



***Effetti dell'Immunizzazione Terapeutica con Tat di HIV-1  
sulla Funzionalità del Sistema Immune:  
Risultati dell'Analisi ad Interim dello  
Studio Randomizzato di Fase II***

**Barbara Ensoli, MD, PhD  
Centro Nazionale AIDS  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma, Italia**



*Ensoli B. et al, PLoS One, 2010*

## ***Razionale per l'intensificazione della terapia antiretrovirale (HAART)***

- **I'HAART rappresenta la principale terapia contro l'HIV, tuttavia, nonostante la sua capacità di sopprimere efficacemente la replicazione virale, è in grado di ridurre solo parzialmente l'attivazione e la disregolazione del sistema immune.**
- **Tali disfunzioni, in soggetti trattati con HAART, sono associate ad un maggior rischio di malattie comunemente non correlate all'AIDS, incluse aterosclerosi, malattie renali e del fegato, tumori ed invecchiamento precoce.**
- **Tat è una proteina regolatoria di HIV, cioè un fattore chiave per indurre la replicazione virale (anche in presenza di una terapia efficace) e, quindi, per il mantenimento della malattia, dal momento che sostiene anche una persistente attivazione immunologica, con effetti deleteri sulle funzioni del sistema immunitario.**

***Dati i suoi effetti sul virus e sull'attivazione del sistema immune, Tat rappresenta un candidato ottimale per il potenziamento dell'HAART.***

# ***Le fasi di sviluppo del vaccino contro l'HIV/AIDS***

Studi trasversali/longitudinali per individuare i correlati di protezione ed i marcatori immunologici da utilizzare durante la sperimentazione clinica



Preparazione dei Paesi in via di Sviluppo alla sperimentazione clinica avanzata di Fase II/III

# ***Trial di Fase II ISS T-002***

***Studio clinico di fase II, randomizzato, in aperto, per valutare l'immunogenicità e la sicurezza del vaccino basato sulla proteina ricombinante biologicamente attiva Tat di HIV-1 in soggetti adulti infettati da HIV-1, negativi per anticorpi anti-Tat , in trattamento efficace con HAART (ClinicalTrials.gov NCT00751595)***

**Schema di immunizzazione:** la proteina Tat è stata somministrata per via intradermica a 2 differenti dosaggi (7.5 µg o 30 µg), per 3 o 5 volte (alle settimane 0, 4, 8 oppure 0, 4, 8, 12, 16, rispettivamente).

**Ampiezza del campione:** 128 soggetti, 32 per gruppo di trattamento.

**Criteri di inclusione:** soggetti HIV-1 positivi, negativi per anticorpi anti-Tat, di entrambi i sessi, di età compresa tra 18 e 55 anni, in trattamento efficace con HAART, senza storia di “*rebound*” virologico, carica virale <50 copie/mL, numero di cellule T CD4+ ≥400 cellule/µL e nadir di CD4 antecedente l'inizio della terapia >250 cellule/µL.

# ***Siti Clinici dello Studio ISS T-002***

## **Siti Clinici, Città**

**Policlinico Universitario, Modena**

**Arcispedale S. Anna, Ferrara**

**IFO - San Gallicano, Roma**

**Ospedale S. M. Annunziata, Firenze**

**Ospedale A. di Savoia, Torino**

**Ospedale S. Raffaele, Milano**

**Ospedale Sacco, Milano**

**Spedali Civili, Brescia**

**Ospedale S.M. Goretti, Latina**

**Policlinico Universitario, Bari**

**Azienda Osp. San Gerardo, Monza**

## **Sperimentatore principale, Co-sperimentatore**

***Prof. Esposito, Dr. Mussini***

***Prof. Ghinelli, Dr. Sighinolfi,  
Dr. Segala***

***Prof. Palamara, Dr. Latini***

***Prof. Mazzotta, Dr. Di Pietro***

***Prof. Di Perri, Prof. Bonora***

***Prof. Lazzarin, Dr. Tambussi***

***Prof. Galli, Dr. Rusconi***

***Prof. Carosi, Dr. Quiros***

***Prof. Soscia, Dr. Mercurio,  
Dr. Tacconi***

***Prof. Pastore, Prof. Angarano,  
Dr. Ladisa***

***Dr. Andrea Gori***

## ***Trial di Fase II ISS T-002***

- **Gli obiettivi principali dello studio erano la *Sicurezza* e l'*Immunogenicità* del vaccino Tat.**
- ***Valutazioni immunologiche esplorative* sono state eseguite per caratterizzare marcatori biochimici ed immunologici di progressione della malattia che sono generalmente utilizzati per valutare l'efficacia della terapia antiretrovirale. Tali valutazioni includono i parametri di immunoattivazione, l'esame delle cellule T regolatorie, la vitalità cellulare e l'analisi delle principali sottopopolazioni linfocitarie che compongono il sistema immunitario (cellule T CD4+ e CD8+, cellule B ed NK e le sottopopolazioni "naive", "memoria" ed "effettrici" delle cellule T CD4+ e CD8+). L'analisi funzionale è stata diretta ad esplorare le risposte cellulari anti-Env di HIV e le risposte immunitarie contro antigeni di "*richiamo*" (Candida, Citomegalovirus, virus di Epstein-Barr, virus dell'influenza).**

## ***Analisi ad Interim dello Studio ISS T-002***

- Sulla base degli incoraggianti risultati osservati già dalle prime fasi del trial, è stata condotta un'analisi ad interim “*ad hoc*” su 87 soggetti che hanno completato la fase di trattamento e che sono stati seguiti fino ad un anno dalla prima immunizzazione.
- I risultati ottenuti negli individui vaccinati con Tat sono stati confrontati con quelli ottenuti in 88 soggetti trattati con la sola HAART ed arruolati in uno studio osservazionale condotto parallelamente negli stessi siti clinici sede della sperimentazione e valutati dal medesimo laboratorio centralizzato (***ISS OBS T-002, ClinicalTrials.gov NCT01024556***); 32 degli 88 soggetti sono stati considerati come “*gruppo di referenza*” dal momento che avevano caratteristiche immunologiche e virologiche identiche ai soggetti arruolati nel trial.

## ***Risultati dello Studio ISS T-002 (I)***

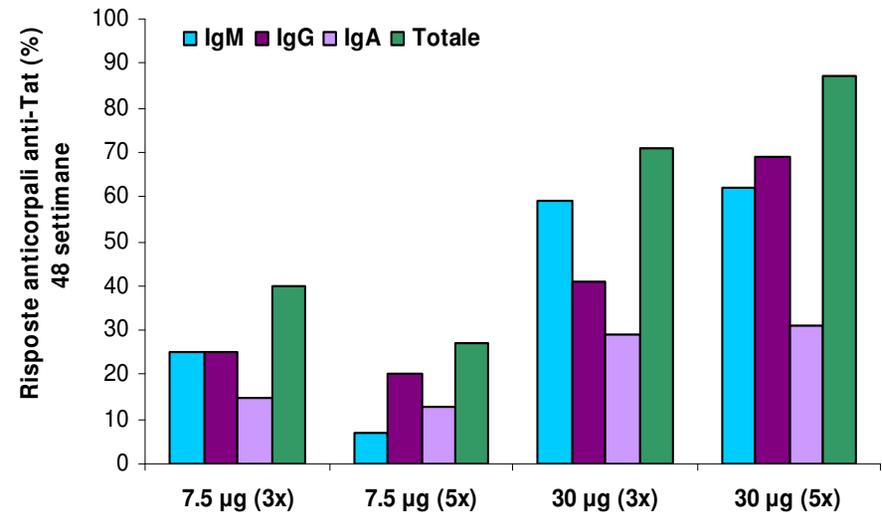
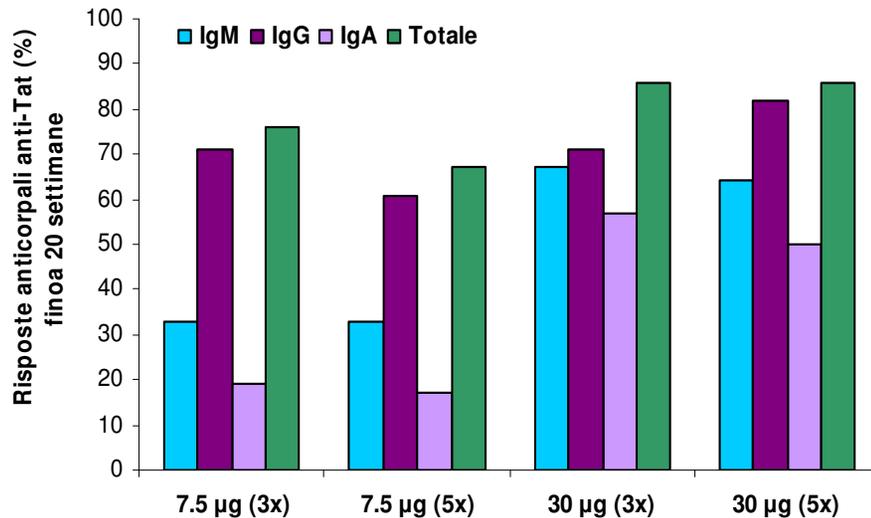
- **L'immunizzazione con Tat si è dimostrata sicura e capace di indurre risposte immuni anti-Tat specifiche (umorali e cellulari), raggiungendo gli obiettivi primari e secondari dello studio.**
- **Un significativo incremento delle cellule T regolatorie (T-reg) ed una concomitante riduzione dell'immuno-attivazione (cellule T CD8+CD38+ e marcatori biochimici) sono stati osservati insieme ad un significativo aumento, sia in percentuale che in numero assoluto, dei linfociti T CD4+ e B, con una parallela riduzione della percentuale delle cellule T CD8+ ed NK. Conseguentemente si è osservato un progressivo aumento del rapporto CD4/CD8.**

## ***Risultati dello Studio ISS T-002 (II)***

- **Queste variazioni delle diverse popolazioni linfocitarie indicano una tendenza al ritorno a valori normali e differiscono significativamente da ciò che viene ottenuto dalla sola terapia HAART, come anche osservato nel gruppo di referenza del trial.**
- **Dal punto di vista funzionale si è riscontrato un aumento delle risposte cellulari contro la proteina Env di HIV e contro antigeni di “*richiamo*” (Candida, Citomegalovirus, virus di Epstein-Barr, virus dell’influenza).**
- **Questi effetti sono stati maggiormente pronunciati nei soggetti più immuno-compromessi.**

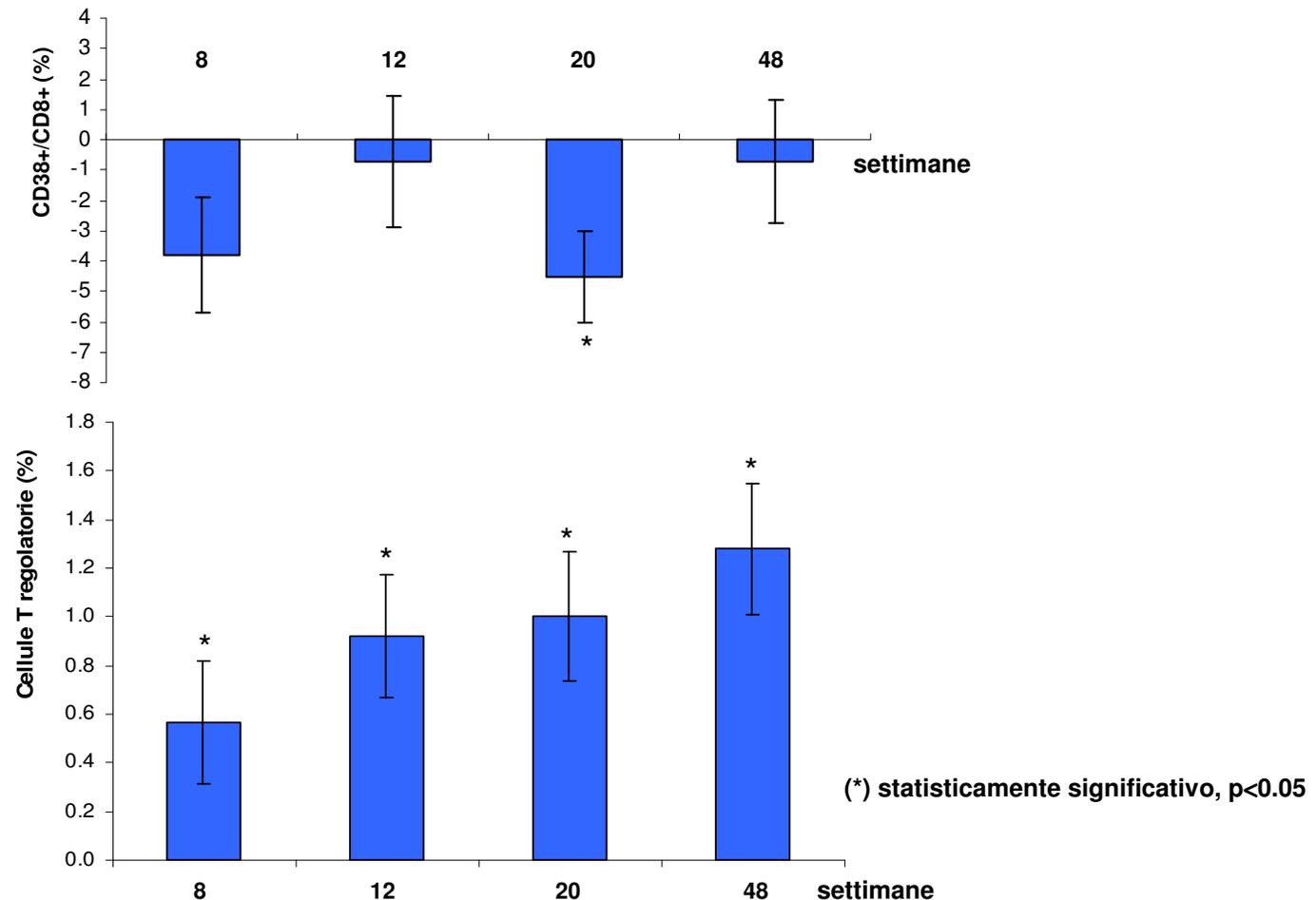
***Questi risultati indicano che l’immunizzazione con Tat è un promettente strumento terapeutico per potenziare l’efficacia dell’HAART e ristabilire il corretto equilibrio del sistema immune.***

# ISS T-002: L'immunizzazione terapeutica con Tat induce risposte anticorpali specifiche in soggetti trattati con HAART



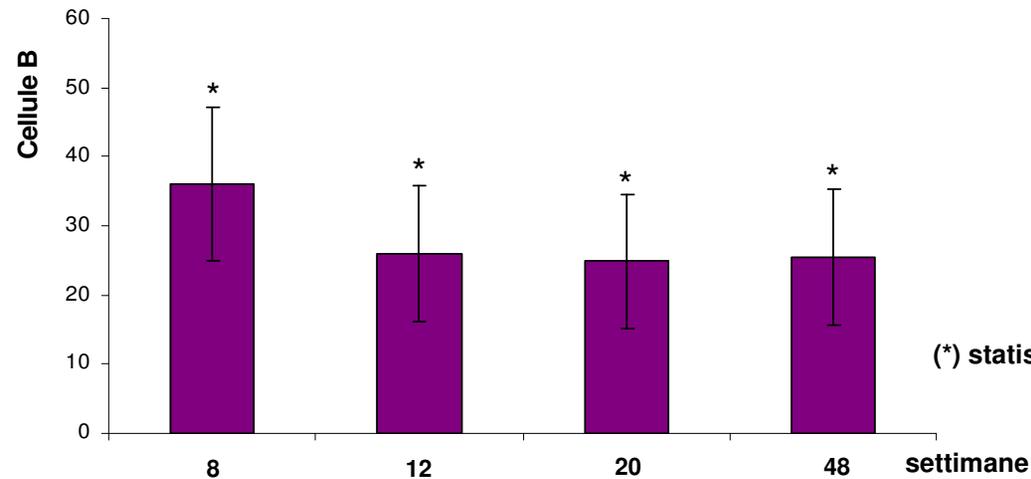
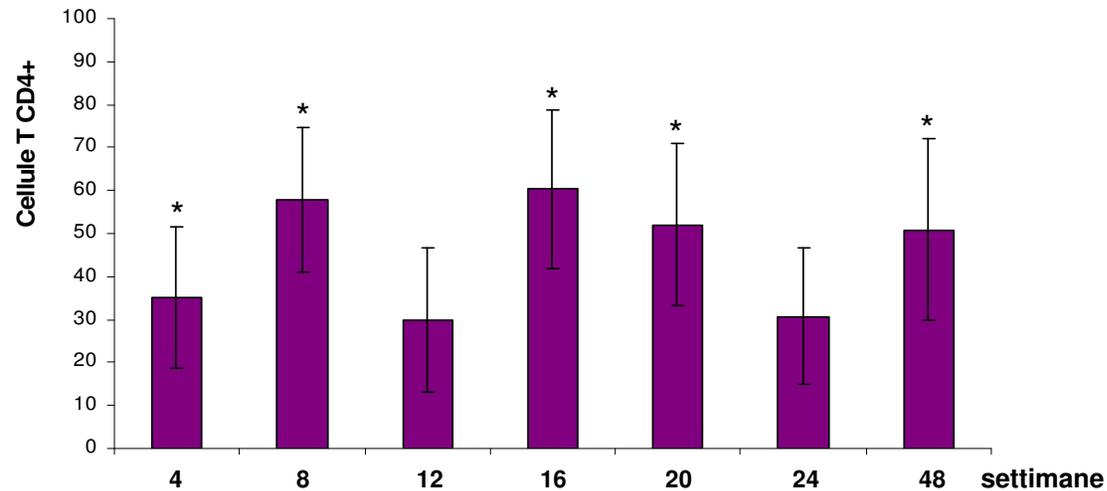
La dose di 30 µg di Tat è stata più efficace della dose di 7.5 µg nell'indurre anticorpi anti-Tat e nel mantenerli più a lungo nel tempo, con lievi differenze tra 3 o 5 inoculi.

## ***ISS T-002: Attivazione del sistema immune (espressione di CD38) e cellule T regolatorie (CD25+FOXP3+CD4+)***



**Nei soggetti immunizzati con ambedue le dosi di Tat si è osservata una riduzione dell'espressione del CD38 sui linfociti T CD8+ ed un significativo e persistente incremento delle cellule T regolatorie.**

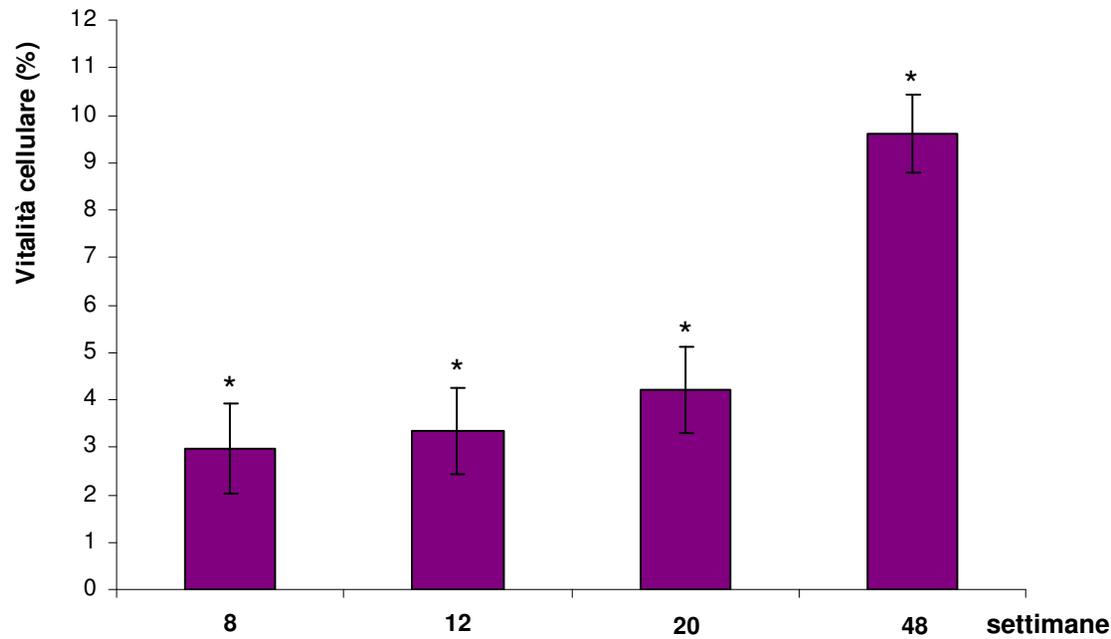
## ISS T-002: Numero delle cellule T CD4+ e delle cellule B



(\*) statisticamente significativo,  $p < 0.05$

**Dopo immunizzazione con ambedue le dosi di Tat si è osservato un incremento significativo, rispetto ai valori basali, e persistente nel tempo, del numero delle cellule T CD4+ e del numero delle cellule B.**

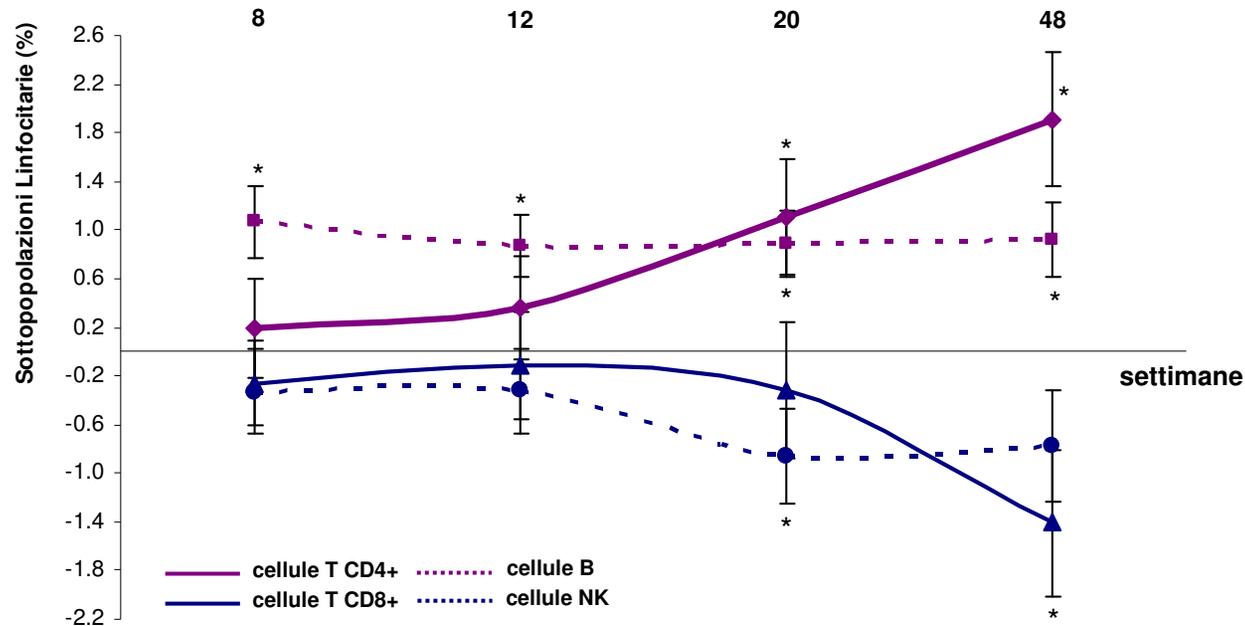
## ***ISS T-002: Vitalità cellulare (cellule mononucleate del sangue periferico)***



(\*) statisticamente significativo,  $p < 0.05$

**Nei soggetti immunizzati con ambedue le dosi di Tat si sono osservati incrementi significativi della vitalità cellulare con un progressivo aumento durante l'intero periodo di osservazione**

## ISS T-002: Sottopopolazioni Linfocitarie



(\*) statisticamente significativo,  $p < 0.05$

L'immunizzazione con Tat ha indotto un riequilibrio delle sottopopolazioni linfocitarie con una significativa tendenza verso valori normali, con aumento percentuale delle cellule T CD4+ e delle cellule B e riduzione percentuale delle cellule T CD8+ e delle cellule NK.

## ***Principali differenze tra lo Studio Osservazionale ed il Trial Clinico ISS T-002***

**Nello Studio Osservazionale (ISS OBS T-002) è stato osservato:**

- **Un lieve calo dell'espressione di CD38 con una sostanziale stabilità dei marcatori biochimici di immunoattivazione ed un marcato decremento delle cellule T regolatorie.**
- **Nessun cambiamento rilevante del numero assoluto delle cellule T CD4+ ed una progressiva perdita del numero assoluto delle cellule B.**
- **Un lieve incremento della percentuale delle cellule T CD4+, una sostanziale stabilità della percentuale di cellule B ed NK, ed un incremento della percentuale delle cellule T CD8+.**

# ***Immunizzazione Terapeutica con Tat: Conclusioni***

- **L'immunizzazione terapeutica con Tat riduce l'immunoattivazione ancora presente in soggetti trattati con una terapia HAART efficace e promuove il recupero della funzionalità del sistema immune.**
- **I risultati indicano che l'immunizzazione con Tat agendo in sinergia con la terapia antiretrovirale aiuta a ristabilire un corretto equilibrio del sistema immunitario.**

***E' la prima volta che un vaccino terapeutico contro l'HIV/AIDS dimostra un'efficacia mirata e selettiva.***

***Questi risultati forniscono un forte razionale per lo sviluppo di un approccio terapeutico "patogenetico" mirato su Tat.***

## ***Emendamento al Protocollo ISS T-002***

➤ **Data l'urgenza di migliorare il trattamento contro l'HIV e sulla base dei risultati ottenuti che indicano che l'immunizzazione con Tat è capace di migliorare le alterazioni indotte dall'infezione da HIV, che persistono anche in presenza di HAART efficace, e che un effetto terapeutico maggiore si osserva nei soggetti con maggiore compromissione immunologica,**

**è stato approvato dai Comitati Etici un emendamento al protocollo**

- **per aumentare il numero di soggetti da 128 a 160**
- **per includere individui con maggiore compromissione immunologica, che necessitano maggiormente di un'immunizzazione terapeutica.**

**I nuovi criteri includono: storia di "rebound" virologico, numero di cellule T CD4+  $\geq 200$  cellule/ $\mu$ L con qualsiasi nadir di CD4 antecedente l'inizio della terapia, co-infezioni.**

***Il trial è ancora in corso e si stanno reclutando pazienti con criteri di inclusione meno restrittivi.***

# Referenze

## *Studi Preclinici*

Cafaro A, Caputo A, Fracasso C, Maggiorella MT, Goletti D et al. (1999) Control of SHIV-89.6P-infection of cynomolgus monkeys by HIV-1 Tat protein vaccine. *Nat Med* 5: 643-65.

Maggiorella MT, Baroncelli S, Michelini Z, Fanales-Belasio E, Moretti S et al. (2004) Long-term protection against SHIV89.6P replication in HIV-1 Tat vaccinated cynomolgus monkeys. *Vaccine* 22: 3258-3269.

Borsetti A, Baroncelli S, Maggiorella MT, Moretti S, Fanales-Belasio E et al. (2009) Containment of infection in tat vaccinated monkeys after rechallenge with a higher dose of SHIV89.6P(cy243). *Viral Immunol* 22: 117-124.

Cafaro A, Bellino S, Titti F, Maggiorella MT, Sernicola L et al. (2010) Impact of Viral Dose and Major Histocompatibility Complex Class IB Haplotype on Viral Outcome in Tat-vaccinated Mauritian Cynomolgus Monkeys upon Challenge with SHIV89.6P. *J Virol* 84: 8953-8958.

## *Studi Clinici*

Rezza G, Fiorelli V, Dorrucchi M, Ciccozzi M, Tripiciano A et al. (2005) The presence of anti-Tat antibodies is predictive of long-term nonprogression to AIDS or severe immunodeficiency: findings in a cohort of HIV-1 seroconverters. *J Infect Dis* 191: 1321-1324

Ensoli B, Fiorelli V, Ensoli F, Cafaro A, Titti F et al. (2006) Candidate HIV-1 Tat vaccine development: from basic science to clinical trials. *AIDS* 20: 2245-2261.

Ensoli B, Fiorelli V, Ensoli F, Lazzarin A, Visintini R et al. (2008) The therapeutic phase I trial of the recombinant native HIV-1 Tat protein. *AIDS* 22: 2207-2209.

Ensoli B, Fiorelli V, Ensoli F, Lazzarin A, Visintini R et al. (2009) The preventive phase I trial with the HIV-1 Tat-based vaccine. *Vaccine* 28: 371-378.

Longo O, Tripiciano A, Fiorelli V, Bellino S, Scoglio A et al. (2009) Phase I therapeutic trial of the HIV-1 Tat protein and long term follow-up. *Vaccine* 27: 3306-3312.

Bellino S, Francavilla V, Longo O, Tripiciano A, Paniccia G et al. (2009) Parallel conduction of the phase I preventive and therapeutic trials based on the Tat vaccine candidate. *Reviews on Recent Clinical Trials* 4, 195-204.

# ***Ringraziamenti***

***Centro Nazionale AIDS dell'Istituto Superiore di Sanità,***  
**Sponsor dello studio.**

***Laboratorio centralizzato di Immunologia e Virologia (Ospedale IFO-San Gallicano),***  
***per le valutazioni immunologiche e virologiche***

***Centri Clinici,***  
**per la conduzione dello studio.**

***Opera,*** per tutte le attività della CRO.

***Avitech-Diatheva,*** per la produzione GMP del vaccino Tat.

***Injectalia,*** per la formulazione ed il confezionamento del vaccino.

**Per il loro valido contributo e supporto:**

***Data Safety Monitoring Board***

***International Advisory Board***

***Community Advisory Board***

***Telefono Verde AIDS dell'Istituto Superiore di Sanità***

# *Ringraziamenti*



*Istituto Superiore di Sanità*



*Ministero della Salute*

