

11

Vaccins activateurs de l'immunité cellulaire

La vaccination induit l'expansion d'un ensemble d'effecteurs spécifiques du système immunitaire au niveau humoral et cellulaire et permet ainsi d'assurer la destruction ou l'élimination accélérée de l'agent infectieux pathogène correspondant (Bloom et Zinkernagel, 1996). La voie d'administration de l'antigène protecteur et sa nature représentent des éléments déterminants dans la réponse des lymphocytes et l'établissement de la mémoire immunitaire (Beverley, 1997). De même de nombreux facteurs propres au sujet vacciné (âge, maturité immunologique, sexe, ensemble complexe de facteurs génétiques, condition physiologique, éventuellement traitements médicamenteux...) influencent sa capacité immunitaire et donc sa réponse à l'antigène vaccinal (Tron, 1995a et b).

Au niveau des cellules immunologiquement compétentes, la modulation de la réponse dépend de facteurs nombreux et variés. La présentation de l'antigène est primordiale ainsi que l'activation de certaines molécules situées à la surface des cellules du système immunitaire et ayant un rôle de récepteurs pour des virus ou d'autres agents pathogènes. Différentes populations cellulaires sont impliquées directement mais aussi indirectement comme les *natural killer* par l'intermédiaire de récepteurs activateurs ou inhibiteurs de leur activité. Toutes ces cellules synthétisent des interleukines (IL) ou cytokines, médiateurs immunologiques agissant en réseaux intégrés. Dans cet ensemble, les mécanismes d'activation des lymphocytes T permettant l'établissement de la mémoire immunologique sont à considérer en priorité car ce processus est la cheville ouvrière de l'efficacité d'une immunisation.

Présentation antigénique

Une présentation efficace des déterminants antigéniques constitue le préalable indispensable à toute immunisation réussie. Deux stratégies très différentes sont utilisées par le système immunitaire pour appréhender l'antigène : la captation par les immunoglobulines ou la combinaison aux récepteurs des cellules T.

Les immunoglobulines sont exprimées à la surface des lymphocytes B et sécrétées par les plasmocytes (un lymphocyte B activé spécifiquement et synthétisant un anticorps devient un plasmocyte). Les immunoglobulines sont des protéines extrêmement polymorphes, leur site actif reconnaît en général des structures tridimensionnelles ce qui implique que les antigènes soient présentés au moins partiellement dans leur conformation native pour qu'une liaison spécifique puisse intervenir. Les anticorps circulants se lient aux antigènes rencontrés dans le milieu extracellulaire.

Les lymphocytes T détectent les antigènes intracellulaires. Cette reconnaissance exige que les peptides antigéniques soient présentés par les molécules HLA du Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Il existe 2 types majoritaires de récepteurs T (TCR pour *T cell receptor*). Les TCR $\alpha\beta$ des cellules CD8 + reconnaissent des peptides d'environ 9 acides aminés liés à des molécules MHC de classe I et les TCR $\alpha\beta$ des cellules CD4 + reconnaissent des peptides de 13 à 34 acides aminés présentés par des molécules de classe II.

- Les molécules HLA de classe I présentent le plus souvent des peptides endogènes dérivés par protéolyse de protéines virales ou même endogènes. Ces protéines sont dégradées dans le cytoplasme par des complexes d'enzymes protéolytiques; les protéosomes, dont deux éléments sont codés par les gènes LMP2 et LMP7 du CMH. Les peptides sont alors transportés dans la lumière du réticulum endoplasmique rugueux par un système transporteur de peptides comprenant les protéines TAP-1 et TAP-2 aussi codées par le CMH. Ces peptides sont associés aux chaînes $\alpha 1$ et $\alpha 2$, puis, après fixation de la $\beta 2$ microglobuline et glycosilation de la chaîne α , transportés à la membrane cytoplasmique.

- Les molécules de classe II présentent des peptides de 13 à 34 acides aminés dérivés par protéolyse de protéines endocytées à partir de la surface cellulaire. La chaîne invariante Li, CD74, de ces molécules de classe II empêche la fixation des peptides dans la cavité formée par les domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$. Elles sont glycosilées dans le golgi puis transportées dans le compartiment des endosomes où la chaîne Li se dissocie. Le complexe α - β s'associe alors aux peptides. Une même molécule HLA peut se combiner à des milliers de peptides différents et un seuil estimé à 200-1 000 molécules HLA liées au même peptide serait nécessaire pour l'activation des cellules T périphériques.

D'autres structures apparentées aux molécules de classe I et II du CMH sont capables de présenter l'antigène. Il s'agit des molécules CD1. Chez l'homme, elles sont au nombre de 5, CD1a-e, codées sur le chromosome 1, et sont associées comme les molécules de classe I à la $\beta 2$ microglobuline. Chez l'homme, les antigènes présentés par CD1b peuvent aussi être des lipides microbiens (Porcelli, 1995). Les molécules CD1 sont exprimées par les cellules dendritiques et peuvent se lier à des peptides plus longs que ceux présentés par les molécules de classe I.

Un certain nombre de molécules, désignées sous le nom de superantigènes, sont capables d'activer un grand nombre de clones T indépendamment du

peptide reconnu par leur TCR car elles se lient directement à des séquences peptidiques caractéristiques de certaines chaînes β . Les entérotoxines de staphylocoques et la nucléocapside du virus de la rage sont des exemples de superantigènes.

De nombreux phénomènes intervenant dans la présentation de structures immunogéniques aux cellules immunologiquement compétentes sont encore mal compris, comme le mécanisme d'action des adjuvants dont le rôle est d'amplifier les réponses et d'en moduler les caractéristiques.

Récepteurs cellulaires des virus et d'autres agents pathogènes

Certaines molécules de surface, de fonctions très diversifiées, jouent un rôle important dans le développement de la réponse immune. L'exemple classique est celui du CD4 qui intervient directement dans l'activation lymphocytaire par son association avec la voie de signalisation de la tyrosine kinase. Il est aussi impliqué en tant que costimulateur dans la réponse aux peptides présentés par les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité. Les agents infectieux se fixent à un certain nombre d'autres structures de surface comme les intégrines ou CD54 qui interviennent naturellement dans l'adhésion préalable à l'activation lymphocytaire, ces structures sont dites molécules d'adhésion. Ces différents récepteurs cellulaires appartiennent à différentes familles génétiques (tableau 11.1).

Rôle des cellules NK dans l'amplification de la réponse CTL spécifique

L'activité cytotoxique spontanée, dite *Natural Killer* (NK), de certaines cellules lymphoïdes a été identifiée, il y a de nombreuses années, dans un système où ces lymphocytes tuaient des cellules tumorales n'exprimant pas de molécules de classe I. Ce n'est que très récemment qu'il a été montré que les cellules NK possédaient en fait des récepteurs cellulaires capables de reconnaître des déterminants présents sur des molécules HLA. En absence de stimulation antigénique, la liaison de ces récepteurs aux molécules de classe I délivre un signal inhibiteur de l'activité cytotoxique des cellules NK. En revanche, quand la molécule HLA est modifiée par liaison à un peptide viral, le signal négatif n'est plus délivré et la cellule présentatrice du peptide viral est éliminée. Ce mécanisme d'élimination des cellules infectées a lieu très précocement, vers le deuxième jour, au cours d'une infection virale ou après une vaccination. Il précède normalement la génération des cellules T cytotoxiques spécifiques (CTL), qui se multiplieront au cours de la réponse immune. Il

Tableau 11.1 : Récepteurs cellulaires des virus et d'autres agents pathogènes.

Virus/agent	Molécule	Superfamille	Fonction
Rhinovirus	CD54 (ICAM1)	Ig	Adhésion/Activation
Poliovirus	CD155	Ig	Inconnue
VIH	CD4	Ig	Co-R classe II
	CXCR4	Chimiokine R	Migration
	CCR5	Chimiokine R	Migration
	Galactosylcéramide		
Cytomégalovirus (CMV)	β 2 microglobuline	Ig	Chaîne légère classe I/CD1
Echovirus 1	CD49b	Intégrine	R collagène et laminine
Adénovirus	Intégrine		
Virus influenza	Acide sialique		
Herpes Simplex Virus (HSV)	Héparine sulfatée		
Rougeole	CD46		
Virus d'Epstein-Barr (EBV)	CD21		R C3
Réovirus 3	R β adrénergique		
Parvovirus	Ag érythrocytaire P		
<i>Plasmodium falciparum</i> GR	CD54	Ig	Adhésion/Activation
	CD36	R thrombospondine	

R : récepteur ; GR : globule rouge.
Source : « Leucocyte Typing 6 », Kishimoto T et coll. Eds. Garland Press, New York and London, 1997.

a même été possible de montrer que certains des récepteurs en cause existent d'emblée sous une forme activatrice. L'activité des cellules NK est stimulée par les interférons α et β (IFN α et β) tandis qu'elles sécrètent de très grandes quantités d'IFN γ . Les IFNs α et β augmentent l'expression des molécules de classe I, permettant ainsi une meilleure présentation antigénique pour l'induction de CTL tandis que l'IFN γ augmente l'expression des MHC de classe II.

Cytokines agissant principalement sur les cellules de l'immunité spécifique

L'un des protagonistes majeurs de l'établissement d'une immunité spécifique est l'IL12, cytokine hétérodimérique, constituée de 2 chaînes de 35 et 40 kDa liées par des ponts disulfures. Elle est produite par les cellules présentatrices d'antigènes et joue un rôle central dans les fonctions des cellules T et NK. Le spectre de ses activités biologiques est vaste, il comprend la capacité : d'augmenter l'activité lytique de différentes populations telles les NK, d'induire la

sécrétion de grandes quantités d'IFN γ par les cellules T et NK activées ou non, de stimuler la prolifération de ces cellules après activation et de faciliter les réponses CTL. Outre cet ensemble de propriétés partagées avec l'IL2, l'IL12 possède la capacité unique d'infléchir la réponse immunitaire vers le type TH1. Classiquement, les cellules CD4 auxiliaires peuvent être distinguées en fonction des cytokines qu'elles produisent. L'IL2 et l'IFN γ , dites de type TH1, favorisent l'induction de l'immunité à support cellulaire tandis que les cytokines de type TH2, IL4, IL5 et IL10 contrôlent la production des anticorps donc l'immunité humorale. Il a été montré dans certains modèles expérimentaux que l'effet « pro » TH1 de l'IL12 peut être diminué par des anticorps anti-interféron mais que celui-ci ne peut se substituer à elle. L'effet de l'IL12 est également antagonisé par différents médiateurs de l'immunité humorale de type TH2 comme l'IL4. Enfin, dans des modèles expérimentaux, l'IL12 a produit des effets antitumoraux et antimétastatiques médiés par différentes populations de cellules T et en particulier les cellules CD8 (Anton et coll., 1996).

Vers le développement de vaccins T, activateurs de l'immunité cellulaire

Sur la base des connaissances actuelles, il est possible d'envisager deux catégories de vaccins faisant intervenir directement la présentation des épitopes protecteurs par les molécules du CMH (Bona et coll., 1998). En effet, des peptides synthétiques reconnus par les cellules T (CD4 ou CD8) représenteraient les sous-unités idéales d'un vaccin sans danger. Cette approche séduisante présente néanmoins des difficultés d'ordre théorique et pratique. Tout d'abord, en ce qui concerne les peptides reconnus par les CD8, ils ne peuvent être utilisés efficacement comme vaccins parce qu'ils seraient alors internalisés et dégradés dans l'endosome et ne pourraient interagir avec la voie de présentation des molécules de classe I. Pour les réponses impliquant les cellules CD4, la liaison indispensable avec les molécules de classe II se fait plus facilement dans le compartiment acide de l'endosome qu'à la surface de la cellule présentatrice. Ceci implique que la concentration de matériel peptidique à administrer pour provoquer l'activation cellulaire devrait être considérablement plus élevée que celle atteinte lorsque les mêmes éléments sont produits par *processing* intracellulaire. Ensuite les peptides sont de mauvais immunogènes du fait de leur petit poids moléculaire, de leur dégradation et de leur élimination rapides. Pour éliminer ces inconvénients, différents systèmes ont été imaginés comme les « *Immune stimulating complexes* » ou ISCOM (Fernando et coll., 1995), les liposomes (Collins et coll., 1992) et les lipopeptides synthétiques (Deres et coll., 1989). Cependant ces systèmes n'ont pas encore fait la preuve de leur efficacité.

Des procédés variés ont été développés pour l'expression de gènes viraux ou microbiens dans des vecteurs tels que les virus de la vaccine, de l'hépatite, l'adénovirus, le poliovirus ou encore le colibacille ou des salmonelles. Des techniques d'ingénierie microbienne ont permis d'insérer des oligonucléotides codant pour des épitopes peptidiques dans le matériel génétique de ces vecteurs. Les protéines chimériques ainsi obtenues présentent les épitopes appropriés, elles peuvent être présentées dans les organelles bactériennes ou sur la membrane bactérienne ou être sécrétées par les virus. Des épitopes T ont ainsi été exprimés soit dans des segments variés de gènes codant pour des protéines à fonction « *carrier* » soit à leur extrémité N ou C terminale (Janssen et Tommassen, 1994). L'injection à l'animal a montré que ce type de matériel permet d'obtenir des cellules T sensibilisées spécifiquement aux épitopes désirés et capables de répondre *in vitro* aux peptides exprimés par les molécules chimériques (Freimuth et Steinman, 1990). Il faut signaler que la présence de protéines de transport pourrait constituer un obstacle à une large utilisation dans les vaccins.

Des virus chimériques exprimant des épitopes T ont également été construits. Ainsi un virus Sindbis chimérique codant pour deux épitopes distincts de l'hémagglutinine de l'influenza (HA) s'est montré capable d'induire une réponse CD8 CTL spécifique (Hahn et coll., 1992). De façon similaire, un virus de l'influenza chimérique, exprimant 12 acides aminés dérivés de la boucle V3 du gp120 du VIH, a induit la sensibilisation de précurseurs CTL spécifiques (Li et coll., 1992). L'utilisation de virus chimériques comme vaccins présente l'avantage d'induire une réponse doublement protectrice, contre les épitopes T insérés et contre le virus vecteur lui-même. En contrepartie il y a le risque de provoquer une réponse trop forte contre des antigènes viraux non protecteurs.

Des protéines autologues peuvent également être utilisées comme molécules transporteuses pour délivrer des épitopes T dérivés de protéines hétérologues. Des immunoglobulines recombinantes ont été créées dans lesquelles le segment CDR3 de la région variable de la chaîne lourde est remplacé par différents peptides antigéniques reconnus par les cellules B. De telles chimères Ig-peptides sont capables d'induire la production d'anticorps ou de CTL (Billetta et coll., 1991 ; Lee et coll., 1993 ; Zaghouani et coll., 1992, 1993, 1995). Des Ig enzymatiquement modifiées pourraient aussi représenter une nouvelle approche pour le développement de vaccins (Brumeau et coll., 1996) :

- Des chimères de peptides-MHC classe II. Différentes constructions ont permis de montrer qu'il est possible d'obtenir une réponse au moyen de telles associations (Kozono et coll., 1994 ; Casares et coll., 1998).
- Des chimères de peptides-MHC classe I. L'effet de ces chimères sur les cellules T dépend de leur structure (Mottez et coll., 1995). Il semble que l'état dimérique ou polymérique soit nécessaire à l'activation T, mais qu'un état de non-réponse soit susceptible de survenir pendant 3 jours après la stimulation,

cette non-réponse ayant été attribuée à un défaut de signalisation. Ce procédé ne permet donc pas d'obtenir une réponse reproductible puisqu'il peut conduire suivant les cas à une activation ou un état de non-réponse (Sloan-Lancaster et coll., 1994).

- Des chimères de protéines virales exprimant des peptides dérivés du CMH. Cette approche permettrait d'envisager des vaccins très sélectifs (Mottez et coll., 1995).

On peut envisager la conjugaison de peptides à des ligands de récepteurs de surface des cellules présentatrices. Les épitopes T sont conjugués soit à des anticorps dirigés contre des protéines de surface soit à des ligands de récepteurs de ces protéines de surface. L'internalisation du conjugué dans la cellule est médiée par les récepteurs spécifiques de la protéine transporteuse. A la suite de leur « *processing* » dans les compartiments endosomaux les peptides s'associent au CMH avant d'être transloqués à la membrane.

L'utilisation de DNA nu exprimant des épitopes T peut également être une voie d'approche fructueuse. De nombreuses publications montrent que des constructions plasmidiques permettant l'expression simultanée de gènes correspondant à des antigènes microbiens ou tumoraux et/ou de gènes de lymphokines peuvent générer des réponses humorales et cellulaires de longue durée (Donnelly et coll., 1995). La possibilité de mettre à disposition des vaccins DNA est fort souhaitable car ils seraient stables, et capables d'induire une réponse durable chez le nouveau-né, l'enfant et l'adulte (Bot et coll., 1997).

En conclusion, il est maintenant envisageable de développer des vaccins T n'entraînant pas d'effets secondaires et capables d'induire une immunité cellulaire protectrice contre les virus, les parasites intracellulaires (Wang et coll., 1998) et peut-être des protozoaires. Il est même possible que l'approche vaccinale puisse ainsi devenir actuelle dans les maladies auto-immunes en permettant d'antagoniser des auto-antigènes et de prévenir des rechutes. Finalement, des vaccins contre les tumeurs (Abdelwahab, 1997) pourraient également connaître un grand essor dans les prochaines années.

BIBLIOGRAPHIE

- ABDELWAHAB Z, WELTZ C, HESTER D, PICKETT N, VERVAERT C et coll. A phase I clinical trial of immunotherapy with interferon-gamma gene-modified autologous melanoma cells - monitoring the humoral immune response. *Cancer* 1997, **80** : 401-412
- ANTON P, KIRCHNER H, JONAS U, ATZPODIEN J. Cytokines and tumor vaccination. *Cancer Biother Radiopharmaceuticals* 1996, **11** : 315-318
- BEVERLEY PC. Vaccine immunity. *Immunol Today* 1997, **18** : 413-415
- BILLET TA R, HOLLINGDALE MR, ZANETTI M. Immunogenicity of an engineered internal image antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, **88** : 4713-4717

BLOOM B, ZINKERNAGEL R. Immunity to infection. *Curr Opin Immunol* 1996, **8** : 465-466

BONA CA, CASARES S, BRUMEANU TD. Towards development of T-cell vaccines. *Immunol Today* 1998, **19** : 126-133

BOT A, ANTOHI S, BONA C. Immune response of neonates elicited by somatic transgene vaccination with naked DNA. *Front Biosci* 1997, **2** : 173-188

BRUMEANU TD, CASARES S, HARRIS PE, DEHAZYA P, WOLFI et coll. Immunopotency of a viral peptide assembled on the carbohydrate moieties of self immunoglobulins. *Nat Biotechnol* 1996, **14** : 722-725

CASARES S, BONA CA, BRUMEANU TD. Engineering and characterization of a murine MHC class II-immunoglobulin chimera expressing an immunodominant CD4 T viral epitope. *Protein Eng* 1997, **10** : 1295-1301

COLLINS DS, FINDLAY K, HARDING CV. Processing of exogenous liposome-encapsulated antigens *in vivo* generates class I MHC-restricted T cell responses. *J Immunol* 1992, **148** : 3336-3341

DERES K, SCHILD H, WIESMULLER KH, JUNG G, RAMMENSEE HG. *In vivo* priming of virus-specific cytotoxic T lymphocytes with synthetic lipopeptide vaccine. *Nature* 1989, **342** : 561-564

DONNELLY JJ, FRIEDMAN A, MARTINEZ D, MONTGOMERY DL, SHIVER JW et coll. Preclinical efficacy of a prototype DNA vaccine : enhanced protection against antigenic drift in influenza virus. *Nat Med* 1995, **1** : 583-587

FERNANDO GJ, STENZEL DJ, TINDLE RW, MERZA MS, MOREIN B, FRAZER IH. Peptide polymerisation facilitates incorporation into ISCOMs and increases antigen-specific IgG2a production. *Vaccine* 1995, **13** : 1460-1467

FREIMUTH P, STEINMAN RM. Insertion of myoglobin T-cell epitopes into the *Escherichia coli* alkaline phosphatase. *Res Microbiol* 1990, **141** : 995-1001

HAHN CS, HAHN YS, BRACIALE TJ, RICE CM. Infectious Sindbis virus transient expression vectors for studying antigen processing and presentation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, **89** : 2679-2683

JANSSEN R, TOMMASSEN J. *PhoE* protein as a carrier for foreign epitopes. *Int Rev Immunol* 1994, **11** : 113-121

KOZONO H, WHITE J, CLEMENTS J, MARRACK P, KAPPLER J. Production of soluble MHC class II proteins with covalently bound single peptides. *Nature* 1994, **369** : 151-154

LEE G, CHAN W, HURLE MR, DESJARLAIS RL, WATSON F et coll. Strong inhibition of fibrinogen binding to platelet receptor alpha IIb beta 3 by RGD sequences installed into a presentation scaffold. *Protein Eng* 1993, **6** : 745-754

LI SQ, SCHULMAN JL, MORAN T, BONA C, PALESE P. Influenza A virus transfectants with chimeric hemagglutinins containing epitopes from different subtypes. *J Virol* 1992, **66** : 399-404

MOTTEZ E, LANGLADE-DEMOYEN P, GOURNIER H, MARTINON F, MARYANSKI J et coll. Cells expressing a major histocompatibility complex class I molecule with a single covalently bound peptide are highly immunogenic. *J Exp Med* 1995, **181** : 493-502

PORCELLI SA. The CD1 family : a third lineage of antigen-presenting molecules. *Adv Immunol* 1995, **59** : 1-98

SLOAN-LANCASTER J, SHAW AS, ROTHBARD JB, ALLEN PM. Partial T cell signaling : altered phospho-zeta and lack of zap70 recruitment in APL-induced T cell anergy. *Cell* 1994, **79** : 913-922

TRON F Vaccination immunology. *Rev Prat* 1995a, **45** : 1478-1483

TRON F Future vaccines. *Rev Prat* 1995b, **45** : 1514-1519

WANG R, DOOLAN DL, LE TP, HEDSTROM RC, COONAN KM et coll. Induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in humans by a malaria DNA vaccine. *Science* 1998, **282** : 476-480

ZAGHOUANI H, KRYSTAL M, KUZU H, MORAN T, SHAH H et coll. Cells expressing an H chain Ig gene carrying a viral T cell epitope are lysed by specific cytolytic T cells. *J Immunol* 1992, **148** : 3604-3609

ZAGHOUANI H, STEINMAN R, NONACS R, SHAH H, GERHARD W, BONA C. Presentation of a viral T cell epitope expressed in the CDR3 region of a self immunoglobulin molecule. *Science* 1993, **259** : 224-227

ZAGHOUANI H, ANDERSON SA, SPERBER KE, DAIAN C, KENNEDY RC et coll. Induction of antibodies to the human immunodeficiency virus type 1 by immunization of baboons with immunoglobulin molecules carrying the principal neutralizing determinant of the envelope protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 631-635