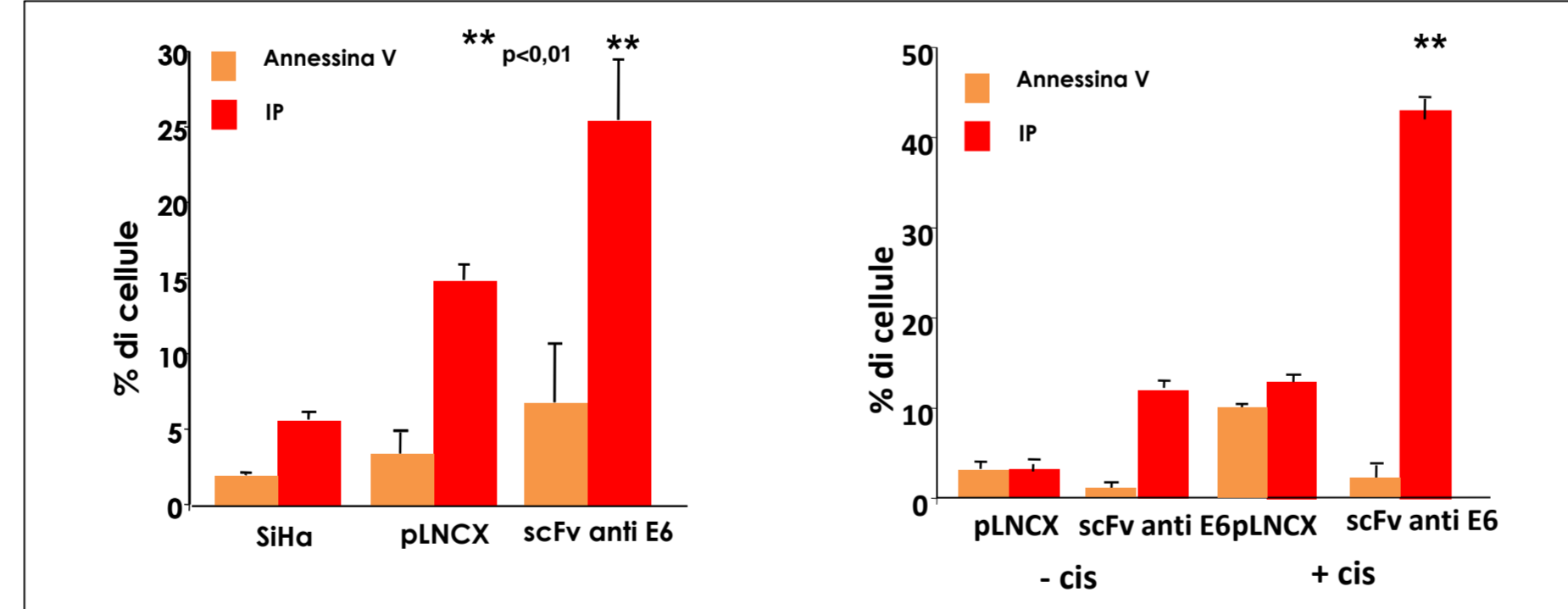
Effetto antitumorale *in vivo* degli anticorpi intracellulari contro le oncoproteine di HPV16



Anticorpo intracellulare anti-E6: espressione nel nucleo



Effetto pro-apoptotico in cellule HPV16+

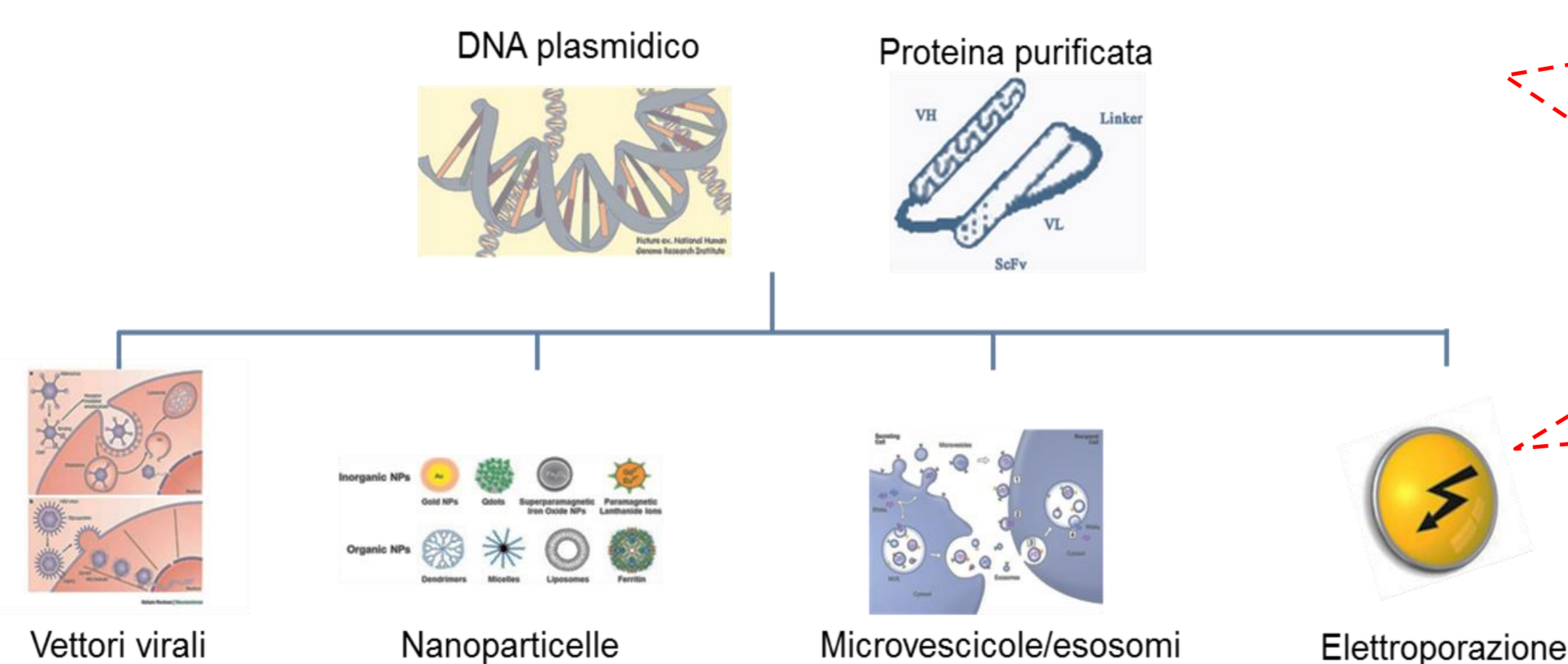


Trasferimento degli anticorpi scFv in clinica

Punti di forza degli scFvs

- selezione contro antigeni diversi → molteplicità di «targeting»
- specificità per il target → «safety»
- ingegnerizzazione → formati diversi
- produzione su scala industriale → sviluppo di farmaci

Sviluppi necessari



Sviluppi possibili

- Terapia delle lesioni precancerose associate a HPV:
- uso combinato di anticorpi selezionati contro antigeni diversi per una maggiore efficacia terapeutica
- costruzione di formati diversi (anticorpi bispecifici, Fab, diabody) per una terapia mirata