

court de tennis. Pour combattre les agents infectieux avant qu'ils ne pénètrent dans l'organisme, le système immunitaire dispose d'armes localisées dans les muqueuses : des anticorps particuliers (des *IgA* au lieu des *IgG*) et des lymphocytes *T* spécifiques des muqueuses.

Les vaccins appliqués sur les muqueuses nécessitent l'utilisation d'adjuvants spéciaux. En effet, les muqueuses sont constamment exposées à des millions de substances non pathogènes (lors de l'absorption des aliments ou des boissons, lors de la respiration, lors des contacts, etc.), qu'elles ont appris à négliger. Pour qu'elles activent le système immunitaire, les substances vaccinantes doivent être présentées par des adjuvants reconnus comme spécifiques des agents pathogènes, et atteindre des cellules particulières des muqueuses (les cellules *M*) qui présentent les éléments environnants au système immunitaire. On ignore encore comment les muqueuses reconnaissent les molécules dangereuses ou pathogènes, mais on a identifié des molécules qui stimulent le système immunitaire.

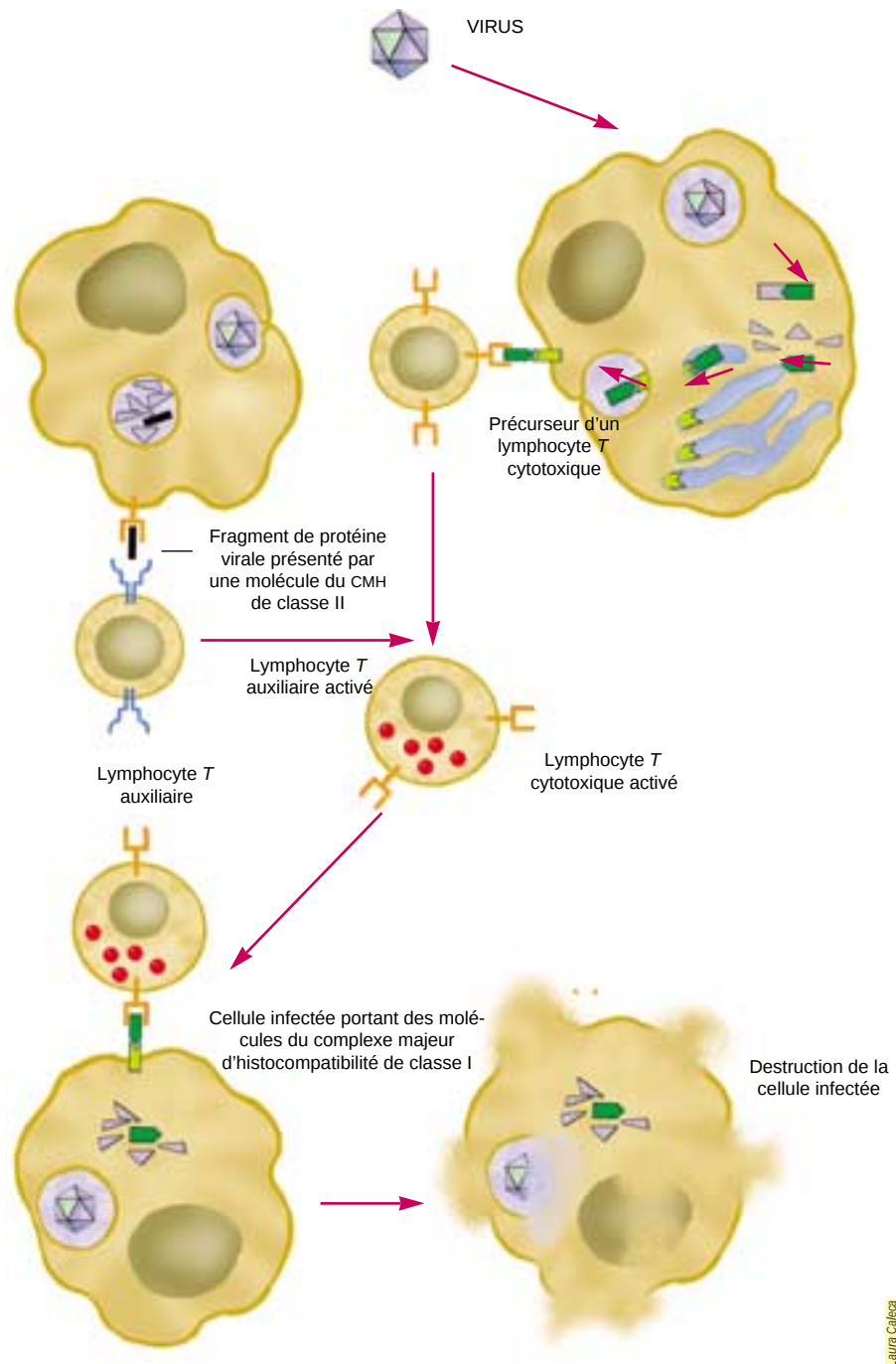
Ce sont, par exemple, la toxine du choléra et la toxine sensible à la chaleur d'*Escherichia coli*. Lorsqu'elles sont administrées par voie orale ou intranasale, elles déclenchent une réaction immune puissante des muqueuses, dirigée contre elles-mêmes et contre les molécules administrées simultanément. Nous avons essayé d'éliminer les propriétés toxiques de ces molécules sans diminuer leur pouvoir immunogène. Nous avons effectivement trouvé des mutants de la toxine du choléra et de la toxine d'*Escherichia coli*, qui n'étaient plus toxiques, mais qui continuaient à stimuler le système immunitaire des muqueuses. En 1995, en collaboration avec G. Dugan, à Londres, nous avons tenté d'immuniser des souris contre le tétanos en utilisant un spray nasal : nous avons ajouté quelques microgrammes de la toxine d'*Escherichia coli* détoxifiée par mutation (servant d'adjuvant) à une préparation de toxine du tétanos chimiquement détoxifiée. Nous avons administré ce cocktail dans les cavités nasales de souris. Quelques semaines après l'immunisation, nous avons injecté aux souris vaccinées une

quantité de toxine active du tétanos suffisante pour tuer dix souris. Les souris vaccinées étaient totalement protégées et ont parfaitement survécu à la toxine.

Le développement et la fabrication de vaccins classiques ou recombinés nécessitent des techniques élaborées, telles que la culture des agents infec-

tieux à grande échelle, leur inactivation, la purification des protéines (souvent instables) et finalement leur formulation en vaccin. Dans certains cas, les agents infectieux sont difficiles, voire impossibles, à cultiver.

Une découverte récente pourrait bouleverser la fabrication des vaccins. Des chercheurs des sociétés améri-



3. UNE CELLULE PRÉCURSEUR d'un lymphocyte *T* cytotoxique reconnaît les peptides des micro-organismes pathogènes intracellulaires, notamment des virus, quand ils sont liés à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I à la surface d'une cellule présentatrice d'antigènes. En présence de lymphocytes *T* auxiliaires activés parce qu'ils ont reconnu leurs peptides spécifiques associés à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II, et en présence de cytokines, les précurseurs des lymphocytes *T* cytotoxiques se transforment en lymphocytes actifs qui détruisent les cellules infectées.

Laura Calcei

caines Merck et Vical ont inséré dans un plasmide bactérien (le génome des bactéries est sous forme d'un anneau nommé plasmide) le gène codant la nucléoprotéine (NP) du virus A de la grippe, ainsi que des facteurs de régulation de la transcription et de la traduction du gène. Lorsque le plasmide a été injecté à des souris par voie intramusculaire, il a déclenché une réaction immune contre NP, ce qui indique que l'ADN a pénétré dans les cellules et s'y est exprimé. De surcroît, les souris immunisées avec l'ADN de la nucléoprotéine ont survécu à une contamination par le virus de la grippe.

Vaccination par l'ADN

En d'autres termes, les effets protecteurs dus à une vaccination avec des virus tués ou atténués semblent reproduits par la simple administration de l'ADN codant un antigène spécifique du virus.

Comme c'est souvent le cas en recherche, des résultats sur le pouvoir immunogène d'ADN injecté ont été publiés il y a longtemps, mais ils n'avaient pas attiré l'attention des

autres biologistes. Dès 1960, Y. Ito avait publié un article où il décrivait qu'il avait déclenché l'apparition de papillomes (des tumeurs de la peau) chez des lapins par injection d'acides nucléiques extraits du papillomavirus de lapin. C'est seulement 30 ans plus tard que J. Wolff et ses collègues de l'Université du Wisconsin observèrent que l'injection de plasmides contenant le gène de la bêta galactosidase déclenchait l'expression de l'enzyme dans les muscles. L'activité enzymatique persistait pendant plus de 60 jours après l'injection. En 1992, D. Tang et ses collègues de l'Université du Texas montraient, pour la première fois, que, d'une part, le gène étudié s'exprimait après l'injection intramusculaire du plasmide, mais que, d'autre part, l'expression était suffisante pour déclencher une réaction immune. Ainsi, l'injection d'un plasmide contenant le gène de l'hormone de croissance humaine contrôlée soit par le promoteur de la lactine bêta humaine, soit par le promoteur du cytomégalo virus, déclenche la production d'anticorps anti-hormone de croissance, détectés dans le sang

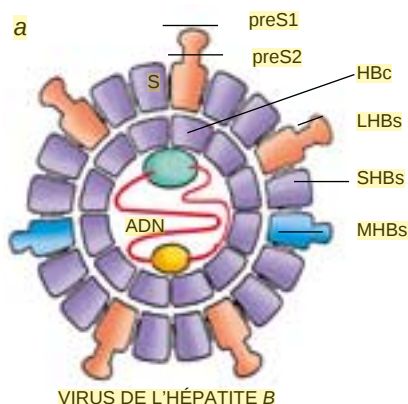
des souris immunisées. De plus, des injections ultérieures d'ADN renforcent l'activation du système immunitaire, comme cela se produit avec des injections répétées de protéines (les rappels). Enfin, la réaction immune déclenchée par l'injection d'un plasmide contenant la nucléoprotéine du virus A de la grippe protège contre toute contamination ultérieure, démontrant ainsi le pouvoir vaccinant de l'ADN des plasmides.

La découverte des biologistes des Sociétés Merck et Vical, publiée en 1993, a stimulé les recherches sur les mécanismes cellulaires et immunitaires de la vaccination par l'ADN.

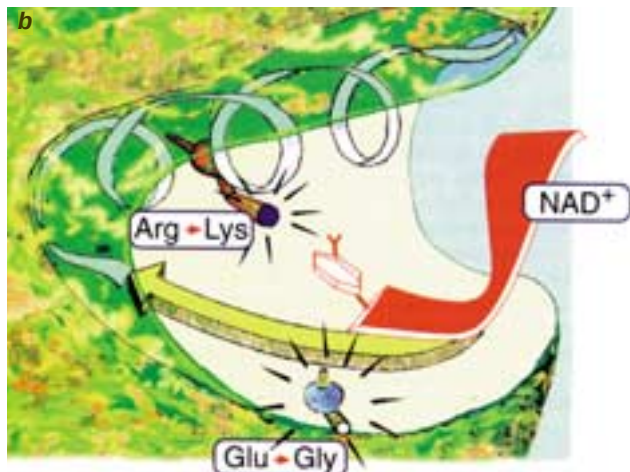
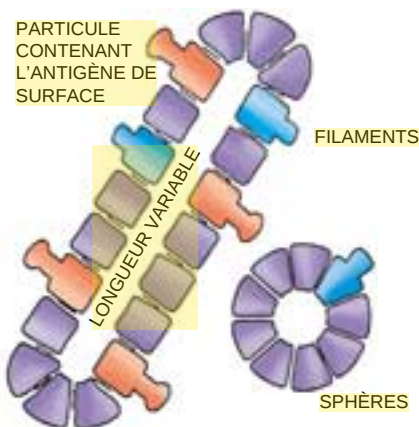
Comment fonctionne l'immunisation par l'ADN? Une fois injecté, le plasmide traverse la membrane des cellules musculaires et des cellules du système immunitaire, et atteint leur noyau. Le plasmide ne peut ni se répliquer, à cause de l'absence de signaux de répllication, ni s'intégrer dans les chromosomes de l'hôte, car l'ADN chromosomique et l'ADN du plasmide sont trop différents. Toutefois, comme il dispose des signaux de régulation appropriés, le gène codant l'antigène est transcrit en ARN messager et, ensuite, traduit en protéine avec une efficacité suffisante pour activer le système immunitaire.

D'un point de vue industriel, la vaccination par l'ADN simplifierait les procédés de fabrication des vaccins. Les laboratoires pharmaceutiques n'auraient plus à préparer ni à purifier les antigènes utilisés dans la formulation des vaccins (étapes longues, complexes et coûteuses); ils se contenteraient de construire et de purifier les plasmides. De surcroît, l'immunisation par l'ADN devrait être plus efficace pour déclencher les réactions immunitaires et pour lutter contre les maladies infectieuses contre lesquelles on ne dispose pas de vaccin classique.

Les antigènes vaccinaux ou les micro-organismes tués pénètrent dans les cellules par phagocytose ou par endocytose, et ils sont présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II, ce qui permet d'activer les lymphocytes T auxiliaires qui, à leur tour, stimulent la production d'anticorps et les réactions inflammatoires. Au contraire, dans le cas des vaccins à ADN, les antigènes peuvent être présentés par les



VIRUS DE L'HÉPATITE B



4. DEUX VACCINS recombinés : on a représenté schématiquement une particule du virus de l'hépatite B et des particules recombinées portant l'antigène de surface du virus et produites par la levure (a), ainsi que la région catalytique de la toxine *Bordetella pertussis* (b). On a remplacé les deux résidus Arg et Glu par mutagenèse dirigée afin d'obtenir une molécule qui n'est plus toxique, mais qui reste capable d'activer le système immunitaire.