

Vaccination par injection d'une banque d'ADN

La vaccination permet de prévenir et de contrôler certaines maladies infectieuses. Pourtant, à cause de leur procédé de fabrication, de leur mode de conservation et de leur coût, les vaccins actuels ne sont pas assez largement distribués, en particulier dans les pays pauvres où ces maladies font le plus de ravages. Les vaccins actuels induisent souvent une bonne réponse humorale protectrice (production d'anticorps dirigés contre l'agent infectieux), la réponse cellulaire qu'ils engendrent est parfois faible (stimulation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques reconnaissant des peptides de l'agent infectieux présentés par les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité, CMH-I). Or, à l'exemple de la malaria, de nombreuses maladies infectieuses ne sont pas efficacement combattues par la réponse immunitaire humorale.

La recherche sur les vaccins a beaucoup évolué grâce aux progrès technologiques dans les domaines de la biologie moléculaire, de la synthèse peptidique et de la chimie analytique. Elle bénéficie aussi grandement des études fondamentales en immunologie et microbiologie [1]. Il y a quelques années, un champ nouveau d'investigation s'est ouvert. Il s'agit de la vaccination par injection d'ADN plasmidique codant pour un antigène [2]. Le plasmide injecté par voie intramusculaire pénètre dans les cellules, essentiellement les myocytes, où il assure l'expression de l'antigène. Il s'ensuit le déclenchement d'une réponse immunitaire contre cet antigène (*m/s n° 5, vol. 8, p. 501*) [3]. Cette approche suscite beaucoup d'intérêt en raison de la simplicité de la préparation de l'ADN, de sa stabilité, de sa pureté et de l'absence d'adjuvant dans les solutés injectés. D'autre part, ces vaccins semblent stimuler une réponse humorale et cellulaire prolongée sans intégration du plasmide dans l'ADN chromosomique. Cela est particulièrement intéressant dans les cas où la protection apportée par

les anticorps est insuffisante ou lorsque existe une variabilité épitopique importante des molécules de surface entre les différentes souches infectieuses. Par exemple, la protection humorale contre l'influenza A dépend de la souche, car les anticorps sont produits essentiellement contre l'hémagglutinine qui est très variable d'une souche à l'autre. En revanche, la nucléoprotéine (NP), cible majeure des lymphocytes T CD8 cytotoxiques est beaucoup moins variable. L'injection intramusculaire d'un plasmide contenant le gène NP peut induire une réponse cellulaire contre un peptide NP présenté par le CMH-I (*m/s n° 4, vol. 9, p. 482*) [4]. L'immunisation est alors de longue durée et s'étend à une souche virale apparue ultérieurement.

L'ADN peut être introduit par différentes voies; intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, intranasale, intradermique, sous-cutanée. Toutes les voies d'injection permettent une protection significative même si la voie intramusculaire semble provoquer une meilleure réponse. La quantité d'ADN à injecter varie selon la voie d'entrée et, par rapport à une injection intramusculaire, diminue d'un facteur 100 à 1000 grâce au *gene gun* qui délivre de faibles quantités d'ADN recouvert de particules d'or dans le derme et l'épiderme. Cela favorise la pénétration de l'ADN tout en réduisant le risque de mort cellulaire.

Nombreux sont les rapports décrivant le succès de l'immunisation par injection d'ADN mais les mécanismes par lesquels la réponse immunitaire s'établit restent assez obscurs. Il est possible cependant d'en préciser les grandes lignes en tenant compte des différentes voies de présentation des antigènes par les molécules du CMH. L'antigène codé par le plasmide peut être sécrété naturellement ou relargué lors de la mort cellulaire. Il peut alors être repris par des cellules professionnelles de la présentation d'antigène telles que les macrophages

et les cellules dendritiques. L'antigène est fragmenté dans la voie d'endocytose de ces cellules et est présenté, dans les ganglions lymphatiques, aux lymphocytes T CD4 et aux lymphocytes B par les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH-II) [5]. Schématiquement, ce type de présentation oriente le système immunitaire vers une réponse humorale dirigée contre l'antigène internalisé.

L'activation des lymphocytes T CD8, qui sont les acteurs principaux de la réponse immunitaire cytotoxique, résulte de la présentation des peptides antigéniques par le CMH-I. Cette voie de présentation est employée pour les protéines synthétisées par la cellule présentatrice et dégradées dans le cytosol. Ainsi, les myocytes qui contiennent le plasmide injecté peuvent théoriquement présenter des peptides antigéniques associés au CMH-I. Cependant, si cette présentation est possible, elle n'est probablement pas efficace pour activer les lymphocytes T CD8 *in vivo*. En effet, la mise en œuvre d'une réponse immunitaire dépend de signaux de costimulation qui ne sont convenablement fournis que par les cellules spécialisées dans la présentation des antigènes dont les myocytes ne font pas partie [6]. Comme pour la présentation par le CMH-II, l'antigène doit être présenté par le CMH-I des cellules spécialisées pour qu'une réponse immunitaire cellulaire s'établisse. Il faut donc imaginer un transfert de l'antigène des myocytes vers ces cellules présentatrices. Cela est possible car on sait depuis peu que les antigènes exogènes, internalisés par des cellules spécialisées, peuvent dans certaines conditions être présentés par le CMH-I [7, 8]. Les antigènes sécrétés ou relargués par les myocytes peuvent donc théoriquement être présentés par les cellules spécialisées qui développeraient une réponse à la fois humorale et cellulaire grâce à leur entière capacité de transmettre les signaux de costimulation.

La quantité d'ADN à injecter et la qualité de la réponse immunitaire pourraient dépendre du nombre de cellules présentatrices d'antigènes à proximité du site d'injection. Les cellules présentatrices d'antigènes peuvent être recrutées au site d'expression de l'antigène par l'inflammation provoquée par l'injection elle-même, mais il est possible qu'un petit nombre d'entre elles soit directement transfecté. A cet égard, les cellules de Langerhans seraient particulièrement efficaces pour déclencher une réponse immunitaire lors d'une injection intradermique (*m/s n°1, vol. 11, p. 127*).

S'il est facile de purifier de l'ADN d'agents pathogènes, il est plus difficile d'identifier leurs antigènes susceptibles de stimuler efficacement les défenses immunitaires de l'hôte infecté. Cet obstacle à l'extension de la vaccination par injection d'ADN d'agents pathogènes de toute sorte peut maintenant être contourné. Il « suffit » d'injecter, non plus de l'ADN codant pour un antigène donné, mais l'ADN

d'une banque d'expression du pathogène. Cela a été réalisé pour immuniser des souris contre *Mycoplasma pulmonaris* [9]. La banque d'expression a été construite en intégrant l'ADN digéré de *M. pulmonaris* dans le dernier exon du gène de l'hormone de croissance humaine pour favoriser la sécrétion des protéines de fusion. La protection apparaît dès la première injection, s'améliore avec le temps et est de longue durée. La nature de la protection n'a pas été clairement établie, mais il semble que les défenses immunitaires humorales et cellulaires soient déployées. Un avantage majeur de ce système est que c'est l'organisme lui-même qui sélectionne les meilleures cibles. Ainsi il est possible à partir d'une banque d'expression de sélectionner *in vivo* les plasmides contenant les gènes qui vont engendrer la meilleure protection. L'utilisation de ce procédé est envisageable pour des agents pathogènes difficiles à produire et ayant un génome de petite taille. Il a les avantages des vaccins

« vivants-atténués » sans avoir les inconvénients liés aux risques d'infection.

V.L.

1. Rabinovich NR, McInnes PM, Klein DL, Hall BF. Vaccine technologies: view of the future. *Science* 1994; 265: 1401-4.
2. Pardoll DM, Beckerley AM. Exposing the immunology of naked DNA vaccines. *Cell* 1995; 3: 165-9.
3. Tang DC, De Vit M, Johnston SA. Genetic immunisation is a simple method for eliciting an immune response. *Nature* 1992; 356: 152-4.
4. Ulmer JB, Donnelly JJ, Parker SE, Rhodes GH, Felgner PL, et al. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science* 1993; 259: 1745-9.
5. Schwartz RH. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 1990; 248: 1349-54.
6. Rabourdin-Combe C, Bertolino P, Calin-Laurens V, Gerlier D. La présentation de l'antigène aux lymphocytes T. *médecine/sciences* 1991; 7: 674-80.
7. Kovacsovic-Bankowski M, Rock KL. A phagosome to cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science* 1995; 267: 243-6.
8. Lotteau V. Présentation des antigènes: qui présente quoi? *médecine/sciences* 1995; 11: 659-60.
9. Barry MA, Lai WC, Johnston SA. Protection against mycoplasma infection using expression library immunization. *Nature* 1995; 377: 632-5.