

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

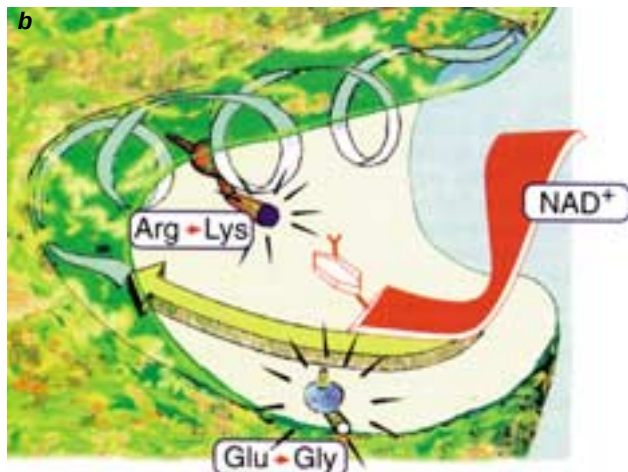
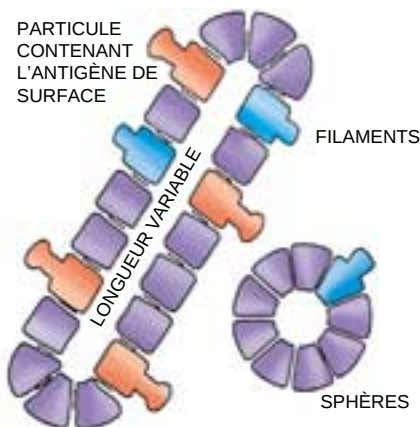
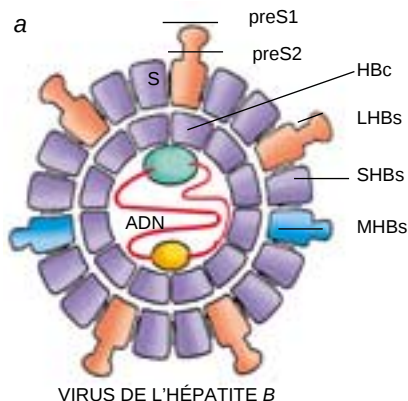
des souris immunisées. De plus, des injections ultérieures d'ADN renforcent l'activation du système immunitaire, comme cela se produit avec des injections répétées de protéines (les rappels). Enfin, la réaction immune déclenchée par l'injection d'un plasmide contenant la nucléoprotéine du virus A de 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



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.

molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ou de classe II : ils sont susceptibles de déclencher toutes les réactions effectrices du système immunitaire (la production d'anticorps, l'inflammation et l'activation des lymphocytes T cytotoxiques).

Des vaccins préventifs aux vaccins thérapeutiques

Diverses études sur l'immunisation par de l'ADN d'agents infectieux sont en cours, mais la faisabilité de la technique a été clairement démontrée sur l'animal. Toutefois, les applications cliniques de cette méthode restent hypothétiques, notamment parce que l'on ignore encore comment administrer efficacement l'ADN pour déclencher une réaction immunitaire notable chez le singe. Il nous faudra préciser les mécanismes de capture de l'ADN *in vivo*, et le rôle des diffé-

rents types de cellules modifiées dans le déclenchement d'une réaction immune efficace.

Heureusement, on a obtenu récemment des données intéressantes sur le chimpanzé que l'on a réussi à immuniser avec de l'ADN contre le virus de l'hépatite B et contre le VIH ; des essais sur des volontaires sont déjà en cours ou vont bientôt commencer avec des vaccins contre le virus de la grippe, contre le VIH et contre le paludisme. Nous saurons alors si la vaccination par l'ADN passera bientôt de la liste des «méthodes potentiellement utiles» à celle, plus courte mais privilégiée, des «méthodes socialement et économiquement intéressantes».

Les vaccins préviennent les maladies, mais peuvent-ils aussi les soigner? Peut-on enseigner à notre système immunitaire, par la vaccination, à lutter contre les maladies qui résistent aux traitements clas-

siques? Ce pourrait être le cas des infections chroniques, des tumeurs et des maladies résultant d'anomalies des réactions immunes, par exemple les maladies auto-immunes et les allergies.

Le système immunitaire peut déclencher une réaction contre une maladie qui, par elle-même, n'active pas les mécanismes de défense. C'est, par exemple, le cas des tumeurs.

Bien que la plupart des tumeurs soient antigéniques, c'est-à-dire qu'elles expriment des molécules que le système immunitaire devrait reconnaître, très peu sont immunogènes : elles ne déclenchent pas de réaction immune, de sorte que le système immunitaire n'endigue pas la croissance des tumeurs. Pour vacciner contre les tumeurs, on a tenté deux stratégies. Dans la première, on identifie les antigènes associés aux tumeurs en espérant pouvoir déclencher une réaction contre ces antigènes. L'autre méthode

