

MODELES VACCINAUX

Une expérience vaccinale originale chez le chimpanzé réalisée avec de l'ADN nu

Sophie Chamaret

Unité d'oncologie virale Institut Pasteur (Paris)

Protection of chimpanzees from high-dose heterologous HIV-1 challenge by DNA vaccination

Boyer J.D.,
Ugen K.E.,
Wang B.,
Agadjanyan M., Gilbert L.,
Bagarazzi M.L.,
Chattergoon M., Frost P.,
Javadian A.,
Williams W.V., Refaeli Y.,
Ciccarelli R.B.,
McCallus D.,
Coney L.,
Weiner D.B.
Nature
Medicine,
1997, 3, 5, 526-

Nouvelle technologie vaccinale utilisant l'ADN pour induire des réponses immunes *in vivo*, la «vaccination génétique» a été expérimentée pour la première fois chez le chimpanzé. Les animaux ont été protégés contre l'infection par une souche virulente malgré des réponses immunes pour le moins modestes.

Plusieurs groupes ont récemment rapporté une technologie vaccinale nouvelle, appelée vaccination génétique, où l'acide désoxyribonucléique ou ADN est utilisé pour induire des réponses immunes *in vivo*. La vaccination est réalisée par injection d'ADN plasmidique nu comportant des gènes codant pour des antigènes (protéines) exogènes et qui sont sous le contrôle de promoteurs viraux fonctionnels. L'injection de cet ADN entraîne l'expression *in vivo* des protéines codées et induit le développement de réponses immunes humorale et cellulaire spécifiques.

La production endogène de l'antigène par la machinerie transcriptionnelle de la cellule hôte imite les aspects d'un vaccin vivant atténué, sans le risque potentiel d'une réplication pathogène. Des réponses protectrices ont déjà été décrites chez la souris dans plusieurs modèles de maladies en utilisant cette technologie, et des réponses immunes humorale et cellulaire ont été induites contre des antigènes VIH-1 et SIV par cette approche chez le macaque et la souris, mais pas jusqu'alors chez le chimpanzé.

Les auteurs rappellent que le chimpanzé (*Pan troglodytes*) est un bon modèle pour évaluer les vaccins contre VIH-1, les systèmes immunitaires humains et du chimpanzé ayant de nombreuses propriétés très proches (MHC, antigène des récepteurs T, cytokines etc.). De plus, l'infection par VIH-1 est similaire chez l'homme et le chimpanzé: les virus peuvent être isolés des PBMC malgré la présence d'anticorps neutralisants et, sans doute, malgré une activité des lymphocytes T cytotoxiques. Boyer et coll. cherchent donc à montrer l'efficacité de vecteurs plasmidiques ADN, injectés par voie intramusculaire, dans le contrôle de la réplication du VIH-1 dans le modèle chimpanzé.

Les deux plasmides utilisés sont pCMN 160, codant pour les

protéines *env* et *rev* de la souche VIH-1 MN, et pC*gag/pol* codant pour les protéines *gag/pol* de la souche VIH-1 IIIB. Trois chimpanzés (n° 83, 92 et 94) sont utilisés; ils reçoivent à trois semaines d'intervalle trois injections de pCMN 160 (A), trois injections de pCMN 160 et pC *gag/pol* (B) puis deux rappels des constructions A+B. Un chimpanzé témoin (n°19) reçoit en même temps des doses équivalentes de vecteur vide, ne comprenant pas les gènes de VIH-1.

Les trois animaux qui ont reçu les vecteurs complets présentent des anticorps contre la gp 120, la boucle V3 et un peptide de la gp 41, à des titres différents selon les animaux, mais il faut noter que les sérums sont testés à une faible dilution (1/50). Les anticorps neutralisants ont également des titres assez peu élevés. La réponse des lymphocytes T cytotoxiques est modeste pour un des singes et quasiment absente pour les deux autres.

Au 60^e jour, le virus d'épreuve SF2 (250 ID₅₀) est injecté au chimpanzé présentant les anticorps neutralisants au titre le plus élevé (n°83), à celui ayant l'activité CTL la plus importante (n°94) et au chimpanzé contrôle (n°19). Le chimpanzé n°92 ayant eu les différentes réponses immunes les moins élevées sert de contrôle négatif.

L'infection est suivie par une PCR de l'ARN viral couplée à une transcriptase inverse, RT-PCR, effectuée en triplicate. La RT-PCR de l'animal contrôle (n°19) a été positive à partir de la deuxième semaine après l'infection et pendant les 48 semaines de suivi. En revanche, les animaux n°83 et n°92 sont RT-PCR négatifs pendant ces 48 semaines, excepté à la sixième semaine après l'épreuve virulente pour le n°83 et à la huitième semaine pour le chimpanzé n°94. Ces deux échantillons ont été testés par la technique de bDNA Chiron (sensibilité 500 copies/ml) et les résultats ont été négatifs; le plasma de l'animal contrôle présentait aux mêmes dates 104 particules/ml. De plus, des biopsies de ganglions effectuées chez ces trois animaux à la 22^e semaine ont été analysées par DNA-PCR. Les résultats sont positifs pour le singe 19 et négatifs pour les singes n°83 et n°94, et bien sûr pour le n°92, non infecté par SF2.

Enfin, il est connu que le taux de lymphocytes CD28⁺ diminue au cours de l'évolution de l'infection. CD28⁺ est

exprimé dans les lymphocytes CD4+ et la plupart des lymphocytes CD8+ normaux. Le niveau des CD28+ a été évalué chez les chimpanzés infectés ou non, et cette fois encore l'évolution a été semblable à l'infection par VIH-1 chez l'homme : l'expression des CD28+ décroît chez l'animal effectivement infecté (n°19) et, à l'inverse, les deux chimpanzés n°83 et n°94 montrent une expression des CD28+ analogue à celle des individus séronégatifs.

Les résultats de ce travail suscitent plusieurs réflexions:

— D'abord, et cela est connu depuis fort longtemps, les animaux d'une même espèce ne réagissent pas de la même façon à l'injection d'une même quantité de matériel. Les réponses immunes varient d'un animal à l'autre: seul le chimpanzé n°83 présente des anticorps neutralisants à une dilution acceptable, et une induction de l'activité CTL est détectée seulement chez le chimpanzé n°94.

— Ensuite, le protocole de vaccination est lourd : les animaux ont reçu 6 injections (aux semaines 0, 3, 6, 9, 12, 15) et deux rappels (semaines 40 et 52) avant de recevoir, pour deux d'entre eux, l'infection d'épreuve à la soixantième semaine. L'animal contrôle (n°19) a reçu un plasmide ne contenant pas les gènes du VIH et l'infection d'épreuve aux mêmes dates.

— Enfin, il est intéressant de noter que, bien que les meilleures réponses immunes soient modestes et les autres très faibles, les deux chimpanzés ayant reçu l'ADN codant pour les protéines VIH ont été protégés contre l'infection par une souche hétérologue SF2 virulente pour ces animaux, l'animal témoin ayant présenté une PCR positive dès la deuxième semaine post-infection et ensuite jusqu'à la 48e semaine.

Le rôle de la réaction immunitaire dans la protection reste donc à préciser, et il faut rappeler que cette protection ne peut être suivie que de manière indirecte puisque, si l'on retrouve effectivement du virus chez l'animal témoin, l'infection par cette souche SF2 chez le chimpanzé ne provoque jamais de manifestation clinique ni d'évolution vers le sida. — Sophie Chamaret