

VACCINS et ANTIVIRAUX

1. Vaccins antiviraux

Bien avant l'ère de la vaccinologie moderne, le principe de la vaccination avait été appliquée empiriquement dans la Chine ancienne (pendant plus de 2500 ans!), ainsi qu'en Europe dès le XVIIème siècle lors des campagnes de « variolisation » (infections forcées lors de poussées épidémiques de variole mineure). En France, les premières inoculations ont lieu à Paris en 1755. En 1796, Edward Jenner démontre que l'injection intradermique de liquide biologique provenant de lésion de vaccine protège contre la variole. En 1885, Louis Pasteur procède à la première vaccination postexposition en inoculant un jeune garçon mordu par un chien enragé à l'aide d'un virus atténué sur moelle de lapin. Les progrès rapides de la vaccinologie antivirales ont été étroitement liés aux avancées technologiques telles que la culture virale sur œufs embryonnés (1930), les cultures cellulaires (1950) et les outils de biologie moléculaire et structurale (1990).

1.1. Propriétés attendues d'un vaccin antiviral

La vaccination antivirale repose sur trois notions fondamentales de l'immunologie qui seront développées dans votre cours d'immunologie :

- la spécificité de la réponse immune,
- la succession d'une réponse immune primaire et secondaire,
- la mémoire immunitaire.

Un vaccin antiviral devra être **efficace**, c'est-à-dire qu'il devra induire une mémoire immunitaire et conférer une protection durable contre l'infection virale. Cette efficacité sera déterminée essentiellement par la nature et la qualité (présentation) de l'antigène viral, la voie d'administration du vaccin, l'utilisation d'adjuvants ainsi que par des facteurs d'hôte. Ce vaccin devra être exempt d'effets indésirables graves (**tolérance**) et devra être **pratique** à administrer (nombre d'administrations, conditions de conservation, coût). Ceci explique la complexité des procédures indispensables à l'évaluation de nouveaux vaccins.

Etapas précliniques, stabilité, tolérance chez l'animal

Phase I : 3 à 10 volontaires, toxicité, réactogénicité, pharmacocinétique, voie d'administration

Phase II : 10 à qlq dizaines de volontaires, dosage, voie d'administration, immunogénicité, durée de la réponse, tolérance

Phase III : essai clinique contrôlé, centaines ou milliers de volontaires, efficacité et tolérance

Phase IV : recherche opérationnelle, établissement du schéma et de l'âge d'administration et de l'intégration éventuelle du vaccin dans un programme élargi de vaccination (PEV)

Encadré 1. Etapes d'évaluation d'un nouveau candidat vaccin

Il n'est donc nullement étonnant qu'entre l'évaluation d'un candidat vaccin aux phases précliniques et sa mise sur le marché, une à trois décennies puissent être requises.

1.2. Stratégies vaccinales

On distingue classiquement deux grandes stratégies vaccinales : les **vaccins vivants** et les **vaccins inertes**.

Les caractéristiques, avantages et inconvénients de ces deux stratégies sont résumés dans le tableau 1 :

	Vaccins vivants	Vaccins inertes
Caractéristiques	Souches devenues avirulentes après passages sur culture	Souches inactivées par traitement chimique ou par la chaleur
Avantages	- Immunité de longue durée - Une seule dose - Peu coûteux	- Innocuité - Stabilité
Inconvénients	- Immuno-déprimés, femmes enceintes - Réversion vers un phénotype virulent - Conservation au froid	- Immunité de courte durée - Immunité moins complète (pas d'immunité muqueuse) - Plusieurs doses - Coûteux

1.2.1. Vaccins vivants

Il s'agit de virus devenus avirulents, le plus souvent après passages successifs sur culture cellulaire. Dans certains cas cette atténuation peut être obtenue par mutagenèse dirigée, à l'aide de mutations ponctuelles ciblées ou de la délétion d'un gène codant un facteur de virulence. Ces virus peu ou pas pathogènes sont capables de se répliquer. Leur présentation antigénique est optimale pour mimer une infection naturelle et induire une protection durable. Les principaux vaccins à virus vivant atténués utilisés chez l'homme sont le vaccin antipoliomyélique buvable de Sabin, et les vaccins



contre la rougeole, la rubéole, les oreillons, la varicelle (VZV) et la fièvre jaune. Des vaccins vivants contre le rotavirus, la dengue et le virus West Nile sont en cours de développement.

1.2.2. Vaccins inertes

Il peut s'agir de virus inactivés, de sous-unités virales ou de peptides viraux.

Les vaccins à **virus inactivés** ont été obtenus en annihilant l'infectivité du virus par la chaleur ou des agents chimiques (formaldéhyde, β propiolactone, détergent). Les principaux vaccins à virus inactivés utilisés chez l'homme sont le vaccin antipoliomyélique injectable de Salk, ainsi que les vaccins contre la grippe, l'hépatite A, l'encéphalite japonaise et l'encéphalite à tique. Ces vaccins peuvent être administrés par voie sous-cutanée, intradermique ou intra-musculaire. Ils n'entraînent qu'une faible immunité muqueuse. Leur excellente tolérance permet leur utilisation chez la femme enceinte.

Les **vaccins sous-unitaires** sont obtenus soit par purification directe de sous-unités virales à partir de cultures cellulaires, soit, plus souvent, par la technologie de l'ADN recombinant. Cette dernière technique comporte le clonage d'un gène viral dans un plasmide et son expression dans un système procaryote (bactérie) ou eucaryote (levure ou cellule de mammifère). Ces vaccins nécessitent souvent l'utilisation d'adjuvants ainsi que plusieurs injections de rappel. Ces vaccins sous-unitaires qui peuvent être conjugués (incluant plusieurs immunogènes) sont utilisés dans la lutte contre le virus de l'hépatite B (antigène HBs) et contre la grippe (HA, hémagglutinine, NA, neuraminidase, et protéine M2 des virus influenzae). Récemment, un nouveau vaccin dirigé contre les deux génotypes HPV les plus oncogènes (HPV 16 et HPV 18) a été mis sur le marché. Ce vaccin se présente sous la forme de sous-unités L1 de HPV intégrées dans des pseudoparticules.

Enfin, les vaccins peptidiques sont basés sur l'utilisation de déterminants immunogéniques des protéines virales couplés à des transporteurs et associées à des adjuvants. Plusieurs vaccins de ce type sont actuellement à l'essai contre le VIH, l'VHB et le HSV.

1.2.3. Les vaccins de demain ?

Plusieurs stratégies sont utilisées afin de développer des vaccins nouveaux, plus efficaces et plus sûrs.

De **nouveaux vaccins sous-unitaires non répliatifs** sont à l'essai utilisant de nouvelles protéines recombinantes, des peptides synthétiques ou des nouvelles formes de présentation des immunogènes tels que les pseudoparticules virales (virus Norwalk, rotavirus, HPV) et les microparticules

biodégradables destinées à optimiser les vaccins « muqueux ».

De nouveaux vaccins répliatifs sont aussi à l'étude qui utilisent des **systèmes recombinés vivants non répliatifs**. Il s'agit de vecteur vivants non répliatifs chez l'homme *in vivo*, tels que les souches MVA ou NYVAC du virus de la vaccine ou les avipox (dont le virus canapox) dont le cycle répliatif abortif permet néanmoins l'expression et la présentation optimale d'un antigène viral.

Enfin, les **vaccins à ADN nu** sont particulièrement prometteurs. Ces vaccins sont constitués d'ADN plasmidique contenant le gène viral d'intérêt, le plus souvent sous le contrôle d'un promoteur eucaryote puissant (tel que le promoteur précoce du CMV). Une fois injecté en intramusculaire, ou en intradermique à l'aide de "gene gun" cet ADN s'intègre dans le génome des cellules dendritiques et de cellules de Langerhans (directement si ID, secondairement si IM) qui exprimeront ces antigènes viraux de manière permanente. Une injection unique d'ADN permet donc une expression et une présentation continue de l'antigène et une réponse immunitaire très prolongée, de type humorale et cellulaire. Plusieurs essais de vaccins ADN nu contre le VHB, le VIH et les virus influenzae sont en cours chez l'homme. Les avantages de cette nouvelle stratégie vaccinale sont l'induction d'une immunité de longue durée (humorale et cytotoxique), un faible coût de production, la possibilité d'immunisations multiples (vaccins conjugués), et relative thermostabilité du produit. L'innocuité des vaccins à ADN nu reste cependant à confirmer, la principale toxicité redoutée comprenant des phénomènes d'autoimmunité, de tumorigénicité, et de tolérance immunitaire/anergie.

2. Les antiviraux

Le concept même de virus étant relativement récent (fin du XIXème siècle), il n'est pas étonnant qu'il ait fallu attendre la deuxième moitié du XXème siècle pour assister au développement des molécules antivirales (l'amantadine date des années 1960, la vidarabine de 1979, l'aciclovir de 1980). Ce développement connaît un essor depuis une quinzaine d'année principalement en réponse à la pandémie de VIH/sida et aux nouveaux défis viraux que sont les infections par les virus VHB, VHC, CMV et HSV.

2.1 Propriétés attendues d'un antiviral

La chimiothérapie antivirale doit faire face à plusieurs contraintes. La première est la **toxicité** des molécules antivirales. Celle-ci résulte le plus souvent de l'intrication des synthèses virales et cellulaires. L'évaluation de nouvelles molécules devra le plus souvent identifier un savant compromis entre l'efficacité antivirale et sa sélectivité (et donc son



absence de toxicité). En pratique, on déterminera la **concentration inhibitrice** (CI) de la molécule, sa concentration cytotoxique (CC) et son index de sélectivité. La CI_{50} sera définie comme la concentration d'antiviral inhibant 50% de la multiplication virale, et la CC_{50} comme la concentration d'antiviral induisant 50% de cytotoxicité. Enfin, on déterminera l'index de sélectivité par le rapport CI_{50}/CC_{50} (plus ce rapport sera bas, plus la molécule en question sera capable d'inhiber la réplication du virus sans engendrer de toxicité).

La deuxième contrainte importante est la **sélection de mutants viraux résistants** aux antiviraux. Cette sélection de mutants résistants résulte souvent de mutations ou de délétions dans les régions cible des antiviraux (VIH) ou de la sélection de virus n'utilisant pas ou imparfaitement ces cibles (par exemple HSV n'utilisant pas la thymidine kinase ou utilisant une thymidine kinase altérée). Ces résistances peuvent être identifiées par des tests génotypiques. La meilleure stratégie pour éviter l'émergence de résistance consiste à accroître la puissance antivirale des traitements (molécules plus puissantes, associations d'antiviraux).

Enfin, la troisième contrainte majeure réside dans le fait que les thérapies antivirales actuelles ne sont actives que contre des virus en phase de réplication. L'élimination de virus présentant une phase de **latence**, leur ADN étant stocké sous forme épisomale (VHB, HSV) ou provirale (VIH), est actuellement impossible, quoique envisageable dans l'avenir.

2.2. Stratégies antivirales

Toutes les étapes du cycle répliatif du virus constituent des cibles potentielles pour la thérapie antivirale : attachement du virus à la cellule, pénétration, décapsidation, réplication du génome viral, assemblage, bourgeonnement et libération de virions.

2.2.1. Phases initiales du cycle viral

Une nouvelle classe d'antirétroviraux est constituée d'**inhibiteurs d'entrée** du VIH dans la cellule tels que les antagonistes de CCR5 et l'enfuvirtide. Cette dernière est un analogue du domaine HR1 de la glycoprotéine transmembranaire du VIH gp41 capable d'inhiber l'interaction entre la gp41 et les co-récepteurs d'entrée au niveau cellulaire, et donc la **fusion** de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique. Une des plus anciennes molécules antivirales (1963), l'amantadine et son analogue la rimantadine inhibent la pompe à proton constituée par la protéine M2 des virus influenzae. Cette inhibition bloque l'acidification des endosomes nécessaire à la **décapsidation** du virus. Cette molécule a aussi un effet plus tardif sur l'assemblage de nouvelles particules virales. Elle est

particulièrement active (en prophylaxie comme en thérapeutique) sur le virus influenza A.

L'arildone et ses dérivés solidarisent les protéines VP1, VP2 et VP3 des Picornavirus (en particulier des rhinovirus) et empêchent leur décapsidation. C'est du moins ce qui a été démontré *in vitro*, alors que l'efficacité clinique de tels traitements reste discutable.

2.2.2 Synthèse des acides nucléiques viraux

Une des étapes critiques de la réplication virale est la réplication du génome viral. Celle-ci implique l'intervention d'enzymes virales (ADN polymérase, ARN polymérase, transcriptase inverse) dont l'action peut être inhibée par diverses molécules.

Les **inhibiteurs nucléosidiques** sont constitués de nucléosides artificiels (modifiés au niveau de leur sucre ou de leur base azotée) dont la forme active nécessite trois phosphorylations successives par les kinases virales et/ou cellulaires. Cette forme triphosphatée entre alors en compétition avec les nucléosides naturels auprès des polymérases virales. Ces « faux amis » pourront bloquer le site actif des polymérases, entraînant la formation d'ADN anormaux et la synthèse d'ARN intraduisibles. Certains inhibiteurs nucléosidiques (tels que l'aciclovir, le ganciclovir et la zidovudine) peuvent aussi bloquer l'élongation de la molécule d'ADN (termination de chaîne). L'aciclovir et le valaciclovir bloquent l'ADN polymérase des *Herpesviridae* (HSV, VZV) par inhibition de la thymidine kinase virale en mettant en compétition la phosphorylation de l'acycloguanidine (nucléoside artificiel) avec la guanosine. Ils ont très peu d'effet sur le métabolisme cellulaire (index de sélectivité élevé). En effet, l'acycloguanidine a 1000 fois moins d'affinité pour la kinase cellulaire que pour l'enzyme virale. L'aciclovir, le valaciclovir et le famciclovir sont indiqués dans le traitement des infections sévères à HSV et à VZV et le ganciclovir, dans les infections à CMV. D'autres molécules interagissent avec la transcriptase inverse du VIH (zidovudine, stavudine, abacavir, didanosine, lamivudine, emtricitabine, zalcitabine). La lamivudine et l'emtricitabine sont aussi capables d'interférer avec l'ADN polymérase du VHB, tout comme deux autres molécules n'ayant pas d'effet sur la transcriptase inverse du VIH, l'entécavir et la clévidine. La ribavirine est un analogue ribonucléosidique inhibant la mRNA méthyltransférase de la plupart des virus à ARN. Elle est particulièrement indiquée dans le traitement de l'infection à VHC (en association avec l'interféron α pégylé) et des pneumopathies virales sévères (VRS, virus influenzae et parainfluenzae).

Les **analogues nucléotidiques** sont des molécules monophosphatées qui nécessitent deux phosphorylations successives par des kinases cellulaires. Ceci fait, leur mécanisme d'action est similaire à celui des analogues nucléosidiques. Ces molécules sont actives sur le VIH, sur le VHB (adéfovir, ténofovir) ou sur le CMV (cidofovir).



Enfin, il existe des **inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse** du VIH qui interfèrent avec le site actif de l'enzyme en se fixant à proximité. Les principaux représentants de cette classe d'antirétroviraux sont la névirapine, l'efavirenz et la delavirdine.

Le foscarnet est un **analogue des pyrophosphates** inhibant l'ADN polymérase du CMV, sans être métabolisé dans la cellule.

2.2.3. Phases tardives du cycle viral

Les **inhibiteurs de la protéase** du VIH (indinavir, ritonavir, saquinavir, lopinavir, amprenavir, atazanavir, nelfinavir, fosamprenavir, tipranavir) inhibent, par compétition avec la protéase, le clivage des précurseurs polyprotéiques Gag-Pol, une des phases précoces de l'**assemblage** de nouvelles particules virales. De nouvelles molécules inhibant la protéase du VHC sont en cours de développement.

Enfin, les **inhibiteurs de la neuraminidase** (oseltamivir, zanamivir) inhibent l'action de la neuraminidase des virus influenza A et B. Cette enzyme virale est indispensable au bourgeonnement et la libération des particules virales nouvellement assemblées. Ces deux molécules sont des composants importants dans l'arsenal de lutte contre la grippe (prophylaxie et traitement des gripes sévères, y compris des gripes aviaires).

2.2.4. Les antiviraux de demain

C'est dans le domaine de la rétrovirologie et de la lutte contre l'hépatite C que la recherche de nouvelles molécules antivirales est la plus prometteuse. A titre d'exemples, l'intégrase du VIH et les mécanismes de restriction cellulaire de l'infection par le VIH (APOBEC 3G, APOBEC 3F) sont d'intéressantes cibles qui pourraient enrichir à l'avenir les options thérapeutiques antirétrovirales.

Pour en savoir plus

* *Traité de Virologie Médicale*. Coordinateurs: Jean-Marie Huraux, Jean-Claude Nicolas, Henri Agut, Hélène Peigue-Lafeuille. Edition ESTEM, 2003.

* *Virologie Médicale. A. Mammette*. Collection Azay. Presse Universitaire de Lyon, 2002.

* *Virologie. DCEM1*. Jean-Marie Huraux. Université ParisVI-Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, 2006.

www.chups.jussieu.fr/polys/viro/poly/viro.pdf

* *Virologie Humaine et Animale*. Christophe Pasquier, Stéphane Bertagnoli, Frédérique Messud-Petit, Jacques Izopet. Dunod, 2005

