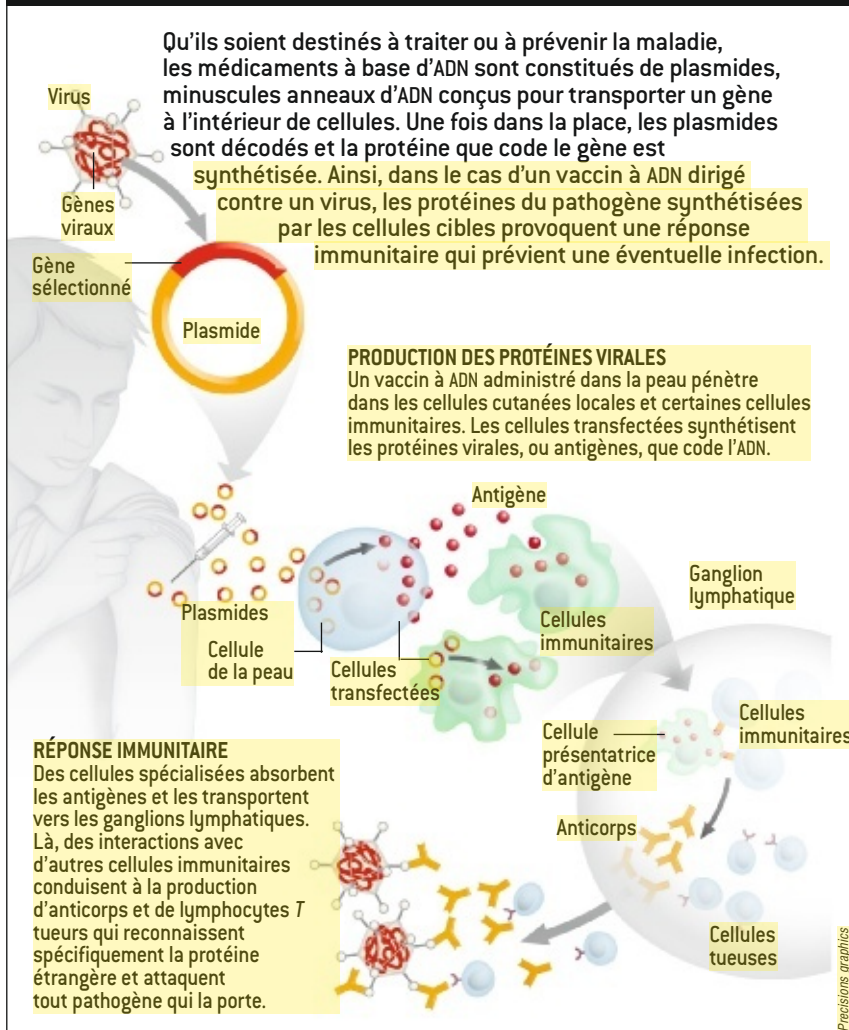


COMMENT AGISSENT LES MÉDICAMENTS À BASE D'ADN



Quand les vaccins à ADN commencèrent à faire parler d'eux, au début des années 1990, leur simplicité apparut immédiatement. Les principaux composants du vaccin sont des plasmides, c'est-à-dire des constructions d'ADN intégrant des gènes codant une ou plusieurs protéines d'un agent pathogène. Les cellules recevant ces plasmides produiraient ces protéines, mais ne contiendraient pas d'instructions pour fabriquer l'agent pathogène entier.

Lorsqu'un plasmide pénètre dans la cellule receveuse – dite cellule hôte, par un processus de transfection –, la machinerie moléculaire qui décode normalement l'ADN commence à lire le gène de l'agent pathogène qui y est inséré. Elle synthétise la protéine souhaitée, qui est reconnue comme étrangère par les cellules immunitaires, comme si l'organisme était infecté. Le système immunitaire développe alors une réponse spécifique de

cet agent dont il garde une mémoire à long terme, ce qui le rend capable de réagir plus fortement et plus vite contre la protéine étrangère en cas de nouvelle infection. La simple introduction d'un plasmide portant un gène pourrait ainsi protéger contre l'agent pathogène.

En plus de leur simplicité, les vaccins à ADN offrent en théorie plusieurs avantages par rapport aux vaccins classiques. Par exemple, pour élaborer un vaccin contre la grippe, il faut manipuler et cultiver des virus « vivants » et le processus de production demande au moins quatre à six mois. Le vaccin, une fois mis au point, doit être maintenu à basse température. Les vaccins à ADN sont plus faciles à produire et sont stables à température ambiante.

Autre avantage qui a été décisif pour remettre cette technologie en selle : le vaccin ne déclenche pas de réponse immunitaire ; seule la protéine codée par le gène

du plasmide, après avoir été synthétisée par les cellules, attire l'attention des sentinelles de l'immunité. Les plasmides peuvent donc être utilisés à plusieurs reprises chez la même personne pour apporter divers gènes, sans que l'on ait à craindre une immunité contre le vaccin lui-même.

Lors des premiers essais de vaccins à ADN, les faibles réponses immunitaires firent échouer le projet. Ces échecs provenaient vraisemblablement de ce que les plasmides n'entraient pas dans un nombre suffisant de cellules ; et lorsqu'ils y pénétraient, la cellule hôte ne produisait pas assez de protéines susceptibles de déclencher une réaction immunitaire.

Un concurrent pas si efficace

Cependant, l'approche concurrente des vecteurs adénoviraux a finalement rencontré un obstacle plus important. En 2007, le Laboratoire pharmaceutique Merck a lancé l'essai clinique STEP, une étude de grande ampleur d'un vaccin contre le VIH utilisant un vecteur adénoviral nommé *AdHu5* pour transporter des gènes viraux. Quelque 3000 sujets qui n'étaient pas porteurs du VIH ont reçu le vaccin ou le placebo.

À mesure que l'essai avançait, un signe inquiétant est apparu : les personnes vaccinées n'étaient pas mieux protégées que celles qui avaient reçu le placebo. Elles paraissaient même plus vulnérables à l'infection. Un décompte réalisé à mi-parcours de l'étude indiqua que 49 hommes sur les 914 du groupe vacciné étaient devenus séropositifs, alors que c'était le cas pour 33 hommes sur 922 dans le groupe placebo. Durant l'été 2009, l'essai STEP a alors été suspendu.

Les données sont toujours en cours d'analyse. Mais quelques éléments indiquent que le vecteur *AdHu5* serait en cause. Chez les personnes présentant une immunité préexistante à l'adénovirus correspondant au vecteur – un banal virus de rhume –, le système immunitaire a pu attaquer le vaccin lui-même. On ne sait pas en revanche pourquoi les personnes vaccinées semblaient plus sensibles à l'infection par le VIH.

Durant les années précédant l'essai STEP, des chercheurs ont tenté d'apporter des solutions aux problèmes de la première génération des vaccins à plasmides. Leurs efforts visaient plus particulièrement à améliorer la pénétration des

plasmides dans les cellules, à augmenter la production des protéines du vaccin et à accroître les réponses immunitaires grâce à des adjuvants.

De ces travaux sont issus de nouveaux modes d'administration des vaccins. Ils sont capables d'introduire les plasmides dans un nombre plus élevé de cellules cibles, y compris des cellules immunitaires. Par exemple, des patchs transdermiques et d'autres systèmes sans aiguille, tels le *Gen Gun* et le *Bioject*, qui utilisent de l'air pressurisé pour injecter le vaccin, administrent les plasmides dans la peau, où se trouve une forte concentration de sentinelles immunitaires.

Ces méthodes forcent aussi physiquement les plasmides à pénétrer en plus grande quantité et dans un plus grand nombre de cellules que ne le ferait l'injection à l'aide d'une aiguille. Pour que des vaccins administrés dans un muscle ou dans la peau à l'aide d'une seringue obtiennent des résultats équivalents à ceux des dispositifs à air pressurisé, l'injection peut être suivie d'une électroporation : sous l'effet d'une série d'impulsions électriques, des pores s'ouvrent temporairement dans les membranes cellulaires, si bien que les plasmides entrent plus facilement dans les cellules cibles. L'électroporation peut augmenter jusqu'à 1 000 fois le nombre de plasmides pénétrant dans les cellules.

La renaissance de l'ADN

Les constructions génétiques à base de plasmides ont aussi été améliorées. On peut désormais faire en sorte que la cellule lise les instructions du gène de façon à les exécuter plus facilement. Dans le code génétique, les composants de base des protéines que sont les acides aminés sont définis par un ensemble de trois « lettres » dans l'ARN messager codé par l'ADN, formant un codon. Certains acides aminés sont déterminés par plusieurs codons synonymes, mais les cellules « préfèrent » en général l'un d'eux, ce qui veut dire qu'elles le traduisent plus efficacement que les autres pour l'intégrer dans la séquence de la protéine. L'astuce consiste donc à choisir les codons les plus favorables à la traduction, ce qui augmente la production de la protéine correspondante par la cellule. D'autres modifications de la séquence du gène rendent les ARN messagers transcrits

à partir du gène plus stables et précis, ce qui accélère la synthèse de la protéine réalisée à partir de ces ARN.

On peut aussi faire en sorte que la première séquence d'ARN traduite par la cellule pour fabriquer une protéine – la « séquence leader » – augmente la stabilité de cette dernière. Certaines séquences leaders peuvent marquer une protéine comme faisant partie de celles que la cellule doit sécréter dans le milieu extracellulaire ; ce marquage est souhaitable, car il permet aux cellules immunitaires de rencontrer les protéines étrangères à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des cellules transfecées. Les deux situations entraînent des réactions immunitaires légèrement différentes et leur combinaison augmente l'immunité globale produite par le vaccin.

LES AUTEURS



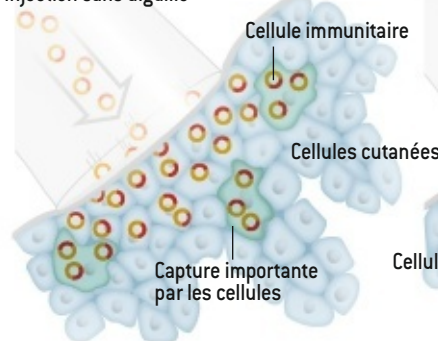
Matthew MORROW et David WEINER sont chercheurs à l'Université de Pennsylvanie. D. Weiner, professeur de médecine, y dirige le programme Thérapie génique et vaccins. Il est aussi consultant pour l'Administration américaine de l'alimentation et des médicaments (FDA) et pour des sociétés pharmaceutiques.

L'EFFET DE L'ADN RENFORCÉ

L'efficacité des vaccins et des thérapies à base d'ADN, sous forme de plasmides, a été améliorée par différentes méthodes. Celles-ci accroissent le nombre de plasmides intégrés par les cellules, augmentent la production des protéines antigéniques et renforcent la réaction immunitaire.

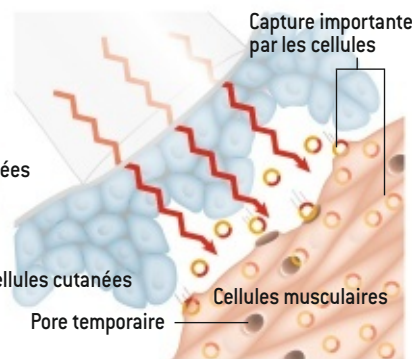
UN MODE MEILLEUR D'ADMINISTRATION DES PLASMIDES

Injection sans aiguille



Des systèmes sans aiguille injectent le vaccin dans la peau, où sont concentrées des cellules immunitaires. En comparaison des injections classiques, les plasmides sont plus nombreux à pénétrer dans les cellules immunitaires cutanées.

DISPOSITIF D'ÉLECTROPORATION



Une faible stimulation électrique, l'électroporation, accroît la quantité de plasmides qui entrent dans les cellules après leur injection. En effet, chaque impulsion électrique ouvre brièvement des pores dans la membrane cellulaire, laissant passer des plasmides.

UNE CONCEPTION OPTIMISÉE DES PLASMIDES

Les instructions génétiques de production d'une protéine présentes sur un plasmide peuvent être lues en utilisant différentes séquences de « lettres » de l'ADN. Le choix de l'une ou l'autre de ces séquences permet d'augmenter la quantité de protéine synthétisée.

UNE STIMULATION IMMUNITAIRE PLUS EFFICACE

La synthèse d'adjuvants, substances stimulant les cellules immunitaires, peut être codée par des gènes insérés dans les plasmides. Les adjuvants, fabriqués alors en même temps que les antigènes, renforcent les réponses immunitaires dirigées contre ces derniers.

