

Vaccination contre le SIDA : évaluation chez les primates

Le développement de vaccins contre le SIDA peut s'appuyer, chez les primates, sur plusieurs modèles d'infection et de pathogénie par les virus de l'immunodéficience humaine et simienne. Les chimpanzés peuvent être infectés expérimentalement par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) mais sans que le syndrome d'immunodéficience soit observé. En revanche, les macaques infectés par certains isolats du virus de l'immunodéficience simienne (VIS) développent une maladie similaire au SIDA humain. Dans le modèle chimpanzé, la protection contre l'infection par le VIH-1, après vaccination, semble dépendre de la présence d'anticorps neutralisants spécifiques de la région V3 de l'enveloppe virale. Dans le cas de l'immunisation du macaque contre le VIS, la protection est plus difficile à obtenir et n'a pu être corrélée à un versant spécifique de la réponse immunitaire. Il est probable que soient nécessaires à l'établissement de cette protection, à la fois la réponse humorale neutralisante, et la réponse cellulaire cytotoxique. Les résultats obtenus dans ce modèle animal restent donc difficilement transposables à la vaccination contre le SIDA chez l'homme.

Katia Schlienger
Maryline Mancini
Pierre Tiollais
Marie-Louise Michel

Les virus de l'immunodéficience humaine de types 1 et 2 (VIH-1 et VIH-2) constituent les agents étiologiques du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) et peuvent être transmis par voie sexuelle, sanguine ou périnatale. La prévention est actuellement le seul moyen de diminuer la transmission par voie sexuelle et de ralentir ainsi la progression de la pandémie.

Sur la seule observation des réponses immunitaires induites chez l'homme infecté par le VIH-1, il n'est pas possible de corréler directement un versant de la réponse immunitaire à un contrôle efficace de la réplication

virale. En ce qui concerne la réponse humorale, son efficacité n'est pas claire, surtout dans les phases tardives de l'infection. Pour les réponses cellulaires cytotoxique et cytotoxique dépendante d'anticorps (ADCC), il semble que l'effondrement de ces réponses précède de peu l'apparition du SIDA.

Cependant, les efforts pour développer un vaccin contre le SIDA ont été facilités par la présence de plusieurs modèles animaux, en particulier les primates, dans lesquels l'infection et/ou la maladie peuvent être obtenus expérimentalement avec le VIH ou des virus simiens apparentés.

ADRESSE

K. Schlienger: *docteur en médecine, poste d'accueil à l'Inserm*. M. Mancini: *technicienne à l'Institut Pasteur*. P. Tiollais: *professeur à l'université Paris-VII et à l'Institut Pasteur*. M.-L. Michel: *ingénieur à l'Inserm*. Unité de recombinaison et expression génétique, Inserm U. 163, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75724, Paris Cedex 15, France.

RÉFÉRENCES

1. Alter HJ, Eichberg JW, Masur H, Saxinger WC, Gallo RC, Macher AM, Lane HC, Fauci AS. Transmission of HTLV-III infection from human plasma to chimpanzees: an animal model for AIDS. *Science* 1984; 226: 549-52.
2. Fultz PN, McClure HM, Swenson RB, McGrath CR, Brodie A, Getchell JP. Persistent infection of chimpanzees with human T lymphotropic retrovirus type III/lymphadenopathy associated virus: a potential model for acquired immunodeficiency syndrome. *J Virol* 1986; 58: 116-24.
3. Camerini D, Seed B. A CD4 domain important for HIV-mediated syncytium formation lies outside the virus binding site. *Cell* 1990; 60: 747-54.
4. Fultz PN, Siegel RN, Brodie A, Mawle AC, Stricker RB, Swenson RB, Anderson DC, McClure HM. Prolonged CD4⁺ lymphocytopenia and thrombocytopenia in a chimpanzee persistently infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 1991; 163: 441-7.
5. Saxinger C, Alter HJ, Eichberg JW, Fauci AS, Robey WC, Gallo RC. Stages in the progression of HIV infection in chimpanzees. *AIDS Res Hum Retrovir* 1987; 3: 375-85.
6. Kannagi M, Yet JM, Letvin NL. *In vitro* growth characteristics of simian T-lymphotropic virus type III. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7053-7.
7. Daniel MD, Letvin LN, King NW, Kannagi M, Sehgal PK, Hunt RD, Kanki PJ, Essex M, Desrosiers RC. Isolation of a T-cell tropic HTLVIII-like retrovirus from macaques. *Science* 1985; 228: 1201-4.
8. Letvin NL, Daniel MD, Sehgal PK, Desrosiers RC, Hunt RD, Waldron LM, McKey JJ, Schmidt DK, Chalifoux LV, King NW. Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus STLV-III. *Science* 1985; 230: 71-3.
9. Letvin NL, King NW. Immunologic and pathologic manifestations of the infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus of macaques. *J AIDS* 1990; 3: 1023-40.
10. Kindt TJ, Hirsch VM, Johnson PR, Sawadkosal S. Animal models for acquired immunodeficiency syndrome. *Adv Immunol* 1992; 52: 425-74.
11. Shibata R, Adachi A. SIV/HIV recombinants and their use in studying biological properties. *AIDS Res Hum Retrovir* 1992; 8: 403-7.
12. Li J, Lord CI, Haseltine W, Letvin NL, Sodroski J. Infection of cynomolgus monkeys with a chimeric HIV-1/SIVmac virus that expresses the HIV-1 envelope glycoproteins. *J AIDS* 1992; 5: 639-46.
13. Dormont D, Livartowski J, Chamaret S, Guétard D, Hénin Y, Levagueresse R, Van de Moortelle PF, Larke B, Gourmelon P, Vazeux R. HIV-2 in rhesus monkeys; serological, virological and clinical results. *Intervirology* 1989; 30 (suppl): 59-65.

Les modèles primates dans la vaccination contre le SIDA

Le modèle animal idéal pour étudier l'infection par les virus de l'immuno-déficience humaine et leur pathogénie serait un animal facilement accessible pour la recherche, infectable par le VIH-1 et par le VIH-2, et qui développerait une maladie similaire au SIDA de l'homme. Malheureusement, nous ne disposons pas actuellement d'un tel modèle.

Parmi les primates, les chimpanzés (*Pan troglodytes*) peuvent être infectés expérimentalement par le VIH-1 [1, 2] mais ils ne développent pas de SIDA. Ils constituent cependant un bon modèle d'étude de la prévention de l'infection par le VIH-1 car ils sont très proches phylogénétiquement de l'homme. De plus, leur système immunitaire, très semblable à celui de l'homme, est bien connu. Les molécules CD4⁺ de leurs lymphocytes présentent une forte analogie avec les molécules CD4⁺ humaines [3] qui constituent le récepteur des virus de l'immuno-déficience. Cependant, seuls quelques cas de lymphadénopathie ou de chute transitoire du nombre des T4 ont été rapportés chez les chimpanzés infectés expérimentalement [4, 5]. Cette absence de pouvoir pathogène et le faible nombre de chimpanzés disponibles, du fait de la protection de l'espèce, limitent son utilisation dans les expériences vaccinales contre le SIDA.

Peu après l'isolement du VIH-1, plusieurs lentivirus simiens proches du VIH ont été mis en évidence chez les primates (Tableau I). Ces virus de l'immuno-déficience simienne (VIS) présentent une homologie de séquence significative avec le VIH-1 et surtout avec le VIH-2, ainsi qu'un tropisme similaire pour les lymphocytes CD4⁺ et pour les monocytes/macrophages [6]. Deux types d'infection par les virus de l'immuno-déficience simienne ont été décrits.

Chez les singes asiatiques à l'état sauvage, l'infection par le VIS n'existe pas naturellement. Cette infection a été initialement obtenue dans les centres de primatologie américains à la suite d'une transmission interspécifique expérimentale accidentelle [7]. Une infection chronique est alors

observée avec apparition de signes cliniques et biologiques identiques à ceux du SIDA humain [8]. Cependant, les deux maladies diffèrent par un point important: alors que la maladie survient chez l'homme infecté par le VIH après une période de dix ans en moyenne, les macaques inoculés par le VISmac meurent en général deux ans après l'infection [9]. Mais les similitudes frappantes qui existent entre le SIDA induit chez l'homme infecté par le VIH et la maladie induite par le VIS chez les macaques ont fait de ces derniers un modèle très important pour l'étude de la pathogénie de ces virus [9].

Par ailleurs, il existe des primates d'origine africaine naturellement porteurs de virus de type VIS et, dans ces espèces, aucun des virus identifiés jusqu'à présent n'est capable d'induire un syndrome d'immuno-déficience. Ces animaux infectés expérimentalement ou dans leur habitat naturel développent une infection chronique totalement asymptomatique (pour revue, voir [10]). Cette absence de morbidité reflète probablement une adaptation réciproque du virus et de son hôte.

Le virus hybride SHIV, clone moléculaire du VIS dont l'enveloppe a été remplacée par celle du VIH-1, peut constituer un nouveau modèle d'étude de vaccination [11, 12]. En effet, il devrait être possible d'évaluer des prototypes de vaccins fondés sur l'enveloppe du VIH-1, en mesurant la protection vaccinale établie contre ce virus chimère, qui est capable d'induire non seulement l'infection mais aussi des manifestations cliniques chez le macaque (dues à ses composants VIS).

Du fait des analogies de séquences entre le VIH-2 et le VIS, et parce que les virus de l'immuno-déficience humaine et simienne utilisent un récepteur commun pour entrer dans la cellule, plusieurs groupes ont inoculé le VIH-2 à des macaques. Dans certains cas, une séroconversion a été observée et le virus a pu être isolé à partir des lymphocytes du sang périphérique de ces animaux [13, 14]. Le pouvoir pathogène du VIH-2 variant chez le macaque selon le virus et l'espèce, ce modèle ne permet actuellement d'évaluer que la protection contre l'infection, de façon semblable à celle du chimpanzé infecté

Tableau I
PATHOGÉNIE DES LENTIVIRUS CHEZ LES PRIMATES

Primates	Espèce	Virus/Isolat	Infection	SIDA
Afrique				
Chimpanzé	<i>Pan troglodytes</i>	HIV-1 SIVcpz	+ +	- -
Gibbon	<i>Hylobates</i>	HIV-1	+	-
Mandrill	<i>Papio sphinx</i>	SIVmnd	+	-
Babouin	<i>Papio cynocephalus</i>	HIV-2	+	+/-
Mangabé noir	<i>Cerocebus atys</i>	SIVsmDelta SIVsmm	+ +	- -
Singe vert	<i>Cercopithecus aethiops</i>	SIVagm	+	-
Cercopithèque à diadème	<i>Cercopithecus mitis</i>	SIVsyk	+	-
Asie				
Macaque rhésus	<i>Macaca mulatta</i>	SIVmac SIVsm HIV-2	+ + +	+ + -
Macaque cynomolgus	<i>Macaca fascicularis</i>	SIVcyno SIVsm HIV-2	+ + +	+ - -
Macaque à queue de cochon	<i>Macaca nemestrina</i>	SIVmne HIV-1	+ +/-	+ -
Macaque brun	<i>Macaca arctoides</i>	SIVstm	+	+

Isolats : cpz : chimpanzé ; mnd : mandrill ; smDelta : sooty mangabey delta ; smm : sooty mangabey ; agm : African green monkey ; syk : Sykes monkey ; mac : macaque ; cyno : cynomolgus ; mne : macaque à queue de cochon ; stm : stumtailed macaque.

par le VIH-1. Récemment, il a été montré que des babouins infectés par certains isolats du VIH-2 pouvaient développer un état clinique proche du SIDA humain [15].

Ainsi, trois systèmes permettent d'évaluer la protection induite par un prototype de vaccin contre l'infection par les virus de l'immunodéficience : le VIH-1 chez le chimpanzé (figure 1), le VIH-2 chez le macaque et le VIS chez les singes d'espèce africaine. Un seul modèle permet d'évaluer, en plus, la protection contre l'apparition de la maladie : le VIS chez le macaque (pour revue, voir [10]).

Vaccination de macaques contre le VIS

Pour essayer d'induire une réponse immunitaire spécifique capable de protéger les macaques de l'infection par le VIS, ou même seulement de ralentir l'apparition de la maladie, plusieurs vaccins ont été évalués chez le macaque (Tableau II).

Protection après vaccination par des mutants du VIS vivants atténués

Constitués d'isolats de moindre virulence, les vaccins viraux vivants atténués permettent d'établir une véritable infection mais sans manifestation pathologique. L'immunité induite, très forte, est comparable à celle obtenue par une infection naturelle. La présentation persistante des multiples antigènes viraux apportés par le virus se répliquant à bas bruit laisse penser que ce type de vaccin est le plus à même d'induire une réponse immunitaire globale capable de stériliser une infection ultérieure. De plus, le versant cellulaire de la réponse immunitaire, et plus particulièrement les cellules cytotoxiques, devrait être stimulé lors de l'infection par un virus vivant du fait de la voie endogène de maturation moléculaire qu'empruntent les antigènes synthétisés par une cellule infectée [16]. La plupart des vaccins viraux actuellement employés chez l'homme sont fondés sur des virus vivants atténués.

Dans le modèle du VIS/macaque, des virus vivants atténués ont été obtenus par des délétions précises dans les séquences codant pour les protéines de régulation du VIS. Chez le macaque Rhésus, l'inoculation d'un virus mutant VISmac délété dans le gène *nef* et se répliquant à très bas bruit n'a entraîné aucun signe clinique ou biologique pendant plus de trois ans [17]. En revanche, les singes témoins infectés en parallèle par le virus sauvage intact ont tous développé un SIDA. Les animaux ayant reçu le virus mutant atténué ont été ensuite soumis à une épreuve virulente (superinfection) par un virus pathogène, homologue ou hétérologue [18]. Ces animaux ont été protégés de l'infection et certains ont subi de nouveau une épreuve virulente. Malgré la forte dose d'inoculum, ces animaux ont encore été protégés de cette superinfection. Des titres élevés d'anticorps neutralisants du VIS ont été observés au moment des épreuves virulentes chez les animaux protégés, mais à des titres moindres que chez



Figure 1. **Primates utilisés comme modèles d'étude de l'immunodéficience acquise.** **A. Mandrill :** primate d'origine africaine naturellement porteur de virus de type VIS (virus de l'immunodéficience simienne). Aucun virus étudié jusqu'à présent n'est capable d'induire chez le mandrill un syndrome d'immunodéficience. **B. Macaque cynomolgus :** macaque asiatique qui, après infection par le VIS, développe une infection chronique accompagnée de signes cliniques et biologiques identiques à ceux du SIDA humain. **C. Chimpanzés :** primates africains qui peuvent être infectés expérimentalement par le VIH-1 mais ne développent pas de SIDA. Ils sont, cependant, de bons modèles d'étude de la prévention de l'infection par des vaccins.



Tableau II
VACCINS RECOMBINANTS ANTI-SIV

Antigènes vaccinaux	Anticorps anti-Env	Anticorps neutralisants	Isolat d'épreuve	Dose d'épreuve	Protection de l'infection	Protection de la maladie
Protéines d'enveloppe	1/800-1/3 200	< 1/20	SIV Delta B670	10 DI 50	2/4	2/4
Protéines de core	1/400	< 1/20			0/4	1/4
Vaccine/gp140 + gp140	1/10 ³	1/10 ²	SIVmne CI E11 S	1-9 DI	4/4	ND
p57 + gp160	1/10 ⁴	1/10 ³	SIVmac32H	10 DI 50	0/4	ND
rgp160 + gp160	1/10 ³	1/10 ²	SIVmac251 J5		0/4	ND
Vaccine : GP160 + gp160 + gp 160						
Vaccine/gp130 + gp130	1/200-1/2 000	1/12	SIVmac251	1-10 DI 100	0/4	ND
Vaccine/gp130 rgp130						
Vaccine/Gag-Env + Gag + Env	1/10 ⁴	1/10 ⁴	SIVmac251BK28	7-10 DI 50	0/3	ND
Gag + Env					0/3	ND
Vaccine/Env + Env					0/3	ND
Env					0/3	ND
4 peptides Env-βGal	1/8-1/1 024	1/12-1/96	SIVmne CI E11 S	100 DI	0/3	ND
4 peptides Env-βGal			SIVmac251	10 DI	0/5	ND
Vaccine/gp140 + V2/AgHBs	1/10 ⁴	1/100-1/372	SIVmac251BK28	10 DI 50	0/2	ND

ND: non disponible ou applicable au modèle; DI 50 (100): dose infectant 50 % des animaux (100 %). gp: glycoprotéines d'enveloppe; r: recombinant; Gag: protéine de capside; Env: protéine d'enveloppe; Env-βgal: protéine hybride entre la protéine d'enveloppe et la β-galactosidase d'E. coli; V2/AgHBs: antigène de la boucle V2 de VIS exposé à la surface de l'antigène (HBs) du virus de l'hépatite B; les désignations des souches virales utilisées pour l'épreuve se réfèrent aux isolats tels qu'indiqués dans la légende du Tableau I.

des macaques immunisés par un autre prototype de vaccin, celui-ci non protecteur. Des expériences similaires ont été effectuées par d'autres groupes avec des virus mutants délétés dans *nef* ou dans différents gènes de régulation du VIS, avec des résultats de protection partielle ou totale des macaques [19, 20]. L'analyse de la réponse immunitaire induite chez les macaques au cours de ces expériences de vaccination n'a pas permis d'attribuer la protection obtenue à un versant spécifique de la réponse immunitaire. De plus, la protection obtenue lors de l'inoculation successive de virus relativement proches pourrait être attribuée à un mécanisme non immunologique d'interférence virale déjà connu pour d'autres virus. En d'autres termes, l'infection première pourrait induire une saturation, soit des récepteurs permettant la liaison du virus à la cellule, soit d'un des systèmes de la réplication intracellulaire. Malgré tout, ces résultats du groupe de Desrosiers [18] sont les plus encourageants obtenus jusqu'à

présent dans le modèle VIS/macaque (une seule inoculation conférant la protection à long terme contre une forte dose infectieuse de virus, même de virus hétérologue). Cependant, cette protection n'est plus observée si l'on diminue le temps entre l'inoculation du virus atténué et l'épreuve virulente: la protection n'est obtenue que si l'épreuve virulente est effectuée au moins dix mois après la vaccination [18-21].

Les risques de l'utilisation de virus vivants atténués pour la vaccination contre le SIDA sont en fait difficiles à évaluer. D'importants problèmes restent encore à résoudre avant d'appliquer ce type de vaccin à l'homme. (1) Une réversion du virus atténué par recombinaison avec des séquences endogènes ou avec du virus sauvage pourrait restituer la virulence initiale de l'isolat chez le sujet vacciné. Des remaniements génétiques se produisant spontanément *in vivo* ont été observés pour ces mutants atténués [22]. L'utilisation de délétions multiples dans plusieurs gènes viraux

pourrait pallier ce risque. (2) Pour se répliquer, les lentivirus doivent s'intégrer dans le génome de l'hôte. Mais, contrairement aux rétrovirus, aucun exemple de tumeur directement causée par l'intégration d'un lentivirus n'a été montré jusqu'à présent. (3) La survenue d'un SIDA à long terme ne peut être éliminée, surtout dans le cas d'un système immunitaire affaibli. Récemment, l'inoculation à des macaques nouveau-nés d'un VIS atténué par délétion dans trois de ses gènes a entraîné l'apparition d'un SIDA, et cela par le variant atténué lui-même (aucune réversion vers un isolat pathogène n'a pu être identifiée) [23]. (4) La transmissibilité du virus atténué d'un individu à l'autre peut être regardée d'un point de vue positif (vaccination naturelle) ou négatif (il vaut mieux rester non infecté que porteur à vie). Même si dans les expériences précédentes le virus se réplique très faiblement chez les macaques ayant reçu l'inoculum, d'autres études seront nécessaires pour évaluer ce risque.

RÉFÉRENCES

14. Putkonen P, Bottiger B, Warstedt K, Thorstensson R, Albert J, Biberfeld G. Experimental infection of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with HIV-2. *J AIDS* 1989; 2: 366-73.
15. Barnett SW, Murthy KK, Herndier BG, Levy JA. An AIDS-like condition induced in baboons by HIV-2. *Science* 1994; 266: 642-6.
16. Bolognesi DP. Approaches to HIV vaccine design. *Tibtech* 1990; 8: 40-5.
17. Kestler III HW, Ringler DJ, Mori K, Panicali DL, Sehgal PK, Daniel MD, Desrosiers RC. Importance of the *nef* gene for maintenance of high virus loads and for the development of AIDS. *Cell* 1991; 65: 651-62.
18. Daniel MD, Kirchhoff F, Czajak SC, Sehgal PK, Desrosiers RC. Protective effects of a live attenuated SIV vaccine with a deletion in the *nef* gene. *Science* 1992; 258: 1938-41.
19. Kiény MP, Aubertin AM, Benavente A, Schmitt D, Dott K, Beyer C, Kirm A, Fischer F, Hurtrel B, Rivière Y, Venet A, Mehtali M. Protection of monkeys against SIV infection with live attenuated viruses. In: Girard M, Valette L, eds. *Retroviruses of human AIDS and related animal diseases*. VIII^e Colloque des «Cent Gardes». Marnes-la-Coquette, Paris: Fondation Mérieux, Lyon, 1993: 211-8.
20. Stott EJ, Almond N, Kent KA, Chan WL, Cranage MP, Kitchin PA, Mills KHG, Page M, Rud E. Animals models in the development of AIDS vaccines. In: Girard M, Valette L, eds. *Retroviruses of human AIDS and related animal diseases*. VIII^e Colloque des «Cent Gardes». Marnes-la-Coquette, Paris: Fondation Mérieux, Lyon, 1993: 131-7.
21. Desrosiers RC, Daniel MD, Wyand MS, Arthur LO. A radical strategy for development of a vaccine against HIV-1. In: Girard M, Valette L, eds. *Retroviruses of human AIDS and related animal diseases*. VIII^e Colloque des «Cent Gardes». Marnes-la-Coquette, Paris: Fondation Mérieux, Lyon, 1993: 205-9.
22. Kirchhoff F, Kestler III HW, Desrosiers RC. Upstream U3 sequences in simian immunodeficiency virus are selectively deleted *in vivo* in the absence of an intact *nef* gene. *J Virol* 1994; 68: 2031-7.
23. Baba TW, Jeong YS, Penninck D, Bronson R, Greene MF, Ruprecht RM. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of neonatal macaques. *Science* 1995; 267: 1820-5.
24. Desrosiers RC, Wyand MS, Kodama T, Ringler DJ, Arthur LO, Sehgal PK, Letvin NL, King NW, Daniel MD. Vaccine protection against simian immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6353-7.
25. Murphey-Corb M, Martin LN, Davison-Fairburn JB, Montelaro RC, Miller M, West M, Ohkawa S, Baskin GB, Zhang JH, Putney SD, Allison AC, Eppstein DA. A formalin-inactivated whole SIV vaccine confers protection in macaques. *Science* 1989; 246: 1293-7.

Vaccination par du VIS inactivé : rôle de la réponse xénotypique dans la protection

L'avantage des vaccins viraux tués par rapport aux vaccins viraux vivants atténués réside principalement dans leur innocuité. Mais, cette dernière peut être discutable à plusieurs niveaux. Bien que les méthodes actuelles d'inactivation du VIH soient incontestablement très efficaces en ce qui concerne les produits dérivés de sang humain, la certitude de l'inactivation complète des virus contenus dans une dose vaccinale est toute relative. Cela s'explique aisément par la quantité de particules virales présentes dans le sang circulant lors de l'infection, quantité beaucoup plus faible que celle nécessaire à une préparation vaccinale. Par ailleurs, selon la méthode d'inactivation du virus, les protéines virales pourront être plus ou moins dénaturées, en particulier dans leur conformation, ce qui peut altérer leur potentiel immunogène.

En utilisant, en présence d'adjuvant, plusieurs injections de virus VIS inactivés, soit par le formol, soit par la β -propiolactone, plusieurs groupes ont pu protéger des macaques de l'infection et/ou de la maladie après épreuve virulente [24-27]. Cependant, la réponse humorale spécifique des protéines d'enveloppe du VIS induite par ce type de vaccin n'était que grossièrement corrélée à la protection des animaux contre l'infection expérimentale par le VIS. De plus, ces résultats encourageants allaient être remis en question par l'étude de Stott [28]. Celui-ci a en effet montré que les protections obtenues précédemment semblaient être liées, non pas à une réponse spécifique antivirale, mais à une réponse immunitaire xénotypique dirigée contre les cellules humaines sur lesquelles étaient cultivés les virus de vaccination et d'épreuve (*m/s n° 9, vol. 7, p. 982*). Cette observation a été ensuite confortée par l'étude de Langlois *et al.* [29] qui a montré que la protection des macaques était en fait corrélée à l'induction d'anticorps anti-cellules humaines. On a pu montrer par la suite que la réponse immunitaire xénotypique induite était liée aux molécules du CMH humain incorporées dans les virus de vaccination et d'épreuve lors de leur

production sur des cellules humaines [30]. La protection des macaques immunisés et éprouvés par le VIS ainsi obtenu était plus exactement corrélée à la réactivité des sérums de ces macaques avec les molécules du CMH humain, comme le DR4 [20, 31]. En effet, lors de l'infection naturelle, la β 2-microglobuline et les chaînes α et β du HLA-DR sont associées physiquement aux virions lors du bourgeonnement du virus à la surface cellulaire et interviendraient lors de l'adhérence aux cellules CD4⁺. Ainsi, un nouvel élément était apporté dans la connaissance des mécanismes immunitaires capables d'induire une protection contre l'infection par le VIS. La réponse xénotypique serait efficace, non seulement pour éliminer les cellules infectées d'une autre espèce, mais également pour détruire les virions libérés à partir de ces cellules du fait des molécules du CMH présentes à leur surface.

En résumé, l'utilisation du VIS inactivé comme vaccin n'a permis d'induire la protection de macaques après épreuve virulente expérimentale que lorsque l'immunogène et le virus d'épreuve étaient produits sur cellules humaines. Cette protection, due à une réponse immunitaire xénotypique, n'était pas retrouvée lorsque le virus d'épreuve était obtenu à partir de cellules de macaques. Une protection a été observée chez des macaques éprouvés par des cellules de macaques infectés uniquement dans deux cas [32, 33]. Dans le premier, elle semblait en rapport avec une réponse cellulaire liée à un haplotype partagé entre les macaques protégés et le macaque infecté par le VIS dont les cellules ont servi à l'épreuve. Dans le deuxième, les macaques, dont la maladie a été retardée, semblent avoir développé grossièrement plus d'anticorps anti-VIS totaux et plus d'anticorps neutralisant le VIS, mais la réponse cellulaire n'a pas été encore analysée.

Dans le cas de l'infection naturelle de l'homme par le VIH, on peut se demander si l'induction d'une réponse immunitaire allotypique ne serait pas suffisamment efficace pour éliminer les virus et/ou les cellules infectées transmis par l'individu contaminant.

Vaccination par des antigènes recombinants : la neutralisation virale intervient-elle dans la protection ?

Des vaccins recombinants utilisant protéines et peptides sont maintenant développés pour induire une réponse immunitaire importante et aussi complète que possible, sans toutefois présenter les risques associés à l'utilisation de virus vivants atténués ou inactivés. En effet, l'utilisation de sous-unités produites génétiquement et très purifiées permet d'éviter tout problème de contamination par les acides nucléiques du virus ou par le virus lui-même. Dans le cas des virus de l'immunodéficience, le choix des protéines utilisées dans les vaccins recombinants se porte en général sur l'enveloppe, puisqu'elle contient les épitopes cibles des anticorps neutralisants et, d'autre part, le site d'attachement du virus à son récepteur, la molécule CD4 [34]. De plus, l'histoire de la vaccination montre que des vaccins fondés sur les protéines de surface ont pu être obtenus contre certaines infections virales, notamment celle causée par le virus de l'hépatite B. Plusieurs équipes de recherche ont donc évalué chez le macaque différents vaccins recombinants constitués des protéines d'enveloppe du VIS. Ces expériences montrent que ces vaccins ne permettent pas toujours d'induire la protection des macaques, même si les protocoles et les protéines utilisés sont sensiblement les mêmes, et malgré l'induction d'anticorps spécifiques, parfois neutralisants, du VIS [35-41]. Dans certains cas, une protection partielle, voire totale, des macaques a pu être observée, mais le degré de protection obtenu n'était pas lié aux anticorps neutralisant le VIS. Il faut également préciser que, dans ces expériences, les isolats du VIS utilisés dans les épreuves virulentes sont différents et ont souvent une pathogénie variable. Les résultats de protection sont donc difficilement comparables d'une équipe à l'autre. Pour l'élaboration d'un vaccin, on peut choisir d'utiliser tous les épitopes des protéines virales d'enveloppe par le biais de protéines recombinantes entières, ou de sélectionner un ou plusieurs épitopes pour éviter la compétition antigénique intraprotéique. Dans ce dernier cas, il est pos-

sible d'utiliser les épitopes choisis sous forme de peptides, de fragments protéiques ou de les intégrer dans un système capable de les exposer de manière optimale au système immunitaire et d'amplifier ainsi la réponse immune spécifique obtenue. L'utilisation de peptides permet également d'éliminer les épitopes du virus potentiellement pathogènes, c'est-à-dire les domaines pouvant induire des anticorps facilitants de l'infection virale, les séquences présentant des analogies avec les molécules du soi, ainsi que les séquences suppressives des fonctions immunitaires (pour revue, voir [42]). Cependant, les régions antigéniques majeures du VIS ne sont pas aussi bien définies que celles du VIH-1, tant sur le plan fonctionnel qu'immunogénique. En particulier, le domaine V3 du VIS ne contient pas de déterminant principal de neutralisation analogue à celui du VIH-1. Après vaccination par quatre peptides de la gp120 et de la gp41 de l'isolat VISmne choisis par homologie avec des peptides immunogènes du VIH-1 et couplés à la protéine β -galactosidase de *E. coli*, des macaques ont développé des anticorps contre la protéine transmembranaire et, plus faiblement, contre la protéine de surface [43]. A la suite d'une épreuve virulente par le clone moléculaire non pathogène VISmne et malgré la présence d'anticorps neutralisant *in vitro* ce virus, une protection incomplète des macaques a été observée.

Sachant que le domaine V2 du VISmac contient un épitope de neutralisation et que les anticorps spécifiques de ce domaine semblent être corrélés à une meilleure évolution clinique chez les macaques infectés [44, 45], nous avons utilisé un protocole d'immunisation associant des injections de virus recombinants de la vaccine codant pour la protéine d'enveloppe gp140, suivies de rappels par le domaine V2 présenté par l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) dans le but d'augmenter son immunogénicité [46-48]. Les macaques vaccinés ont développé des anticorps neutralisants, en partie spécifiques de la région V2, et comparables en titre à ceux observés chez les macaques infectés mais sans qu'aucune réponse cellulaire cytotoxique ne soit mise en évidence

[41]. Lors de l'épreuve virulente, les singes vaccinés et les singes témoins ont été infectés et une virémie prolongée a été observée chez les macaques vaccinés par rapport aux témoins. Le faible nombre d'animaux utilisés dans cette étude ne permet néanmoins pas de conclure quant au rôle éventuellement délétère des anticorps neutralisants induits par la vaccination et spécifiques du domaine V2.

Cependant, ces résultats démontrent clairement, comme le laissaient soupçonner les expériences précédemment citées, que les anticorps neutralisant le VIS ne sont pas corrélés à la protection dans le modèle VIS/macaque. Trois hypothèses peuvent être envisagées : soit les anticorps neutralisants mesurés *in vitro* ne neutralisent pas le VIS *in vivo*, comme cela a déjà été observé pour le virus de l'hépatite murine 4 [49], soit une différence qualitative des anticorps neutralisants induits par les vaccins ne permet pas d'obtenir la protection, soit la protection est due à un autre type de réponse immunitaire non évalué dans les expériences décrites, comme par exemple la réponse cellulaire cytotoxique spécifique ou l'activité cytotoxique liée au complément.

Immunisation passive contre le VIS

Pour tenter d'élucider le rôle des anticorps neutralisants dans la protection contre le VIS, plusieurs expériences de transfert passif ont été réalisées en utilisant du sérum provenant, soit de macaques infectés [50, 51], soit de macaques vaccinés [20, 51]. La protection lors d'une épreuve virulente a été parfois obtenue ; elle était alors corrélée aux titres d'anticorps mesurés en ELISA mais pas aux titres de neutralisation. Aucune corrélation précise n'a pu être établie entre les caractéristiques des immunoglobulines présentes dans les différents sérums et le pourcentage de protection obtenu dans chaque groupe. Encore une fois, la spécificité et la fonction des anticorps impliqués dans la protection, quand elle est obtenue, ne sont pas connues. Ces expériences n'ont donc pas permis de lier de manière quantitative ou qualitative les anticorps neutralisants à la protection.

26. Carlson R, McGraw TP, Keddie E, Yee JL, Rosenthal A, Langlois AJ, Dickover R, Donovan R, Luciw PA, Jennings MB, Gardner MB. Vaccine protection of rhesus macaques against simian immunodeficiency virus infection. *AIDS Res Hum Retrovir* 1990; 6: 1239-46.
27. Stott E, Chan W, Mills K, Page M, Taffs F, Cranage M, Greenaway P, Kitchin P. Preliminary report: protection of cynomolgus macaques against simian immunodeficiency virus by fixed infected-cell vaccine. *Lancet* 1990; 336: 1538-41.
28. Stott EJ. Anti-cell antibody in macaques. *Nature* 1991; 353: 393.
29. Langlois AJ, Weinhold KJ, Matthews TJ, Greenberg ML, Bolognesi DP. The ability of certain SIV vaccines to provoke reactions against normal cells. *Science* 1992; 255: 292-3.
30. Arthur LA, Bess Jr. JW, Sowder II RC, Benveniste RE, Mann DL, Chermann JC, Henderson LE. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992; 258: 1935-8.
31. Chan WL, Rodgers A, Hancock RD, Taffs F, Kitchin P, Farrar G, Liew FY. Protection in simian immunodeficiency virus-vaccinated monkeys correlates with anti-HLA class I antibody response. *J Exp Med* 1992; 176: 1203-7.
32. Heeney J, van Els C, De Vries P, Ten Haaf P, Otting N, Koorstra W, Boes J, Dubbes R, Niphuis H, Dings M, Cranage M, Norley S, Jonker M, Bontrop RE, Osterhaus A. Major histocompatibility complex class I-associated vaccine protection from simian immunodeficiency virus-infected peripheral blood cells. *J Exp Med* 1994; 180: 769-74.
33. Hirsch VM, Goldstein S, Hynes NA, Elkins WR, London WT, Zack PM, Montefiori D, Johnson PR. Prolonged clinical latency and survival of macaques given a whole inactivated simian immunodeficiency virus vaccine. *J Infect Dis* 1994; 170: 51-9.
34. Brandt D, Truong C, Barin F. Domaines fonctionnels de l'enveloppe du VIH-1 et anticorps neutralisants. *médecine/sciences* 1994; 10: 417-24.
35. Murphey-Corb M, Montelaro RC, Miller M, West M, Martin LN, Davison-Fairburn B, Ohkawa S, Baskin GB, Zhang JH, Miller GB, Putney SD, Allison AC, Eppstein DA. Efficacy of SIV/DeltaB670 glycoprotein-enriched and glycoprotein-depleted subunit vaccines in protecting against infection and disease in rhesus monkeys. *AIDS* 1991; 5: 655-62.
36. Hu SL, Abrams K, Barber G, Moran P, Zarling JM, Langlois AJ, Kuller LR, Morton WR, Benveniste RE. Protection of macaques against SIV infection by subunit vaccines of SIV envelope glycoprotein gp160. *Science* 1992; 255: 456-9.
37. Mills KHG, Page M, Chan WL, Kitchin P, Stott EJ, Taffs F, Jones W, Rose J, Ling C, Silvera P, Corcoran T, Flanagan B, Burny A, Bex F, Delchambre M, Van Opstal O, Fabry L, Thiriart C, Delers A, DeWilde M, Bruck C. Protection against SIV infection in macaques by immunization with inactivated virus from the BK28 molecular clone, but not with BK28-derived recombinant Env and Gag proteins. *J Med Primatol* 1992; 21: 50-8.
38. Mills KHG, Page M, Kitchin P, Chan WL, Jones W, Silvera P, Corcoran T, Flanagan B, Ling C, Thiriart C, DeWilde M, Bruck C, Rud E, Clark B, Stott EJ. Immunisation of macaques with SIV env recombinants: specificity of T cell and antibody responses and evaluation of protective efficacy. *J Med Primatol* 1993; 22: 104-9.
39. Giavedoni LD, Planelles V, Haigwood NL, Ahmad S, Kluge JD, Marthas M, Gardner MB, Luciw PA, Yilma TD. Immune response of Rhesus macaques to recombinant simian immunodeficiency virus gp130 does not protect from challenge infection. *J Virol* 1993; 67: 577-83.
40. Israel ZR, Edmonson PF, Maul DH, O'Neil SP, Mossman SP, Thiriart C, Fabry L, Van Opstal O, Bruck C, Bex F, Burny A, Fultz PN, Mullins JI, Hoover EA. Incomplete protection, but suppression of virus burden, elicited by subunit simian immunodeficiency virus vaccines. *J Virol* 1994; 68: 1843-53.
41. Schlienger K, Montefiori DC, Mancini M, Rivière Y, Tiollais P, Michel ML. Vaccine-induced neutralizing antibodies directed in part to the simian immunodeficiency virus (SIV) V2 domain were unable to protect rhesus monkeys from SIV experimental challenge. *J Virol* 1994; 68: 6578-88.
42. Haynes BF. Scientific and social issues of human immunodeficiency virus vaccine development. *Science* 1993; 260: 1279-86.
43. Shafferman A, Jahrling PB, Benveniste RE, Lewis MG, Phipps TJ, Eden-McCutchan F, Sadoff J, Eddy GA, Burke DS. Protection of macaques with a simian immunodeficiency virus envelope peptide vaccine based on conserved human immunodeficiency virus type 1 sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7126-30.
44. Benichou S, Venet A, Beyer C, Tiollais P, Madaule P. Characterization of B-cell epitopes in the envelope glycoproteins of simian immunodeficiency virus. *Virology* 1993; 194: 870-4.
45. Samuelsson A, Bjorling E, Putkonen P, Utter G, Chiodi F, Norrby E. Identification of four antibody-binding sites in the envelope proteins of simian immunodeficiency virus, SIVsm. *AIDS* 1993; 7: 159-65.
46. Michel ML, Mancini M, Sobczak E, Favier V, Guetard D, Bahraoui EM, Tiollais P. Induction of anti-human immunodeficiency virus (HIV) neutralizing antibodies in rabbits immunized with recombinant HIV/hepatitis B surface antigen particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 7957-61.
47. Michel ML, Mancini M, Rivière Y, Dormont D, Tiollais P. T- and B-lymphocyte responses to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in macaques immunized with hybrid HIV/hepatitis B surface antigen particles. *J Virol* 1990; 64: 2452-5.

Conclusion

Dans les expériences d'immunisation active contre le VIS effectuées chez le macaque, une protection partielle, variable selon le pouvoir infectieux des isolats viraux d'épreuve, peut certes être parfois obtenue. Cependant, cette protection est mal comprise, aucun lien direct n'ayant pu être établi entre un versant spécifique de la réponse immunitaire induite par la vaccination et cette protection. Par exemple, les anticorps neutralisants spécifiques du VIS sont parfois présents quand il y a protection, mais cette corrélation n'est pas quantitative. Par ailleurs, les expériences d'immunisation passive n'ont pas pu démontrer le rôle des anticorps neutralisants dans la protection contre l'infection. Il est possible que la protection observée lors de l'immunisation par des virus vivants atténués soit liée à un phénomène d'interférence virale et non à une réponse immunitaire spécifique. De même, la protection lors de la vaccination par des virus inactivés a été attribuée à une réponse immunitaire xénotypique et non à une réponse spécifique du VIS. Pourtant, les rares protections observées après vaccination par des protéines d'enveloppe recombinantes, par des peptides ou par des virus vivants recombinants semblent liées globalement à une réponse immunitaire spécifique du VIS, mais dépendent aussi largement du pouvoir infectieux de l'isolat utilisé pour l'épreuve virulente. Il est vrai que la réponse cellulaire, en particulier cytotoxique, commence seulement à être explorée [52-55] et que l'influence de cette réponse sur la protection après épreuve virulente n'est pas totalement connue à ce jour [56].

Perspectives

Trois modèles primates différents sont disponibles pour aborder la problématique de la vaccination contre le SIDA chez l'homme. Le modèle VIH-1/chimpanzé permet d'étudier les conditions de l'infection par le VIH-1 et d'évaluer le pouvoir protecteur d'un vaccin contre l'infection mais pas contre le développement de la maladie. L'infection du macaque par le VIH-2 autorise le même type

RÉFÉRENCES

48. Schlienger K, Mancini M, Rivière Y, Dormont D, Tiollais P, Michel ML. Human immunodeficiency virus type 1 major neutralizing determinant exposed on hepatitis B surface antigen particles is highly immunogenic in primates. *J Virol* 1992; 66: 2570-6.
49. Talbot PJ, Salmi AA, Knobler RL, Buchmeier MJ. Topographical mapping of epitopes on the glycoproteins of murine hepatitis virus-4 (strain JHM): correlation with biological activities. *Virology* 1984; 132: 250-60.
50. Putkonen P, Thorstensson R, Ghavamzadeh L, Albert J, Hild K, Biberfeld G, Norrby E. Prevention of HIV-2 and SIVsm infection by passive immunization in cynomolgus monkeys. *Nature* 1991; 352: 436-8.
51. Lewis MG, Elkins WR, McCutchan FE, Benveniste RE, Lai CY, Montefiori DC, Burke DS, Eddy GA, Shafferman A. Passively transferred antibodies directed against conserved regions of SIV envelope protect macaques from SIV infection. *Vaccine* 1993; 11: 1347-55.
52. Shen L, Chen ZW, Miller MD, Stallard V, Mazzara GP, Panicali DL, Letvin NL. Recombinant virus vaccine-induced SIV-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes. *Science* 1991; 252: 440-3.
53. Yasumoti Y, Koenig S, Haun SS, Stover CK, Jackson RK, Conard P, Conley AJ, Emini EA, Fuerst TR, Letvin NL. Immunization with recombinant BCG-SIV elicits SIV-specific cytotoxic T lymphocytes in rhesus monkeys. *J Immunol* 1993; 150: 3101-7.
54. Miller MD, Gould-Fogerite S, Shen L, Woods RM, Koenig S, Mannino RJ, Letvin NL. Vaccination of rhesus monkeys with synthetic peptide in a fusogenic proteoliposome elicits simian immunodeficiency virus-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 1992; 176: 1739-44.
55. Bourgault I, Chirat F, Tartar A, Levy JP, Guillet JG, Venet A. Simian immunodeficiency virus as a model for vaccination against HIV: induction in rhesus macaques of GAG- or NEF-specific cytotoxic T lymphocytes by lipopeptides. *J Immunol* 1994; 152: 2530-7.
56. Yasutomi Y, Koenig S, Woods RM, Madson J, Wassef NM, Alving CR, Klein HJ, Nolan TE, Boots LJ, Kessler JA, Emini EA, Conley AJ, Letvin NL. A vaccine-elicited, single viral epitope-specific cytotoxic T lymphocyte response does not protect against intravenous, cell-free simian immunodeficiency virus challenge. *J Virol* 1995; 69: 2279-84.
57. Fast PE, Mathieson BJ, Schultz AM. Efficacy trials of AIDS vaccines: how science can inform ethics. *Curr Op Immunol* 1994; 6: 691-7.
58. Lévy JP. Le problème d'un vaccin contre le SIDA. *médecine/science* 1995; 11: 407-19.

1193 N 1, Vol. 11, Juillet 97

d'évaluation. Le modèle VIS/macaque, bien qu'imparfait puisqu'il n'utilise pas les mêmes virus que ceux qui infectent l'homme, est primordial pour l'étude de la pathogénie des virus de l'immunodéficience et pour l'étude de la réponse immunitaire impliquée dans la protection contre l'infection mais aussi contre le SIDA.

Dans le modèle chimpanzé, l'immunisation peut protéger de l'infection par le VIH-1 et, dans ce cas, la protection semble corrélée à la présence d'anticorps neutralisants spécifiques de la région V3. Ce type de réponse est obtenu aussi bien après immunisation active par des protéines recombinantes de l'enveloppe que par immunisation passive avec des anticorps spécifiques de l'enveloppe et du domaine V3. Cependant, on ne peut garantir la même efficacité d'une vaccination chez l'homme, du fait de la différence de pouvoir pathogène du virus VIH-1 entre l'homme et le chimpanzé.

Dans le modèle VIS/macaque où l'infection induit aussi une maladie, une protection, même incomplète, est difficilement obtenue par la vaccination et les mécanismes en sont certainement plus complexes. Aucun versant spécifique de la réponse immunitaire, tel que la réponse humorale neutralisante, n'a pu être corrélé à la protection des macaques. Cependant, la réponse cellulaire cytotoxique pourrait être un facteur majeur de cette protection. Plusieurs prototypes de vaccins sont à l'étude pour tenter de favoriser ce mode de réponse immunitaire.

Chez l'homme, des essais de vaccination contre le SIDA de phases I et II sont en cours et sont principalement fondés sur les vaccins recombinants contenant les protéines et/ou certains peptides de l'enveloppe. Ces vaccins prototypes semblent bien tolérés et induisent, à des degrés divers, à la fois des anticorps et une réponse immunitaire cellulaire spécifiques des antigènes du VIH-1 (pour revue, voir [57, 58]). Les résultats conjoints des expériences de protec-

tion chez l'animal et des études d'innocuité et d'efficacité chez l'homme constitueront les fondements de l'étape suivante, c'est-à-dire des essais d'efficacité à grande échelle chez l'homme ■

Summary

Vaccination against AIDS in primates

Efforts to develop a safe and effective AIDS vaccine have been facilitated by the development of several animal models. For example, chimpanzees can be infected by certain strains of HIV although they do not develop AIDS. In contrast, macaques infected with the simian immunodeficiency virus (SIV), a lentivirus closely related to HIV, develop a disease similar to AIDS in humans and this represents the best current model of HIV pathogenesis. Challenge of immunized macaques with SIV also permits the evaluation of vaccines which might be applied to the prevention of AIDS in humans. Protection from HIV-1 infection by vaccination in the chimpanzee model has correlated with induction of HIV-1 neutralizing antibodies directed to the V3 region of the envelope glycoprotein. In the SIV/macaque model, protection against infection and/or disease has been hardly obtained by vaccination. Furthermore, no correlation has been established between a component of the immune response and protection when it occurs. Uncertainties regarding animal protection data and human immunogenicity studies have delayed large-scale efficacy trials of candidate vaccines in humans.

TIRÉS À PART

K. Schlienger.