

Rekombinantní vakcíny

Virové vektory pro terapii nádorů

Němečková Š.

Oddělení experimentální virologie



1979 - První rekombinantní vektory pro expresi v eukaryotických buňkách

SV40 a ADV2 ([Yaniv M.](#), [Dev Biol Stand.](#) 1979;42:87-91. Construction of hybrid viruses in vitro and their possible use for the production of specific viral or cellular proteins).

1982 - První rekombinantní vaccinia virus

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 79, pp. 4927–4931, August 1982
Biochemistry

Construction of poxviruses as cloning vectors: Insertion of the thymidine kinase gene from herpes simplex virus into the DNA of infectious vaccinia virus

(recombination *in vivo*/replica filter plating/recombinant DNA/eukaryotic virus vector)

DENNIS PANICALI AND ENZO PAOLETTI

1983 - První rekombinantní VACV vakcína

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 80, pp. 5364–5368, September 1983
Genetics

Construction of live vaccines by using genetically engineered poxviruses: Biological activity of recombinant vaccinia virus expressing influenza virus hemagglutinin

(recombinant DNA/eukaryotic virus vector/hemagglutination inhibition/immunogenic response/gene expression)

DENNIS PANICALI, STEPHEN W. DAVIS, RANDALL L. WEINBERG, AND ENZO PAOLETTI*

Center for Laboratories and Research, New York State Department of Health, Albany, New York 12201

Communicated by W. K. Joklik. *Mau* 23, 1983



Živé rekombinantní viry - platformy pro profylaktické vakcíny

(přehled klinických studií - Cawood R et al., Trends in Mol Med, 2012)

Ortopoxviry

Ptačí poxviry

Adenoviry

Adeno-asociované viry

Alfaviry – Sindbis, Semliki forest virus

VSV

a další (Poliovirus, virus spalniček, herpet.v)

V čem se vektory odlišují?

- Velikost inzertu
- Stabilita genomu
- Inzerční mutageneze
- Typ imunity – protilátky, buněčná imunita
- Cross-priming
- Promořenost populace

Heterologní Prime-boost strategie

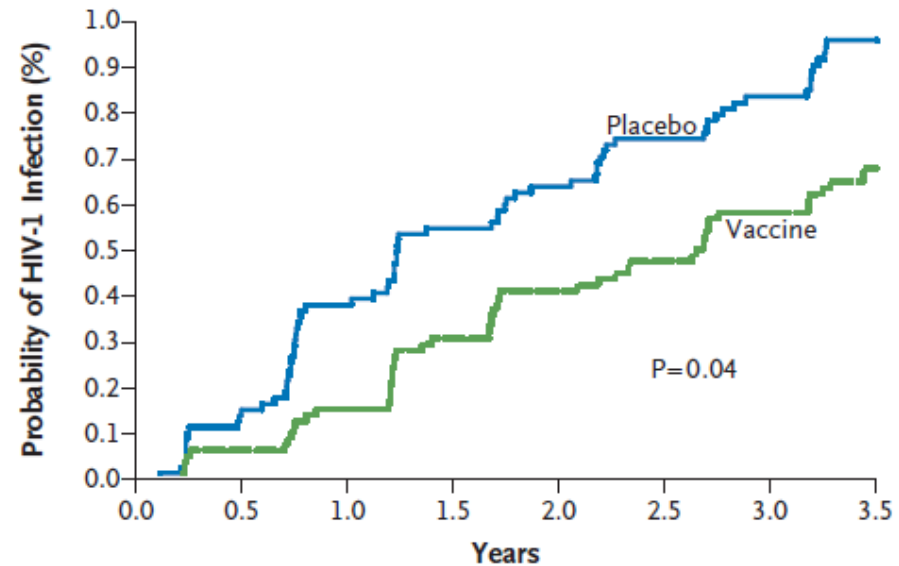
malariae, TBC, HIV, chřipka, ebola, dengue, herpes, hepatitis C

Studie prime boost RV144 vCP1521/AIDSVAX Thajsko 2004-9

Heterologní prime-boost

- vCP1521 (gp120 HIV E, gp41 HIV LAI, gag, proteáza HIV LAI) (Sanofi-Pasteur) 4x prime
- AIDSVAX (Vaxgen) gp120 HIV B-2x boost
- Neutralizační protilátka anti-V2

C Modified Intention-to-Treat Analysis



No. at Risk

Placebo	8198	7775	7643	7441	7325
Vaccine	8197	7797	7665	7471	7347

Cumulative No. of Infections

Placebo		30	50	65	74
Vaccine		12	32	45	51

30% účinnost

Živé rekombinantní viry - platformy pro terapeutické vakcíny proti nádorům

(přehled klinických studií - Cawood R et al., Trends in Mol Med, 2012)

Atenuované VACV (MVA, NYVAC)

Ptačí poxviry-FowlPV, CanaryPV (ALVAC),

Adenoviry

Adeno-asociované viry

Alfaviry – Sindbis, Semliki forest virus

Virus spalniček

METODA

Vakcína se podává s.c., i.m.

Stimulace vrozené + adaptivní imunity

Nádorové vakcíny

ANTIGENY TAA

nízká imunogennost

MelanA, tyrosináza
MAGE1+ další CT ag.

Ig idiotyp

CEA, 5T4

MUC

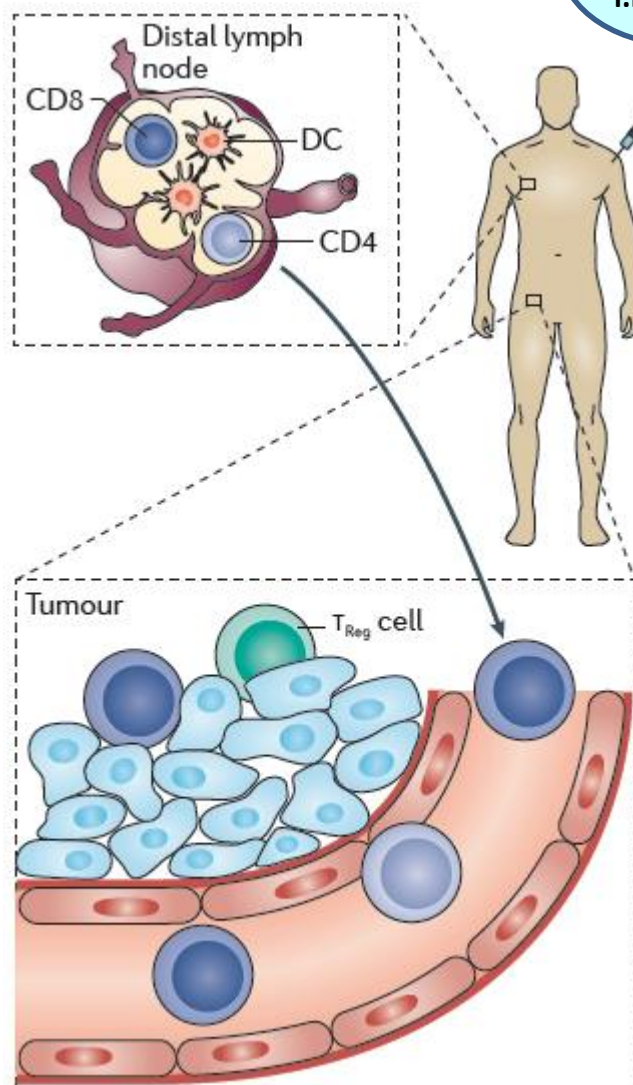
PSA, PAP, PSMA

P53

Telomeráza, Survivin

Virové onkogeny

etc.....



NÁDORY

imunosupresivní
prostř.

Maligní melanom

Ca. prostaty

Mnohoč. myelom

Ca. ovaria

EBV+ lymfom

Zvýšení účinnosti protinádorové vakcinace vektorem - KOSTIMULACE

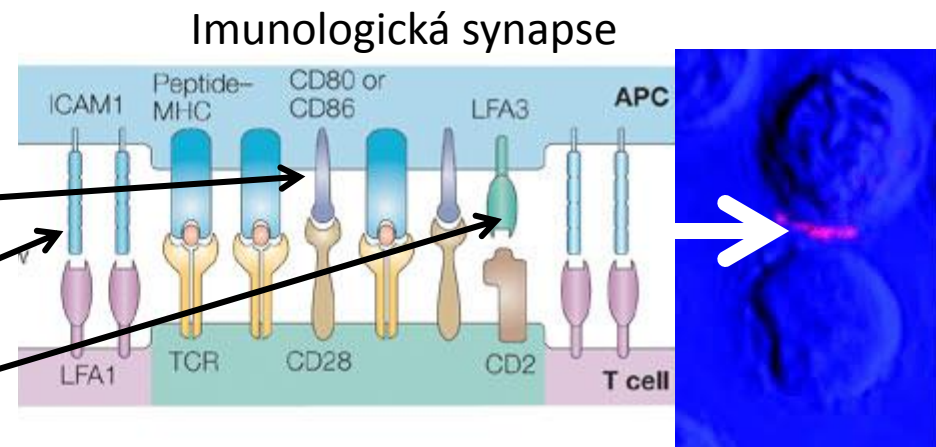
Koexprese genů:

Kostimulační molekuly

- B7.1 (CD80)
- B7.2 (CD86)
- TRICOM = B7.1+ICAM-1+LFA3

Cytokiny:

- IL2



Slibné vakcíny proti nádorům

- PANVAC: VACV+FV/TRICOM-CEA+MUC1
- PROSTVAC: VACV+FV/TRICOM-PSA
- TG4010: MVA+MUC-1+IL2
- TG1031: VACV+MUC-1+IL2



<http://cronodon.com/BioTech/Poxvirus.html>

Hodnocení efektů vakcinace

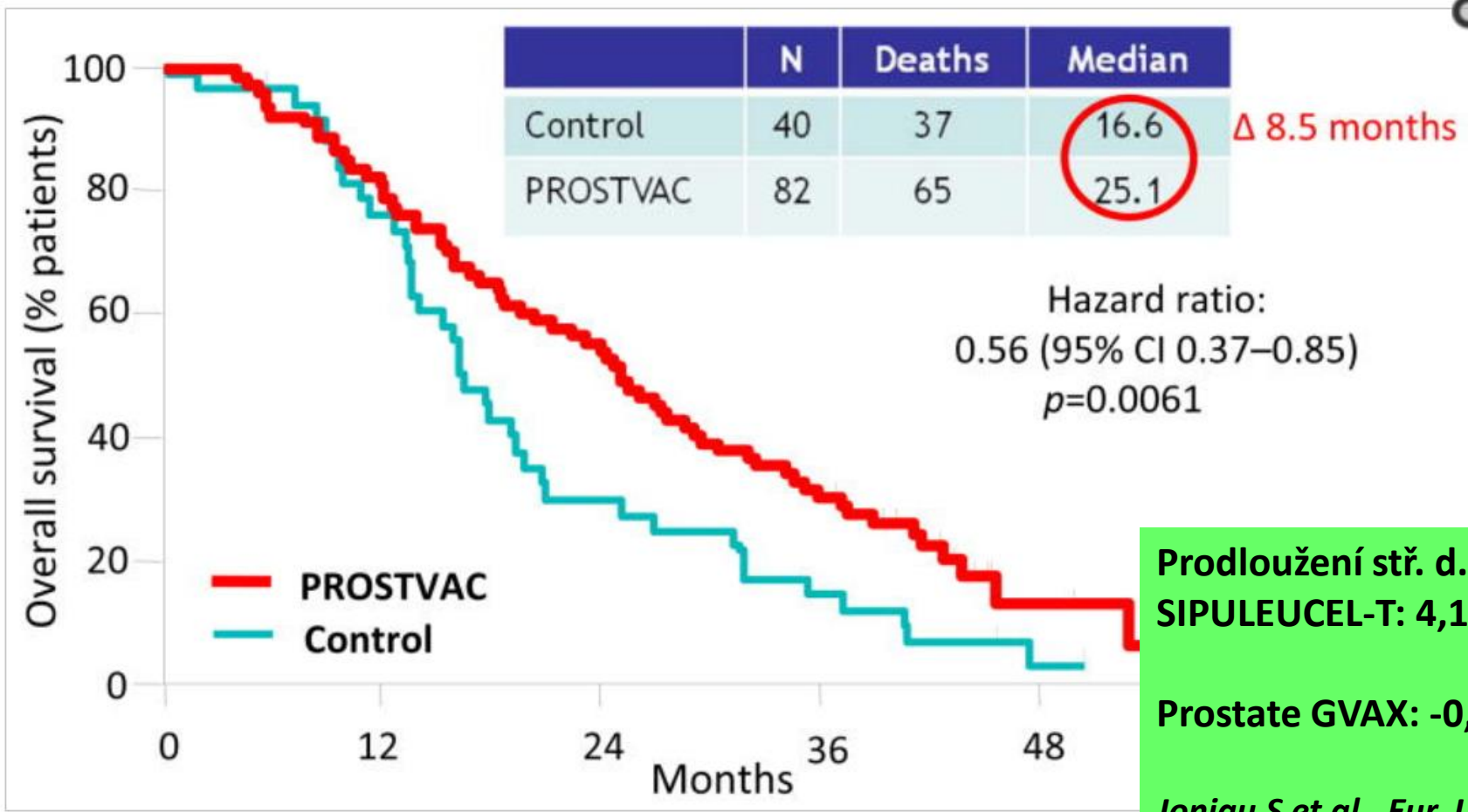
- Stimulace adaptivní imunity proti TAA
- Infiltrace nádorů T buňkami
- Snížení počtu Treg, M2, MDSC
- Klinická odpověď

Cancer J. Sep 2011; 17(5): 359-371.
doi: 10.1097/PPO.0b013e3182325e63

Copyright/License Request permission to reuse

Vakcína PROSTVAC

Figure 1



Prodloužení stř. d. přežití
SIPULEUCEL-T: 4,1-4,5 mo

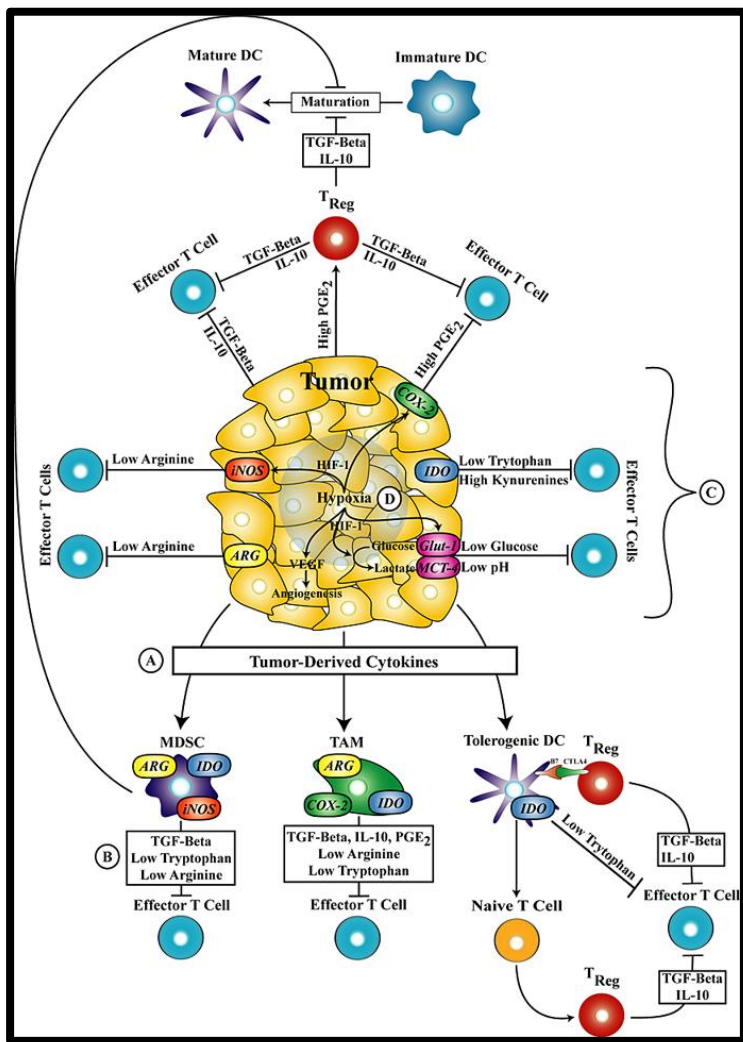
Prostate GVAX: -0,1 mo

Joniau S et al., Eur. Urology (2012)

Overall survival advantage using PROSTVAC

Overall survival of a randomized, placebo (empty vector) controlled 43-center trial of PROSTVAC (rV-, rF-PSA-TRICOM) vaccine in patients with metastatic castrate-resistant prostate cancer. 44% reduction in death in the vaccine arm. Adapted from Kantoff, et al.³⁷

Imunitní odpověď vůči TAA nestačí k vyléčení nádorů



Hance WK et al., Front biosci, 2007

Imunosupresivní
mikroprostředí v nádoru
ANERGIE a TOLERANCE

Modulace
mikroprostředí v nádoru

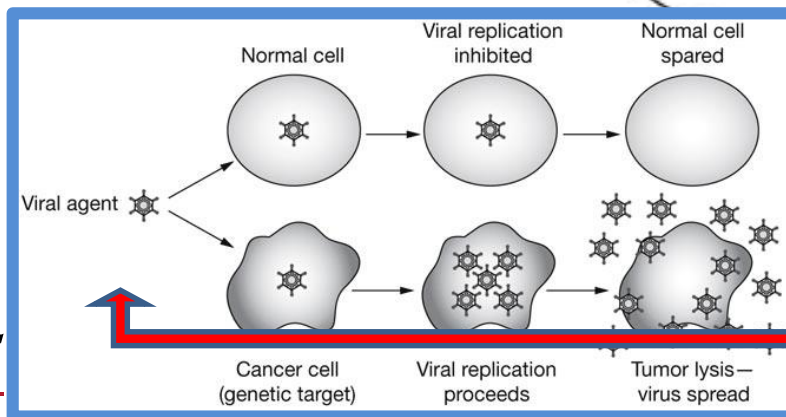
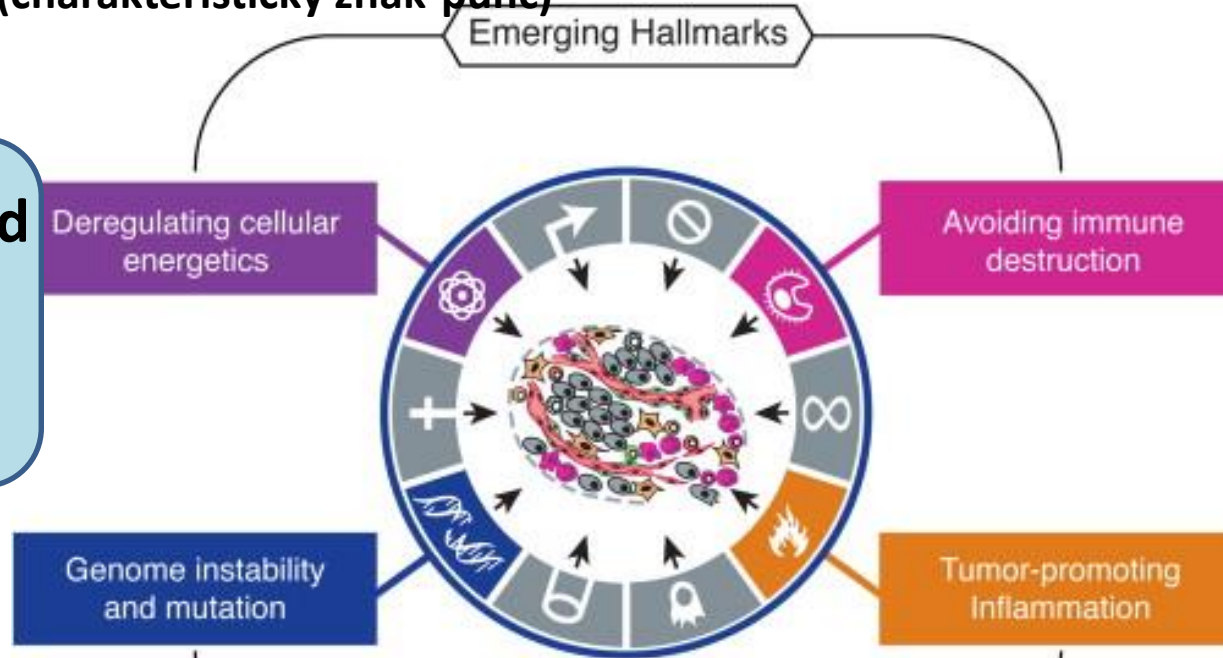
Intratumorální vakcinace
+
Onkolytické efekty

Onkolytické viry (Virus se přednostně replikuje v nádorových buňkách)

Hallmarks of cancer (charakteristický znak-punc)

Hanahan D a Weinberg RA 2011

„Hallmarks of cancer and virus infection superimpose „

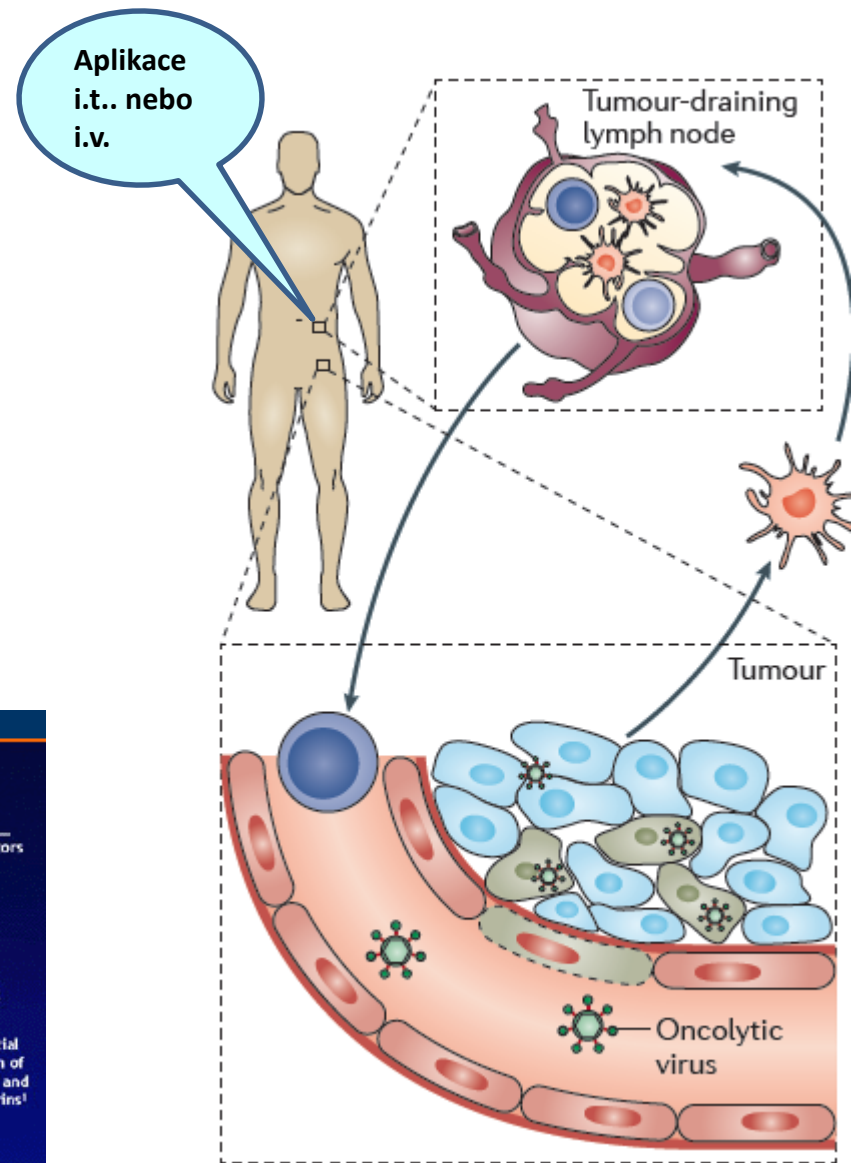
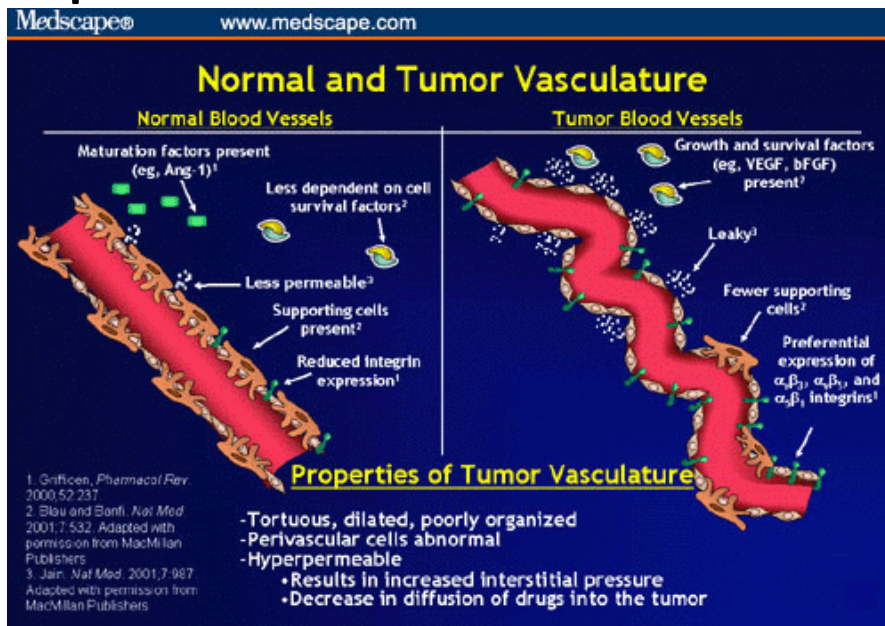


OV jsou mutované viry - neumí vyřadit kontrolní mechanizmy (pRB, p53)

NB – nefunkční kontrolní mechanizmy (pRB, p53)

Onkolytické viry

- Aplikace viru: i.t. nebo i.v.
- Cytotoxicita
 - Lýza nádorových buněk (imunogenní smrt)
 - Lýza cév → snížení imunosuprese
- Adjuvantní efekt virové infekce (PAMPs)
- Uvolněný TAA je pohlcen APC



Lichty BD et al., 2014

Vývoj onkolytických virů

První klin.pokusy 1. generace *(Kelly E a Russel SJ 2007)*

- 50tá léta-HBV, WNV, AdV
- Virus Newcastleké nemoci (různé kmeny)
- Virus spalniček (Edmonston-Zagreb)
- Virus vesikulární stomatitidy

Současnost – 2. generace GMOV: >1000 pacientů *(Lichty BD et al. 2014)*

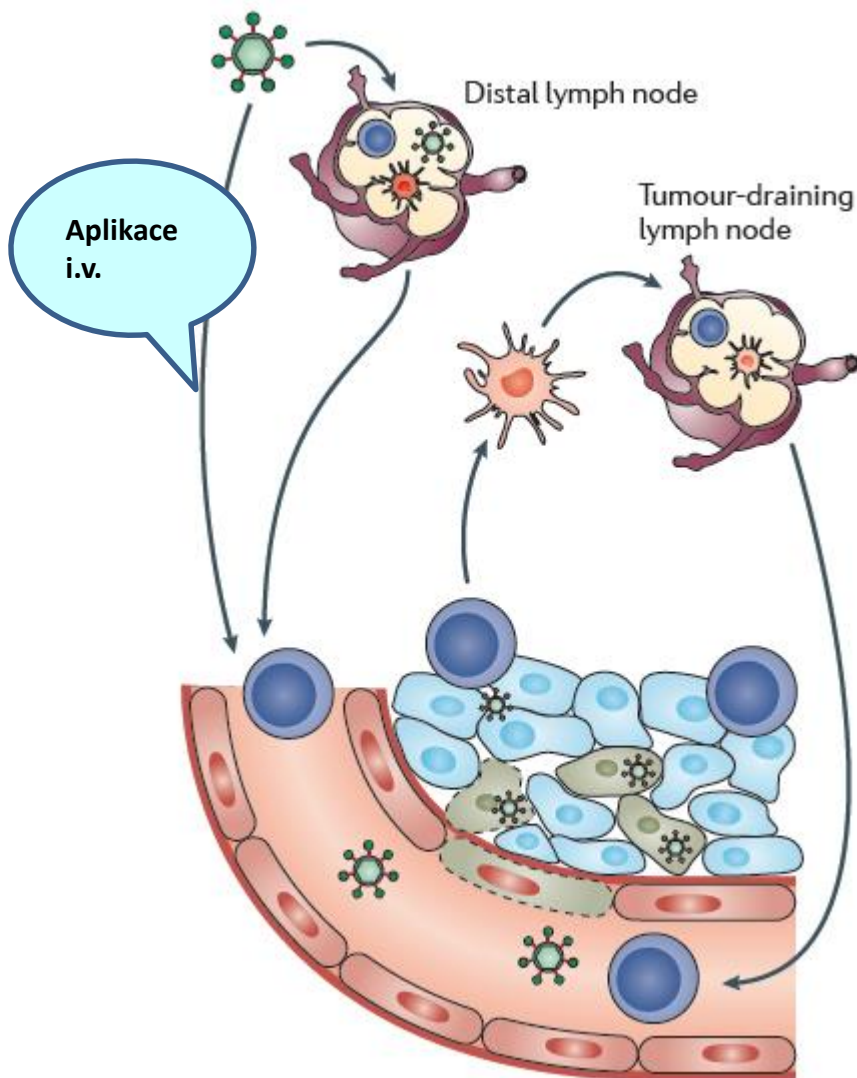
- Herpes simplex virus (T-VEC, 1716, G207, OncoVEX-GMCSF) _{mel}
- Poxviry (JX594-PexaVec) (Δ TK+GMCSF) _{hep}
- Reovirus 3 (Reolysin-Dearing) _{HNC}
- Adenovirus (H101) Ad5- Δ 24-GMCSF, Onyx-015) _{HNC}

Budoucnost

- Maraba virus

BUDOUCNOST

Onkolytické vakcíny – kombinace OV+NV



Lichty BD et al., 2014

- Účinky onkolytického viru
- Infekce nádoru i systémová
- Kostimulace
CD80, 4-1BBL, CD40L
- Cytokiny Th1 a růstové faktory
GM-CSF (klin.), Flt3L, IL2,
4, 12, 15, 18, IFN, chemokiny
(preklin)
- Modulace nádorového
mikroprostředí (α -CTLA-4, α -PDL1,
TFRII)

Terapie

HPV16 indukovaných nádorů rekombinantním virem vakcinie-preklinický model

Modulátory
TGF β a
chemokinů

Koexprese
IGFBP3,
GM-CSF,
Flt3L, IL12

Prime/boost
imunizace
S DNA a CyaA

Intracelulární
cílení
antigenu

- [Antitumor activity and immunogenicity of recombinant vaccinia virus expressing HPV 16 E7 protein SigE7LAMP is enhanced by high-level coexpression of IGFBP-3.](#)
Musil J, Kutinova L, Zurkova K, Hainz P, Babiarova K, Krystofova J, Nemeckova S. Cancer Gene Ther. 2014 Mar;21(3):115-25. doi: 10.1038/cgt.2014.6. Epub 2014 Feb 21. PMID: 24566712 [PubMed - in process]
[Related citations](#)
- [Chemokine binding protein vCCI attenuates vaccinia virus without affecting the cellular response elicited by immunization with a recombinant vaccinia vector carrying the HPV16 E7 gene.](#)
Gabriel P, Babiarova K, Zurkova K, Krystofova J, Hainz P, Kutinova L, Nemeckova S. Viral Immunol. 2012 Oct;25(5):411-22. doi: 10.1089/vim.2011.0090. PMID: 23035852 [PubMed - indexed for MEDLINE] [Free PMC Article](#)
[Related citations](#)
- [Expression of soluble TGF- \$\beta\$ receptor II by recombinant Vaccinia virus enhances E7 specific immunotherapy of HPV16 tumors.](#)
Zurkova K, Chlanda P, Samkova Z, Babiarova K, Kutinova L, Krystofova J, Hainz P, Nemeckova S. Neoplasma. 2011;58(3):181-3. PMID: 21391733 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [The expression of the soluble isoform of hFlt3 ligand by recombinant vaccinia virus enhances immunogenicity of the vector.](#)
Zurkova K, Babiarova K, Hainz P, Krystofova J, Kutinova L, Otahal P, Nemeckova S. Oncol Rep. 2009 May;21(5):1335-43. PMID: 19360312 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [Combination of intratumoral injections of vaccinia virus MVA expressing GM-CSF and immunization with DNA vaccine prolongs the survival of mice bearing HPV16 induced tumors with downregulated expression of MHC class I molecules.](#)
Nemeckova S, Smahel M, Hainz P, Mackova J, Zurkova K, Gabriel P, Indrova M, Kutinova L. Neoplasma. 2007;54(4):328-33. PMID: 17822323 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [Prime/boost immunotherapy of HPV16-induced tumors with E7 protein delivered by Bordetella adenylate cyclase and modified vaccinia virus Ankara.](#)
Mackova J, Stasikova J, Kutinova L, Masin J, Hainz P, Simsova M, Gabriel P, Sebo P, Nemeckova S. Cancer Immunol Immunother. 2008 Jan;55(1):39-46. Epub 2005 Oct 27. PMID: 15926077 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [Adjuvant effect of dendritic cells transduced with recombinant vaccinia virus expressing HPV16-E7 is inhibited by co-expression of IL12.](#)
Mackova J, Kutinova L, Hainz P, Krystofova J, Sroller V, Otahal P, Gabriel P, Nemeckova S. Int J Oncol. 2004 Jun;24(6):1581-8. PMID: 15138603 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [Experimental therapy of HPV16 induced tumors with IL12 expressed by recombinant vaccinia virus in mice.](#)
Nemeckova S, Sroller V, Hainz P, Krystofova J, Smahel M, Kutinova L. Int J Mol Med. 2003 Nov;12(5):789-96. PMID: 14533011 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)
- [Immune response to E7 protein of human papillomavirus type 16 anchored on the cell surface.](#)
Nemeckova S, Stránská R, Subrtová J, Kutinová L, Otáhal P, Hainz P, Maresová L, Sroller V, Hamsíková E, Vonka V. Cancer Immunol Immunother. 2002 Apr;51(2):111-9. Epub 2002 Feb 1. PMID: 11904736 [PubMed - indexed for MEDLINE]
[Related citations](#)

A nighttime photograph of a building with a concrete staircase leading up to it. The building has a large glass window on the right side. A street lamp illuminates the scene. In the foreground, there is a concrete wall with a sign that reads "SKLAD ÚHKT".

Děkuji vám za pozornost

Veterinární vakcíny

**Živá orální vakcína proti vzteklině
mývalů, kojotů – USA**

**Rekombinantní VACV-RG-
(RABORAL -od 1990 100 mil. dávek)
2 případy infekce lidí (imunoprese)**

Rekombinantní Adv-RG (ONRAB)

