

> s'autoamplifient: ils ont ajouté à l'ARN messager la séquence codant une « réplicase », une enzyme qui produisent des virus à ARN et dont le rôle est de fabriquer de multiples copies d'un ARN cible. Les deux systèmes fonctionnaient très bien. La piste de la réplicase est d'ailleurs toujours d'actualité pour augmenter l'efficacité des vaccins à ARN.

Pourquoi, alors, Novartis a-t-il interrompu ses travaux sur les vaccins à ARN en 2015 ?

La branche vaccination de Novartis a été rachetée par GlaxoSmithKline, qui a préféré ne pas continuer dans ce secteur, comme d'ailleurs tous les grands groupes pharmaceutiques. Les entreprises qui ont poursuivi – Moderna, CureVac et BioNTech – étaient de petites sociétés de biotechnologie.

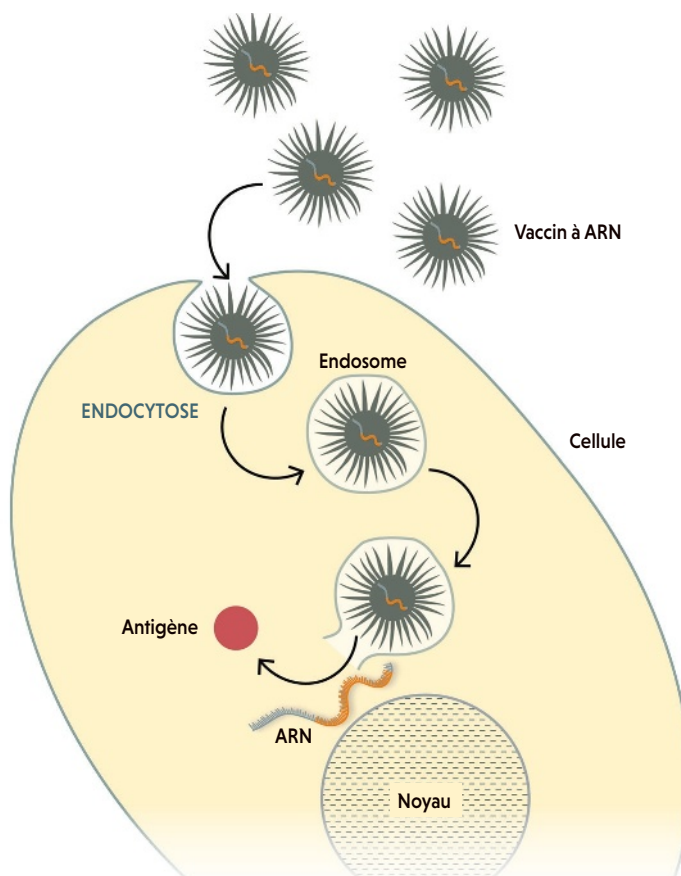
Les grands groupes ont une gestion du risque un peu différente. Ils évitent d'utiliser des systèmes trop innovants, susceptibles de ternir leur image s'ils ne fonctionnent finalement pas. Par exemple, Sanofi Pasteur a mis vingt ans à développer un vaccin contre la dengue à partir du virus de la fièvre jaune et dépensé 1,5 milliard d'euros entre sa fabrication à grande échelle et ses essais cliniques, pour devoir finalement rabaisser considérablement ses ambitions après la mort de quatorze enfants aux Philippines durant la campagne de vaccination lancée en 2015. De fait, en 2017, Sanofi Pasteur a publié un communiqué de presse indiquant que les personnes n'ayant jamais été en contact avec le virus de la dengue étaient plus susceptibles de réagir fortement au vaccin. En termes d'image, de tels résultats sont catastrophiques et n'encouragent pas les grands groupes à investir dans des innovations trop importantes.

Finalement, les vaccins à ARN contre le Covid-19 de Moderna et Pfizer-BioNTech sont-ils proches de ceux que vous aviez élaborés ?

Ils sont conçus sur le même modèle: les ARN messagers sont toujours transportés par un mélange de lipides stabilisés au moyen de chaînes de polyéthylène glycol, comme dans notre brevet de 1998. Il ne s'agit pas exactement de notre formulation, mais ces vecteurs sont le fruit de l'émergence d'un domaine – le transport lipidique synthétique d'acides nucléiques – à laquelle nous avons largement contribué. D'ailleurs, en 2020, avec notre plateforme de synthèse, nous avons conçu un vaccin à ADN contre le SARS-CoV-2 qui a protégé avec succès des souris contre la souche virale initiale qui circule encore en France.

Pourquoi un vaccin à ADN et non à ARN ?

L'ADN est plus stable que l'ARN. De plus, nous avons déjà fait tout un développement préclinique réglementaire sur un vaccin à ADN



contre le cancer du foie. Nous avons donc décliné la plateforme de synthèse de ce vaccin pour l'adapter au SARS-CoV-2. Nous avons ainsi obtenu un vaccin stable à 25 °C pendant plus de six mois sous une forme lyophilisée.

Allez-vous lancer des essais cliniques ?

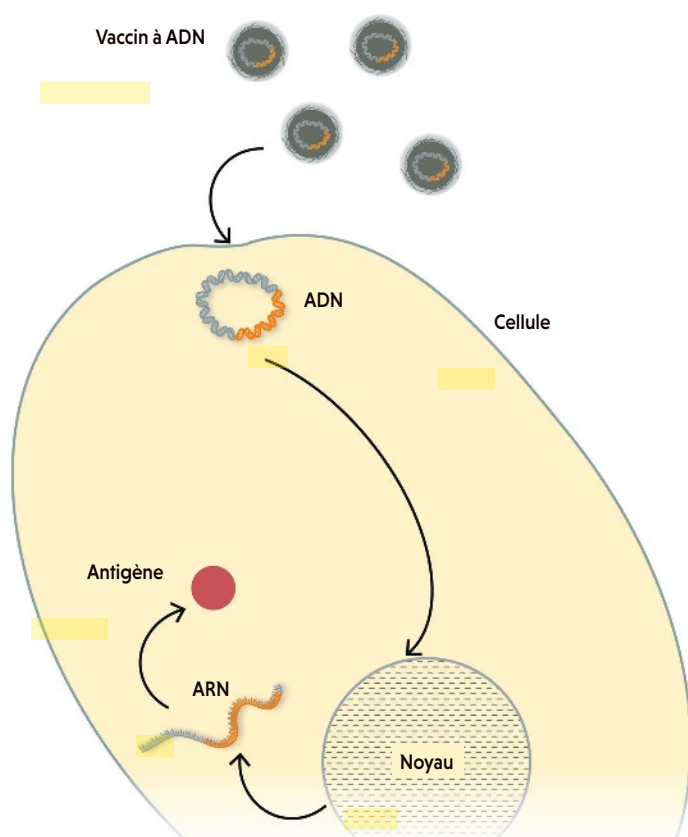
Notre vaccin est prêt pour des essais cliniques, mais à l'heure actuelle nous n'avons pas encore les financements nécessaires pour les mettre en œuvre. Néanmoins, compte tenu des très bons résultats que notre vaccin a obtenus contre la souche initiale, nous allons pouvoir le faire évoluer pour qu'il protège contre les variants circulant actuellement en France. Même si les vaccins à ARN de Moderna et Pfizer-BioNTech sont désormais largement utilisés, il y a toujours un intérêt fort à développer un vaccin stable à température ambiante.

Pourquoi s'intéresser plus à des vaccins à ARN qu'à des vaccins à ADN si ces derniers sont plus stables ?

Parce que les molécules d'ARN s'arrêtent dans le cytoplasme. Il y a eu, au départ, énormément de levées de boucliers contre les vaccins à ARN. On s'inquiétait que l'ARN entre dans le noyau et modifie le patrimoine génétique des personnes vaccinées. Or si, dans les cellules, les ARN messagers sortent bien du

VACCIN À ARN

Pour optimiser la réponse immunitaire, on conçoit les vaccins à ARN de telle façon que la cellule les ingère par endocytose, c'est-à-dire par invagination de sa membrane, qui enveloppe le vaccin jusqu'à former une vésicule, un endosome, laquelle l'achemine dans le cytoplasme. En effet, quand un ARN exogène se retrouve dans un endosome, des protéines de ce dernier le détectent et alertent le système immunitaire. Les vecteurs qui permettent cette ingestion sont constitués de lipides stabilisés à l'aide de chaînes de polyéthylène glycol. Une fois libéré dans le cytoplasme, l'ARN est traduit en un antigène qui sera ciblé par le système immunitaire.



VACCIN À ADN

Le système de détection des ADN étrangers étant dans le cytoplasme, on conçoit les vaccins à ADN de façon qu'ils entrent directement dans le cytoplasme, afin qu'ils y activent le système immunitaire. Le vecteur est cette fois constitué de polymères amphiphiles (avec une partie hydrophobe et une partie hydrophile). Une fois entré dans la cellule, l'ADN pénètre dans le noyau, puis est transcrit en un ARN qui sera traduit en un antigène.

noyau – ils transportent ainsi le code génétique dans le cytoplasme, où se trouve la machinerie qui le lit et le traduit en protéines –, il est très rare qu'ils y entrent. C'est d'ailleurs assez curieux que les médias et les personnes antivaccins n'aient pas plus réagi lorsqu'on a commencé à utiliser le vaccin d'AstraZeneca, un vaccin construit à l'aide d'un virus à ADN qui transporte une molécule d'ADN, laquelle va dans le noyau pour que la cellule exprime la protéine S du SARS-CoV-2 (la protéine à sa surface par laquelle le virus s'amarre aux cellules).

Concrètement, le vaccin à ADN est-il plus dangereux? Y a-t-il plus de risque que l'ADN du vaccin perturbe celui de la personne?

Dans un cas comme dans l'autre, les cellules qui exprimeront l'antigène, soit *via* un ARN, soit *via* un ADN, seront détruites par le système immunitaire, car elles vont produire des fragments d'une protéine virale, la protéine S, qui sera détectée par l'organisme comme non physiologique et ciblée par le système immunitaire. De plus, les molécules d'ADN ou d'ARN utilisées dans les vaccins ne comportent pas d'instruction pour s'intégrer au génome. Ce ne sont pas des rétrovirus. Ces virus à ARN comme celui du sida ou du SARS-CoV-2 portent une séquence qui code une enzyme nommée « intégrase », laquelle, une fois l'ARN viral rétrotranscrit en ADN dans la cellule infectée, intègre cet ADN dans le génome de la cellule. Quand les gens sont infectés par le coronavirus, des millions de particules virales infectent des cellules qui se mettent à produire des centaines de milliers de particules de coronavirus. Celui-ci se distribue dans l'organisme, de nombreuses cellules sont détruites, et l'on ne se pose pas la question de ce qui se passe dans les cellules de toutes ces personnes...

Vous parlez de lyophilisation des vaccins à ADN. Est-ce envisageable de procéder de même pour conserver les vaccins à ARN?

La conservation à -70°C du vaccin de Pfizer-BioNTech est en effet un cauchemar logistique. Nous avons commencé à explorer la piste de la lyophilisation: il existe des possibilités de lyophiliser les formulations issues de notre lipide dérivé d'un sucre naturel combiné à de l'ARN. Il est fort probable que Moderna et Pfizer-BioNTech y réfléchissent aussi. La formulation liquide est la plus facile à obtenir – c'est ce qui leur a permis d'aller très vite pour développer leur stratégie de vaccination –, mais la suite logique est d'améliorer la stabilité du vaccin.

Vous développez par ailleurs d'autres méthodes de vectorisation des acides nucléiques. De quoi s'agit-il?

Les nanoparticules lipidiques utilisées dans les vaccins à ARN ont été développées pour favoriser une inflammation, afin de créer les conditions d'une réaction immunitaire contre l'antigène codé dans le vaccin. En revanche, si l'on cherche à utiliser des ARN pour faire exprimer par les cellules une protéine d'intérêt thérapeutique – une hormone de croissance, un facteur de coagulation, un anticorps, etc. –, déclencher une inflammation est contreproductif. On se tourne alors vers d'autres systèmes de vectorisation à base de polymères amphiphiles (constitués d'une tête hydrophile ➤

Nous allons modifier notre vaccin afin qu'il protège contre les nouveaux variants

> et d'une queue hydrophobe), qui ne sont pas du tout inflammatoires.

Pourquoi ces systèmes de vectorisation à base de polymères amphiphiles ne sont pas inflammatoires, et pourquoi les nanoparticules lipidiques utilisées dans les vaccins le sont ?

Dans les cellules, l'ADN est dans le noyau, l'ARN dans le cytoplasme. Et le système de détection des ARN exogènes se trouve non pas dans le cytoplasme (il y détecterait alors tous les ARN cellulaires), mais dans les endosomes, les vésicules *via* lesquelles les cellules se nourrissent (la membrane cellulaire se creuse jusqu'à se refermer sur elle-même, puis la vésicule ainsi formée – un endosome –, se détache et poursuit sa route dans le cytoplasme).

La cellule détecte les ARN exogènes ainsi ingérés à l'aide de protéines nommées TLR nichées dans la membrane interne des endosomes. Lorsqu'elles rencontrent un ARN étranger, les protéines TLR produisent des signaux de danger qui déclenchent l'expression de cytokines, de petites molécules que la cellule libère et qui produisent une inflammation en activant une réaction immunitaire innée, c'est-à-dire non spécifique de l'ARN exogène rencontré.

Aussi, pour la vaccination, l'idée est d'utiliser des systèmes lipidiques qui font entrer les ARN dans les endosomes, afin que ces derniers stimulent les TLR et déclenchent la production de cytokines pro-inflammatoires, de manière à attirer le système immunitaire sur le site d'injection. De même, le système de détection des ADN étrangers est non pas dans le noyau, mais dans le cytoplasme. Nos vaccins à ADN sont donc conçus pour que l'ADN soit libéré directement dans le cytoplasme afin d'y déclencher une réaction immunitaire.

En revanche, pour les ARN thérapeutiques, on utilise un système de vectorisation à base de polymères qui introduit l'ARN directement dans le cytoplasme. On contourne ainsi tous les commutateurs de l'immunité innée situés dans les endosomes. Par cette méthode, que nous avons brevetée en 2015, nous avons réussi à produire des protéines de façon non inflammatoire chez l'animal. Nous sommes d'ailleurs les seuls à savoir ainsi produire des anticorps monoclonaux d'intérêt thérapeutique directement chez l'individu.

Contre quelles maladies cette méthode serait-elle envisageable ?

Elle est potentiellement applicable dans différentes pathologies, pour exprimer des anticorps soit contre des virus ou des bactéries lors de maladies infectieuses, soit contre des cibles intracellulaires dans le cadre d'un traitement contre le cancer, par exemple.

Concernant les maladies infectieuses comme le Covid-19, un problème de la vaccination est que son efficacité dépend de l'état du système immunitaire de l'individu vacciné. S'il est peu efficace, il y a un risque qu'il ne soit pas capable de produire des anticorps, par exemple contre la protéine S du coronavirus dans le cas de la vaccination contre le Covid-19. En revanche, si l'on connaît déjà un anticorps neutralisant – un anticorps qui empêche l'agent pathogène de s'introduire dans les cellules –, comme c'est le cas avec le SARS-CoV-2, notre système de vectorisation non inflammatoire peut aider l'organisme à produire cet anticorps (l'ARN introduit est alors l'ARN messager qui code l'anticorps) et même des cocktails d'anticorps pour neutraliser le virus initial et ses variants.

Le principe est le même que celui utilisé pour traiter Donald Trump quand, ayant contracté le Covid-19, il a reçu l'injection d'un cocktail expérimental d'anticorps ciblant la protéine S. Mais au lieu que les anticorps soient produits par une lignée cellulaire de hamster cultivée dans des fermenteurs de 1 000 litres



Contre le sida, la piste d'anticorps produits par ARN thérapeutique paraît plus prometteuse que le vaccin

en inox, notre idée est que ce soient directement les cellules musculaires de la personne qui les expriment, ce qui peut être très rapide. En trois heures, les cellules du muscle où a eu lieu l'injection expriment les anticorps.

Comment un tel système pourrait agir contre un cancer ?

L'idée est d'exprimer des anticorps qui ont des cibles connues dans la tumeur, au lieu d'injecter directement les anticorps déjà synthétisés, comme c'est le cas dans les immunothérapies actuelles. En particulier, il n'est pas rare que les cellules tumorales contrôlent le système immunitaire : elles produisent à leur