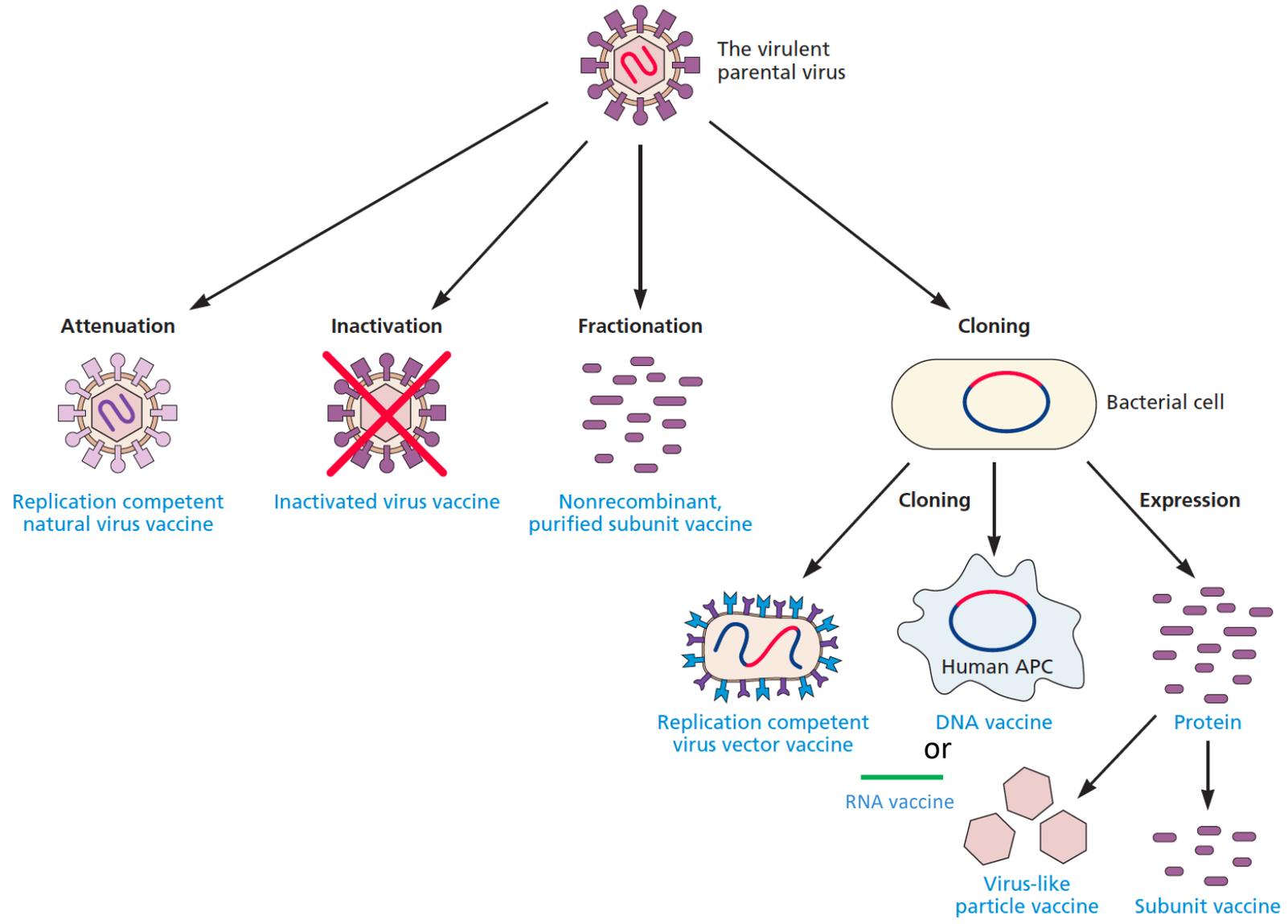


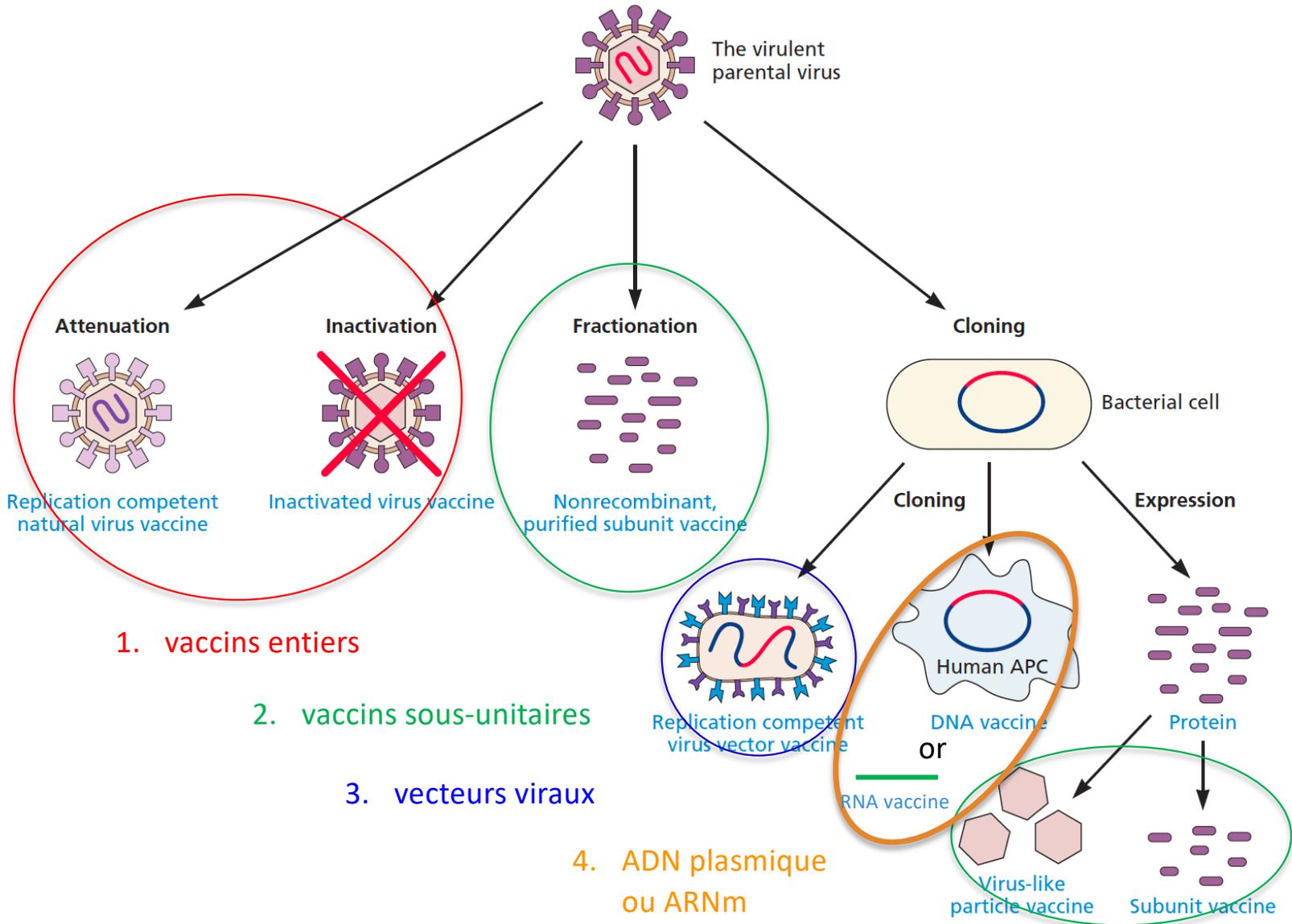
VACCINATION

Principe de la vaccination :

Induire chez le vacciné une mémoire immunitaire protectrice* et durable contre le pathogène **AVANT** l'infection.

* Immunité humorale (synthèse d'anticorps) \Rightarrow virus
et/ou cellulaire (lymphocytes T cytotoxiques) \Rightarrow cellules infectées





1. vaccins entiers

2. vaccins sous-unitaires

3. vecteurs viraux

4. ADN plasmique
ou ARNm



La variole, Edward Jenner, Sarah Nelmes et James Philips

Expérience Mai-Juillet 1796

Hypothèse de travail : les patients ayant souffert de la maladie de la vaccine ne sont jamais atteints par la variole .

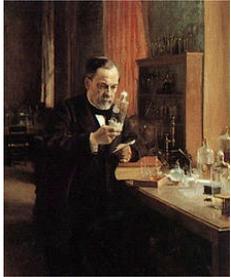
Jenner prélève le contenu d'une vésicule sur une jeune fermière, Sarah Nelmes, contaminée par la vache Blossom et l'inocule à James Philips (8 ans) .

Un mois plus tard il inocule la variole à J. Philips qui reste indemne.

Le virus de la variole et celui de la vaccine sont proches.

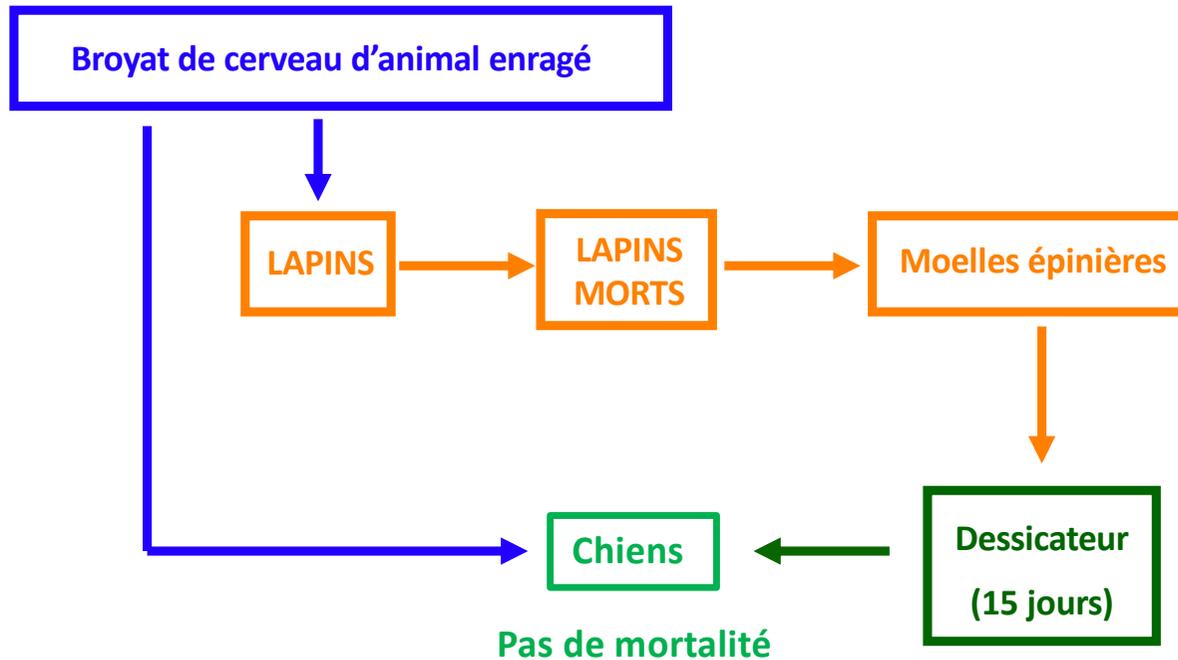
Il s'agit donc d'un pathogène proche pour lequel il y a **une immunité croisée**.

Risque faible à l'époque (varioloisation).



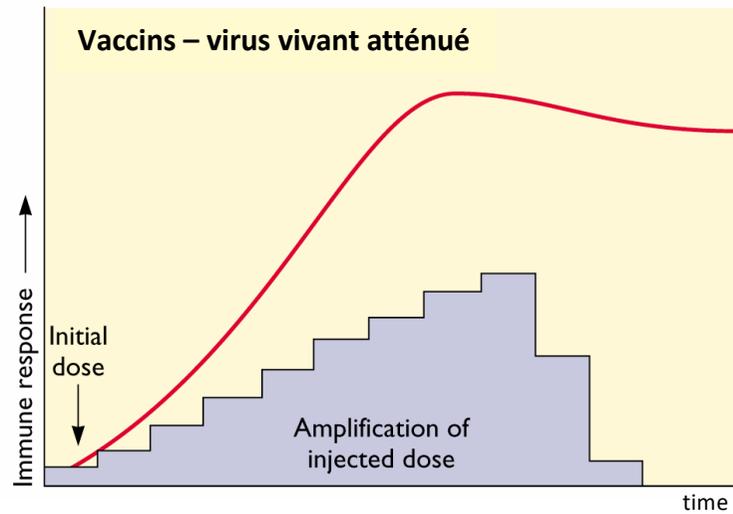
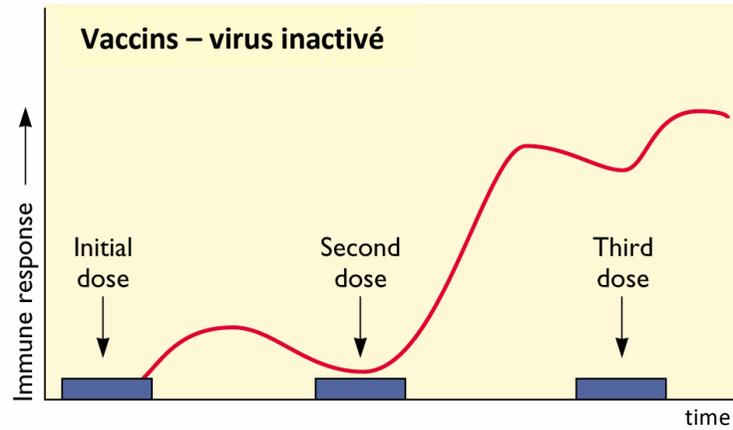
La rage, Pasteur, les lapins et Joseph Meister

Juillet 1885



Bases de la vaccination par pathogène atténué

Comparaison des réponses immunes induites par les virus inactivés et atténués



Vaccins anti-viraux

Virus vivants atténués

Variole
Virus Monkeypox
Fièvre jaune
Poliomyélite
Rougeolle
Oreillons
Rubéole
Varicelle
Dengue
Rotavirus

Virus inactivés (*)

Rage
Virus de la grippe A et B
Hépatite A
Encéphalite japonaise
Encéphalite à tique
Poliomyélite (*pays développés*)

Vaccins issus du génie génétique

Hépatite B (*sous-unitaire*)
Papillomavirus humains (*VLP*)
Virus Ebola (*virus recombinant*)
SARS-CoV-2 (*ARNm*)

(*) traitement chimique ou par la chaleur
(formaléhyde ou bêta-pro-lactone)

Les vaccins entiers

✓ virus inactivé (traitements physico-chimique)

Avantages	Inconvénients
pas de risque de réversion du virus	nécessité de rappel
utilisation chez les immunodéprimés	cher à produire

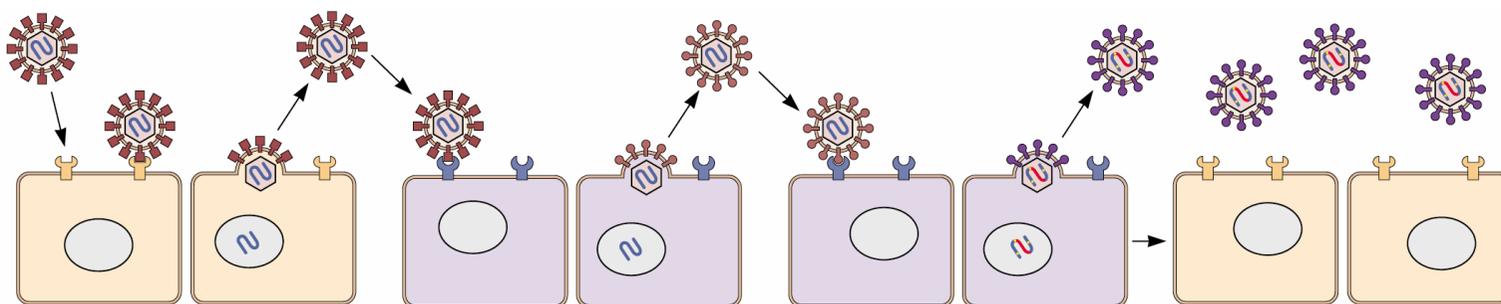
✓ virus atténué

Avantages	Inconvénients
immunité acquise pour la vie,	peut en théorie reverser vers la virulence
Peu cher	contre-indiqué chez les immuno-déprimés

Propriétés des vaccins vivants atténués et des vaccins inactivés

Propriétés	Vaccins atténués	Vaccins inactivés
Voie d'administration	Naturelle ou injection	Injection
Nbres de doses	Unique (en théorie)	Multiple
Durée de l'immunité	Plusieurs années	Moindre
Réponse humorale	IgG/IgA (muqueuse)	IgG
Réponse cellulaire	Correcte	Incertaine
Thermolabilité	Oui (conservation + 4°C)	Non
Retour à la virulence	Possible (poliovaccin oral)	Non
Pathogène chez ImmunoD.	Oui (poliovaccin oral)	Non

ATTENUATION des VIRUS



Virus pathogène isolé à partir d'un patient et amplifié en cellules humaines en culture

Infection de cellules de singe avec les virus produits

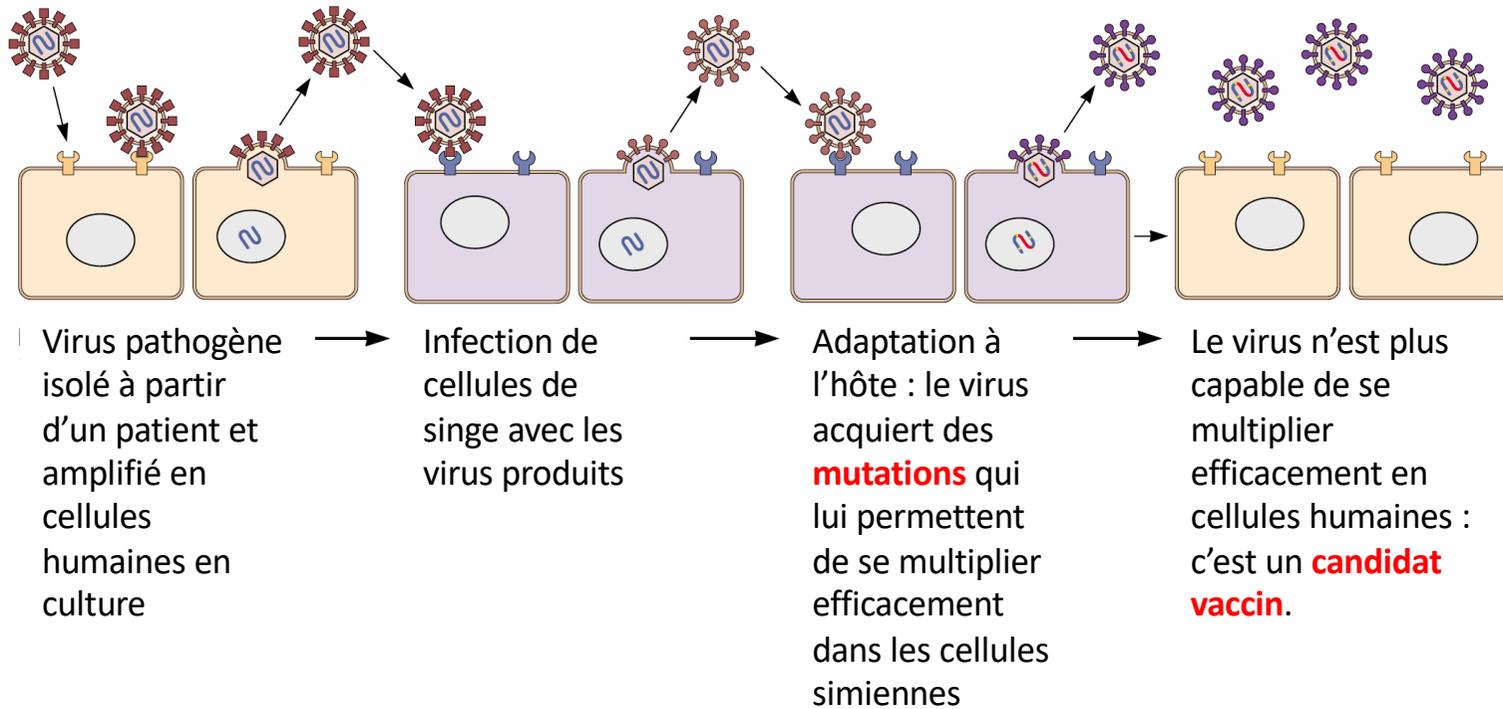
Adaptation à l'hôte : le virus acquiert des **mutations** qui lui permettent de se multiplier efficacement dans les cellules simiennes

Le virus n'est plus capable de se multiplier efficacement en cellules humaines : c'est un **candidat vaccin**.

Multiples passages :

- dans des cellules peu permissives
- à température plus basse que celle de l'hôte (ex 32 vs 37°C)

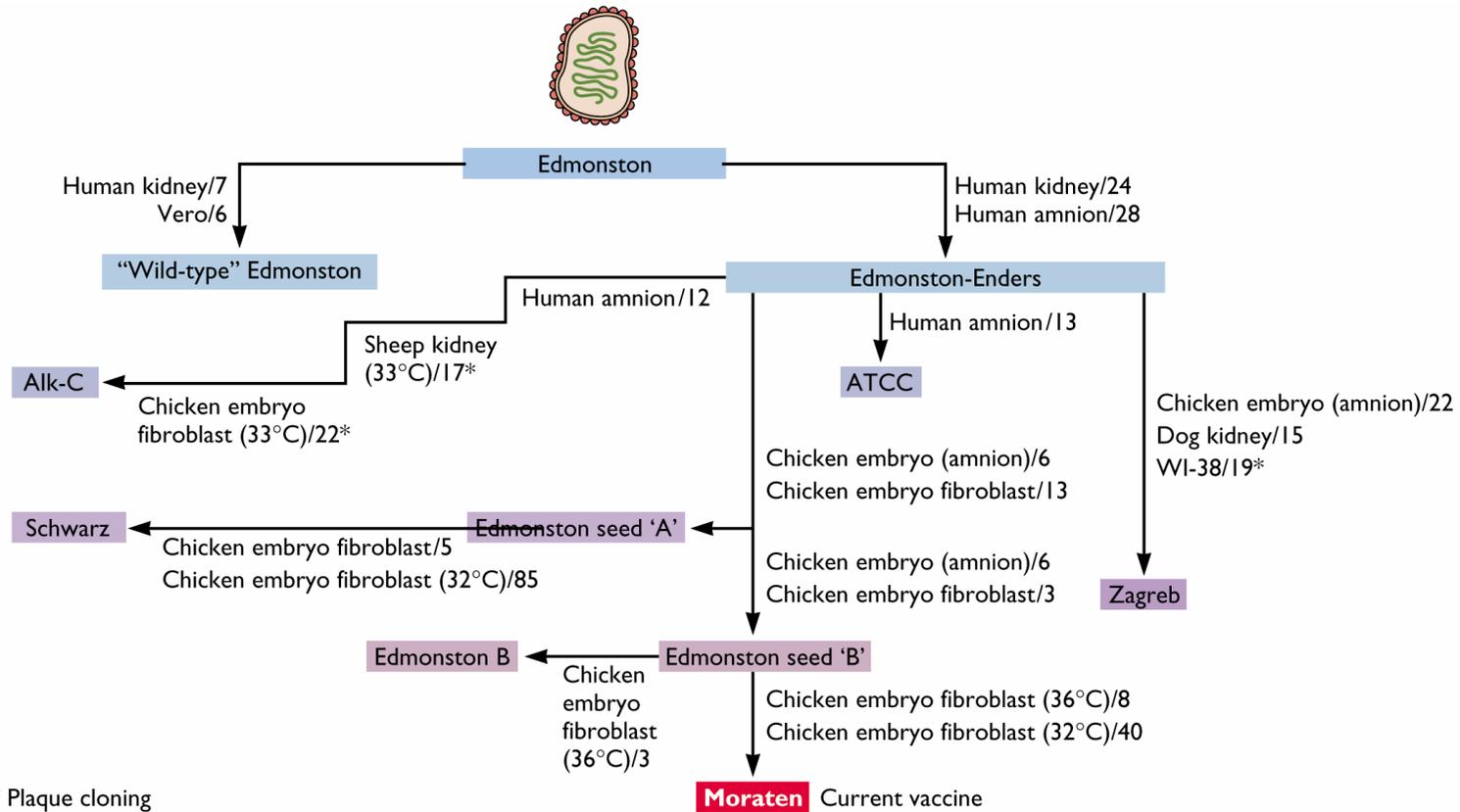
ATTENUATION des VIRUS



Les vaccins à base de virus atténués sont efficaces pour 3 raisons au moins :

- **réplication virale limitée**
- **les nouveaux virions sont souvent contenus au site de réplication**
- **signes d'infection faibles à inexistants**

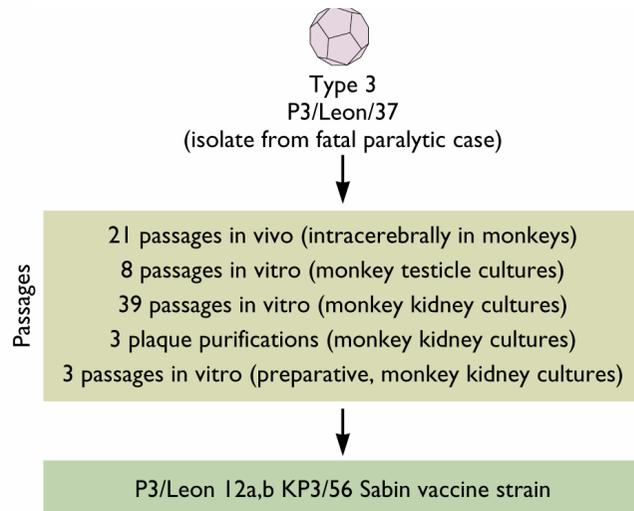
Exemple d'un vaccin basé sur un virus atténué : le vaccin anti-rougeole



Adapted from D. D. Richman, R. J. Whitley, and F. G. Hayden (ed.), *Clinical Virology*, 2nd ed. (ASM Press, Washington, D.C., 2002), with permission.

Exemple 2 : le vaccin anti-poliomyélite

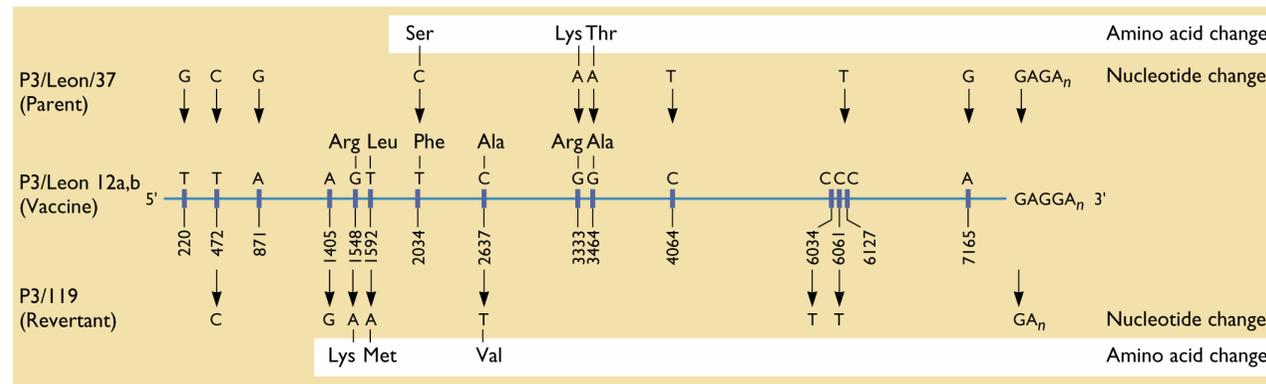
A Obtention de la souche Sabin type 3



B Déterminants d'atténuation des souches Sabin vaccinales

Virus	Mutation (location/nucleotide position)
P1/Sabin	5'-UTR (480) VP1 (1106) VP1 (1134) VP3 (3225) VP4 (4065)
P2/Sabin	5'-UTR (481) VP1 (1143)
P3/Sabin	5'-UTR (472) VP3 (3091)

C Reversion of P3/Sabin



Alternatives aux approches empiriques d'atténuation :

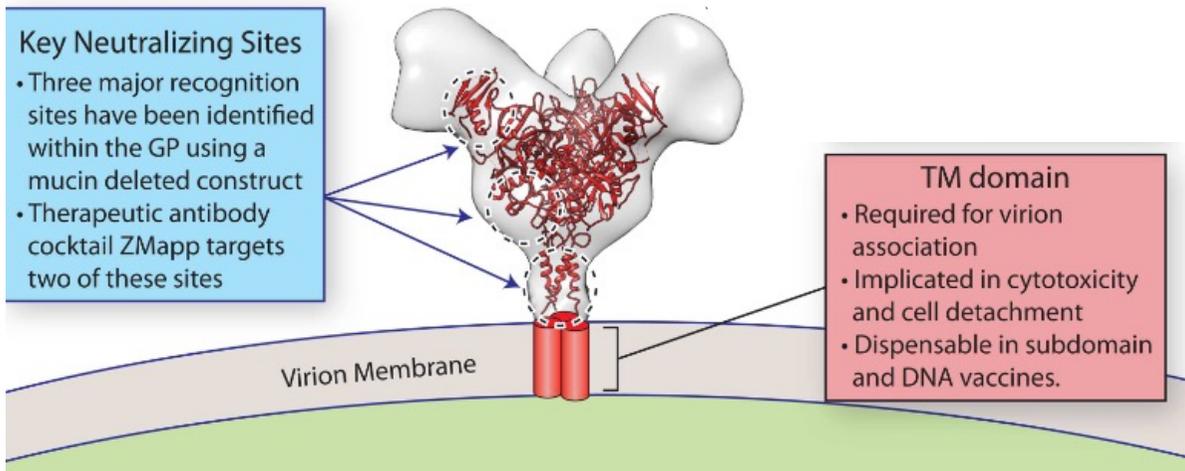
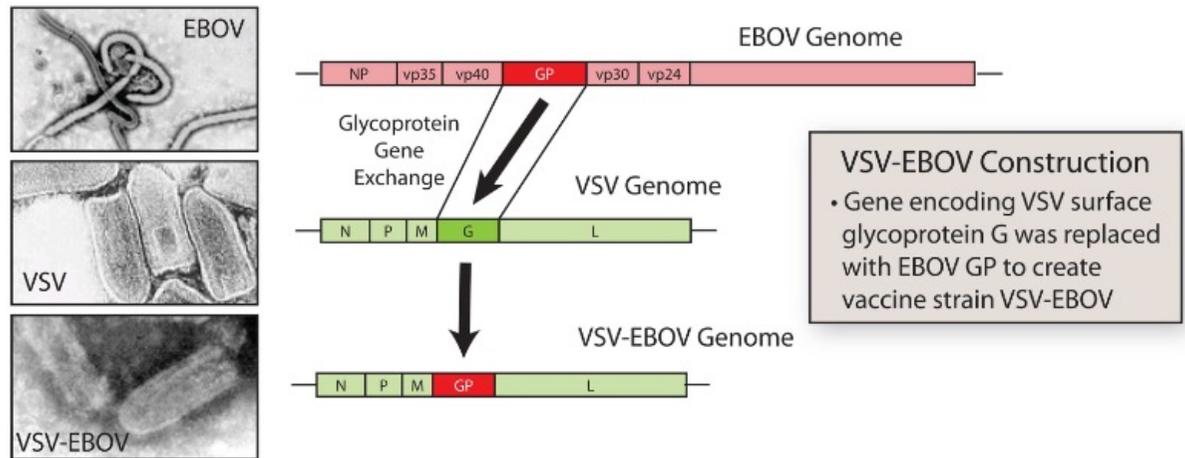
- Manipulations génétiques des virus
- Réassortiment (génomés segmentés)

Nouvelles technologies :

- Vecteurs viraux
- Vaccins ADN ou ARN

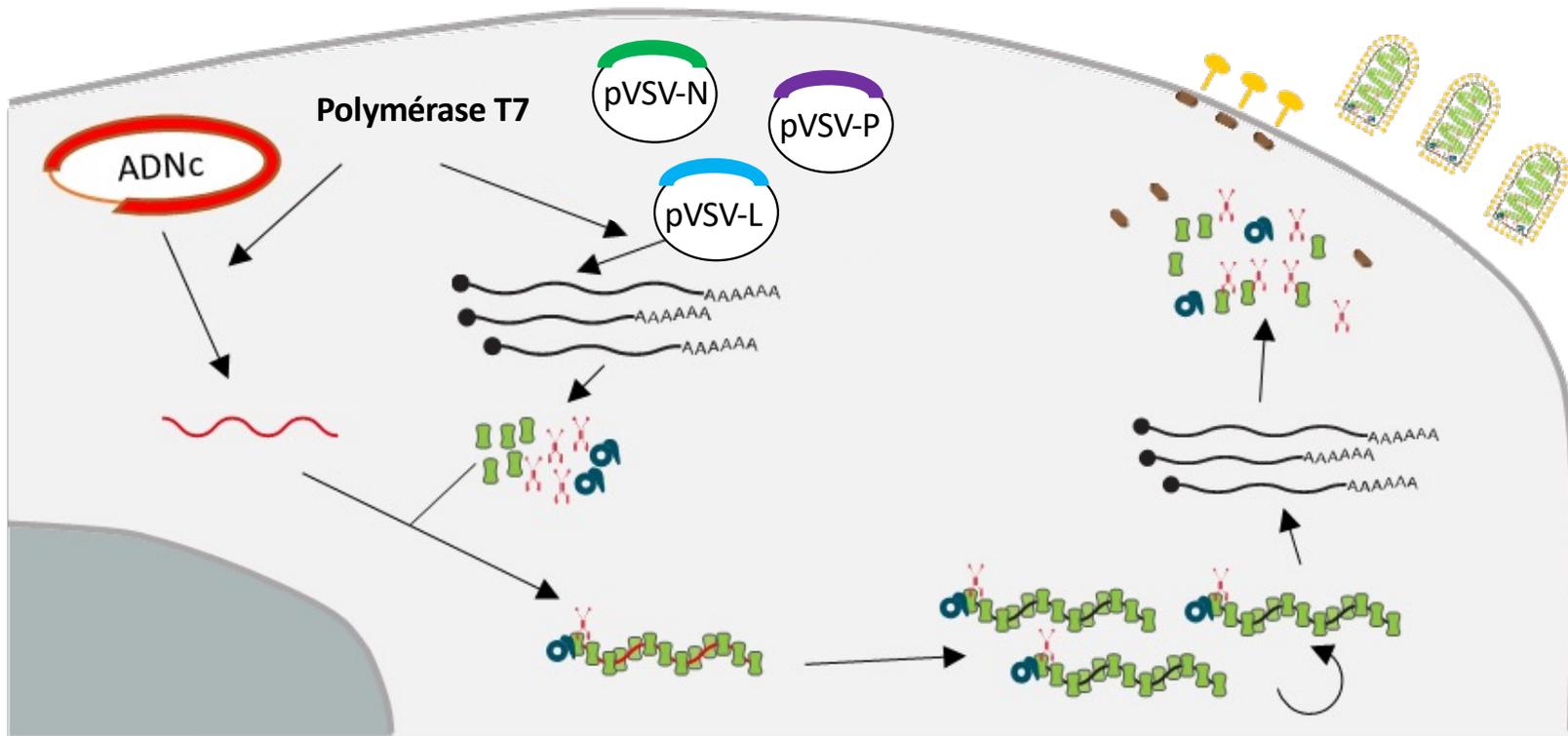
VACCINS à base de VECTEURS VIRAUX

Exemple : vaccin anti-EBOLA (ERVEBO)



VACCINS à base de VECTEURS VIRAUX

Construction de la souche vaccinale VSV-EBOV par génétique inverse



Transfection de cellules BSR-T7

N : nucléoprotéine
P : phosphoprotéine
M : protéine de matrice
G : glycoprotéine
L : large, polymérase



ADNc => génome VSV-EBOV

VACCINS SOUS-UNITAIRES

Les vaccins sous-unitaires :

- une protéine virale purifiée à partir du sérum

Avantages : pas de haute technologie

Inconvénients : risque de contamination par le sérum .

- une protéine recombinante

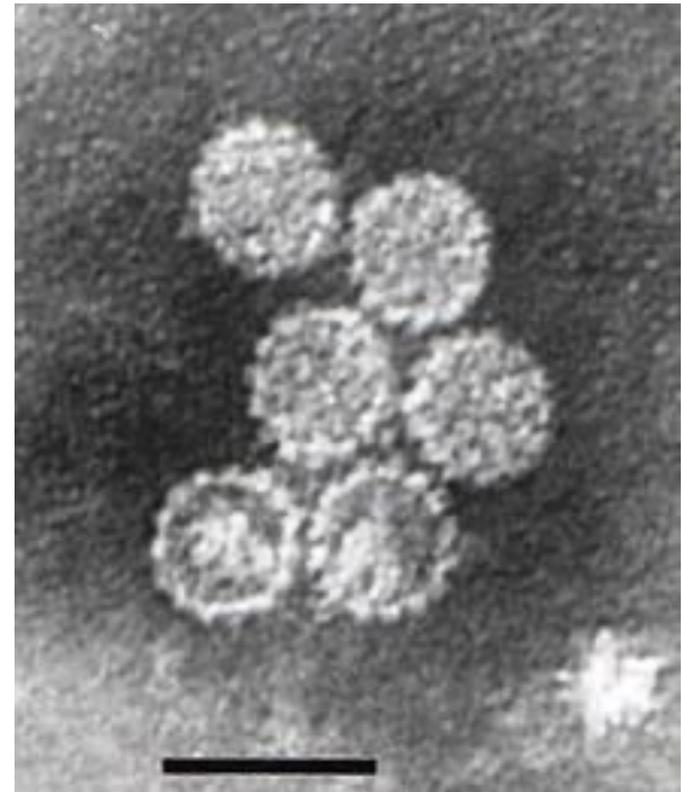
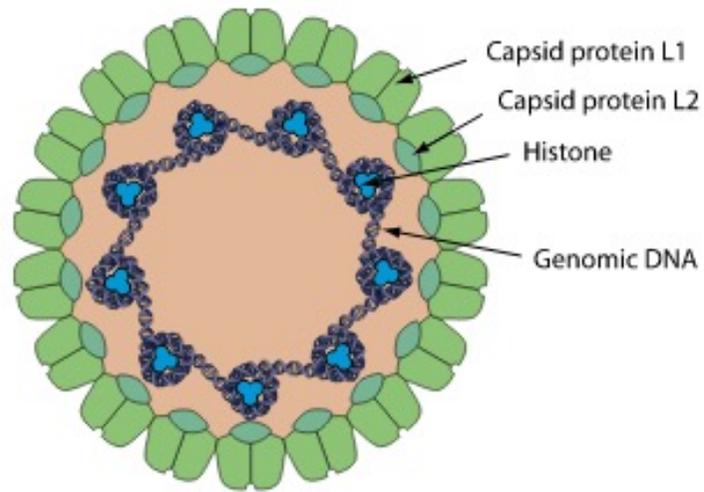
Avantages : pas de risque de contamination

Inconvénients : nécessité d'ajouter un adjuvant pour l'immunisation .

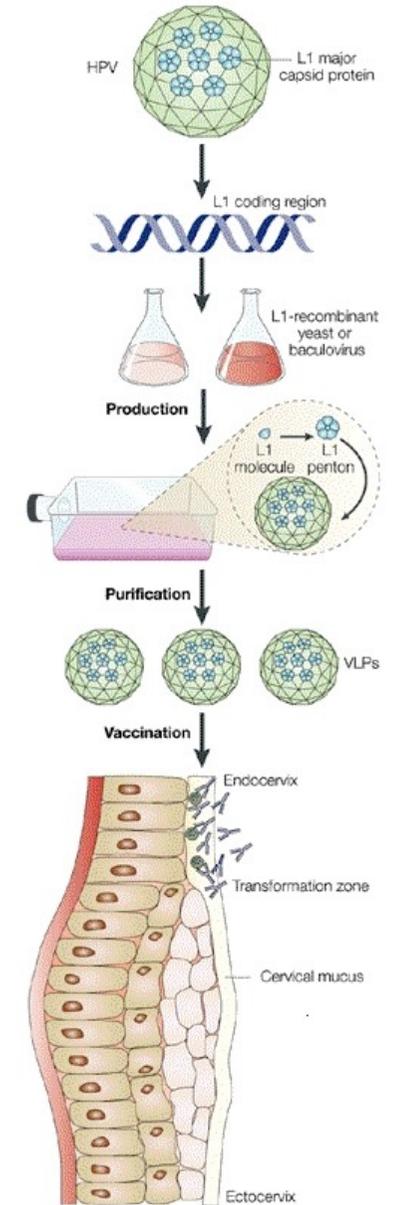
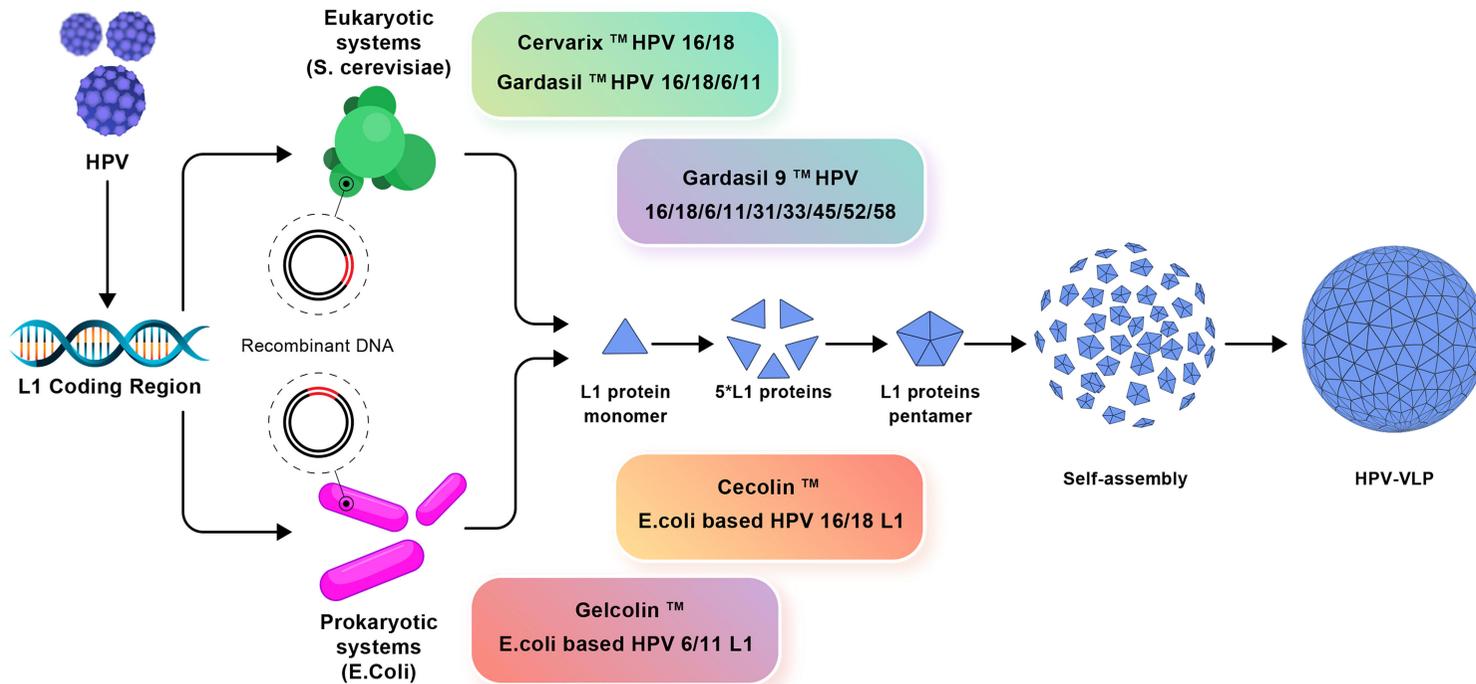
Exemple de vaccin sous-unitaire : vaccin anti-HPV (human papillomavirus)

Papillomaviridae (taxid:151340)

VIRION



Ex vaccin sous-unitaire : vaccin anti-HPV (human papillomavirus)



La vaccination par l'ADN ou ARN nu

Principe :

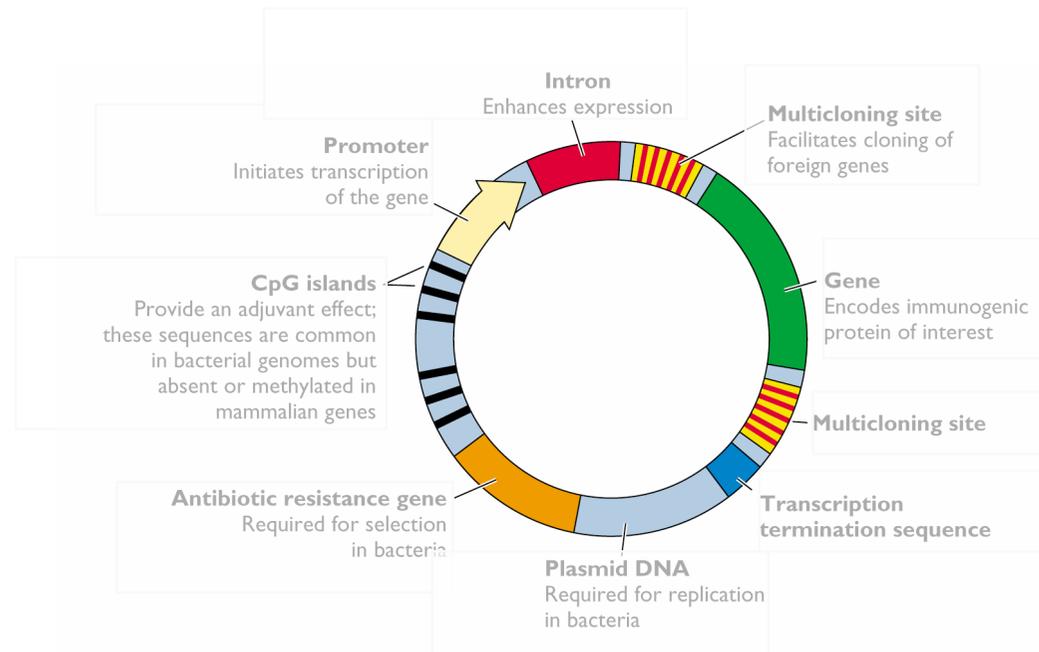
injecter l'ADNc ou ARNm codant pour une protéine de la surface du virus dans le muscle.

Avantages :

peu cher à produire,

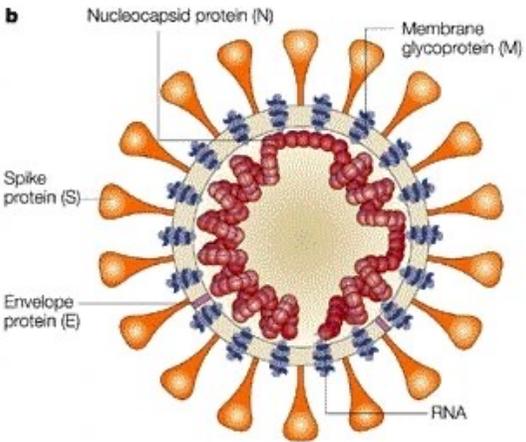
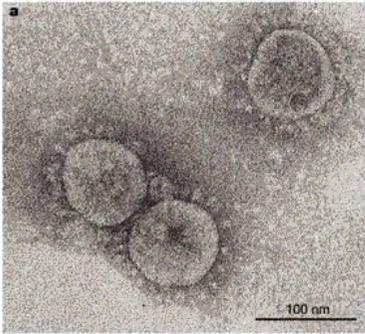
peut être modifié rapidement et adapté à chaque souche virale.

ADN vaccin

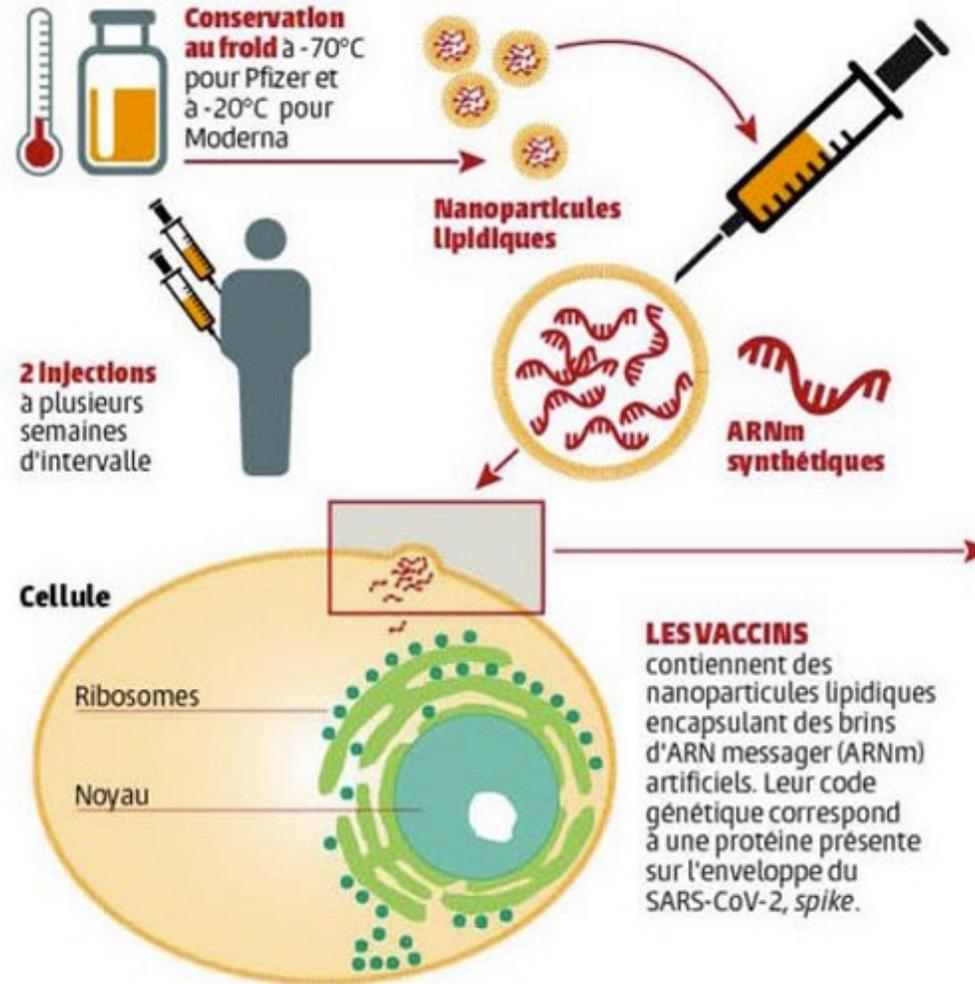


Adapted from M. Oyaski and H. Ertl, *Sci. Med.* 7:30–39, 2000, with permission.

ARN vaccin



Nature Reviews | Microbiology



ARNm de S complet
(en configuration préfusion)
Nanoparticules lipidiques

LES VACCINS contiennent des nanoparticules lipidiques encapsulant des brins d'ARN messager (ARNm) artificiels. Leur code génétique correspond à une protéine présente sur l'enveloppe du SARS-CoV-2, *spike*.

Vaccins

Phase I (tout petit nombre de volontaires)

On teste l'innocuité, la tolérance, l'immunogénicité.

Phase II (quelques dizaines à quelques centaines de volontaires)

On prolonge les observations de la phase I. Détermination de la stratégie vaccinale (dosage, nombre de doses, fréquence de revaccination)

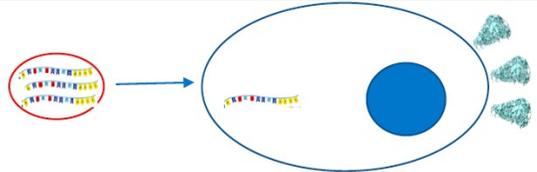
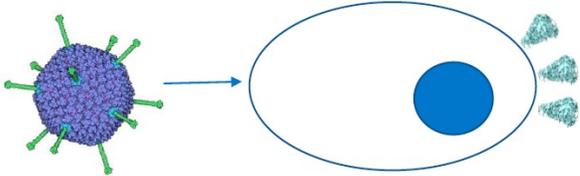
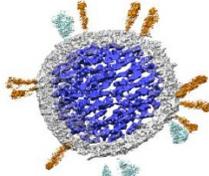
Phase III (quelques centaines à quelques milliers de volontaires)

Estimation de l'efficacité. Conditions et précaution d'emploi

A l'issue : demande d'AMM

Phase IV ou phase de pharmacovigilance

Stratégies vaccinales

Vaccin en phase III	Type de vaccin	
BioNtech – Pfizer	ARNm	
Moderna		
Astrazeneca	Adénovirus recombinant	
J and J		
Sputnik V (Russie)		
Coronavac (Chine)	Vaccin inactivé adjuvé	
NovaVax	Rosettes de spike (Nanoparticules)	

VIRUS ERADIQUE(S)

Eradication :

en 1977 : le virus de la variole

Campagne OMS en cours :

- la poliomyélite (subsiste dans 3 pays)
- rougeole, hépatite B,

Conditions à remplir :

Avoir un bon vaccin

Le virus doit avoir un seul hôte

Il n'est pas nécessaire de vacciner toute la population



VIRUS ERADIQUE(S)

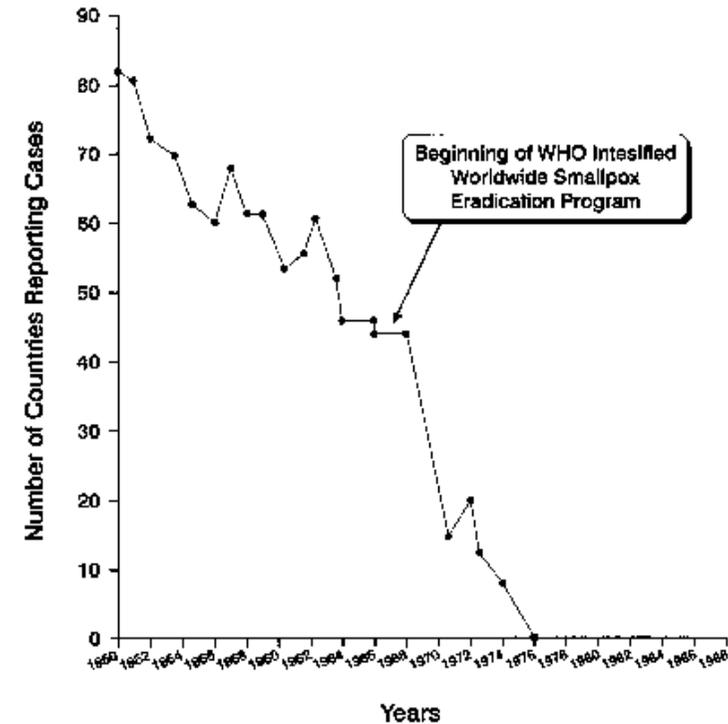
Le virus de la variole

Maladie très meurtrière (60 millions au 18ème siècle) .

Traitement : la variolisation (4% de mortalité).

- 1796 : mise au point de la vaccination par Jenner .
- 1967 : lancement de la campagne d' éradication.
2,5 millions de cas et 200 000 décès par an .
- 1977 : dernier malade identifié en Somalie

Number of Countries Reporting Smallpox Cases 1950-1976



Les vecteurs viraux

- **Infection** = accomplissement d'un cycle répliatif complet

≠

- **Transduction** = entrée d'un vecteur viral et expression du transgène dans une cellule.

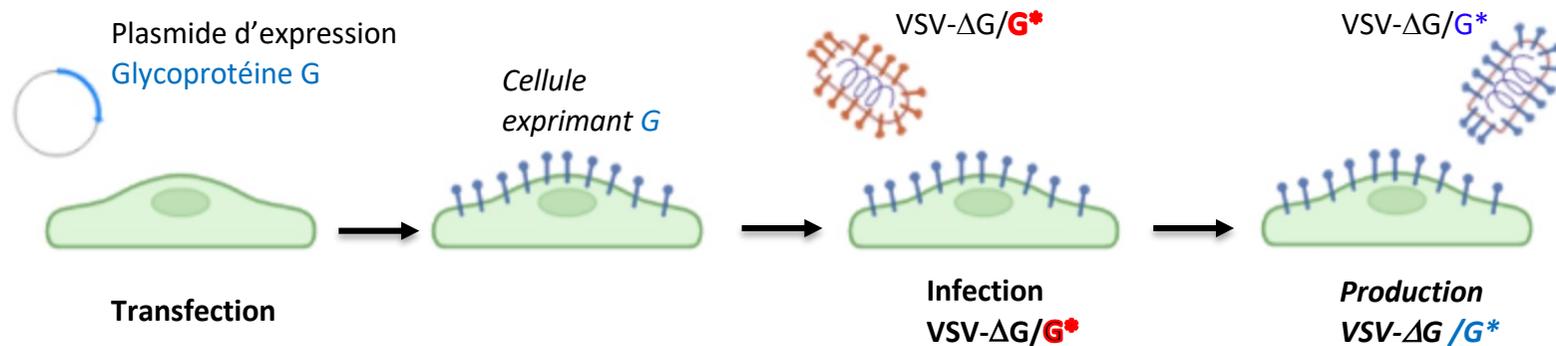
Applications en « virothérapie » :

1. Thérapie génique
2. Anticancéreuse

Particules virales Pseudotypées

Par co-infection ou par co-transfection dans la même cellule, il est possible de créer des virus qui présentent à leur surface des glycoprotéines virales issues d'autres virus.

Ils acquièrent alors le **tropisme** de l'autre virus. C'est une manière artificielle de créer **des vecteurs viraux avec tropisme modifié**.

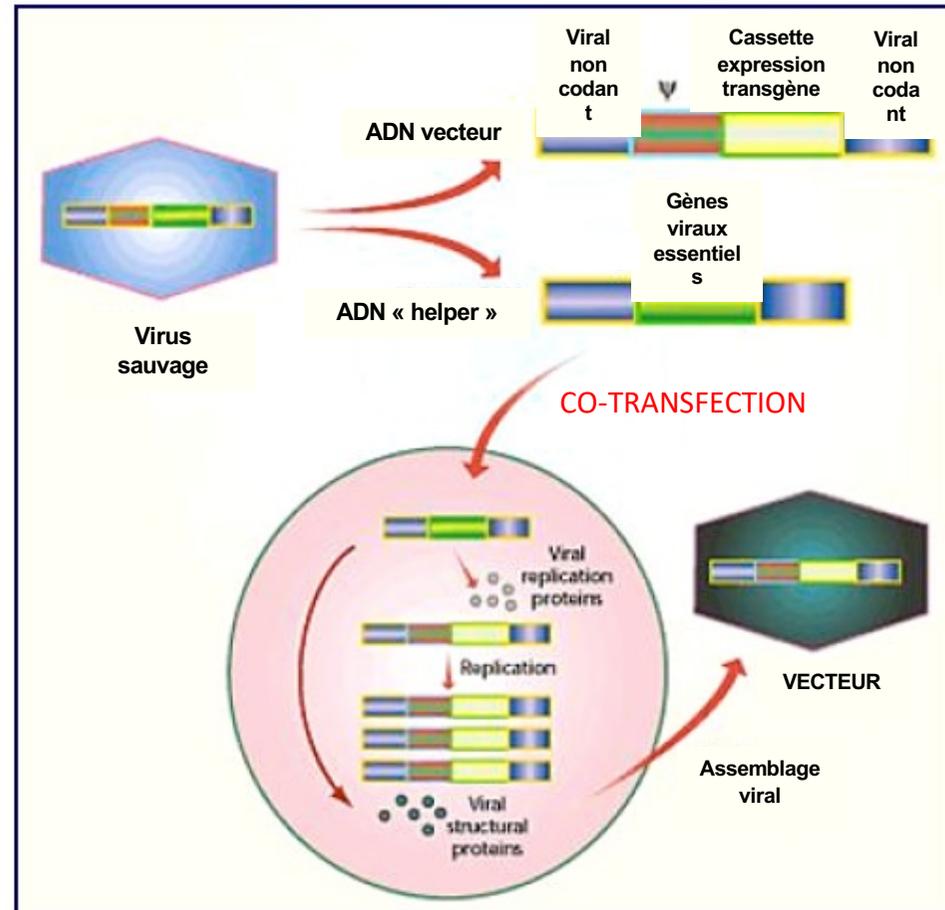


Ex : construction de particules VSV pseudotypées

Principe des vecteurs viraux - 1

1. Construction des vecteurs (ADN « vecteur » et ADN « helper »)
2. Co-transfection

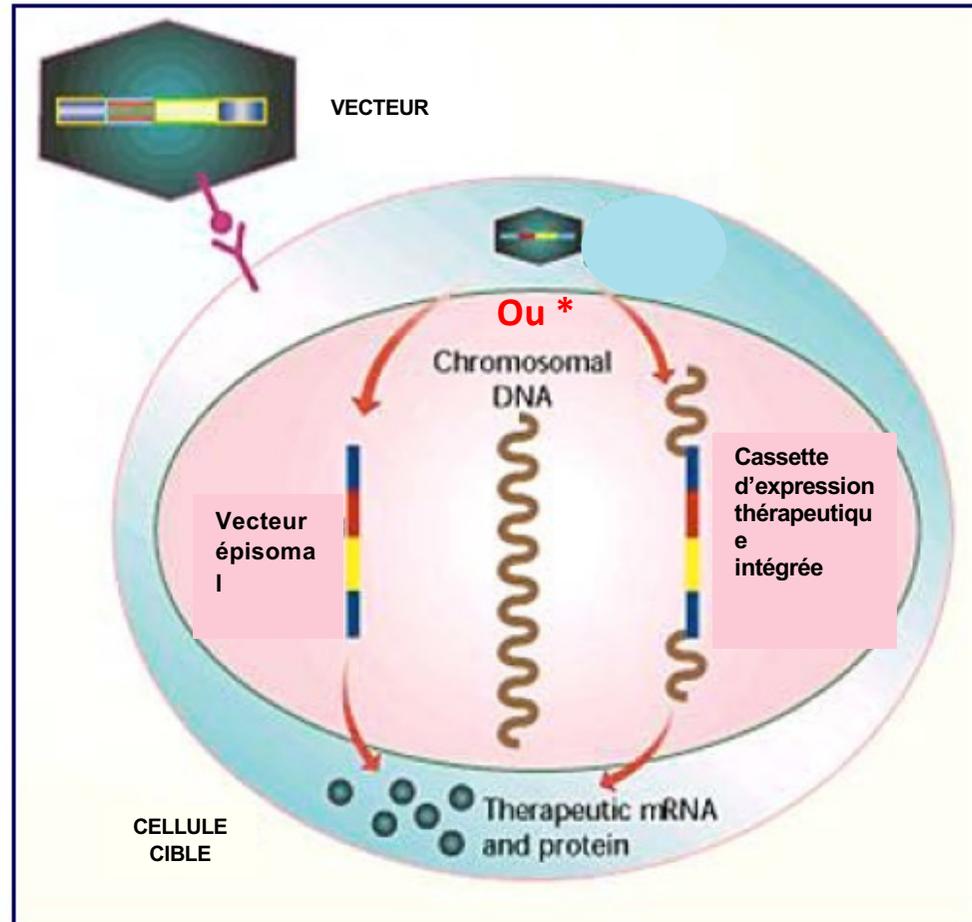
=> Production des vecteurs viraux



ψ = séquence d'encapsidation

Principe des vecteurs viraux - 2

Expression du **transgène**
dans la cellule transduite



** Selon type de vecteur*

Principes des vecteurs non réplicatifs

Virus défectifs

Un ou plusieurs gènes essentiels à la réplication sont délétés afin de rendre les virus incompetents pour toute réplication dans l'hôte.

« Packaging cell line »

Une lignée cellulaire exprimant les gènes essentiels délétés dans le vecteur est construite afin de produire les vecteurs viraux.

Séquences essentielles aux vecteurs

Séquence Ψ : séquence d'encapsulation du vecteur recombinant

Transgène (TG)

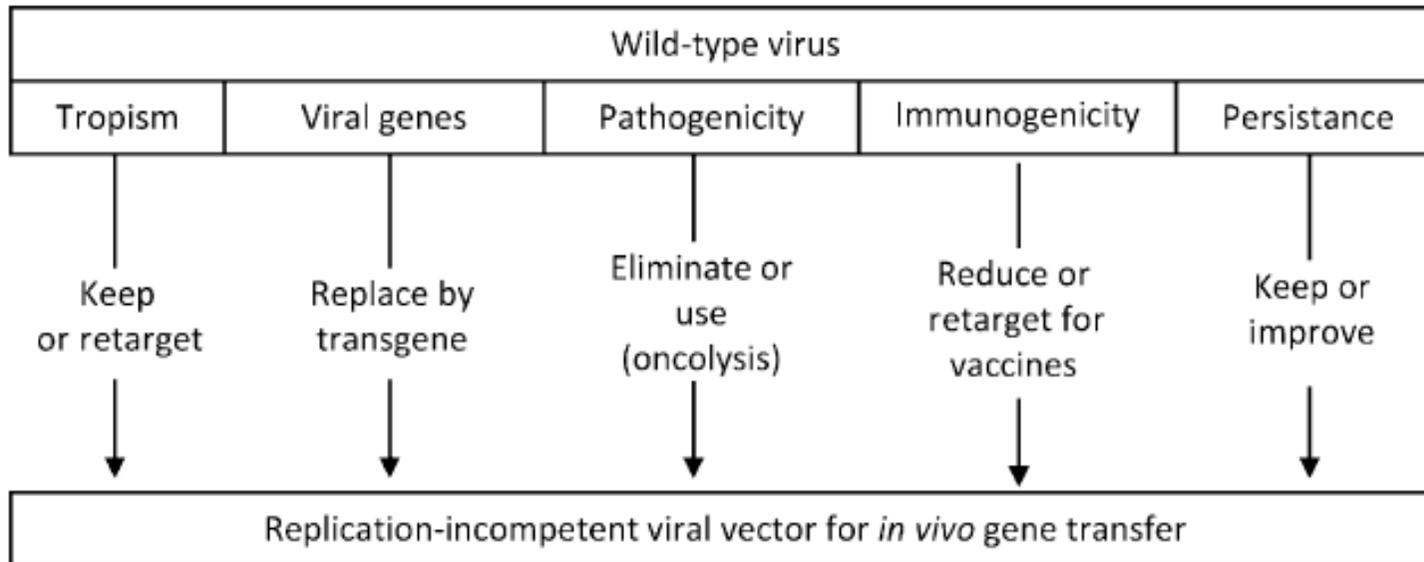
Séquence poly A : séquence permettant la stabilisation des ARNm

Séquences promotrices : promoteur adapté en amont du TG)

Caractéristiques d'un vecteur viral

Ciblage et Expression	Tropisme cellulaire adaptable (choix des enveloppes virales) Régulation de la transcription possible (choix des promoteurs) Stabilité d'expression (intégration ou épisomes, immunogénicité faible) Matériel génétique inséré de grande taille (de 3 à 100kb)
Sécurité	Recombinaison faible voir absente Toxicité faible (intégration dirigée) Réponse immunitaire faible (expression minimum de gènes viraux)
Production	« Packaging cell lines » aisément cultivables Production de virus à hauts titres infectieux

Des virus aux vecteurs viraux



La virothérapie anticancéreuse

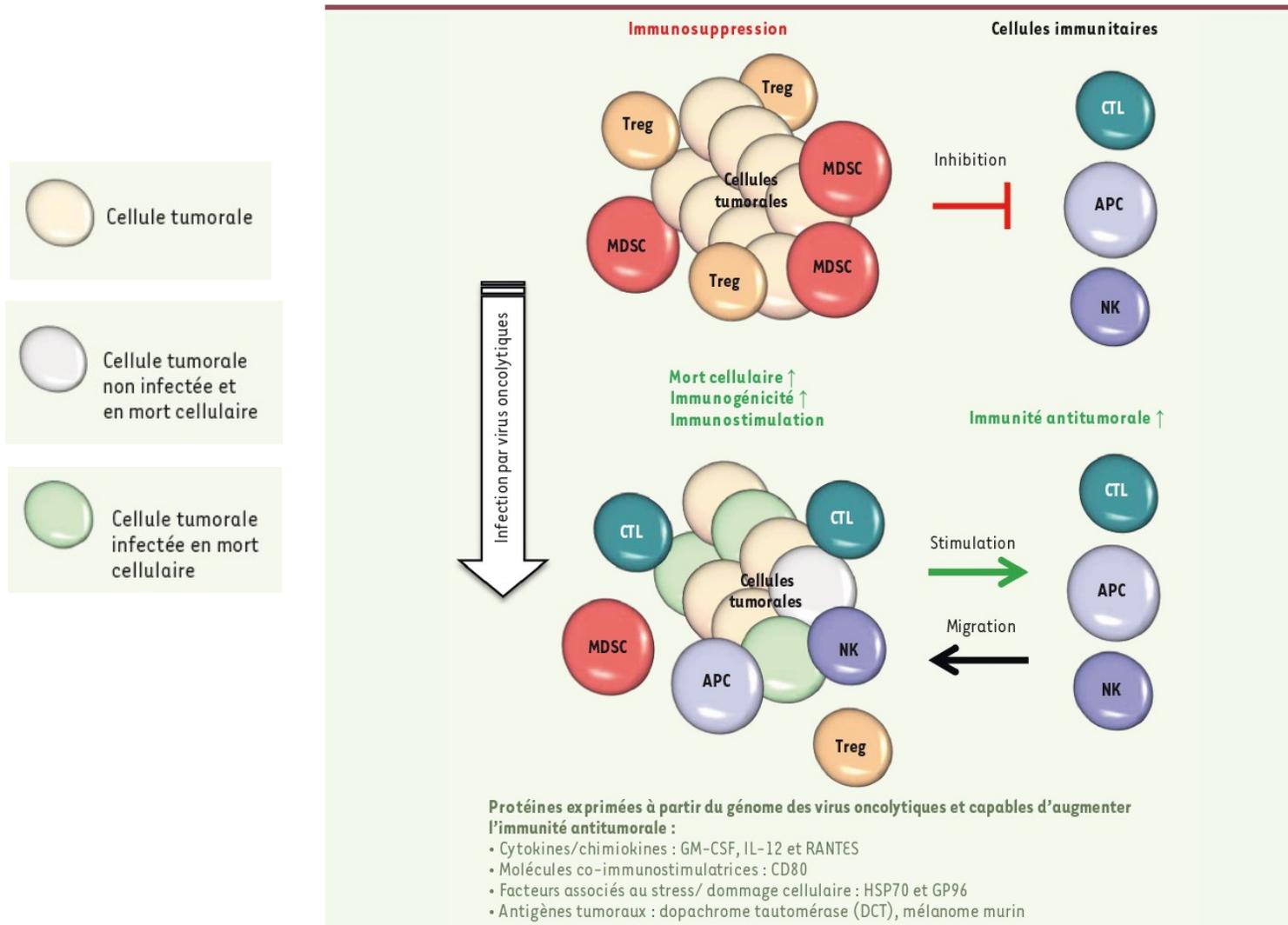
- Les 1ères observations d'activité anticancéreuse attribuables à un virus datent de 1904 :
Cas d'une femme de 42 ans atteinte de leucémie myéloïde
➔ *phase de rémission après avoir contracté la grippe.*
- Années 50-70 : qqes essais avec des virus sauvages mais malgré qqes succès, stratégie abandonnée en raison des effets secondaires
- Reprise active des études dans les années 90
 - Ingénierie génétique des virus
 - Avancées des connaissances (immunologie des tumeurs)

Exemples de virus oncolytiques et leurs applications

Virus Exemple de souche étudiée	Gène viral déficient	Cible cellulaire privilégiée du virus	Modèle tumoral	Étude clinique	Limite
Adénovirus Onyx-015 H101	<i>E1B</i>	Voie p53 défectueuse	Cerveau, larynx, foie, ovaire, thyroïde	Phase III (Onyx-015) Accepté en Chine (H101)	Élimination hépatique, anticorps neutralisants
Virus de l'herpès simplex G207	Délétion du gène <i>lcp34.5</i> Inactivation du gène <i>lcp6</i>	Protéine phosphatase 1a, et défaut de la cascade IFN	Cerveau, sein, côlon, poumon, ovaire, prostate	Phase I/II	Virus atténué par les mutations
Réovirus Reolysin	Souche sauvage ou mutée dans la protéine S1	Voie Ras constitutivement activée	Cerveau, sein, côlon, ovaire	Phase III	Possible immunité préexistante contre les réovirus
Virus de la stomatite vésiculaire	Souche sauvage ou mutée dans les protéines M ou G	Défaut de la cascade IFN	Côlon, poumon, peau	-	Anticorps neutralisants
Virus de la rougeole MV-NIS	Expression du symporteur sodium/ iodure	Se lie au récepteur CD46 souvent surexprimé dans les tumeurs	Cerveau, ovaires, os	Phase I/II	Immunité contre le virus chez les sujets vaccinés
Virus de la vaccine JX-594	Inactivation du gène codant pour la thymidine kinase et expression du gène codant pour le GM-CSF	Voie EGFR/ Ras activée, augmentation de la thymidine kinase cellulaire et résistance à l'IFN	Foie, poumon, peau, côlon	Phase I/II	Anticorps neutralisants induits après plusieurs traitements

Tableau 1. Exemples de virus oncolytiques répliquatifs et de leurs applications thérapeutiques. GM-CSF : *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* ; IFN : interféron ; EGFR : *epidermal growth factor receptor*.

L'activité anticancéreuse des virus oncolytiques est la résultante de plusieurs mécanismes



Pour cela le virus « idéal » doit être :

- **ciblé** : doit affecter seulement les cellules cancéreuses
(*Spécificité*)
- **armé** : gènes supplémentaires amplifiant la destruction des cellules tumorales infectées (*efficacité*)
- **blindé** : protégé des attaques du système immunitaire

Développement de la souche JX-963 du virus de la vaccine

1. **L'innocuité de la souche vaccinale Wyeth** est bien documentée
2. **Mutations qui atténuent la virulence dans les cellules normales vs cancéreuses**

ciblé

= mutations qui rendent le virus dépendant du phénotype tumoral des cellules

Exemple : élimination du gène viral de la thymidine kinase

Les souches TK- ne se répliquent que dans les cellules produisant de larges quantités de nucléotides.

3. **Améliorer l'activité anti-tumorale :**

armé

Ajouter un transgène par clonage (ex : GM-CSF)

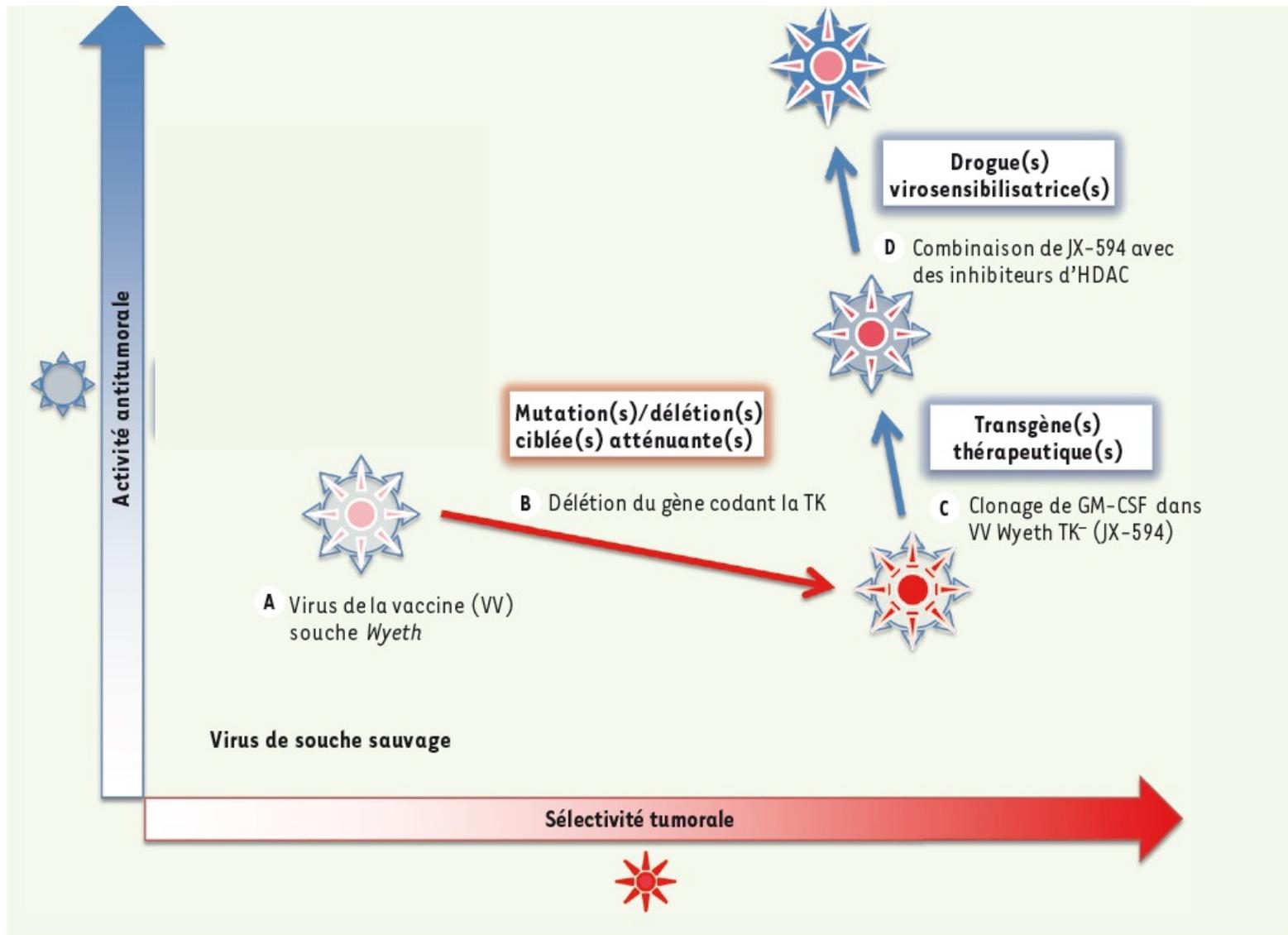
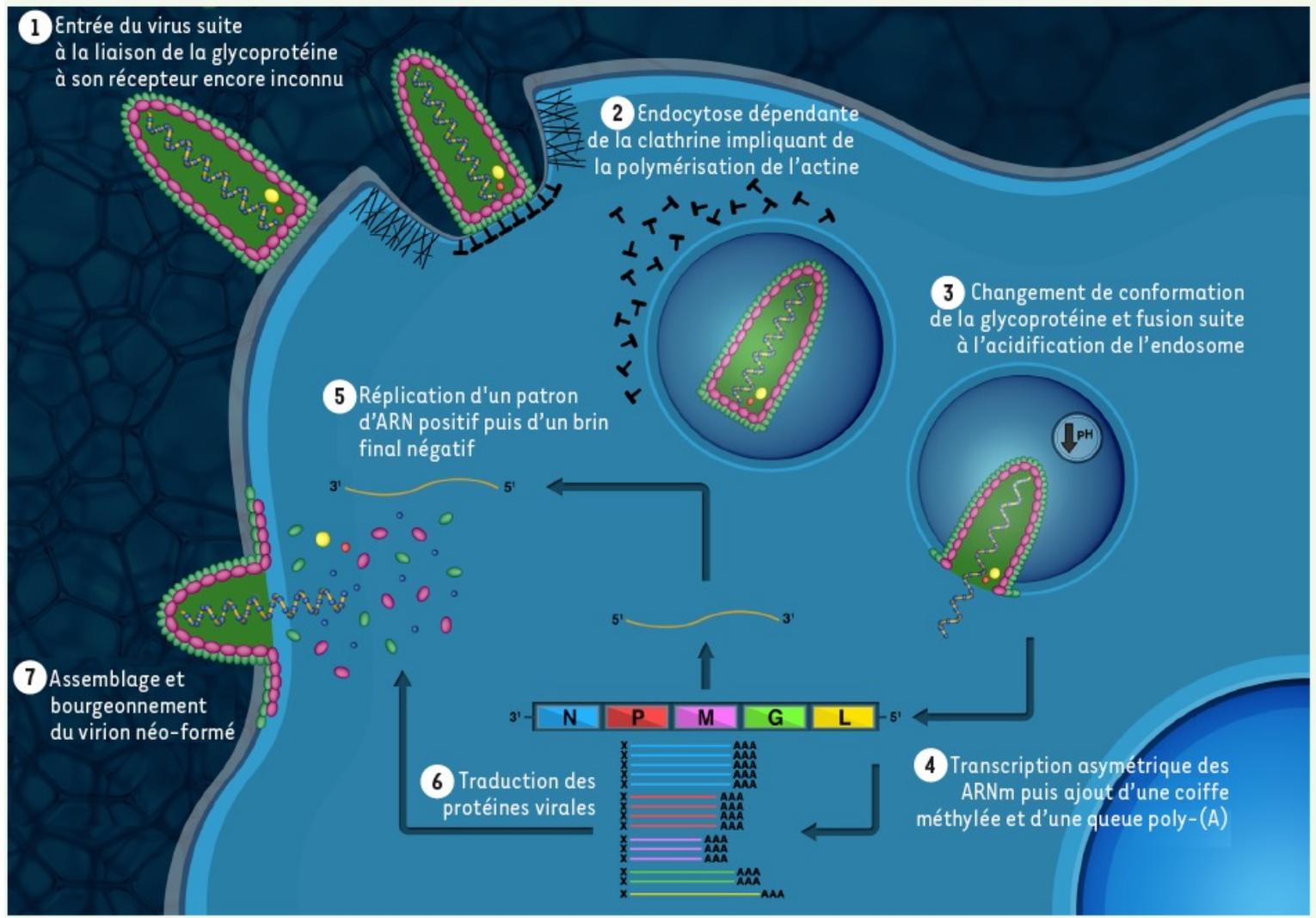


Figure 1. Processus d'amélioration d'une virothérapie oncolytique. A. Le développement d'un virus oncolytique débute avec une souche sauvage

Cycle de réplication du Virus de la Stomatite Vésiculaire

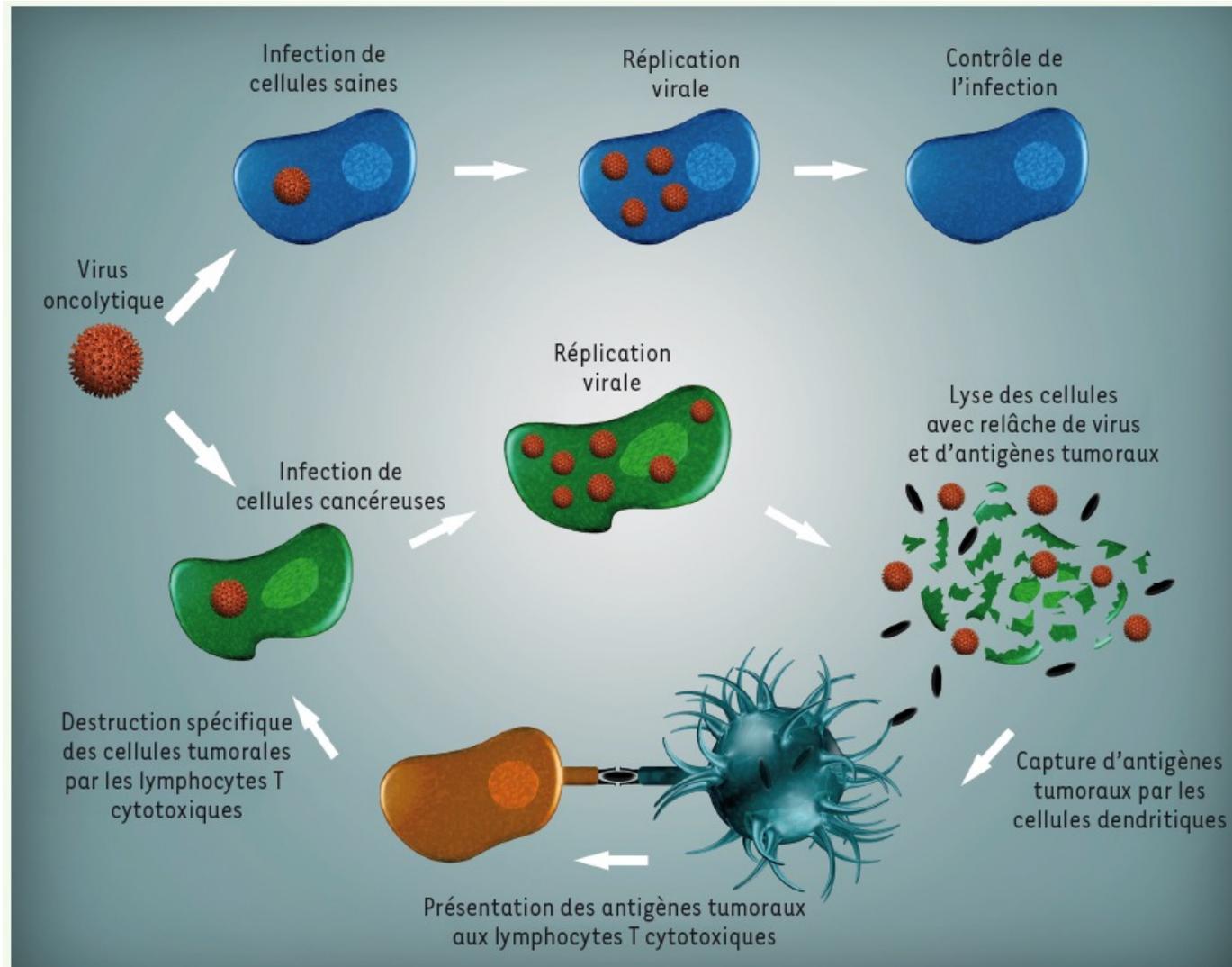
(VSV – ARN(-) non segmenté)



Améliorer l'oncolyse

- Les cellules tumorales sont souvent plus permissives aux infections virales du fait d'aberrations constitutives dans les voies de signalisation impliquées dans les réponses anti-virales et aux IFN type I (80 % des tumeurs)
- VSV M_{M51R} (substitution méthionine 51 par une arginine matrice M) :
 - virus lytique extrêmement sensible aux IFN
 - capable de se multiplier dans les cellules tumorales insensibles à cette cytokine

Principe de la virothérapie oncolytique



Bibliographie :

Stratégies génétiques, immunologiques et pharmacologiques au service d'une nouvelle génération de virus anticancéreux

Jonathan Pol, Fabrice Le Boeuf, Jean-Simon Diallo

Medecine Sciences 2013 ; 29 : 165–173

DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2013292014>

Le virus de la stomatite vésiculaire dans la lutte contre le cancer

Valérie Janelle, Laurent Poliquin, Alain Lamarre

Medecine Sciences 2013 ; 29 : 175–182

DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2013292015>