

**MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ**

# LA TECNOLOGIA DEI VACCINI PER LE MALATTIE EREDITARIE

## Vaccine technology for hereditary diseases

**MAURO GIACCA***Professor of Cardiovascular Sciences, King's College London, School of Cardiovascular Medicine & Sciences*

I vaccini di Pfizer e Moderna sono una pietra miliare nel campo della medicina, non soltanto per il controllo dell'attuale epidemia, ma anche (e forse soprattutto) per aver portato alla ribalta una nuova tecnologia per la somministrazione dell'RNA. Ne è una prima prova uno studio clinico, pubblicato lo scorso 26 giugno sul *New England Journal of Medicine*, che utilizza la medesima tecnologia dei vaccini per correggere il difetto genetico responsabile di una malattia ereditaria.

Il crescendo di questa storia è entusiasmante. Tutto nasce nel 2013, quando Emmanuelle Charpentier, una ricercatrice francese in quegli anni a Umeå in Svezia e Jennifer Doudna, biochimica americana all'Università di Berkeley, descrivono come un fattore presente nei batteri, la proteina Cas9, sia in grado di stimolare la correzione di una mutazione del DNA. Cas9 può essere veicolata a livello di una mutazione semplicemente disegnando un RNA, chiamato CRISPR, complementare

alla regione dove la mutazione è localizzata. È la prima volta che la comunità scientifica ha a disposizione uno strumento semplice per affrontare un obiettivo che sembrava lontano anni luce, quello dell'*editing* genetico preciso, ovvero la possibilità di cambiare direttamente la sequenza del patrimonio genetico di una cellula. Nell'uomo, piccoli errori nella sequenza del Dna a livello di oltre 4mila geni sono responsabili dello sviluppo di altrettante malattie ereditarie, nella maggior parte dei casi incurabili. Con CRISPR/Cas9, si può finalmente pensare di correggere direttamente queste mutazioni. Lo scorso anno, Doudna e Charpentier hanno vinto il premio Nobel per la Chimica per aver portato alla luce questa possibilità.

Ma se il sistema CRISPR/Cas9 in pochi anni ha già cambiato il modo in cui si fa ricerca nei laboratori, applicare questa tecnologia nei pazienti è rimasto ancora complicato. Il sistema è basato su due componenti: Cas9, una proteina relativamente di grandi dimensioni e l'Rna CRISPR, entrambi i quali devono essere presenti nelle cellule per innescare il meccanismo di editing preciso. Per veicolare Cas9 e CRISPR, può venire in aiuto la terapia genica, grazie alla quale abbiamo a disposizione almeno 3 tipi di vettori virali molto efficaci per trasferire

*Indirizzo per la corrispondenza*

Mauro Giacca, MD PhD  
Professor of Cardiovascular Sciences  
King's College London  
School of Cardiovascular Medicine & Sciences  
E-mail: mauro.giacca@kcl.ac.uk

i geni. Di questi, tuttavia, quelli basati sul virus Hiv (i vettori lentivirali) funzionano solo nelle cellule dei pazienti coltivate in laboratorio (tipicamente, le cellule staminali ematopoietiche o i linfociti per la tecnologia CAR-T), mentre i vettori basati su adenovirus causano una forte reazione infiammatoria; questa è salutare per i vaccini (ne è la prova l'efficacia di quelli di AstraZeneca e Johnson&Johnson per il coronavirus), ma del tutto da evitare nella cura delle malattie genetiche. Per veicolare CRISPR/Cas9, allora, in realtà rimane solo un tipo di virus utilizzabile, l'innocuo virus adeno-associato (AAV). Ma i vettori AAV hanno dimensioni piccole, mentre il gene che codifica per la proteina Cas9 è molto grande. Difficile fare stare il suo DNA all'interno di un virus così minuscolo. E poi, AAV consente una terapia genica permanente, efficace ad esempio nelle malattie ereditarie della retina che portano a cecità o nell'atrofia muscolare spinale, dal momento che in entrambi i casi esiste la necessità di esprimere permanentemente il gene corretto. Ma nel caso di Cas9 un'espressione duratura non è così desiderabile, visto che questa è una proteina dei batteri e può quindi scatenare una reazione immunitaria.

Ed è a questo punto che la tecnologia dei vaccini di Pfizer e Moderna entra in gioco. Un'azienda biotec americana, la Intellia Therapeutics, di cui Doudna è una delle fondatrici, ha sintetizzato l'RNA messaggero di Cas9 e l'RNA di CRISPR e, per veicarli all'interno dell'organismo, anziché uno dei vettori virali, ha utilizzato delle sferette di lipidi ottenute con il medesimo metodo con cui sono stati prodotti i vaccini. La tecnologia è quella delle cosiddette SNALP (Stable Nucleic Acid Particle), che consente di ottenere delle nanoparticelle lipidiche, del diametro di circa 100 nanometri, in cui l'involucro è formato da 4 particolari tipi di lipidi, mentre all'interno

sono contenute le molecole di RNA che si vogliono veicolare (l'RNA messaggero di Spike nel caso dei vaccini). La malattia che Intellia vuole correggere è un raro difetto genetico del fegato, l'amiloidosi ereditaria, dovuta alla mutazione del gene che codifica per la proteina transtiretina. Questa è una malattia progressiva, che culmina nella morte dei pazienti solo pochi anni dopo la diagnosi a causa dell'accumulo della proteina mutata, prodotta dal fegato e circolante nel sangue, a livello di tutti gli organi, in particolare nei nervi e nel cuore.

Nello studio appena pubblicato sul New England Journal of Medicine, a 6 pazienti con questa malattia sono state quindi iniettate delle nanoparticelle lipidiche contenenti l'RNA messaggero di Cas9 e l'RNA di CRISPR, con lo scopo di veicolare Cas9 a livello della mutazione. Iniettate nel sangue, queste sferette lipidiche vengono spontaneamente ricoperte dall'apolipoproteina E che circola nel sangue e, grazie a questa, sono captate dalle cellule epatiche che esprimono il recettore per questa proteina. Dopo un mese dall'iniezione, i livelli patologici di transtiretina sono risultati ridotti dall'80% al 96% nei pazienti trattati, un risultato straordinario e superiore a qualsiasi altra terapia finora disponibile, compreso un farmaco introdotto nel 2018 per la terapia di questa malattia, il patisiran, anch'esso costituito da una nanoparticella lipidica in grado di diminuire i livelli della proteina mutata, ma non di azzerarli come nel caso dell'editing genetico preciso. Al di là di questa specifica malattia, questo nuovo studio apre scenari entusiasmanti per la medicina, dal momento che la convergenza delle due tecnologie (utilizzo di fattori che consentono l'editing genetico preciso e nanoparticelle lipidiche per la loro somministrazione) promette applicazioni finora impensabili per una lunga lista di malattie ereditarie ad oggi incurabili.