

Vaccinologia personalizzata: una revisione

G.A. Poland [†], I.G. Ovsyannikova, R.B. Kennedy
Mayo Clinic Vaccine Research Group, Mayo Clinic, Rochester, MN 55905, USA

INFORMAZIONI SULL'ARTICOLO

Cronologia:
Disponibile online dal 31 luglio
2017

Parole chiave:

Vaccini
Immunizzazione
Vaccinazione
Immunogenetica
Immunità
Immunità cellulare
Immunità umorale
Immunità innata
Adattivo

ABSTRACT

Al giorno d'oggi il campo della vaccinologia rimane sotto molti aspetti empirico e l'efficiacia dei vaccini è stata per la maggior parte guidata dal paradigma empirico "isolare-inattivare-iniettare". A sua volta, un modello di salute pubblica basato su "stessa dose per tutti per ogni malattia" è stato il pensiero normativo riguardo alla prevenzione delle malattie infettive contro le quali esiste un vaccino. Inoltre, fino a tempi recenti, non è stato progettato nessun vaccino in grado di superare l'immunosenescenza dovuta all'età, coerente con una mentalità post bellica di sviluppo di vaccini e di programmi vaccinali destinati ai bambini. Oggi si riconosce il fatto che la mancanza di conoscenze riguardo a come si generano le risposte immunitarie ai vaccini sia una criticità per la comprensione della scarsa risposta nei soggetti più anziani o con sistema immunitario immaturo, così come la scoperta di nuovi fattori legati all'immunogenicità, biomarcatori di risposta vaccinale e un approccio volto allo sviluppo di nuovi vaccini.

I nuovi campi della vaccinomica e dell'avversomica mettono a disposizione modelli che permettono di delineare le risposte immunitarie innate, umorali e cellulari, integrati a livello di biologia dei sistemi. Ciò ha permesso di far progredire la scienza, andando oltre gli approcci scientifici riduzionisti e rivelando nuove interazioni tra il sistema immunitario e altri sistemi biologici oltre che all'interno di essi (andando oltre il livello di trascrizione), fattori critici per lo sviluppo di risposte adattive downstream umorali e cellulari ai patogeni infettivi e ai vaccini. Altri ricercatori hanno applicato gli approcci sistemici allo studio delle risposte anticorpali (anche noto come "sierologia dei sistemi") [1] all'immunofenotipizzazione di sottogruppi di cellule ad alta dimensione attraverso un citometro di massa (CyTOF) [2,3] e ai cambiamenti metabolici indotti dai vaccini [4]. A sua volta queste conoscenze sono state utilizzate per comprendere meglio i seguenti aspetti: identificare chi è a rischio e per quali infezioni; il livello di rischio causato da bassa immunogenicità e/o eventi avversi gravi; il tipo e la dose di vaccino necessaria per proteggere completamente un individuo. Nel complesso tali approcci permettono una personalizzazione della pratica vaccinale, in analogia con i notevoli progressi che la medicina individualizzata sta facendo in altri campi della salute umana e nella farmacologia. Qui di seguito revisioniamo brevemente i campi della vaccinomica, avversomica e della vaccinologia personalizzata.

1. Introduzione e background

I vaccini sono una delle più efficaci strategie di salute pubblica per la prevenzione delle malattie infettive. Dieci anni fa abbiamo descritto la nostra idea di vaccinomica ed avversomica, basata sulla teoria della rete di risposta immunitaria [5, 6], che utilizza l'immunogenetica/immunogenomica e la biologia dei sistemi come approcci per comprendere le cause delle variazioni nelle risposte immunitarie ai vaccini negli esseri umani, così come le cause degli effetti collaterali dei vaccini stessi [7]. La vaccinomica e l'avversomica indagano l'influenza della regolazione genetica e non genetica sull'eterogeneità delle risposte immunitarie ai vaccini sia a livello individuale che della popolazione generale [5]. In particolare, la vaccinomica e l'avversomica utilizzano approcci della biologia dei sistemi ad alto rendimento e dimensionalità, allo scopo di prevedere le variazioni di risposta immunitaria innata protettiva, disadattava e adattiva ai vaccini [1-4, 6, 8]. A questo proposito, la base di una vaccinologia personalizzata (e predittiva) è la valutazione del background genetico di un individuo, del sesso ed altri fattori che potrebbero influenzare l'immunogenicità, l'efficacia e la sicurezza dei vaccini [8-11]. Sia noi che altri ricercatori abbiamo ampiamente pubblicato studi sull'applicabilità degli strumenti e concetti della vaccinomica, incluse l'immunogenetica e l'immunogenomica, allo sviluppo diretto di nuovi e migliori candidati vaccini basato sulla conoscenza [12-15]. È probabile che l'applicazione di questi concetti possa permettere una spiegazione, quantificazione e previsione delle risposte immunitarie protettive indotte da vaccino, compreso lo sviluppo di firme immunitarie predittive in risposta ai vaccini. Infatti abbiamo già pubblicato quella che crediamo possa essere una prima bozza di modello matematico ed equazione predittiva che descriva eventi non-random causanti una risposta immune predeterminata [6]:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^p \beta_i X_i + \varepsilon$$

y = misurazione della risposta immunitaria

β_0 = intercettatore

β_i = coefficiente della variabile i th X_i ed indica la l'ammontare del cambiamento in y ogni unità 1 di cambiamento in X_i

E = deviazioni random rispetto al modello

Riconosciamo che una tale equazione, allo stato attuale della scienza, risulta incompleta e non possa prevedere le risposte immunitarie. Ma la presentiamo come un primo tentativo direzionale di quantificare una simile equazione. Un tale approccio ci porta verso un modello attuale di sviluppo diretto di vaccini e una conoscenza avanzata di come e attraverso quali meccanismi i vaccini e gli adiuvanti inneschino risposte immunitarie che possono essere utili o disadattive, innate e adattive. Crediamo che la vaccinomica e l'avversomica siano approcci in contrasto con i metodi standard di sviluppo dei vaccini utilizzati fino a poco tempo fa. Storicamente lo sviluppo di un vaccino è stato empirico, nonostante l'emergere e il ricomparire di molti patogeni complessi e ipervariabili, molti dei quali dotati di elaborati meccanismi di fuga dal sistema immunitario. Inoltre i tassi di copertura vaccinale sono in sofferenza a causa del fatto che la società è contraria al rischio potenziale legato ai vaccini e richiede un livello di sicurezza che potrebbe non essere mai raggiunto. Infine, l'approccio "stessa-misura-per-tutti" (lo stesso vaccino alla stessa dose per tutti) applicato alla pratica vaccinale ignora la complessità e la diversità del sistema immunitario umano e del genoma dell'ospite. E quindi lo scopo della

vaccinomiche e di queste nuove branche di ricerca è quello di identificare specifici profili di risposta immunitaria, “firme-immunitarie” e biomarcatori che possano predire per il singolo individuo la sicurezza e l’efficacia dei vaccini e che possano portare a nuovi candidati vaccini.

2. Motivazioni ed esempi di vaccinomica ed avversomica

La vaccinomica fornisce l’opportunità di esaminare non solo i geni di risposta immunitaria che potrebbero essere coinvolti in una risposta ai vaccini, ma anche la possibilità di identificare l’influenza di nuovi (non caratterizzati) geni di immunità indotta dai vaccini. A sua volta, l’identificazione e lo studio diretto di tali varianti genetiche permette di riconoscere, spesso a livello molecolare, gli effetti del legame differenziale, dell’elaborazione, dell’espressione/presentazione di peptidi virali antigenici utilizzati nello sviluppo del vaccino, l’identificazione dell’intervallo differenziale dei peptidi presentati (restrizione genetica), i modelli di secrezione alterati (citochine) in risposta ai vaccini o agli adiuvanti, la trascrizione alterata di geni importanti (molecole di segnalazione) e dei prodotti genici, i legami alterati tra virus ed antigeni a causa di recettori di membrana (TLR: Toll-like receptor, o altri), le funzioni, l’espressione e le affinità dei recettori differenziali e l’impatto dell’epigenetica sulle risposte immuni indotte da vaccino. Abbiamo utilizzato queste conoscenze nel nostro laboratorio per creare un paradigma basato sulla ricerca “scoprire-convalidare-caratterizzare-applicare” che potrebbe essere usato nello sviluppo di nuovi candidati vaccini (Fig. 1) [6]. Grazie a questo paradigma ci è stato possibile utilizzare gli approcci della vaccinomica per scoprire varianti genetiche che sono associate significativamente con risposte immuni downstream, convalidare il fatto che tali varianti erano realmente associate a ciò, dopo di che cercare di caratterizzare il meccanismo attraverso cui tali effetti hanno luogo e infine applicare tale conoscenza, spesso in studi funzionali che confermano gli effetti sull’immunità. Tale conoscenza può essere sfruttata nello sviluppo di strategie immunitarie per migliorare o aggirare le restrizioni genetiche, per esempio innescando le risposte immunitarie associate al vaccino, attraverso un processo di “reverse engineering” (ingegneria inversa) riguardo a un determinato ostacolo genetico o di altro tipo in modo di generare risposte immunitarie protettive.

Vi è un numero crescente di studi che riportano valutazioni imparziali a livello genomico della variazione genetica e della sua influenza sulle risposte immunitarie adattive (umorali e cellulari) indotte da vaccino attraverso più vaccini virali e batterici. Per esempio, studi immunogenetici e farmacogenetici sui candidati vaccini e sull’intero genoma (GWAS: genome-wise association studies, studi di associazione sull’intero genoma), hanno identificato polimorfismi nei geni HLA, KIR, MICA e BTN associati a risposte immuni ai patogeni causa di malattie negli esseri umani, come l’epatite C, il *Mycrobacterium leprae* (lebbra) [17, 18], il virus dell’immunodeficienza umana (HIV) [19] e il morbillo [20, 22]. Studi simili hanno identificato nuovi geni che hanno un impatto sulle risposte immunitarie ai vaccini, incluse l’epatite B, la rosolia, l’influenza A, il vaiolo, l’antrace e la parotite [22, 23]. I nostri studi sui vaccini contro morbillo-parotite-rosolia (MPR) hanno dimostrato che variazioni interindividuali nelle risposte umorali e cellulari indotte dal virus del morbillo presente nel vaccino sono significativamente associate con polimorfismi nei geni della risposta immune e, insieme agli alleli HLA, spiegano la variabilità di circa il 30% della risposta immune interindividuale [5, 34, 36]. Queste scoperte, che hanno illustrato l’importanza degli alleli chiave HLA nella risposta immune umorale adattiva al vaccino contro il morbillo, hanno portato all’identificazione di peptidi derivati dal morbillo processati e presentati naturalmente, i quali sono stati isolati dai polimorfismi HLA specifici associati con assenza di risposta o con risposta abnorme [37, 38]. Tali peptidi, che contengono componenti specifiche (adiuvanti e nano particelle biodegradabili) sono ora utilizzati in una

strategia di ingegneria inversa per sviluppare candidati vaccini contro il morbillo basati sui peptidi. Analogamente, Homan e altri hanno attribuito una minore protezione alla presentazione differenziale HLA degli epitopi cellulari T e B tra vaccino e ceppi selvaggi del virus della parotite [39]. Questa minore efficacia potrebbe essere teoricamente superata incorporando specifici e decisivi peptidi immunogenici in un vaccino di qualità migliore.

I geni TLR rappresentano un collegamento importante tra il sistema immunitario innato e quello adattivo [40, 41]. Ad esempio, abbiamo dimostrato che le risposte umorali indotte dal vaccino contro il morbillo sono significativamente associate con polimorfismi codificati nei geni TLR2 (rs3804100) e TLR4 (rs5030710) [42]. Per il vaccino contro la rosolia e il gene TLR3, un gene SNP (single-nucleotide polymorphism: polimorfismo a singolo nucleotide) in TLR3 (rs5743305) è stato associato con la produzione di GM-CFS specifici della rosolia [43]. Un nostro recente studio sul vaccino contro la parotite ha identificato e replicato degli SNP in TLR4 associati con una diminuzione di circa il 45% del titolo anticorpale e un SNP in TLR5 associato con un incremento del 64% nella risposta delle cellule T (dati non pubblicati). Questi dati suggeriscono fortemente che una robusta attivazione dei TLR da parte dei virus del morbillo, parotite e rosolia è cruciale per una risposta ottimale al vaccino. A sostegno di queste scoperte vi è uno studio che dimostra che un vaccino inattivato contro la parotite, contenente un adiuvante basato su protollin TLR2/4 è altamente immunogenico su modelli murini; ciò ha portato a livelli totali di IgG superiori, titoli anticorpali neutralizzanti più elevati, una maggiore produzione di IgA mucosale ed ha provocato la secrezione di citochine Th1/Th2 [44]. Un'applicazione potenziale di queste scoperte è quella di identificare le interazioni specifiche e critiche tra i TLR (ed altri geni) e i virus, portando a uno sviluppo nelle nostre conoscenze dei meccanismi precisi che portano all'immunità al vaccino MPR.

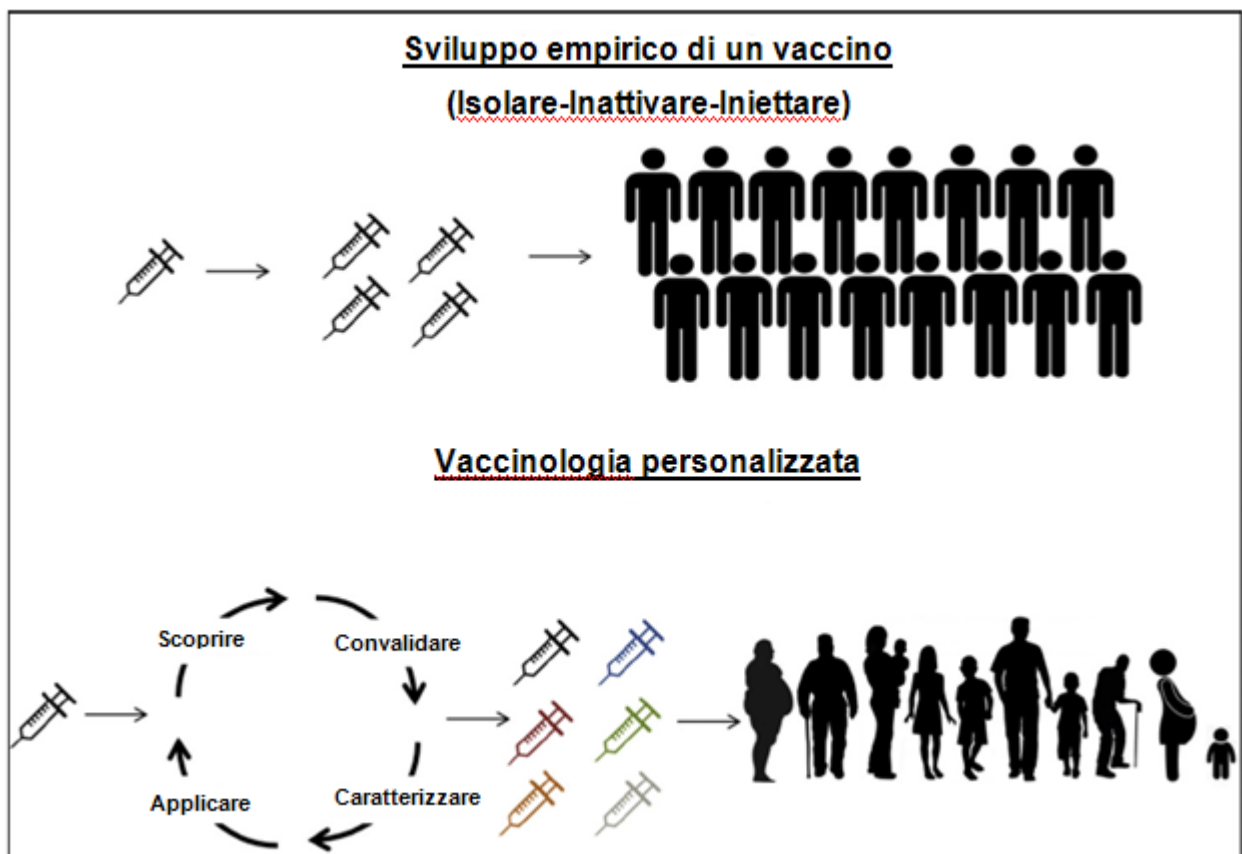


Fig. 1 Paradigma della vaccinologia personalizzata

3. Differenze nella risposta immune ai vaccini basate sul sesso

Ci sono differenze significative nelle risposte immuni, umorali e cellulari, ai vaccini [45, 46]. Inoltre le reazioni avverse locali e sistemiche ai vaccini sono in genere più frequenti nel sesso femminile rispetto a quello maschile. Le risposte anticorpali protettive sono significativamente più elevate nelle femmine che nei maschi dopo una vaccinazione contro influenza, febbre gialla, morbillo, parotite, rosolia, epatite A e B, herpes simplex (HSV) 2, rabbia, vaiolo e virus del dengue [47-55]. Diverse risposte umorali ai vaccini in base al sesso sono osservabili in varie fasce d'età [47-50, 52-57], portando a ritenere che gli steroidi sessuali non siano gli unici mediatori nelle differenze di risposta umorale ai vaccini in base al sesso [45, 58]. Ciò suggerisce che fattori genetici o altro possano essere un'importante causa delle differenze nelle risposte immunitarie umorali fra maschi e femmine [59]. Nonostante vi sia un'evidenza significativa di queste differenze, per la maggior parte gli studi sui vaccini non hanno mai esaminato ed analizzato i risultati di risposta immune basati sul sesso [60, 61]. Infatti vi è una scarsità di informazioni riguardo ai potenziali meccanismi alla base degli effetti in base al sesso, che invece dovrebbero essere una priorità nel campo della ricerca sui vaccini. La scoperta di fattori specifici causanti le differenze di risposta immunitaria fra maschi e femmine potrebbero portare all'identificazione di nuove correlazioni di immunogenicità dei vaccini.

In una coorte di 556 individui dai 50 ai 64 anni e 558 più giovani (dai 18 ai 49 anni) precedentemente vaccinati, il vaccino trivalente contro l'influenza stagionale ha indotto dei titoli anticorpali specifici A/H3N2 da test di inibizione dell'emoagglutinazione (HA: hemagglutination-inhibition assay) 1,5 volte superiori nelle donne che negli uomini in entrambi i gruppi [47]. Similmente, uno studio sulle reazioni al vaccino contro l'influenza stagionale con dose standard e più elevata in una coorte di 414 uomini e donne anziani (dai 65 ai 95 anni), ha dimostrato tassi significativamente maggiori di sierconversione nelle donne che negli uomini [48]; tuttavia non sono state trovate particolari differenze nella misurazione degli anticorpi tra maschi e femmine dopo la vaccinazione anti-influenzale in una coorte di 158 adulti dai 50 ai 74 anni [62]. Uno studio condotto da Furman e altri, ha esaminato espressione genica, citochine e chemochine sieriche, sottoinsiemi cellulari ed eventi di fosforilazione, trovando diversi marcatori sierologici (LEPT, IL-1RA, CRP, GM-CSF e IL-5) maggiormente espressi nelle donne rispetto agli uomini, dopo la vaccinazione antinfluenzale [51]. Lo stesso studio ha utilizzato un approccio di biologia dei sistemi per identificare un cluster genico coinvolto nella biosintesi lipidica che è regolato dal testosterone e significativamente correlato con scarse risposte umorali negli uomini dopo la vaccinazione antinfluenzale [51]. Tali risultati suggeriscono che questo cluster genico (ad esempio i geni coinvolti nel metabolismo lipidico) potrebbero essere una causa importante delle differenze legate al sesso nella risposta immunitaria umorale. Questa conoscenza collettiva potrebbe sostanzialmente aiutare negli sforzi per lo sviluppo futuro di un vaccino personalizzato attraverso la generazione di nuove conoscenze e l'identificazione di obiettivi e biomarcatori che prevedono la risposta al vaccino in popolazioni specifiche (ad es. femmine vs maschi, giovani vs anziani, obesi vs magri). Sono necessarie ulteriori ricerche che possano chiarire l'influenza del sesso sulle risposte immuni. L'identificazione di firme immunitarie molecolari delle differenze sessuali nelle risposte immunitarie innate e adattive ai vaccini può fornire informazioni necessarie per ulteriori sforzi nella progettazione di approcci personalizzati di vaccinazione e di vaccinomica (cioè, in cui maschi e femmine potrebbero essere vaccinati in modo diverso utilizzando dosi diverse o vaccini diversi) per fornire uguale protezione riducendo gli effetti collaterali [46, 63, 64].

4. Risposte immunitarie ai vaccini negli anziani

Un problema di salute pubblica globale significativo è l'invecchiamento della popolazione. Quando le persone invecchiano, si sviluppa l'immunosoppressione che porta a risposte immunitarie più povere ai vaccini. L'immunosenescenza è una disregolazione del sistema immunitario legata all'età per modificazioni delle componenti del sistema immunitario innato ed adattivo, che provoca una ridotta immunità e protezione a seguito di immunizzazione o infezioni [65, 67]. Le pubblicazioni disponibili rivelano che la risposta immunitaria innata ed adattiva si riduce con l'età, ma i meccanismi non sono ancora chiari [66, 68], specialmente per quanto riguarda le risposte al vaccino contro l'influenza o altri virus per cui la morbilità, mortalità e conseguenti costi sanitari sono più alti negli individui anziani [11]. I principali segni di disfunzione immunitaria innata comunemente osservati negli anziani includono, ma non sono limitati a, un'alterata secrezione di citochine, una ridotta attività delle cellule natural-killer, una ridotta espressione di TLR e uno stato di infiammazione cronica (con aumento di IL-1 β , MCP-1, TNF- α e IL-6 sierica) definito "inflamm-aging" (infiammazione nel processo di invecchiamento). La disfunzione immunitaria umorale legata all'età, per esempio, potrebbe essere superata attraverso la stimolazione ottimale di geni specifici per cellule innate e/o Th, che potrebbero essere differenti tra uomini e donne. Ad esempio, il vaccino adiuvato a subunità zoster (Hz / su) ha ridotto i rischi di herpes zoster e nevralgia post erpetica in soggetti immunocompetenti di 70 anni e oltre [72]. Il vaccino Hz/su contiene la glicoproteina E ricombinante del virus varicella zoster unito al sistema adiuvante AS01B allo scopo di migliorare e preservare dall'età le risposte cellulari CD4+ T specifiche contro lo zoster. Un agonista TLR4 GLA-SE (adiuvante lipidico glucopiranosil formulato in una emulsione stabile) ha mostrato di attivare risposte Th1 al vaccino antinfluenzale negli adulti più anziani [74], suggerendo un meccanismo potenziale per bersagliare gli agonisti dei recettori innati (per esempio i TLR), che migliorano le risposte immunitarie contro l'influenza. Data la sostanziale diminuzione dell'efficacia del vaccino contro l'influenza e altri vaccini con l'età e l'importanza di sviluppare vaccini migliorati [75], i dati dagli studi di vaccinomica potrebbero essere usati per creare un diretto e razionale sviluppo di vaccini antinfluenzali di prossima generazione, aggirando potenzialmente i fattori legati all'immunosenescenza.

Gli approcci della biologia dei sistemi offrono un'opportunità unica per identificare i biomarcatori che potrebbero essere coinvolti nelle risposte immunitarie alla vaccinazione [1-4, 8, 76, 77]. Fourati ed altri hanno applicato un approccio di vaccinologia dei sistemi per esaminare firme geniche e percorsi molecolari in casi di iper risposta causata dall'età al vaccino anti epatite B in pazienti adulti anziani [78]. Hanno osservato che il percorso di segnalazione delle cellule B (e le frequenze delle celle B di memoria più elevate) e il percorso infiammatorio (e le aumentate frequenze di cellule innate proinfiammatorie) erano fortemente e rispettivamente collegate a maggiori o minori risposte anticorpali al vaccino HBV. Questa firma, compreso il profilo del siero delle citochine e i flussi citometrici di risposta correlati, hanno previsto la risposta anticorpale al vaccino HBV con una precisione fino al 65% [78]. Questo studio dimostra che un approccio di biologia dei sistemi può essere utilizzato per prevedere la risposta immune legata all'età alla vaccinazione.

5. Obesità e risposte immuni ai vaccini

L'obesità è uno dei maggiori problemi di salute pubblica a livello globale. Negli USA ad oggi il 68% degli adulti e circa il 32% dei bambini sono sovrappeso o obesi [79]. È stato dimostrato che l'aumento di peso è legato a un più elevato status socioeconomico a livello generale. Si è visto che l'obesità può essere una causa di immunogenicità (ad esempio

una minore risposta immunitaria) ai vaccini contro l'epatite B, il tosoide del tetano, e la rabbia [80-83] e come tale può essere considerato un marcatore o stato di immunosoppressione ai suoi estremi. Questi dati suggeriscono che l'obesità è correlata a minori risposte immunitarie indotte dal vaccino negli esseri umani e ulteriori ricerche sono necessarie per capire quali meccanismi immunitari sono alterati nell'obesità.

Quando le persone invecchiano, i loro livelli di leptina circolanti aumentano con una concomitante riduzione della segnalazione di leptina; questo si traduce in resistenza alla leptina, e questa scoperta è associata all'obesità [84]. È stato dimostrato che la resistenza alla leptina influisce negativamente sulla risposta immune dei soggetti obesi, comprese le risposte al virus dell'influenza [85, 86]. Per esempio, gli individui obesi mostrano una minore attivazione delle cellule T CD8+ specifiche per l'influenza, in paragone alle persone normopeso, e anche una minore produzione di IFN- γ e granzima B, facendo così supporre che la vaccinazione antinfluenzale potrebbe essere non altrettanto efficace nella popolazione obesa come nei normopeso [87]. Considerando solo una moderata sieroprotezione al vaccino antinfluenzale ed altri vaccini nelle persone adulte di età avanzata ed obesa [83], e l'importanza di sviluppare migliori vaccini contro l'influenza [75], sono necessari degli studi di biologia dei sistemi progettati per identificare i meccanismi per una migliore risposta immune. Infatti i dati che risulterebbero da tali studi sui vaccini, potrebbero essere utilizzati per implementare lo sviluppo diretto e razionale di vaccini personalizzati che possano stimolare in modo ottimale delle risposte immuni innate ed adattive sia negli uomini che nelle donne e superare i deficit immunitari indotti dall'obesità [88]. Degli studi attenti sui vaccini che mettano a confronto le persone magre e quelle obese potrebbero rendere disponibili dei dati fondamentali per migliorare la protezione indotta da vaccino negli obesi, un sottogruppo di popolazione che presenta un elevato rischio per malattie gravi ma prevenibili con la vaccinazione e risposte protettive indotte da vaccino non ottimali [10].

6. Avversomica

L'avversomica utilizza strumenti molto simili a quelli usati in vaccinomica per identificare, caratterizzare e predire risposte immunitarie ai vaccini avverse o disadattive [6, 89, 90]. La promessa dell'avversomica dovrebbe essere quella di sviluppare o identificare dei predittori o firme immunitarie di risposte immuni disadattive che possono danneggiare anziché portare beneficio e comprendere meglio la generazione e i meccanismi di tali risposte immunitarie disadattive.

Insieme ad altri scienziati, ci siamo posti questa domanda: "Ha senso nel 21° secolo dare lo stesso vaccino, la stessa dose e alla stessa frequenza a tutti, a prescindere da età, peso, genere, razza, genotipo e condizioni mediche associate?". Per esempio somministriamo a uomini e donne adulti la stessa dose e lo stesso numero di dosi di vaccino, ignorando il fatto che il sesso femminile ha quasi sempre risposte umorali superiori a quelle del sesso maschile per tutti i vaccini studiati e che sperimentano anche più effetti collaterali: più eventi avversi, di maggior durata e di maggior intensità [47, 55, 60].

Nonostante si tratti di un settore di ricerca nuovo, si è già dimostrata un'associazione tra specifici geni o polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) ed eventi immuni avversi. Ad esempio sono state identificate associazioni tra espressione del gene delle citochine e febbre dopo il vaccino contro il vaiolo [91]. Altri studi hanno dimostrato correlazioni tra febbre indotta dal vaccino contro il vaiolo e SNP nei geni IL1A e IL18 [92]. Altri eventi avversi indotti dal vaccino contro il vaiolo, come la febbre, rash cutaneo e ingrossamento dei linfonodi sono stati significativamente associati con gli metilentetraidrofolato-reduttasi (MTHFR), e alotipi SNP di IRF1 e IL4 [93]. Nonostante il vaccino contro il vaiolo non

venza utilizzato nella popolazione generale, tali studi possono fungere da esempio dell'utilità degli approcci di vaccinomica. Infine, altri studi recenti hanno identificato reti genetiche di febbre generica (TNFA) dopo la somministrazione del vaccino e relazioni tra l'iniezione di MPR e polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nei geni IFI44L, CD46, SCN1A, 2A e TMEM16 (ANO3) [95].

7. Sfide della vaccinologia personalizzata

Nonostante l'enorme successo dei vaccini, i vaccinologi devono affrontare diverse sfide attuali, comprese le difficoltà nello sviluppo di vaccini contro virus ipervariabili (HIV, rinovirus, epatite C e coronavirus) e patogeni complessi (malaria, *Mycobacterium della Tuberculosis*); nonché nuovi patogeni emergenti, come il virus Zika (ZIKV); complicazioni dovute all'invecchiamento e all'immunosenescenza della popolazione; inadeguata comprensione del sistema immunitario dei neonati; il sempre maggiore numero di persone con sistema immunitario deficitario o immunocompromesso a causa di HIV, cancro o cure farmaceutiche; differenze nella risposta immunitaria in base al sesso e tassi di eventi avversi; esame approfondito della sicurezza dei vaccini e, come già visto, aumento dell'età media e del peso nella popolazione a livello globale. Inoltre i gruppi antivaccinali, solo vociferanti o attivi, i cui messaggi non sono facilmente contrastabili con fatti o studi scientifici, hanno influenzato materialmente e in modo dannoso i tassi di copertura vaccinale [96-98]. Gli approcci di vaccinomica possono essere utilizzati per comprendere meglio questi temi; tali informazioni possono essere utilizzate per sviluppare nuovi approcci, nuove conoscenze e nuovi candidati vaccini.

Proprio come le nuove tecnologie hanno creato nuove eccitanti opportunità nella medicina personalizzata, hanno portato con sé nuove sfide oltre a quelle sopra menzionate. Per poter raggiungere l'obiettivo di vaccini completamente efficaci e personalizzati, occorre superare ulteriori sfide, come la necessità di:

- Maggior numero di genotipi: set di dati fenotipici (spesso nell'ordine di migliaia o decine di migliaia)
- Integrare i sempre più diversi throughput elevati e tipi di dati di elevata dimensione
- Biomarcatori che possano distinguere in modo affidabile quale prodotto ricevono i pazienti, basandosi sulla possibilità di risposta immunitaria o di effetto collaterale avverso.
- I vaccini con diversi meccanismi di azione potrebbero necessitare un allontanamento da correlazioni umorali di protezione per licenza; a questo proposito, i correlati di protezione basati sui risultati di immunità cellulare potrebbero avere un ruolo importante nei vaccini del futuro.
- Approcci di biostatistica e bioinformatica più sofisticati, in modo che possano identificare modelli e reti causali entro livelli in terabytes di tipi di dati dimensionali estremamente elevati.
- Dal punto di vista economico: metodi di diffusione tecnologica e meccanismi di raccolta fondi per spostare i nuovi vaccini sviluppati verso approcci di vaccinomica in paesi a medio o basso reddito che spesso necessitano di specifici vaccini (malaria o altro).

Abbiamo visto il passaggio da "vaccinologia 1.0" che rappresenta il paradigma "isolare-inattivare-iniettare", a "vaccinologia 2.0", cioè l'utilizzo di tecnologie ricombinanti e nuovi adiuvanti. Tuttavia anche questo paradigma è limitato dalla nostra carente comprensione meccanicistica degli adiuvanti e dell'immunità innata. Se si adottassero approcci come quelli elencati sopra, potremmo apportare un'evoluzione nel campo verso un'era di "vaccinologia 3.0", in cui ci aspettiamo di vedere l'utilizzo di approcci di vaccinomica e a

livello di sistema per sviluppare nuovi vaccini; metodi di confezionamento innovativi di vaccini ed antigeni; sviluppo di adiuvanti finalizzati all'attivazione di percorsi di risposta innata più adatti ad un determinato patogeno.

Una reazione comune a questo paradigma di vaccinologia personalizzata è chiedere il costo a livello economico. Da un lato tali considerazioni sono semplicemente premature nella scienza per poter rispondere efficacemente. Tuttavia, come i progressi avvenuti nella medicina personalizzata, è probabile che essere in grado di fornire il giusto vaccino al giusto paziente (per la giusta ragione e alla giusta dose) porterebbe a migliori risultati medici e minori costi a livello di popolazione.

8. Sviluppo dei vaccini

La vaccinologia personalizzata ha l'obiettivo di applicare il concetto di medicina personalizzata ai vaccini. Rapidi progressi nelle tecnologie omiche e lavoro fondazionale applicando la biologia dei sistemi, l'immunologia computazionale e la vaccinologia inversa hanno facilitato i moderni approcci di creazione e sviluppo di vaccini, permettendoci di creare formulazioni di vaccini per patologie nuove e riemergenti. I vaccini antinfluenzali basati sulle uova necessitano di sei mesi per essere creati. Le recenti licenze di vaccini antinfluenzali basate su colture cellulari dimostrano che oggi si possono implementare nuovi processi rapidi e scalabili per creare vaccini contro nuovi ceppi influenzali (ad esempio H1N1, H5N1, H7N9, H9N2, H7N8) nel giro di poche settimane [99] e possono essere somministrati in sicurezza ad individui con allergie all'uovo [100]. L'epidemia di Ebola in Liberia, Sierra Leone e Guinea nel 2015 è un esempio della necessità di sviluppare rapidamente candidati vaccini [101]. Sono stati creati e testati vaccini a base DNA, a particelle simili a virus, con vettori replicanti o non replicanti. Fra questi i più promettenti sono: una replica competente, ricombinante vettore di virus della stomatite vescicolare che esprime la glicoproteina di Ebola Zaire (Rvsv-zebov) [102], una varietà di vaccini a vettore adenovirus espressione della glicoproteina Ebola [103, 104], un vaccino basato sul virus vaccinico modificato Ankara che codifica la glicoproteina Ebola Zaire (MVA-BN-Filo) [105, 106] e vaccini basati sul DNA (una espressione di glicoproteine sia da Zaire che Sudan, l'altra la glicoproteina Marburg [107]. Nonostante il vaccino basato su rVSV elicit titoli elevati di Ab neutralizzante, è controindicato nei bambini e nei soggetti con sistema immunitario compromesso. I vaccini a vettore virale presentano il problema di sviluppo di una robusta immunità sia contro il vettore che contro il target immunogeno, limitando la loro utilità ad una singola vaccinazione. La disponibilità di vaccini in più dorsali vettoriali apre le possibilità per strategie di vaccinazione prime-boost per l'Ebola, simili a quelle applicate a HIV, malaria e tubercolosi [108-111]. A questo proposito, un regime di primo soccorso con il vaccino basato su MVA come la vaccinazione di richiamo si è dimostrata una notevole promessa [101].

Un altro esempio di sviluppo moderno del vaccino applicato a un nuovo agente patogeno può essere visto con la risposta al virus Zika. Un vaccino purificato e inattivato con formalina (ZIKV PIV) è stato sviluppato dal Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) [112] e viene al momento valutato in diversi test clinici (NCT02963909, NCT02952833, NCT02937233), mentre altri vaccini inattivati sono in fase di sviluppo preclinico [113]. Due varianti di un vaccino a DNA plasmidico contenente le proteine prM-ENV sono stati sviluppati dal NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases) e una delle formulazioni è attualmente nella fase 1 dei test clinici (NCT02840487) [114]. La Inovio Pharmaceuticals ha sviluppato un suo vaccino a DNA plasmidico (anch'esso con proteine prM-ENV), attualmente sottoposto a due test clinici (NCT02809443, NCT02887482). Sono inoltre in fase di sviluppo dei vaccini a base RNA [115] e una varietà di vaccini a subunità e basati su vettori virali [113, 116, 117]. I vaccini a base DNA o RNA

possono essere prodotti rapidamente e a basso costo rispetto ad altre formulazioni e sono abbastanza stabili, senza il bisogno della catena del freddo come i vaccini basati su virus. I vaccini a subunità sono tipicamente più sicuri di tutti i prodotti a base di virus, e rappresentano un'attiva area di indagine non solo per vaccini non ancora prodotti, ma per apportare miglioramenti ai vaccini consolidati. Il nostro gruppo e altri hanno identificato epitopi derivati dai patogeni come fasi preliminari nello sviluppo di vaccini sicuri, stabili ed efficaci a base di peptidi e proteine per il vaiolo, l'influenza, il morbillo, la tubercolosi, lo stafilococco, e una miriade di altri agenti patogeni virali e batterici [38, 118-122]. Parallelamente altri gruppi di ricerca stanno lavorando per creare nuovi vaccini che possano essere inseriti in uno spettro di prodotti potenziali che possano essere personalizzati in modo univoco su gruppi di popolazione specifici. I vaccini a virus vivo, che provocano rapidamente una robusta immunità possono essere utilizzati su individui sani, laddove la tempistica sia essenziale (ad esempio in caso di epidemia), mentre i vaccini inattivati o a subunità possono essere utilizzati su popolazioni vulnerabili, come le donne incinte o i soggetti immunocompromessi, oppure nei bambini piccoli dove la presenza di anticorpi materni interferisce con i vaccini anti-virali. Vaccini basati su diversi vettori virali possono essere combinati in regimi vaccinali prime-boost. Vaccini con adiuvanti specifici potrebbero essere più appropriati per i più anziani al fine di superare i problemi di immunosenescenza, oppure nei giovanissimi per compensare l'imaturità del sistema immunitario.

9. Conclusioni

Noi, insieme ad un numero crescente di altri scienziati, crediamo che la vaccinologia personalizzata rivoluzionerà la pratica vaccinale a beneficio della salute umana. Come parte dello sviluppo di questo campo di scienza, la vaccinomica e l'avversomica ci permetteranno di sviluppare firme immunitarie molecolari delle risposte immunitarie adattive e disadattive ai vaccini, sviluppare i primi biomarcatori di risposta vaccinale nei test, identificare chi dovrebbe ricevere quale vaccino e a quale dose, di aumentare la sicurezza e la fiducia della popolazione nei vaccini riducendo la probabilità di reazioni avverse causate da essi. Tuttavia, sotto molti aspetti, la vaccinologia personalizzata trova la sua maggiore sfida nella difficoltà di allontanare il campo dalla mentalità post-bellica "una dose di tutti i vaccini per tutta la popolazione", verso un approccio individuale e personalizzato, basato sui fattori rilevanti per quell'unico individuo. Nel libro *The Structure of Scientific Revolutions* [123], Thomas Kuhn riconosce che "abbiamo erroneamente creduto che il progresso scientifico sia un processo di accrescimento lineare della conoscenza, che la scienza si fondi sulla convinzione che la comunità scientifica comprenda come è il mondo e che occorre sopprimere o resistere alle 'novità fondamentali' perché vengono viste come sovversive delle nostre ferme convinzioni di come va il mondo". Più avanti, nel libro egli suggerisce che "i nuovi progressi hanno sempre rivelato e sempre riveleranno che la scienza e la medicina includono una raccolta di convinzioni che sono incompatibili con quelle che abbiamo oggi e che il progresso avviene quando rigettiamo una teoria scientifica datata in favore di una incompatibile con essa". Questi pregiudizi cognitivi, secondo noi, si sono manifestati nelle discussioni con i colleghi scienziati mentre sviluppavamo questo nuovo campo scientifico. Schopenhauer, il filosofo tedesco, ha suggerito che le nuove scoperte vengono prima ridicolizzate, poi contrastate e finalmente accettate come ovvie. La vaccinomica e l'avversomica sembra che stiano passando dalla fase di ridicolizzazione e contrasto, a quella non ancora del tutto ovvia di continuità.

Parte della sfida è che spesso il concetto di vaccinologia personalizzata suggerisce al lettore che verrà sviluppato un singolo vaccino per ogni individuo. Mentre questa tattica

viene utilizzata per i vaccini contro il cancro, non è né necessaria, né pratica per la prevenzione delle malattie infettive. Al contrario, l'approccio della vaccinologia personalizzata suggerirebbe lo sviluppo di vaccini specifici basati su fattori che possano superare la possibilità di scarsa immunogenicità e quella degli eventi avversi. Un esempio eccellente è quello del vaccino antinfluenzale. Solo fino a un decennio fa era disponibile solo un vaccino iniettabile trivalente. Con una eccezione, tutti hanno ricevuto lo stesso vaccino e la stessa dose, indipendentemente dall'età, dal peso, dallo stato di immunosoppressione, ecc. Ad oggi negli Stati Uniti, sono disponibili vaccini antinfluenzali multipli, in modo che possa essere somministrato il vaccino giusto, al paziente giusto, e nel momento giusto. Ad esempio il LAIV (vaccino antinfluenzale a virus vivo attenuato) può essere utilizzato per i pazienti più giovani o ago-fobici. Vaccini ad alte dosi o adiuvati con MF59 possono essere scelti per i più anziani. I vaccini ricombinanti possono essere somministrati ai soggetti con allergia all'uovo, e così via. Questo è l'approccio che dovrebbe essere utilizzato per tutti i vaccini. In alcuni casi potrebbe significare semplicemente aggiustare la dose in base al peso, sesso o età. In altri casi utilizzare un vaccino adiuvato o meno a seconda dello stato immunitario. Altri esempi includono il vaccino antinfluenzale adiuvato con MF59 di recente licenza, che presenta una maggiore immunogenicità ed efficacia rispetto alle controparti non adjuvate [124, 126], oppure il vaccino anti glicoproteina E del virus zoster adiuvato con AS01, che non contiene virus vivo e può essere più ampiamente adatto a soggetti anziani [72, 73].

Quindi, il movimento verso un nuovo paradigma nella pratica vaccinale, basato su un approccio personalizzato, si sta verificando nel ventunesimo secolo basato su nuove conoscenze scientifiche, su domande di mercato, considerazioni sulla sicurezza, problemi di immunogenicità, tendenze della salute pubblica (età, obesità, altro) e simultaneamente l'attrazione verso una medicina individualizzata in altri campi medici. Il risultato netto è probabile che siano

più alti tassi di copertura vaccinale, maggiore fiducia del pubblico nei vaccini, migliore immunogenicità e tassi di eventi avversi, e riduzione o eliminazione della morbilità e della mortalità correlate alle malattie prevenibili con vaccino. Di conseguenza, anticipiamo una nuova era di "Vaccinologia predittiva" personalizzata, grazie a cui viene abbandonata l'idea di una "taglia unica e dose adatta a tutti gli approcci vaccinali" al fine di progettare e sviluppare nuovi vaccini e acquisire la capacità di fare le seguenti previsioni per ogni individuo: se dare un vaccino basato sulla probabilità di risposta (e forse bisogno); la probabilità di un evento avverso significativo a un vaccino; e il numero di dosi che è probabile siano necessarie per indurre una risposta protettiva a un vaccino [63].

Attualmente lo sviluppo di un vaccino è in gran parte empirico. I vaccini sono testati per prove ed errori, sono prodotti in serie e dati all'intera popolazione utilizzando la stessa dose di antigene, via di somministrazione, numero di vaccinazioni e alla stessa età. Al contrario, il nuovo paradigma di sviluppo del vaccino inizia con la "scoperta" delle nuove conoscenze integrando un'imparziale e completa analisi del genoma, trascrittoma, proteoma, metaboloma, microbioma e immunoma (insieme alla valutazione di più misure della funzione immunitaria) allo scopo di comprendere e valutare turbamenti del sistema immunitario. I risultati

vengono quindi "validati" nelle coorti di replica o nei sistemi di modelli aggiuntivi. La nuova conoscenza viene quindi "applicata" alla creazione di nuovi formulazioni di vaccino che possono essere sottoposte a test aggiuntivi per iniziare un nuovo round di "Scoperta", oppure passare in studi clinici allo scopo di sviluppare prodotti vaccinali progettati per suscitare (o evitare) specifici effetti sul sistema immunitario. Ogni prodotto è su misura per specifici sottogruppi in modo tale da poter suscitare un'immunità robusta e protettiva sia nell'anziano che nel giovane, magro e obeso, maschio o femmina, e allo stesso tempo evitare risposte immunitarie inappropriate dovute alla genetica, al

metabolismo, alla razza, al genere, alla malnutrizione, all'immunosoppressione e altri fattori dell'ospite o condizioni sottostanti.

Ringraziamenti

La ricerca riportata in questa pubblicazione è stata supportata dall'Istituto nazionale di allergie e malattie infettive del cittadino Institutes of Health con il numero di aggiudicazione U01AI089859,R37AI048793, R01AI033144 e numero contratto HHSN266200400025C (N01AI40065). Il contenuto è esclusivamente il responsabilità degli autori e non rappresenta necessariamente le opinioni ufficiali del National Institutes of Health. Gli autori vorrebbero ringraziare i contributi del Centri per le malattie Controllo e prevenzione (CDC), che forniscono supporto finanziario all'iniziativa dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per la ricerca sui vaccini (U50 CK000431).

Interessi conflittuali

Il dott. Poland è il presidente di un comitato di valutazione dei nuovi test sulla sicurezza dei vaccini condotti da Merck Research Laboratories. Il Dr Poland offre consulenza consultiva sullo sviluppo di vaccini per Merck & Co. Inc., Avianax, Dynavax, Novartis Vaccines and Therapeutics, Emergent Biosolutions, Adjuvance, Seqirus, nonché Protein Sciences. Dr. Poland e la dott.ssa Ovsyannikova detengono tre brevetti correlati ai vaccini e alla ricerca sui peptidi del morbillo. Il dottor Kennedy ha ricevuto finanziamenti da Merck Research Laboratories per studiare il declino dell'immunità al vaccino contro la parotite. Queste attività sono state revisionate dalla Mayo Clinic Conflict of Interest Review Board e sono condotte in conformità con le politiche sui conflitti di interesse della Mayo Clinic.

Riferimenti

- [1] Chung AW, Kumar MP, Arnold KB, Yu WH, Schoen MK, Dunphy LJ, et al. Dissecting polyclonal vaccine-induced humoral immunity against HIV using systems serology. *Cell* 2015;163(4):988–98.
- [2] Newell EW, Sigal N, Bendall SC, Nolan GP, Davis MM. Cytometry by time-offlight shows combinatorial cytokine expression and virus-specific cell niches within a continuum of CD8 + T cell phenotypes. *Immunity* 2012;36 (1):142–52.
- [3] Porpiglia E, Samusik N, Van Ho AT, Cosgrove BD, Mai T, Davis KL, et al. Highresolution myogenic lineage mapping by single-cell mass cytometry. *Nat Cell Biol* 2017;19(5):558–67.
- [4] Li S, Sullivan NL, Roupheal N, Yu T, Banton S, Maddur MS, et al. Metabolic phenotypes of response to vaccination in humans. *Cell* 2017;169(5):862–77. e17.
- [5] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Smith DI. Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(6):653–64.
- [6] Poland GA, Kennedy RB, McKinney BA, Ovsyannikova IG, Lambert ND, Jacobson RM, et al. Vaccinomics, adversomics, and the immune response network theory: individualized vaccinology in the 21st century. *Semin Immunol* 2013;25(2):89–103.
- [7] Poland GA. Pharmacology, vaccinomics, and the second golden age of vaccinology. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(6):623–6.
- [8] Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB, Lambert ND, Kirkland JL. A systems biology approach to the effect of aging, immunosenescence and vaccine response. *Curr Opin Immunol* 2014;9(29C):62–8.

- [9] Castiblanco J, Anaya JM. Genetics and vaccines in the era of personalized medicine. *Curr Genom* 2015;16(1):47–59.
- [10] Painter SD, Ovsyannikova IG, Poland GA. The weight of obesity on the human immune response to vaccination. *Vaccine* 2015;33(36):4422–9.
- [11] Goronzy JJ, Weyand CM. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat Immunol* 2013;14(5):428–36.
- [12] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Vaccine immunogenetics: bedside to bench to population. *Vaccine* 2008;26:6183–8.
- [13] Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Nat Rev Immunol* 2009;9(10):741–7.
- [14] Rappuoli R, Black S, Lambert PH. Vaccine discovery and translation of new vaccine technology. *Lancet* 2011;378(9788):360–8.
- [15] Nakaya HI, Li S, Pulendran B. Systems vaccinology: learning to compute the behavior of vaccine induced immunity. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2012;4(2):193–205.
- [16] Fitzmaurice K, Hurst J, Dring M, Rauch A, McLaren PJ, Gunthard HF, et al. Additive effects of HLA alleles and innate immune genes determine viral outcome in HCV infection. *Gut* 2014;64(5):813–9.
- [17] Jarduli LR, Sell AM, Reis PG, Sippert EA, Ayo CM, Mazini PS, et al. Role of HLA, KIR, MICA, and cytokines genes in leprosy. *Biomed Res Int* 2013;2013:989837.
- [18] Ali S, Chopra R, Aggarwal S, Srivastava AK, Kalaiarasan P, Malhotra D, et al. Association of variants in BAT1-LTA-TNF-BTNL2 genes within 6p21.3 region show graded risk to leprosy in unrelated cohorts of Indian population. *Human Genet* 2012;131(5):703–16.
- [19] Martin MP, Carrington M. Immunogenetics of HIV disease. *Immunol Rev* 2013;254(1):245–64.
- [20] Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, O’Byrne MM, Jacobson RM, Poland GA. The association of CD46, SLAM, and CD209 cellular receptor gene SNPs with variations in measles vaccine-induced immune responses—a replication study and examination of novel polymorphisms. *Human Hered* 2011;72(3):206–23.
- [21] Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, O’Byrne MM, Poland GA. Associations between polymorphisms in the antiviral TRIM genes and measles vaccine immunity. *Human Immunol* 2013;74(6):768–74.
- [22] Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, O’Byrne MM, Jacobson RM, Poland GA. Effects of vitamin A and D receptor gene polymorphisms/haplotypes on immune responses to measles vaccine. *Pharmacogenet Genom* 2012;22(1):20–31.
- [23] Wu TW, Chen CF, Lai SK, Lin HH, Chu CC, Wang LY. SNP rs7770370 in HLADPB1 loci as a major genetic determinant of response to booster hepatitis B vaccination: results of a genome-wide association study. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30(5):891–9.
- [24] Davila S, Froeling FE, Tan A, Bonnard C, Boland GJ, Snippe H, et al. New genetic associations detected in a host response study to hepatitis B vaccine. *Genes Immun* 2010;11(3):232–8.
- [25] Pan L, Zhang L, Zhang W, Wu X, Li Y, Yan B, et al. A genome-wide association study identifies polymorphisms in the HLA-DR region associated with nonresponse to hepatitis B vaccination in Chinese Han populations. *Human Mol Genet* 2014;23(8):2210–9.
- [26] Lambert ND, Haralambieva IH, Kennedy RB, Ovsyannikova IG, Pankrantz VS, Poland GA. Polymorphisms in HLA-DPB1 are associated with differences in rubella-specific humoral immunity after vaccination. *J Infect Dis* 2015;211 (6):898–905.
- [27] Cummins NW, Weaver EA, May SM, Croatt AJ, Foreman O, Kennedy RB, et al. Heme oxygenase-1 regulates the immune response to influenza virus infection and vaccination in aged mice. *FASEB J* 2012;26(7):2911–8.

- [28] Ovsyannikova IG, Kennedy RB, O'Byrne M, Jacobson RM, Pankratz VS, Poland GA. Genome-wide association study of antibody response to smallpox vaccine. *Vaccine* 2012;30(28):4182–9.
- [29] Kennedy RB, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Haralambieva IH, Vierkant RA, Jacobson RM, et al. Genome-wide genetic associations with IFN γ response to smallpox vaccine. *Human Genet* 2012;131(9):1433–51.
- [30] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Immunogenetics of seasonal influenza vaccine response. *Vaccine* 2008;26S:D35–40.
- [31] Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, Pajewski NM, Quinn CP, Kaslow RA, et al. Human leukocyte antigens and cellular immune responses to anthrax vaccine adsorbed. *Infect Immun* 2013;81(7):2584–91.
- [32] Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Dhiman N, Vierkant RA, Pankratz VS, Poland GA. Human leukocyte antigen and cytokine receptor gene polymorphisms associated with heterogeneous immune responses to mumps viral vaccine. *Pediatrics* 2008;121(5):e1091–9.
- [33] Kennedy RB, Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Lambert ND, Pankratz VS, Poland GA. Genetic polymorphisms associated with rubella virus-specific cellular immunity following MMR vaccination. *Human Genet* 2014;133 (11):1407–17.
- [34] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Vaccinomics and personalized vaccinology. *The Jordan Report*. U.S Department of Health and Human Services; 2012.
- [35] Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, Jacobson RM, Poland GA. Consistency of HLA associations between two independent measles vaccine cohorts: a replication study. *Vaccine* 2012;30(12):2146–52.
- [36] Haralambieva IH, Kennedy RB, Ovsyannikova IG, Whitaker JA, Poland GA. Variability in humoral immunity to measles vaccine: new developments. *Trends Mol Med* 2015;21(12):789–801.
- [37] Ovsyannikova IG, Johnson KL, Muddiman DC, Vierkant RA, Poland GA. Identification and characterization of novel, naturally processed measles virus class II HLA-DRB1 peptides. *J Virol* 2004;78(1):42–51.
- [38] Johnson KL, Ovsyannikova IG, Poland G, Muddiman DC. Identification of class II HLA-DRB1*03-bound measles virus peptides by 2D-liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Proteome Res* 2005;4:2243–9.
- [39] Homan EJ, Bremel RD. Are cases of mumps in vaccinated patients attributable to mismatches in both vaccine T-cell and B-cell epitopes?: An immunoinformatic analysis. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10(2):290–300.
- [40] Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2001;2(8):675–80.
- [41] Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2001;2(10):947–50.
- [42] Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, Pankratz VS, Poland GA. The role of polymorphisms in toll-like receptors and their associated intracellular signaling genes in measles vaccine immunity. *Human Genet* 2011;130 (4):547–61.
- [43] Ovsyannikova IG, Dhiman N, Haralambieva IH, Vierkant RA, O'Byrne MM, Jacobson RM, et al. Rubella vaccine-induced cellular immunity: evidence of associations with polymorphisms in the Toll-like, vitamin A and D receptors, and innate immune response genes. *Human Genet* 2010;127:207–21.
- [44] Young KR, Nzula S, Burt DS, Ward BJ. Immunologic characterization of a novel inactivated nasal mumps virus vaccine adjuvanted with Protollin. *Vaccine* 2014;32(2):238–45.
- [45] Klein SL, Jedlicka A, Pekosz A. The Xs and Y of immune responses to viral vaccines. *Lancet Infect Dis* 2010;10(5):338–49.

- [46] Klein SL, Poland GA. Personalized vaccinology: one size and dose might not fit both sexes. *Vaccine* 2013;31(23):2599–600.
- [47] Engler RJ, Nelson MR, Klote MM, VanRaden MJ, Huang CY, Cox NJ, et al. Half vs full-dose trivalent inactivated influenza vaccine (2004–2005): age, dose, and sex effects on immune responses. *Arch Intern Med* 2008;168 (22):2405–14.
- [48] Couch RB, Winokur P, Brady R, Belshe R, Chen WH, Cate TR, et al. Safety and immunogenicity of a high dosage trivalent influenza vaccine among elderly subjects. *Vaccine* 2007;25(44):7656–63.
- [49] Stanberry LR, Spruance SL, Cunningham AL, Bernstein DI, Mindel A, Sacks S, et al. Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *New Engl J Med* 2002;347:1652–61.
- [50] Kennedy RB, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, Jacobson RM, Ryan MA, et al. Gender effects on humoral immune responses to smallpox vaccine. *Vaccine* 2009;27(25–26):3319–23.
- [51] Furman D, Hejblum BP, Simon N, Jojic V, Dekker CL, Thiebaut R, et al. Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci U. S.A.* 2014;111(2):869–74.
- [52] Veit O, Niedrig M, Chapuis-Taillard C, Cavassini M, Mossdorf E, Schmid P, et al. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccination for 102 HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* 2009;48(5):659–66.
- [53] Kanesa-Thanan N, Sun W, Ludwig GV, Rossi C, Putnak JR, Mangiafico JA, et al. Atypical antibody responses in dengue vaccine recipients. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69(6 Suppl):32–8.
- [54] Lorenzo ME, Hodgson A, Robinson DP, Kaplan JB, Pekosz A, Klein SL. Antibody responses and cross protection against lethal influenza A viruses differ between the sexes in C57BL/6 mice. *Vaccine* 2011;29(49):9246–55.
- [55] Klein SL, Hodgson A, Robinson DP. Mechanisms of sex disparities in influenza pathogenesis. *J Leukocyte Biol* 2012;92(1):67–73.
- [56] Cook IF, Barr I, Hartel G, Pond D, Hampson AW. Reactogenicity and immunogenicity of an inactivated influenza vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection in elderly adults. *Vaccine* 2006;24 (13):2395–402.
- [57] Fang JWS, Lai CL, Chung HT, Wu PC, Lau JYN. Female children respond to recombinant hepatitis B vaccine with a higher titre than male. *J Trop Pediatr* 1994;40:104–7.
- [58] Klein SL, Pekosz A. Sex-based biology and the rational design of influenza vaccination strategies. *J Infect Dis* 2014;15(209 Suppl 3):S114–9.
- [59] Klein SL, Marriott I, Fish EN. Sex-based differences in immune function and responses to vaccination. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2015;109(1): 9–15.
- [60] Beery AK, Zucker I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev* 2011;35(3):565–72.
- [61] Klein SL. Immune cells have sex and so should journal articles. *Endocrinology* 2012;153(6):2544–50.
- [62] Ovsyannikova IG, Salk HM, Kennedy RB, Haralambieva IH, Zimmermann MT, Grill DE, et al. Gene signatures associated with adaptive humoral immunity following seasonal influenza A/H1N1 vaccination. *Genes Immun* 2016;17 (7):371–9.
- [63] Poland GA, Kennedy RB, Ovsyannikova IG. Vaccinomics and personalized vaccinology: Is science leading us toward a new path of directed vaccine development and discovery? *PLoS Pathogens* 2011;7(12):e1002344.
- [64] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Personalized vaccines: the emerging field of vaccinomics. *Expert Opin Biol Ther* 2008;8(11):1659–67.

- [65] Weng NP. Aging of the immune system: how much can the adaptive immune system adapt? *Immunity* 2006;24(5):495–9.
- [66] Gomez CR, Boehmer ED, Kovacs EJ. The aging innate immune system. *Curr Opin Immunol* 2005;17(5):457–62.
- [67] Lambert ND, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Jacobson RM, Poland GA. Understanding the immune response to seasonal influenza vaccination in older adults: a systems biology approach. *Expert Rev Vaccines* 2012;11 (8):985–94.
- [68] Allman D, Miller JP. The aging of early B-cell precursors. *Immunol Rev* 2005;205:18–29.
- [69] Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De LM, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci* 2000;908:244–54.
- [70] Zhang Y, Wallace DL, de Lara CM, Ghattas H, Asquith B, Worth A, et al. In vivo kinetics of human natural killer cells: the effects of ageing and acute and chronic viral infection. *Immunology* 2007;121(2):258–65.
- [71] Qian F, Wang X, Zhang L, Chen S, Piecychna M, Allore H, et al. Age-associated elevation in TLR5 leads to increased inflammatory responses in the elderly. *Aging Cell* 2012;11(1):104–10.
- [72] Cunningham AL, Lal H, Kovac M, Chlibek R, Hwang SJ, Diez-Domingo J, et al. Efficacy of the Herpes Zoster subunit vaccine in adults 70 years of age or older. *New Engl J Med* 2016;375(11):1019–32.
- [73] Lal H, Cunningham AL, Godeaux O, Chlibek R, Diez-Domingo J, Hwang SJ, et al. Efficacy of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine in older adults. *New Engl J Med* 2015;372(22):2087–96.
- [74] Behzad H, Huckriede AL, Haynes L, Gentleman B, Coyle K, Wilschut JC, et al. GLA-SE, a synthetic toll-like receptor 4 agonist, enhances T-cell responses to influenza vaccine in older adults. *J Infect Dis* 2012;205(3):466–73.
- [75] Gallaher WR. Towards a sane and rational approach to management of Influenza H1N1 2009. *Virology* 2009;6(1):51.
- [76] Querec TD, Akondy RS, Lee EK, Cao W, Nakaya HI, Teuwen D, et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat Immunol* 2009;10(1):116–25.
- [77] Nakaya HI, Wrammert J, Lee EK, Racioppi L, Marie-Kunze S, Haining WN, et al. Systems biology of seasonal influenza vaccination in humans. *Nat Immunol* 2011;12(8):786–95.
- [78] Fourati S, Cristescu R, Loboda A, Talla A, Filali A, Railkar R, et al. Prevacination inflammation and B-cell signalling predict age-related hyporesponse to hepatitis B vaccination. *Nat Commun* 2016;08(7): 10369.
- [79] Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011–2012. *JAMA* 2014;311(8):806–14.
- [80] Weber DJ, Rutala WA, Samsa GP, Santimaw JE, Lemon SM. Obesity as a predictor of poor antibody response to hepatitis B plasma vaccine. *JAMA* 1985;254(22):3187–9.
- [81] Eliakim A, Schwindt C, Zaldivar F, Casali P, Cooper DM. Reduced tetanus antibody titers in overweight children. *Autoimmunity* 2006;39(2):137–41.
- [82] Banga N, Guss P, Banga A, Rosenman KD. Incidence and variables associated with inadequate antibody titers after pre-exposure rabies vaccination among veterinary medical students. *Vaccine* 2014;32(8):979–83.
- [83] Talbot HK, Coleman LA, Crimin K, Zhu Y, Rock MT, Meece J, et al. Association between obesity and vulnerability and serologic response to influenza vaccination in older adults. *Vaccine* 2012;30(26):3937–43.

- [84] Zhang Y, Scarpace PJ. The role of leptin in leptin resistance and obesity. *Physiol Behav* 2006;88(3):249–56.
- [85] Karlsson EA, Sheridan PA, Beck MA. Diet-induced obesity impairs the T cell memory response to influenza virus infection. *J Immunol* 2010;184 (6):3127–33.
- [86] Ovsyannikova IG, White SJ, Larrabee BR, Grill DE, Jacobson RM, Poland GA. Leptin and leptin-related gene polymorphisms, obesity, and influenza A/H1N1 vaccine-induced immune responses in older individuals. *Vaccine* 2014;32(7):881–7.
- [87] Sheridan PA, Paich HA, Handy J, Karlsson EA, Hudgens MG, Sammon AB, et al. Obesity is associated with impaired immune response to influenza vaccination in humans. *Int J Obesity* 2012;36(8):1072–7.
- [88] White SJ, Taylor MJ, Hurt RT, Jensen MD, Poland GA. Leptin-based adjuvants: an innovative approach to improve vaccine response. *Vaccine* 2013;31 (13):1666–72.
- [89] Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Adversomics: the emerging field of vaccine adverse event immunogenetics. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28 (5):431–2.
- [90] Whitaker JA, Ovsyannikova IG, Poland GA. Adversomics: a new paradigm for vaccine safety and design. *Expert Rev Vaccines* 2015;2:1–13.
- [91] McKinney BA, Reif DM, Rock MT, Edwards KM, Kingsmore SF, Moore JH, et al. Cytokine expression patterns associated with systemic adverse events following smallpox immunization. *J Infect Dis* 2006;194(4):444–53.
- [92] Stanley Jr SL, Frey SE, Taillon-Miller P, Guo J, Miller RD, Koboldt DC, et al. The immunogenetics of smallpox vaccination. *J Infect Dis* 2007;196(2): 212–9.
- [93] Reif DM, McKinney BA, Motsinger AA, Chanock SJ, Edwards KM, Rock MT, et al. Genetic basis for adverse events after smallpox vaccination. *J Infect Dis* 2008;198(1):16–22.
- [94] Hur J, Ozgur A, Xiang Z, He Y. Identification of fever and vaccine-associated gene interaction networks using ontology-based literature mining. *J Biomed Semantics* 2012;3(1):18.
- [95] Feenstra B, Pasternak B, Geller F, Carstensen L, Wang T, Huang F, et al. Common variants associated with general and MMR vaccine-related febrile seizures. *Nat Genet* 2014;46(12):1274–82.
- [96] Poland GA, Jacobson RM. The clinician’s guide to the anti-vaccinationists’ galaxy. *Human Immunol* 2012;73(8):859–66.
- [97] Poland GA, Jacobson RM, Ovsyannikova IG. Trends affecting the future of vaccine development and delivery: the role of demographics, regulatory science, the anti-vaccine and consumer culture and vaccinomics. *Vaccine* 2009;27(25-26 Special Issue SI):3240–3244.
- [98] Poland GA, Jacobson RM. Understanding those who do not understand: a brief review of the anti-vaccine movement. *Vaccine* 2001;19:2440–5.
- [99] Milian E, Julien T, Biaggio R, Venereo-Sanchez A, Montes J, Manceur AP, et al. Accelerated mass production of influenza virus seed stocks in HEK-293 suspension cell cultures by reverse genetics. *Vaccine* 2017;35(26):3423–30.
- [100] Hegde NR. Cell culture-based influenza vaccines: A necessary and indispensable investment for the future. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11(5):1223–34.
- [101] Pavot V. Ebola virus vaccines: where do we stand? *Clinical immunology* 2016;173:44–9.
- [102] Regules JA, Beigel JH, Paolino KM, Voell J, Castellano AR, Hu Z, et al. A recombinant vesicular stomatitis virus Ebola vaccine. *New Engl J Med* 2017;376(4):330–41.
- [103] De Santis O, Audran R, Pothin E, Warpelin-Decrausaz L, Vallotton L, Wuerzner G, et al. Safety and immunogenicity of a chimpanzee adenovirus-vectored Ebola vaccine in

- healthy adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-finding, phase 1/2a study. *Lancet Infect Dis* 2016;16(3):311–20.
- [104] Zhu FC, Hou LH, Li JX, Wu SP, Liu P, Zhang GR, et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet* 2015;385 (9984):2272–9.
- [105] Milligan ID, Gibani MM, Sewell R, Clutterbuck EA, Campbell D, Plested E, et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia ankara-vectored ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA* 2016;315(15):1610–23.
- [106] Zhou Y, Sullivan NJ. Immunology and evolution of the adenovirus prime, MVA boost Ebola virus vaccine. *Curr Opin Immunol* 2015;35:131–6.
- [107] Kibuuka H, Berkowitz NM, Millard M, Enama ME, Tindikahwa A, Sekiziyivu AB, et al. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: a phase 1 b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet* 2015;385(9977):1545–54.
- [108] Excler JL, Plotkin S. The prime-boost concept applied to HIV preventive vaccines. *AIDS* 1997;11(Suppl A):S127-S137.
- [109] Amara RR, Villinger F, Altman JD, Lydy SL, O’Neil SP, Staprans SI, et al. Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science* 2001;292(5514):69–74.
- [110] Schneider J, Gilbert SC, Blanchard TJ, Hanke T, Robson KJ, Hannan CM, et al. Enhanced immunogenicity for CD8 + T cell induction and complete protective efficacy of malaria DNA vaccination by boosting with modified vaccinia virus Ankara. *Nat Med* 1998;4(4):397–402.
- [111] McShane H, Brookes R, Gilbert SC, Hill AVS. Enhanced immunogenicity of CD4 + T-cell responses and protective efficacy of a DNA-modified vaccinia virus Ankara prime-boost vaccination regimen for murine tuberculosis. *Infect Immun* 2001;69(2):681–6.
- [112] Abbasi J. First inactivated Zika vaccine trial. *Jama* 2016;316(24):2588.
- [113] Durbin AP. Vaccine development for Zika virus-timelines and strategies. *Semin Reprod Med* 2016;34(5):299–304.
- [114] Barouch DH, Thomas SJ, Michael NL. Prospects for a Zika virus vaccine. *Immunity* 2017;46(2):176–82.
- [115] Pardi N, Hogan MJ, Pelc RS, Muramatsu H, Andersen H, DeMaso CR, et al. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature* 2017;543(7644):248–51.
- [116] Abbink P, Larocca RA, De La Barrera RA, Bricault CA, Moseley ET, Boyd M, et al. Protective efficacy of multiple vaccine platforms against Zika virus challenge in rhesus monkeys. *Science* 2016;353(6304):1129–32.
- [117] Kim E, Erdos G, Huang S, Kenniston T, Falo Jr LD, Gambotto A. Preventative vaccines for zika virus outbreak: preliminary evaluation. *EBio Med* 2016;13:315–20.
- [118] Kennedy RB, Poland GA. The identification of HLA class II-restricted T cell epitopes to vaccinia virus membrane proteins. *Virology* 2010;408(2):232–40.
- [119] Johnson KL, Ovsyannikova IG, Mason CJ, Bergen III HR, Poland GA. Discovery of naturally processed and HLA-presented class I peptides from vaccinia virus infection using mass spectrometry for vaccine development. *Vaccine* 2009;28 (1):38–47.
- [120] Johnson AJ, Kennedy SC, Lindestam Arlehamn CS, Goldberg MF, Saini NK, Xu J, et al. Identification of mycobacterial RplJ/L10 and RpsA/S1 proteins as novel targets for CD4 + T cells. *Infect Immun* 2017;85(4):e01023–e1116.

- [121] Hajjighahramani N, Nezafat N, Eslami M, Negahdaripour M, Rahmatabadi SS, Ghasemi Y. Immunoinformatics analysis and in silico designing of a novel multi-epitope peptide vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol* 2017;48:83–94.
- [122] Loeffler FF, Pfeil J, Heiss K. High-density peptide arrays for malaria vaccine development. *Methods Mol Biol* 2016;1403:569–82.
- [123] Kuhn TS. *The structure of scientific revolutions*. Chicago: The University of Chicago Press; 1996.
- [124] Camilloni B, Basileo M, Valente S, Nunzi E, Iorio AM. Immunogenicity of intramuscular MF59-adjuvanted and intradermal administered influenza enhanced vaccines in subjects aged over 60: a literature review. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11(3):553–63.
- [125] Nolan T, Bravo L, Ceballos A, Mitha E, Gray G, Quiambao B, et al. Enhanced and persistent antibody response against homologous and heterologous strains elicited by a MF59-adjuvanted influenza vaccine in infants and young children. *Vaccine* 2014;32(46):6146–56.
- [126] Van Buynder PG, Konrad S, Van Buynder JL, Brodtkin E, Krajdén M, Ramler G, et al. The comparative effectiveness of adjuvanted and unadjuvanted trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in the elderly. *Vaccine* 2013;31 (51):6122–8.