

## S.S. Infettivologia

### Analisi della funzione dell'immunità naturale (cellule NK) in corso di infezioni virali croniche persistenti a potenziale oncogeno

*Linea di ricerca:* 2 - Interazione ospite-tumore

*Programma:* a - Infiammazione, immunità innata e tumore

*Responsabile:* Andrea De Maria

*Durata:* 2007-2008

*Parole chiave:* cellule NK; HIV-1; HCV; SIV

*Altre strutture IST:* S.C. Immunologia

*Altri Enti coinvolti:* CEBR, Università di Genova (F. Bozzano, P. Costa); DIMI, Università Di Genova (A. Picciotto, F. Indiveri); DISEM, Università di Genova (C. Viscoli); Istituto G. Gaslini, Genova (L. Moretta, R. Biassoni); Università di Parma (C. Casoli)

*Tipologia progetto:* descrittiva a fini conoscitivi

*Area di interesse:* preclinica

*Soggetti cofinanziatori:* MIUR; Ministero della Salute

#### *Background*

Una delle principali caratteristiche dell'infezione HIV-1 è rappresentata da una progressiva riduzione dei linfociti CD4+ in presenza di replicazione virale cronica e persistente che conduce ad immunodeficienza. La Sindrome da Immunodeficienza Acquisita è caratterizzata dalla comparsa di infezioni opportunistiche o da neoplasie opportunistiche (NO). Le NO più frequenti includono Sarcoma di Kaposi, linfomi cerebrali primitivi, LNH e LH, carcinoma cervicale. Questo quadro è solo parzialmente influenzato da una risposta immunitaria adattiva vigorosa che comprende risposte immuni cellulo-mediate (CD4+, CD8+-CTL) ed umorali (Ab neutralizzanti, ADCC). I meccanismi che sottendono e contribuiscono al progressivo deterioramento della risposta immune virus-specifica e citolitica (CD8+-CTL) contribuiscono sia alla perdita di controllo della replicazione virale che è ottenuta in fase acuta, sia alla mancanza di controllo di replicazione residua in corso di HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy). Recentemente abbiamo potuto dimostrare che in corso di infezione da HIV-1 è presente una riduzione dell'espressione di molecole attivatorie sulla superficie di cellule NK circolanti (NKp30, NKp46, NKp44). Tale ridotta espressione di NCR è almeno parzialmente reversibile dopo >2 anni di terapia antiretrovirale efficace. Inoltre esiste un elevato livello di attivazione NK in pazienti viremici in fase di progressione di malattia. Lo stato di attivazione delle cellule NK potrebbe essere associato ad alterazioni dell'espressione di NCR, ma resta aperta la domanda se questo sia una conseguenza o sia direttamente associato alla ridotta funzione delle cellule NK. Queste osservazioni suggeriscono la necessità di proseguire ed approfondire lo studio della funzione NK per determinare il meccanismo responsabile del difetto funzionale in corso di infezione HIV (che potrebbe essere almeno in parte simile ad altre condizioni di patologia quali la leucemia acuta mieloide).

#### *Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari*

Obiettivo generale del progetto è di verificare se alterazioni delle cellule NK e dell'immunità innata associate ad infezione HIV trovino origine in compartimenti maturanti midollari e se coinfezioni possano esacerbarle.

#### *Beneficiari*

Pazienti HIV.

#### *Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008*

Nel corso dello studio si è accertato che HIV replica ed infetta scimpanzé, ma non determina alterazioni delle cellule NK nel modello di primate più vicino all'uomo. La regolazione di espressione di due dei recettori della citotossicità naturale NKp30 ed NKp44 è infatti differente e potrebbe spiegare la mancata progressione di malattia in questi animali, al contrario di quanto osservato nell'uomo. E' stato sviluppato e studiato un modello in vitro di differenziamento di cellule NK e mielomonocitarie da cellule CD34+ staminali pluripotenti orientate adattandolo allo studio di infezioni intracellulari e del loro impatto sui compartimenti maturanti. Tale modello ha permesso di definire che HIV non induce alterazioni rilevanti nel compartimento NK maturante, mentre un'aumentata funzione citotossica ed espressione di NCR si osserva nell'infezione da HSV-1 ed è mediata dalla produzione in vitro di alfaIFN. E' stato identificato un difetto di espressione di NCR con attivazione NK e ridotta produzione di gammaIFN da parte di cellule NK di pazienti con esordio acuto di riattivazione tubercolare. Tale difetto è correggibile in vitro da alfaIFN. Il profilo del difetto NK identificato in pazienti con riattivazione tubercolare permette di aggiungere una nuova prospettiva all'interazione potenziante la replicazione HIV e la progressione delle due infezioni simultaneamente. Tale difetto infatti è favorito dalla replicazione HIV e, verosimilmente contribuisce alla perdita di controllo della latenza tubercolare in pazienti con infezione HIV. Un possibile postulato da verificare in futuro al riguardo è rappresentato dalla possibilità che neoplasie opportunistiche HIV-associate riconoscano meccanismi simili di patogenesi .

## Consuntivo progetti RC 2006-2008

### *Elenco pubblicazioni:*

Costa P.-Beltrame A.-De Maria A.

May immunization strategies that target dendritic cells really offer advantages for HIV-1?  
AIDS 20:1351-2, 2006 \*

Di Biagio A.-Beltrame A.-Cenderello G.-Ferrea G.-De Maria A.

Clinically stable treatment-experienced adults receiving tenofovir and didanosine.  
HIV Clin Trials 7:10-5, 2006 \*

De Maria A.

Discordant responses to HAART in HIV/1 patients: the need to focus on intervention.  
Expert Rev. Anti Infect. Ther. 5:523/527, 2007

De Maria A.-Fogli M.-Mazza S.-Basso M.-Picciotto A.-Costa P.-Congia S.-Mingari M.C.-Moretta L.

Increased natural cytotoxicity receptor expression and relevant IL/10 production in NK cells from chronically infected viremic HCV patients.  
Eur. J. Immunol. 37:445/455, 2007

Pacini D.-Cerana M.-Beltrame A.-Di Biagio A.-De Maria A.

Persistence of *Candida albicans* candidemia in non neutropenic surgical patients: management of a representative patient in the absence of second line treatment guidelines.  
J. Chemother. 19:335/338, 2007

Pagano G.-Dodi F.-Camera M.-Passalacqua G.-Malfatto E.-De Maria A.

Tubercular tracheoesophageal fistulas in AIDS patients: primary repair and no surgery required? Letter.  
AIDS 21:2561/2564, 2007

Rosso R, Di Biagio A, Dentone C, Bassetti M, Viscoli C, Parodi A, De Maria A

Effects on growth after switching protease inhibitors to efavirenz in HIV-1-infected children.  
Int J Antimicrob Agents 29(2):228-230, 2007 \*

Rutjens E.-Mazza S.-Blassoni R.-Koopman G.-Radic L.-Fogli M.-Costa P.-Mingari M.C.-Moretta L.-Heeney J.-De Maria A.  
Differential NKp30 inducibility in Chimpanzee NK cells and conserved NK cell phenotype and function in long term HIV/1

infected animals.  
J. Immunol. 178:1702/1712, 2007

Braido F.-Bellotti M.-De Maria A.-Cazzola M.-Canonica G.

The role of Pneumococcal vaccine.  
Pulm. Pharmacol. Ther. 21:608/615, 2008

Bruzzone B.-Bisio F.-Ventura A.-Nigro N.-Miguel L.-Mayinda F.- Nzagou A.-Mayembo P.-Uberti F.-De Maria A.-Icardi G.-Viscoli C.

HIV serological screening in a population of pregnant women in the Republic of Congo: suitability of different assays.  
Trop. Med. Int. Health 13:900/903, 2008

De Maria A.-Moretta L.

NK cell function in HIV/1 infection.  
Curr. HIV Res. 6:433/440, 2008

Abbadessa G.-Accolla R.-Aiuti F.-Albini A.-Aldovini A.-Alfano M.-Antonelli G.-Bartholomew C.-Bentwich Z.-Bertazzoni U.-Berzofsky J.A.-Biberfeld P.-Boeri E.-Buonaguro L.-Buonaguro F.M.-Bukrinsky M.-Burny A.-Caruso A.-Cassol S.-Chandra P.-Ceccherini-Nelli L.-Chieco-Bianchi L.-Clerici M.-Colombini-Hatch S.-De Giuli Morghen C.-De Maria A.-De Rossi A.-Dierich M.-Della-Favera R.-Dolei A.-Douek D.-Erflle V.-Felber B.-Fiorentini S.-Franchini G.-Gershoni J.M.-Gotch F.-Green P.-Greene W.C.-Hall W.-Haseltine W.-Jacobson S.-Kallings L.O.-Kalyanaraman V.S.-Katinger H.-Khalili K.-Klein G.-Klein E.-Klotman M.-Klotman P.-Kotler M.-Kurth R.-Lafeuillade A.-La Placa M.-Lewis J.-Lillo F.-Lisziewicz J.-Lomonico A.-Lopalco L.-Lori F.-Lusso P.-Macchi B.-Malim M.-Margolis L.-Markham P.D.-McClure M.-Miller N.-Mingari M.C.-Moretta L.-Noonan D.-O'Brien S.-Okamoto T.-Pal R.-Palese P.-Panet A.-Pantaleo G.-Pavlikis G.-Pistello M.-Plotkin S.-Poli G.-Pomerantz R.-Radaelli A.-Robertguroff M.-Roederer M.-Sarngadharan M.G.-Schols D.-Secchiero P.-Shearer G.-Siccardi A.-Stevenson M.-Svoboda J.-Tartaglia J.-Torelli G.-Tornesello M.L.-Tschachler E.-Vaccarezza M.-Vallbracht A.-Van Lunzen J.-Varnier O.-Vicenzi E.-Von Melchner H.-Witz I.-Zagury D.-Zagury J.F.-Zauli G.-Zipeto D.  
Unsung hero Robert C. Gallo.  
Science, in press

Costa P.-Sivori S.-Bozzano F.-Martini I.-Moretta A.-Moretta L.-De Maria A.

IFN-alpha-mediated increase in cytolytic activity of maturing NK cell upon exposure to HSV-infected myelomonocytes.  
Eur. J. Immunol., in press

\* La pubblicazione non è presente nella produttività IST perché frutto di collaborazione esterna.

## Consuntivo progetti RC 2006-2008

### Studio di fattori predittivi la risposta a terapia antivirale HCV associati alla funzione immunitaria innata

*Linea di ricerca:* 3 - Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

*Programma:* c - Identificazione di indicatori di risposta ai trattamenti

*Responsabile:* Andrea De Maria

*Durata:* 2007-2008

*Parole chiave:* HCV; interferone alfa; genotipo 1a-1b; cellule NK; Natural Cytotoxicity Receptors; Killer Inhibitory Receptors

*Altre strutture IST:* S.C. Immunologia

*Altri Enti coinvolti:* MIUR; Ministero della Salute; CEBR; Università di Genova (F. Bozzano, P. Costa); DIMI, DIMES, Università di Genova

*Tipologia progetto:* clinico-epidemiologica osservazionale

*Area di interesse:* terapeutica/quality of life

#### *Background*

In seguito ad infezione acuta con HCV, il 70-80% dei soggetti sviluppa infezione cronica persistente, mentre il 20% dei soggetti sviluppa risposta immune efficace ed elimina l'infezione. I pazienti infettati cronicamente con HCV hanno un rischio significativamente superiore alla popolazione non infetta di sviluppare neoplasia epatica e di andare incontro a cirrosi epatica. Il trattamento per HCV è attualmente rappresentato da associazione di PEG-IFN+RBV da somministrarsi per 12 mesi. Il trattamento permette di rimuovere la replicazione virale cronica normalizzando il rischio di evoluzione ad epatocarcinoma. Effetti avversi in corso di trattamento sono frequenti e contribuiscono a ridurre la qualità della vita dei pazienti, per tutto il periodo in cui questa deve essere somministrata. La percentuale di pazienti con risposta virologica sostenuta tuttavia è soltanto di circa il 30% con HCV genotipo 1 e del 15-18% se coesistono fattori che contribuiscono a determinare difetto immunologico (es. HIV-1). La valutazione di efficacia terapeutica viene attualmente eseguita nel corso delle prime 12 settimane di trattamento. Sono possibili (circa il 50%) risposte transitorie virologiche, non sostenute dopo la sospensione del trattamento. Esiste attualmente una notevole carenza di indicatori clinici, biologici o molecolari che permettano di identificare a priori quei pazienti eleggibili per il trattamento (da considerarsi profilassi di cirrosi epatica ed epatocarcinoma) che non avranno risposte sostenute alla terapia antivirale. L'identificazione di possibili strumenti diagnostici per identificare tali pazienti prima dell'inizio di terapie costose da un punto di vista biologico, emotivo ed economico rappresenta un primo passo verso una successiva identificazione di strategie terapeutiche individualizzate

#### *Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari*

Identificazioni di nuovi strumenti diagnostici; predittivi la risposta alla terapia antivirale HCV, quale primo passo per l'individuazione di pazienti eleggibili per strategie terapeutiche individualizzate.

#### *Beneficiari*

Pazienti HCV.

#### *Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008*

Nel corso del 2007 è stata composta una coorte di pazienti HCV cronici, monoinfetti, con genotipo difficile 1a, che sono stati avviati a terapia antivirale secondo schemi di GCP e linee guida nazionali. In occasione della valutazione virologica ed immunologica iniziale sono stati raccolti anche campioni per l'analisi delle risposte immuni innate.

E' stato concluso l'arruolamento ed il follow-up che prevede un monitoraggio per almeno 18 mesi dall'inizio della terapia.

Sono stati arruolati ed analizzati i linfociti di sangue periferico di 22 pazienti con HCV cronica, attiva, genotipo 1, bassa probabilità di risposta (ca-50%) ad IFN+RBV

E' stata eseguita analisi fenotipica e funzionale NK prima dell'inizio della terapia e durante la terapia (m1,m3,m12 e 6m ost tx).

Sono stati finora analizzati i dati al tempo 0 stratificando i pazienti dopo aver valutato l'esito clinico (risposta-R-e non-risposta-NR). E' stato possibile evidenziare come pazienti NR prima dell'inizio della terapia abbiano maggiore espressione di recettori inibitori e contemporaneamente una maggiore espressione di NKp46 e NKp30 rispetto ai pazienti R. Inoltre i pazienti NR hanno produzione di gammaIFN da parte di cellule NK in vitro normale od elevata quando confrontata con donatori non infetti.

Nel complesso quindi è possibile intravedere un assetto funzionale in corso di infezione cronica delle risposte innate (cellule NK) che permette di prevedere la possibilità di risposta alla terapia specifica in presenza di NK a bassa attività funzionale, con ridotta espressione di recettori della citotossicità naturale e con bassa propensione all'inibizione mediata dall'espressione di HLA di classe I da parte dei target cellulari infetti o da cellule dendritiche.

#### *Elenco pubblicazioni:*

Costa P.-Beltrame A.-De Maria A.

May immunization strategies that target dendritic cells really offer advantages for HIV-1?

AIDS 20:1351-2, 2006 \*

## Consuntivo progetti RC 2006-2008

- Di Biagio A.-Beltrame A.-Cenderello G.-Ferrea G.-De Maria A.  
Clinically stable treatment-experienced adults receiving tenofovir and didanosine.  
HIV Clin Trials 7:10-5, 2006 \*
- De Maria A.  
Discordant responses to HAART in HIV/1 patients: the need to focus on intervention.  
Expert Rev. Anti Infect. Ther. 5:523/527, 2007
- De Maria A.-Fogli M.-Mazza S.-Basso M.-Picciotto A.-Costa P.-Congia S.-Mingari M.C.-Moretta L.  
Increased natural cytotoxicity receptor expression and relevant IL/10 production in NK cells from chronically infected viremic HCV patients.  
Eur. J. Immunol. 37:445/455, 2007
- Pacini D.-Cerana M.-Beltrame A.-Di Biagio A.-De Maria A.  
Persistence of *Candida albicans* candidemia in non neutropenic surgical patients: management of a representative patient in the absence of second line treatment guidelines.  
J. Chemother. 19:335/338, 2007
- Pagano G.-Dodi F.-Camera M.-Passalacqua G.-Malfatto E.-De Maria A.  
Tubercular tracheoesophageal fistulas in AIDS patients: primary repair and no surgery required? Letter.  
AIDS 21:2561/2564, 2007
- Rosso R, Di Biagio A, Dentone C, Bassetti M, Viscoli C, Parodi A, De Maria A  
Effects on growth after switching protease inhibitors to efavirenz in HIV-1-infected children.  
Int J Antimicrob Agents 29(2):228-230, 2007 \*
- Rutjens E.-Mazza S.-Bianconi R.-Koopman G.-Radic L.-Fogli M.-Costa P.-Mingari M.C.-Moretta L.-Heeney J.-De Maria A.  
Differential NKp30 inducibility in Chimpanzee NK cells and conserved NK cell phenotype and function in long term HIV/1 infected animals.  
J. Immunol. 178:1702/1712, 2007
- Braido F.-Bellotti M.-De Maria A.-Cazzola M.-Canonica G.  
The role of Pneumococcal vaccine.  
Pulm. Pharmacol. Ther. 21:608/615, 2008
- Bruzzone B.-Bisio F.-Ventura A.-Nigro N.-Miguel L.-Mayinda F.- Nzagou A.-Mayembo P.-Uberti F.-De Maria A.-Icardi G.-Viscoli C.  
HIV serological screening in a population of pregnant women in the Republic of Congo: suitability of different assays.  
Trop. Med. Int. Health 13:900/903, 2008
- De Maria A.-Moretta L.  
NK cell function in HIV/1 infection.  
Curr. HIV Res. 6:433/440, 2008
- Abbadessa G.-Accolla R.-Aiuti F.-Albini A.-Aldovini A.-Alfano M.-Antonelli G.-Bartholomew C.-Bentwich Z.-Bertazzoni U.-Berzofsky J.A.-Biberfeld P.-Boeri E.-Buonaguro L.-Buonaguro F.M.-Bukrinsky M.-Burny A.-Caruso A.-Cassol S.-Chandra P.-Ceccherini-Nelli L.-Chieco-Bianchi L.-Clerici M.-Colombini-Hatch S.-De Giuli Morghen C.-De Maria A.-De Rossi A.-Dierich M.-Della-Favera R.-Dolei A.-Douek D.-Erffle V.-Felber B.-Fiorentini S.-Franchini G.-Gershoni J.M.-Gotch F.-Green P.-Greene W.C.-Hall W.-Haseltine W.-Jacobson S.-Kallings L.O.-Kalyanaraman V.S.-Katinger H.-Khalili K.-Klein G.-Klein E.-Klotman M.-Klotman P.-Kotler M.-Kurth R.-Lafeuillade A.-La Placa M.-Lewis J.-Lillo F.-Liszewicz J.-Lomonico A.-Lopalco L.-Lori F.-Lusso P.-Macchi B.-Malim M.-Margolis L.-Markham P.D.-McClure M.-Miller N.-Mingari M.C.-Moretta L.-Noonan D.-O'Brien S.-Okamoto T.-Pal R.-Palese P.-Panet A.-Pantaleo G.-Pavlakakis G.-Pistello M.-Plotkin S.-Poli G.-Pomerantz R.-Radaelli A.-Robertguroff M.-Roederer M.-Sarngadharan M.G.-Schols D.-Secchiero P.-Shearer G.-Siccardi A.-Stevenson M.-Svoboda J.-Tartaglia J.-Torelli G.-Tornesello M.L.-Tschachler E.-Vaccarezza M.-Vallbracht A.-Van Lunzen J.-Varnier O.-Vicenzi E.-Von Melchner H.-Witz I.-Zagury D.-Zagury J.F.-Zauli G.-Zipeto D.  
Unsung hero Robert C. Gallo.  
Science, in press
- Costa P.-Sivori S.-Bozzano F.-Martini I.-Moretta A.-Moretta L.-De Maria A.  
IFN-alpha-mediated increase in cytolytic activity of maturing NK cell upon exposure to HSV-infected myelomonocytes.  
Eur. J. Immunol., in press

\* La pubblicazione non è presente nella produttività IST perché frutto di collaborazione esterna.