

RESUMO

SILVA, M. O. **Direcionamento de antígenos para células dendríticas como estratégia imunoterapêutica para o controle de tumores induzidos por HPV.** 147 f. Tese (Doutorado em Microbiologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

As doenças causadas por infecções persistentes por HPV, como o câncer cervical, representam um grave problema de saúde pública no mundo e correspondem a um dos maiores causadores de mortes relacionadas a tumores em mulheres. Neste sentido, a busca por novas abordagens terapêuticas para esse tipo de câncer é uma prioridade. A geração de vacinas anticâncer bem-sucedidas depende da capacidade de induzir respostas imunes contra抗ígenos tumorais. Neste cenário, o direcionamento de antígenos para as células dendríticas (DCs) representa uma abordagem promissora, capaz de aumentar a eficiência de imunoterapias antitumorais. No presente estudo, utilizamos anticorpos monoclonais (mAbs) capazes de direcionar antígenos para uma população específicas de DCs, as DCs CD8 α^+ DEC205 $^+$. Para isso, anticorpos monoclonais α DEC205 foram fusionados geneticamente à oncoproteína E7 do HPV-16 afim de criar uma vacina capaz de tratar tumores associados ao HPV. A eficácia terapêutica dos mAbs α DEC205-E7 foi avaliada utilizando o modelo de células TC-1 implantadas em três sítios anatômicos distintos (subcutâneo, cavidade oral e intravaginal). O regime de imunização compreendeu duas doses do mAb α DEC205-E7 coadministrado com o adjuvante Poly (I:C). A formulação vacinal produziu efeitos antitumorais robustos nos modelos de implante subcutâneo e ortotópicos, estimulando a regressão rápida do tumor e a sobrevivência a longo prazo. Esses resultados foram relacionados à ativação de células T CD8 $^+$ citotóxicas E7-específicas sistêmicas e em tecidos linfoides. Além disso, o tratamento foi capaz de induzir imunidade de longa duração e controlar recidivas tumorais. Em virtude dos resultados promissores obtidos em modelo murino, um mAb específico para DEC205 humano fusionado à proteína E7 (α DEC205-E7 hu) foi também construído e purificado. O mAb α DEC205-E7 hu manteve sua integridade preservada e mostrou-se capaz de ligar-se a DCs derivadas de monócitos (moDCs) e a monócitos humanos. Em ensaios de ativação de DCs *in vitro*, os mAbs sozinhos não foram capazes de ativar moDCs pelo aumento da expressão das moléculas coestimuladoras CD83 e CD86. Os dados obtidos no presente estudo demonstram a importância do direcionamento de antígenos para DCs e a eficiência terapêutica da estratégia proposta. Dessa forma, a utilização do mAb α DEC205-E7 é uma abordagem promissora para o desenvolvimento de imunoterapias contra tumores induzidos por HPV.

Palavras chaves: HPV, receptor DEC205, Células dendríticas, imunoterapia.

ABSTRACT

SILVA, M.O. Targeting of antigens to dendritic cells as an immunotherapeutic strategy to control HPV-induced tumors. 147 f.Thesis (Microbiology). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Diseases caused by persistent HPV infections, such as cervical cancer, represent a serious public health problem in the world and are one of the biggest causes of tumor-related deaths in women. In this context, the search for new therapeutic approaches for this type of cancer is a priority. The generation of successful anticancer vaccines depends on the ability to induce immune responses against tumor antigens. In this scenario, antigen targeting to dendritic cells (DCs) represents a promising approach, capable of increasing the efficiency of antitumor immunotherapies. In the present study, we used monoclonal antibodies (mAbs) capable of targeting antigens to a specific population of DCs, the CD8 α ⁺ DEC205⁺ DCs. For this, α DEC205 mAbs were genetically fused to the HPV-16 oncoprotein E7 to create a vaccine capable of treating HPV-associated tumors. The therapeutic efficacy of α DEC205-E7 mAbs was evaluated using the TC-1 cell model implanted in three distinct anatomical sites (subcutaneous, oral cavity and intravaginal). The immunization regimen comprised two doses of the α DEC205-E7 mAbs coadministered with Poly(I:C), as adjuvant. The vaccine formulation produced robust antitumor effects in subcutaneous and orthotopic implant models, stimulating rapid tumor regression and long-term survival. These outcomes were related to the activation of E7-specific cytotoxic CD8 $^{+}$ T cells in systemic and lymphoid tissues. Furthermore, the treatment was able to induce long-lasting immunity and control tumor recurrences. Due to the promising results obtained in a murine model, a mAb specific for human DEC205 fused to E7 protein (α DEC205-E7 hu) was also constructed and purified. The α DEC205-E7hu mAb maintained its integrity preserved and was able to bind monocyte-derived DCs (moDCs) and human monocytes. In *in vitro* DC activation assays, mAbs alone were not able to activate moDCs by increasing the expression of the costimulatory molecules CD83 and CD86. The data obtained in this study highlighted the importance of targeting antigens to DCs and the therapeutic efficiency of the proposed strategy. Thus, the use of mAb α DEC205-E7 is a promising approach for the development of immunotherapies against HPV-induced tumors.

Key words: HPV, DEC205 receptor, Dendritic cells, immunotherapy.