

FOWLPOX-BASED SURVIVIN VACCINATION FOR MALIGNANT MESOTHELIOMA THERAPY

ABSTRACT

Survivin protein is an attractive candidate for cancer immunotherapy since it is abundantly expressed in most common human cancers and mostly absent in normal adult tissues. Malignant mesothelioma (MM) is a deadly cancer associated with asbestos or erionite exposure for which no successful therapies are currently available. In this study, we evaluated the therapeutic efficacy of a novel survivin-based vaccine by subcutaneous or intraperitoneum injection of BALB/c mice with murine fiber-induced MM tumor cells followed by vaccination with recombinant Fowlpox virus replicons encoding survivin. Vaccination generated significant immune responses in both models, leading to delayed tumor growth and improved animal survival. Flow cytometry and immunofluorescence analyses of tumors from vaccinated mice showed CD81 T-cell infiltration, and real-time PCR demonstrated increased mRNA and protein levels of immunostimulatory cytokines. Analyses of survivin peptide-pulsed spleen and lymph node cells from vaccinated mice using ELISPOT and intracellular cytokine staining confirmed antigen-specific, interferon- γ -producing CD81 T-cell responses. In addition pentamer-based flow cytometry showed that vaccination generated survivin-specific CD81 T cells. Importantly, vaccination did not affect fertility or induce autoimmune abnormalities in mice. Our results demonstrate that vaccination with recombinant Fowlpox expressing survivin improves T-cell responses against aggressive MM tumors and may form the basis for promising clinical applications.

ABSTRACT

La proteina survivin è una valida candidata per un utilizzo nell'immunoterapia dei tumori, essendo espressa abbondantemente nei tipi più comuni di tumori umani e in grande misura nei tessuti normali dell'adulto. Il mesotelioma maligno (MM) è un cancro letale associato all'esposizione all'amianto o all'erionite per cui ad oggi non sono disponibili terapie efficaci. In questo studio è stata valutata l'efficacia terapeutica di un nuovo vaccino basato sulla survivin, somministrato per iniezione sottocutanea o intraperitoneale nei topi BALB/c con cellule tumorali murine di MM indotte da fibre di amianto, seguito da un'altra vaccinazione con repliconi del virus Fowlpox ricombinante, codificanti la survivin. La vaccinazione ha prodotto importanti risposte immunitarie in entrambi i modelli, con conseguente ritardo di crescita del tumore e migliorata sopravvivenza dell'animale. Le analisi citofluorimetriche e a immunofluorescenza dei tumori nei topi vaccinati hanno mostrato un'infiltrazione di linfociti T CD81, mentre la PCR in tempo reale ha mostrato un aumento dei livelli di mRNA e del tenore di proteine delle citochine immunostimolanti. Le analisi condotte sulle cellule linfonodali e sulle cellule della milza dei topi vaccinati, pulstate con peptidi survivin, effettuate con i metodi ELISPOT e tramite la colorazione per citochine intracellulari, hanno confermato le risposte dei linfociti T CD81 antigene specifici che producono l'interferone γ . Inoltre, la citometria a flusso a base di pentameri ha mostrato che la vaccinazione ha indotto una produzione di linfociti T

CD81 survivin-specifici. Oltre a questo, e fatto molto importante, la vaccinazione non ha compromesso la fertilità, né ha indotto anomalie autoimmuni nei topi. I nostri risultati dimostrano che la vaccinazione con Fowlpox ricombinante che esprime la survivin migliora le risposte dei linfociti T contro le forme aggressive di MM e può costituire la base da cui partire per sviluppare applicazioni cliniche promettenti.