

## L'immunité muqueuse

**Laurent Finkielsztejn**

hôpital Cochin-Port-Royal

**Dans le monde, le VIH est transmis principalement par voie sexuelle. C'est pourquoi les connaissances sur l'immunité des muqueuses, notamment génitales, sont essentielles. Cela permettrait de développer un vaccin capable d'empêcher ou de diminuer la transmission du VIH au niveau des voies génitales. A ce jour, il n'existe pas de vaccin administré par voie locale ou générale capable de protéger contre une MST, en dehors du virus de l'hépatite B. L'immunité locale à développer contre l'infection par le VIH reste à découvrir. Elle pourrait être spécifique, médiée par des anticorps ou des cellules tueuses (ou CTL), ou non spécifique, faisant intervenir une enzyme ou des molécules empêchant l'adhésion du VIH aux cellules.**

Actuellement, on sait détecter des anticorps contre le VIH, chez des personnes infectées, dans la plupart des fluides muqueux, notamment génitaux. De même, une équipe américaine a récemment mis en évidence des CTL dirigées contre le VIH dans les sécrétions cervico-vaginales et dans le sperme (1). La quantité de ces anticorps ou de ces CTL et la détection du virus dans les sécrétions sont très variables sur le plan individuel et entre les individus. L'exploration de l'immunité étudiée chez les personnes exposées et non infectées n'a pu encore mettre en évidence, de façon certaine, un facteur de protection, en tout cas au niveau génital.

Il n'y a aucune étude comparant les quantités de virus et d'anticorps ou de CTL dans les sécrétions muqueuses. Ce type d'étude est nécessaire ; il est en effet possible que l'immunité locale développée par une personne infectée soit efficace contre le VIH et diminue ainsi l'infectiosité.

Plusieurs études ont été présentées sur l'immunité des muqueuses chez l'homme. D'abord concernant l'immunité non spécifique, Kazmi et al. (2) ont montré que de nombreux fluides muqueux (salive, liquide séminal, lait maternel) avaient une activité inhibitrice sur le VIH en culture. Parmi les facteurs inhibiteurs, le SLPI (leukocyte protease inhibitor) étudié par l'équipe de Laurent Bélec (3) a une activité antivirale connue dans la salive, et ce facteur est également présent dans les sécrétions cervico-vaginales. Il est présent en plus grande quantité chez les femmes non infectées par le VIH que chez les femmes infectées, ainsi que celles ayant une vaginose.

Deux autres études portaient sur l'immunité spécifique. L'une (4) s'est intéressée au phénotypage cellulaire des sécrétions de la muqueuse génitale chez des femmes infectées, montrant que les lymphocytes représentaient 39 % des cellules, pourcentage non corrélé avec le traitement antiviral ou la présence du VIH en culture. Quatre-vingts pour cent de ces lymphocytes ont un phénotype CD4 principalement à mémoire (80 %). Le nombre de ces CD4 muqueux est corrélé de façon négative avec le chiffre des CD4 sanguins. L'autre étude (5) a montré que dans la salive, les IgA anti-p24 baissaient plus tôt que les IgA anti-gp160 et avant que les symptômes cliniques apparaissent.

### Anticorps "vaccinaux"

Une équipe française a présenté deux études sur l'exploration de l'immunité humorale chez l'homme. La première (6) portait sur la recherche d'anticorps contre le VIH aux niveaux cervico-vaginal et salivaire chez des personnes infectées par le VIH non traitées, et avec des CD4 > 350 mm<sup>3</sup>. Chez ces personnes, il a été confirmé que les anticorps spécifiques de type IgG prédominaient sur le type IgA (habituellement rencontré au niveau des muqueuses), et que la quantité d'anticorps spécifiques était plus importante au niveau cervico-vaginal que dans la salive. Dans cette étude, ils ont été retrouvés de façon minoritaire. Il est probable que les

réponses détectées au niveau de ces muqueuses soient majoritairement d'origine sanguine et que ces anticorps aient traversé la muqueuse. Par contre, des quantités non négligeables d'IgA ont été retrouvées dans le sang, ce qui est inhabituel et probablement le témoignage d'un dérèglement du système immunitaire.

La seconde étude (7) portait sur des personnes non infectées et participant à des essais de préparations vaccinales contre le VIH. C'est la première fois que l'on recherchait des réponses anticorps au niveau des muqueuses de sujets vaccinés contre le VIH. Les préparations testées étaient des virus canarypox recombinants pour le VIH. Il s'agit de vecteurs viraux transportant des gènes du VIH codant pour l'enveloppe externe (ENV) et interne (GAG), une partie d'enzyme (protéase) et d'un gène de régulation (NEF). Les immunisations ont été effectuées dans un muscle. Initialement, les réponses immunologiques ont été explorées dans le sang, dans la salive et au niveau cervico-vaginal, puis elles ont été étendues au niveau rectal et vaginal.

Les anticorps induits par les vaccins n'ont été détectés que chez quelques volontaires et en très faible quantité, principalement au niveau cervico-vaginal. Ils étaient de type exclusivement IgG. Aucune production locale d'anticorps n'a été retrouvée ; ces anticorps proviennent très certainement du sérum. Il est peu probable que ces anticorps "vaccinaux" soient protecteurs.

Plusieurs études sur l'animal (le singe) ont été présentées. En général, dans ce type d'étude, l'objectif est d'obtenir une protection contre l'infection dans le modèle VIH (chimpanzé) (ou SIV chez le macaque). Les animaux sont vaccinés avec des préparations antigéniques par différentes voies (muqueuse ou parentérale), puis, une fois obtenus les résultats d'immunogénicité, ils sont infectés par voie génitale ou sanguine.

Cependant, ces différents modèles animaux sont imparfaits. Le chimpanzé ou le gibbon sont les seuls animaux infectables par le VIH, mais ne développent pas la maladie. Le macaque peut s'infecter, mais il faut avoir recours au virus SIV, et la maladie qu'il développe, bien que très proche du sida, n'est pas exactement identique sur le plan immunologique. Pour

pallier ces problèmes, il a été fabriqué un virus chimère constitué du génome du SIV contenu dans l'enveloppe du VIH, appelé SHIV, capable d'infecter des singes, de déclencher la maladie et des réponses immunitaires proches du sida de l'homme. On a également utilisé des souris "humanisées" irradiées, chez lesquelles on peut faire se multiplier des lymphocytes humains infectables par le VIH. Il est important d'étudier la physiopathologie de l'infection chez ces animaux, certaines études chez l'homme n'étant pas accessibles. Ainsi, une équipe a étudié la muqueuse rectale du macaque (8), montrant une homologie étroite de celle-ci avec la muqueuse rectale de l'homme sur les plans histologique et phénotypique. Ce qui donne une validité aux études immunologiques muqueuses effectuées sur ce modèle. Les essais d'infection intrarectale par le SIV sur ces macaques montrent que la charge virale est plus importante au niveau des ganglions locaux qu'au niveau des ganglions périphériques, et qu'une réponse immune précoce existe au niveau des ganglions mésentériques de drainage.

Une autre équipe (9) a suivi la cinétique d'apparition des anticorps au niveau sanguin et au niveau des muqueuses rectales et vaginales, après infection par le SIV. Les anticorps contre l'enveloppe externe (ENV) apparaissent dans le sang dès la troisième semaine et après le deuxième mois au niveau des muqueuses. Les anticorps contre l'enveloppe interne (GAG) sont détectés avant les anticorps contre ENV au niveau des muqueuses. Trois mois après l'infection, des anticorps de type IgG et IgA contre ENV et GAG sont retrouvés dans les sécrétions muqueuses.

Plusieurs équipes ont cherché à protéger des singes d'une infection par voie muqueuse (génitale ou rectale) après vaccination associant ou non la voie muqueuse et générale. L'immunité développée par ces animaux n'explique pas toujours la protection variablement obtenue. Ainsi, l'équipe de Marc Girard (10) a immunisé cinq chimpanzés par voie intramusculaire seule ou associée à la voie intrarectale, vaginale ou orale avec un vecteur canarypox recombinant exprimant ENV, GAG et la protéase du VIH. Presque tous ont été protégés, sans que cela soit expliqué par un titre élevé d'anticorps spécifiques ou neutralisants au niveau sérique, ou sécrétoires au niveau des muqueuses.

De son côté, Polacino (11) a infecté des macaques par le SIV.

Ces mêmes macaques avaient déjà été protégés d'une précédente infection par le SIV suite à un essai d'immunisation par la protéine d'enveloppe du SIV. Le seul macaque qui a été non protégé avait le titre le plus bas d'anticorps au niveau muqueux.

#### Sites d'immunisation

Buge (12) a immunisé six macaques rhésus par voies intranasale et intratrachéale avec un adénovirus recombinant exprimant la gp120 (ENV) du SIV, suivi d'une injection de gp120. Une réponse IgG est présente chez presque tous les macaques aux niveaux nasal et vaginal, ainsi qu'au niveau sérique. Une lymphoprolifération contre ENV est présente chez la moitié de ces macaques. Un challenge par voie vaginale est prévu prochainement.

D'autres travaux ont porté sur les moyens de renforcer les réponses immunes muqueuses et sanguines ; certains visent également à tester différentes voies d'immunisation muqueuse. Certains sites d'immunisation, comme les voies nasale, rectale ou vaginale, semblent prometteurs pour induire une immunité locale et parfois générale.

Bukawa et al. (13) ont immunisé des souris par un peptide constitué d'une partie de l'enveloppe externe (V3) et gag par voies orale, rectale ou vaginale, associé ou non à la toxine cholérique. Il a obtenu des titres importants d'IgA sécrétoires avec une prédominance d'IgA dans les selles, quand l'immunisation était faite par voie intrarectale, par rapport à la voie vaginale. Des anticorps induits étaient capables de neutraliser une souche sauvage et des CTL étaient obtenues quand la toxine cholérique était associée, et cela de façon plus importante par la voie intrarectale.

Mitchell et al. (14) ont utilisé la vitamine D comme adjuvant d'une préparation d'ADN de la gp160 du VIH injecté par voie intramusculaire ou nasale chez des souris. Ils ont ainsi montré que la vitamine D était capable de stimuler la réponse IgA spécifique au niveau parotidien.

Van Cott (15) a testé chez la souris une gp160 oligomérique présentée sous forme de liposome ou de protéosome. L'immunisation a eu lieu par voie nasale, vaginale ou sous-

cutanée. Cette immunisation a induit une forte réponse IgG et IgA sérique et vaginale, sauf lorsque l'injection était effectuée par voie sous-cutanée.

Plusieurs travaux exploitaient la présence d'anticorps anti-VIH au niveau de la salive ou de l'urine, avec pour objectif de mettre au point un test diagnostique. La plupart de ces tests sont sensibles et spécifiques, mais pas à 100 %. Le problème qui se pose est le manque de sensibilité à un stade précoce. Ces tests doivent être réservés à certaines utilisations, comme des études épidémiologiques (faciles à réaliser, sans eau, ni électricité), et non pas à l'échelle individuelle.

Enfin, la charge virale VIH est de plus en plus étudiée dans les liquides de sécrétion, comme le sperme, la salive, etc. Bien qu'ils soient fondamentaux dans la réflexion sur l'infectiosité de ces liquides, aucun de ces travaux n'étudiait l'immunité en parallèle.

La conférence de Vancouver a été marquée par le retour en force de la recherche fondamentale. Beaucoup de travaux présentés étaient consacrés à la virologie et à l'immunologie. Cependant, on peut regretter qu'une seule séance orale ait été consacrée à l'immunité muqueuse, montrant que les recherches dans ce domaine sont encore trop peu développées, surtout chez l'homme. Il est nécessaire de comprendre chez l'humain les modes de pénétration et de dissémination du virus dans l'organisme, et les mécanismes, immunologiques ou non, rentrant en jeu.

#### Références :

1. Mc Elrath et al., abstract, ICAAC, Nouvelle-Orléans, 1996.
2. S. H. Kazmi et al., "Assessment of HIV inhibitor activity in saliva and other body fluid", MoA 1073.
3. L. Bélec et al., "Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in cervicovaginal secretions from HIV-negative and HIV-positive women", TuC 2685.
4. A. D. Bardeguéz et al., "Lymphocyte shedding from genital tract of HIV-infected women: immunophenotypic and clinical correlates", WeA 3033.

5. S. Matsuda et al., "Characteristics of IgA anti-HIV antibodies in plasma and saliva from seropositive individual", WeA 3016.
6. L. Finkielsztejn et al., "Exploration of mucosal immunity in HIV-1 and its application to vaccine trials", WeA 394.
7. D. Salmon et al., "Immunogenicity of a live recombinant canarypox virus expressing gp120tm-MN/GAG/protease-LAI (vCP205) boosted with a p24E/V3-MN peptide (CTLB-36) in HIV negative volunteers (ANRS VAC 03)", MoA 155.
8. A. Couedel-Courteille et al., "Immunological study of the macaque digestive mucosa before and after rectal SIV infection", WeA 395.
9. L. Kuller et al., "Mucosal antibody production in pig-tailed macaques following intrarectal infection by SIVmne", WeA 143.
10. M. Girard et al., "Immunization with an HIV-1 canarypox virus recombinant confers protection against genital HIV-1 challenge in chimpanzees", WeA 393.
11. P. Polacino et al., "Immunization with SIVmne envelope (gp160) vaccines protected macaques against intrarectal challenge by uncloned virus", MoA 103.
12. S. L. Buge et al., "Adenovirus host range mutant-SIV recombinant vaccine trial in rhesus macaques", MoA 102.
13. H. Bukawa et al., "A macromolecular multicomponent peptide vaccine candidate induces mucosal immunity against HIV-1", MoA 152.
14. W. M. Mitchell et al., "Induction of mucosal and systemic immune response to HIV-1 gp160 by genetic vaccination", WeA 390.
15. T. C. Van Cott et al., "Mucosal and systemic immune responses to parenteral and intranasal administration of an oligomeric HIV-gp160 vaccine", WeA 391.