

(l'introduction, dans un organisme malade, de gènes destinés à corriger des désordres héréditaires) ont remarqué que des protéines synthétisées à partir de gènes thérapeutiques étaient parfois détruites par des réactions immunitaires.

Enfin, au début des années 1990, quelques équipes ont cherché si ces réactions, initialement jugées néfastes, pouvaient être utilisées pour des vaccinations. La plupart des biologistes étaient sceptiques : l'immunité engendrée suffirait-elle à bloquer une infection ? En 1992, quatre équipes, dont celle de l'un d'entre nous (D. Weiner), ont montré que ce scepticisme n'était pas justifié.

D'une part, l'inoculation de vaccins à ADN dans des cellules stimule le système immunitaire de rongeurs et de primates, provoquant des réactions humorales et cellulaires contre plusieurs agents pathogènes et également contre certains cancers ; d'autre part, plusieurs types d'administration différents conduisent à la même protection. De surcroît, des techniques qui favorisent l'introduction de l'ADN dans les cellules renforcent les réactions.

Le premier test clinique a été effectué en 1995 : on a inoculé des plasmides contenant des gènes du VIH à des patients déjà infectés par ce virus, afin d'établir l'innocuité d'un vaccin génétique. Puis, en 1996, des médecins ont injecté pour la première fois des gènes (codant des protéines du VIH ou du virus de la grippe) à des personnes saines, et non à des personnes infectées par un virus. Aucun effet secondaire notable n'est apparu.

Certains vaccins testés visent à prévenir diverses infections, tels le SIDA, l'herpès, la grippe, l'hépatite B et le paludisme ; d'autres doivent renforcer l'immunité réduite de patients déjà infectés par le VIH, d'autres encore devraient être des traitements contre des cancers, notamment les lymphomes et les affections malignes de la prostate et du côlon (bien que les cancers

ne soient pas des maladies infectieuses, le renforcement immunitaire devrait aider l'organisme à lutter contre eux).

Les premières observations sont encourageantes : des vaccins contre le VIH ont stimulé des réactions humorales et cellulaires ; des plasmides porteurs d'antigènes du parasite responsable du paludisme ont provoqué des réactions immunitaires cellulaires notables ; et un vaccin contre l'hépatite B a entraîné une synthèse d'anticorps suffisante, chez un patient, pour prévenir l'infection. Toutefois, dans de nombreux cas, les vaccins génétiques devront probablement être associés à des molécules, nommées adjuvants, qui stimulent le système immunitaire.

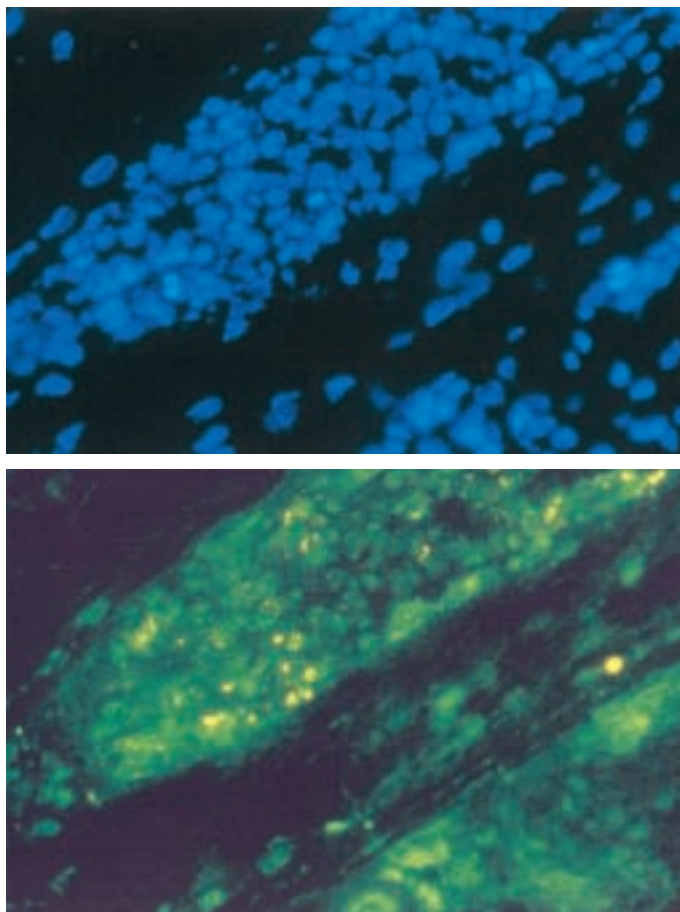
Vaccin génétique : mode d'emploi

L'étude du fonctionnement des vaccins à ADN devrait fournir des indications propres à renforcer leur efficacité. Pendant des années, les immunolo-

gistes n'ont pas compris comment les vaccins à ADN activent les lymphocytes T cytotoxiques... En théorie, de simples morceaux d'ADN, insérés dans des cellules qui exposent ensuite à leur surface des fragments des antigènes codés, ne devraient pas agir ainsi. Des cellules présentatrices d'antigènes (d'autres globules blancs) devraient d'abord exposer les mêmes fragments antigéniques que les cellules inoculées, accompagnées d'une molécule co-stimulatrice, un second signal ; les lymphocytes T ne détruisent les cellules infectées qu'après avoir reconnu les cellules présentatrices d'antigènes (voir l'encadré des deux pages suivantes).

Contrairement à ce que de nombreux biologistes pensaient, on a progressivement compris que quelques plasmides parviennent jusqu'aux cellules présentatrices d'antigènes, qui disposent alors des antigènes à côté des molécules co-stimulatrices et déclenchent ainsi l'activation des lymphocytes T. En pratique, on devra donc privilégier les modes d'administration qui favorisent l'insertion des plasmides dans les cellules de présentation des antigènes.

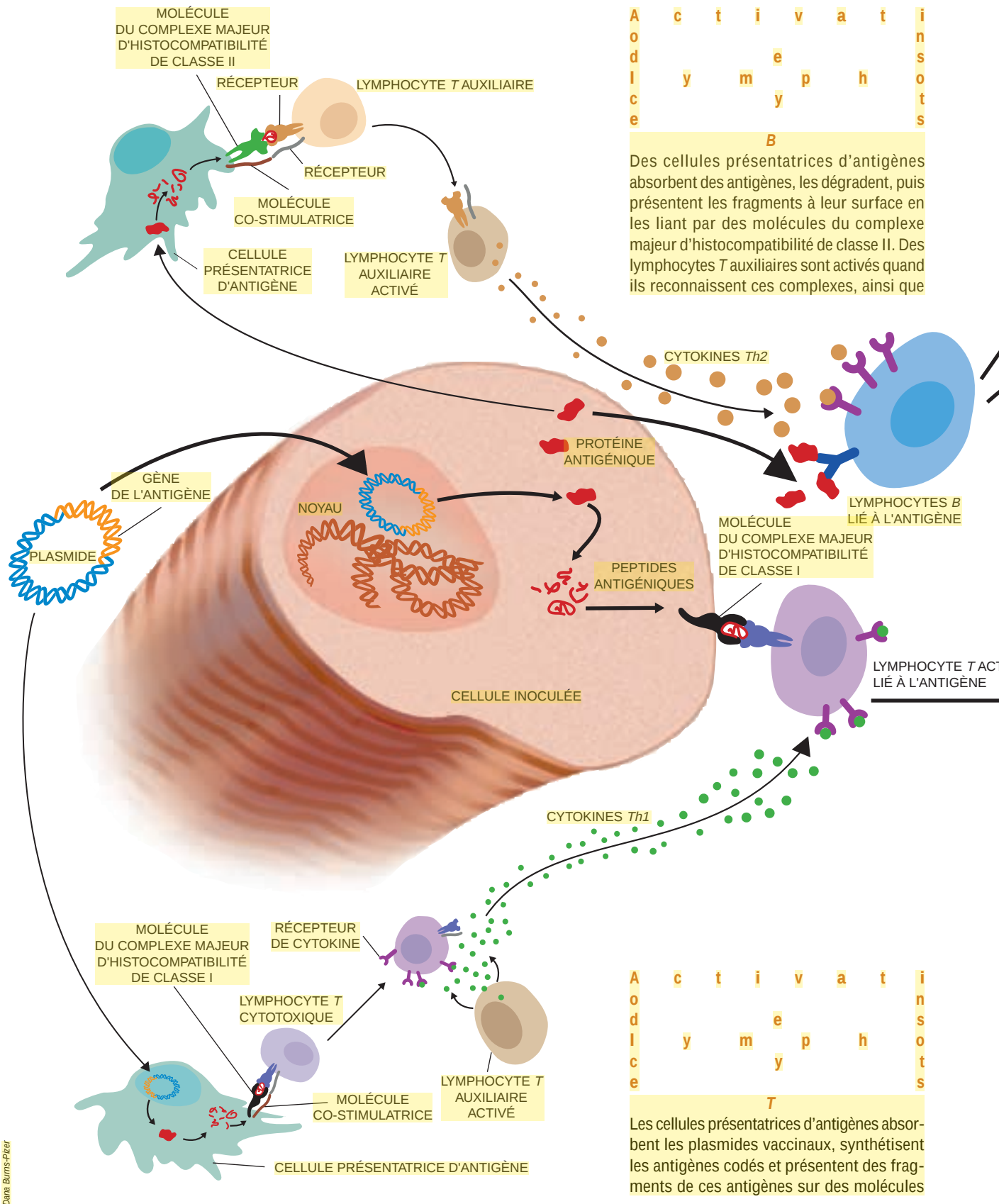
D'autres études récentes ont montré que l'ADN plasmidique, qui véhicule les gènes codant les antigènes, renforce également la réaction immunitaire provoquée par les antigènes, probablement grâce à une proportion différente des composants de l'ADN. L'ADN est une double hélice composée par l'enchaînement de groupes chimiques nommés nucléotides, qui se distinguent par les « bases azotées » qu'ils contiennent ; ces bases sont l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) ou la thymine (T). Dans l'ADN des plasmides bactériens, la fréquence des séquences guanine-cytosine (GC) est supérieure à celle de l'ADN des vertébrés. En outre, les séquences GC des plasmides bactériens sont souvent dépourvues de groupe méthyle ($-CH_3$), contrairement à l'ADN des vertébrés.



3. CES CELLULES MUSCULAIRES, colorées en bleu par un marqueur (*en haut*), ont intégré un gène du VIH après la vaccination par un plasmide où l'on avait inséré ce gène. La protéine codée par le gène viral est repérée par un marqueur vert (*en bas*). Ces micrographies démontrent que les vaccins à ADN provoquent la synthèse des protéines nécessaires aux réactions immunitaires.

Velpandi Ayyavoo, University of Pennsylvania

Comment fonctionnent les vaccins à ADN



Apparemment, l'organisme des vertébrés interprète la présence de paires GC non méthylées comme un signal de danger : des mécanismes immunitaires primitifs tenteraient alors d'éliminer l'envahisseur sans chercher à reconnaître des antigènes.

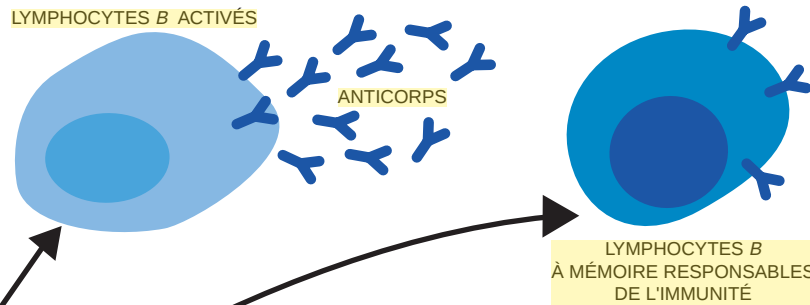
Ingénierie pour un effet optimal

Tandis que des équipes explorent le mode d'action des vaccins génétiques, des immunologistes cherchent à accroître la réactivité immunitaire globale et à favoriser les réactions cellulaires. Certains ont montré que l'ADN plasmidique provoque une réaction immunitaire maximale lorsque les séquences GC sont accompagnées de deux purines (A ou T) du côté de la cytosine, et de deux pyrimidines (G ou C) du côté de la guanine. Chez des souris, les plasmides comportant de telles séquences immunostimulantes induisent une activité des lymphocytes T cytotoxiques et des anticorps plus importante que celle que provoquent les mêmes plasmides sans ces séquences.

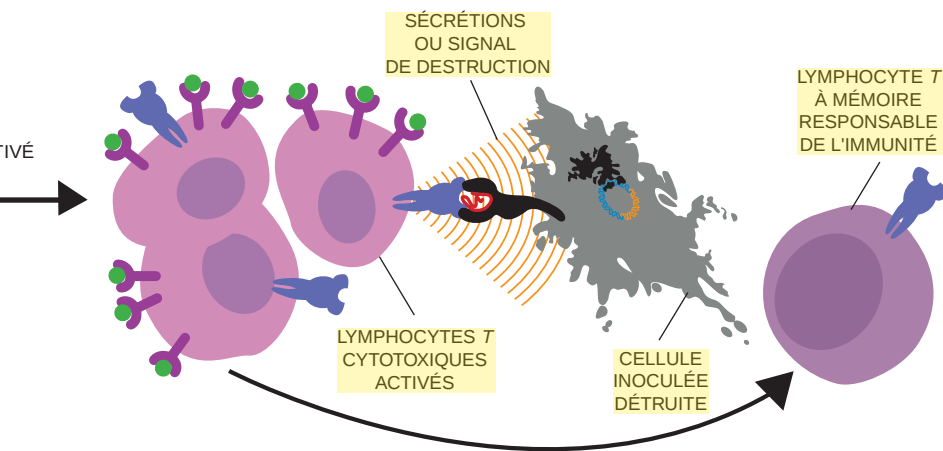
D'autres groupes étudient les molécules, nommées cytokines, que les cellules du système immunitaire libèrent pour régler leurs propres activités, ainsi que les activités des autres globules blancs. L'incorporation de gènes codant des cytokines, dans les plasmides porteurs d'antigènes ou dans des plasmides séparés, stimule la réaction immunitaire. Par exemple, l'inclusion du gène d'un facteur de prolifération de cellules précurseurs de certains globules blancs amplifie l'ensemble des réactions immunitaires, en stimulant l'apparition des cellules représentatives d'antigènes.

D'autres équipes encore étudient l'effet des gènes codant des cytokines qui activent les lymphocytes T cytotoxiques. Chez la souris et chez l'être humain, des lymphocytes T auxiliaires, nommés *Th1*, sécrètent des cytokines qui favorisent la réaction cellulaire, tandis que les cytokines des lymphocytes *Th2* favorisent la synthèse d'anticorps.

Ainsi, un vaccin incluant des gènes qui codent des antigènes du VIH et l'interleukine-12 (une cytokine de lymphocyte *Th1* classique) diminue la production des anticorps anti-VIH chez des souris « immunisées », mais augmente la capacité de réaction des lymphocytes T cytotoxiques aux antigènes du VIH. Cette observation est très



L r h u é m o r c a l i t e i o a n
Les globules blancs, nommés lymphocytes B, prolifèrent après avoir capté les protéines antigéniques libérées. La majeure partie de leur descendance sécrète des molécules d'anticorps qui, au cours d'une infection, se fixent sur l'agent pathogène et le marquent pour qu'il soit éliminé. Les autres lymphocytes B deviennent des cellules



L r c e é l a l c u t l i a o i n r
La protéine antigénique synthétisée est fragmentée dans les cellules en peptides qui sont exposés, dans les sillons des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, à la surface des cellules injectées. Après une fixation aux complexes antigéniques, des globules blancs nommés lymphocytes T cytotoxiques se multiplient, et détruisent les cellules reconnues, ainsi que celles qui présentent les mêmes peptides dans le même contexte. Certaines cellules activées deviennent aussi des cellules à mémoire, prêtes à éliminer les cellules qui seraient ultérieurement infectées par l'agent pathogène. Lors d'étapes non repré-