

IMMUNOLOGIE COMPARATIVE, IMPORTANCE POUR LA DÉCOUVERTE DE NOUVEAUX VACCINS

COMPARATIVE IMMUNOLOGY, IMPLICATION FOR VACCINE DISCOVERY

Par Roger LE GRAND⁽¹⁾,
(Communication présentée le 20 Juin 2019,
Manuscrit accepté le 18 Novembre 2019)

RÉSUMÉ

Le développement des vaccins pour l'homme comprend des exigences particulières. Il s'agit, en effet, de l'un des rares produits pharmaceutiques injectés à des individus en bonne santé dont le bénéfice attendu est à moyen ou long terme. Par ailleurs, la mesure de l'efficacité au sein d'une population exposée aux maladies infectieuses, qu'il s'agisse d'endémies, d'épidémies récurrentes ou d'émergences, est complexe, notamment du fait des contraintes sociétales, méthodologiques et statistiques. Pour l'ensemble de ces raisons, la recherche sur les vaccins fait une part importante aux études chez l'animal, en particulier les primates non-humains, en raison de leur proximité phylogénique avec l'homme. Les nouvelles technologies permettent l'exploration de la réponse immune dans ces espèces et la visualisation, chez l'individu vivant par des approches peu invasives, des interactions du pathogène avec l'hôte. Ils représentent des atouts importants pour le développement des vaccins du futur tout en préservant le bien-être des animaux en recherche biomédicale.

Mots-clés : Vaccins, modèles animaux, technologies avancées.

ABSTRACT

The development of human vaccines have several specificities. Vaccines are one of the rare pharmaceutical product injected to healthy people with an expected benefit in the mid and long-term. In addition, the evaluation of vaccine efficacy in populations exposed to infectious diseases, including endemics, recurrent epidemics and emerging diseases, is complex, in particular due to social, methodological and statistical constraints. Therefore, research of human vaccines include a large part of animal studies, and the non-human primates in particular due to their close phylogenetic proximity with humans. The new advanced technologies for immunology and for the visualization of host-pathogen interaction in vivo with little invasive approaches, offer new opportunities for vaccine development while taking into account the welfare of animals in biomedical research.

Keywords: Vaccine, animal model, advanced technologies.

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont responsables d'environ 17 millions de morts chaque année et d'un cinquième des décès chez les hommes et les femmes de moins de 60 ans. Elles impactent tout particulièrement les personnes aux âges extrêmes de la vie : les plus jeunes, dont les défenses immunitaires sont insuffisamment

matures ou chez qui les vaccinations sont incomplètes, et les plus âgés, en raison de la perte d'efficacité des mécanismes de défense qui s'aggrave avec le vieillissement. L'OMS estime que près de 60% de la mortalité des enfants de moins de cinq ans est directement liée aux infections responsables d'atteintes respiratoires

(1) 1.Dr Vétérinaire et Dr en Sciences, CEA-INSERM-UNIVERSITÉ PARIS SACLAY, Département IDMIT, 18 route du Panorama, 92265, Fontenay-aux-Roses, Cedex.
Courriel : roger.le-grand@cea.fr

et intestinales, ainsi qu'au paludisme et au SIDA (https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2019). La vaccination représente l'une des stratégies les plus efficaces pour prévenir les maladies transmissibles. La variole a été déclarée éradiquée en 1980 à la suite de la campagne de vaccination mondiale menée par l'OMS. Elle ne survient plus de façon naturelle depuis le dernier cas enregistré en Somalie en 1977 (<https://www.cdc.gov/smallpox/history/history.html>). En octobre 2019, le virus de type 3 de la polio a été reconnu éradiqué de la planète par le OMS, après l'annonce de l'éradication du type 2 en septembre 2015 (<http://polioeradication.org/news-post/day-after-wpv3-declared-as-eradicated-who-dg-thanks-all-stakeholders-who-made-this-possible/>). Seul le virus de la polio de type 1 continue de représenter une menace, notamment en Asie et en Afrique. A l'heure actuelle, il est estimé que les vaccinations sauvent près de 2 à 3 Millions de vies humaines par an (<https://www.who.int/campaigns/immunization-week/2017/en/>). L'incidence de pathologies impactant fortement la santé humaine comme la diphtérie, le tétanos, la rougeole ou la rubéole, a considérablement diminué depuis la fin du 20ème siècle du fait de campagnes de vaccination actives et de bonne couverture vaccinale des populations affectées. Cependant, à l'heure actuelle, il n'y a pas de vaccin disponible contre des pathologies majeures comme la tuberculose, le paludisme et le SIDA, responsables à elles seules de plus de 3 Millions de décès chaque année. Le développement de prophylaxies efficaces vis-à-vis de ces pandémies, notamment par l'immunisation, nécessite un effort important de recherche, y compris pour la compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires des interactions des pathogènes avec leur hôte ou les mécanismes permettant le maintien d'une mémoire immunitaire durable et de large spectre. Par ailleurs, certains vaccins contre des maladies infectieuses telles que la grippe, la coqueluche ou la dengue, nécessitent d'être améliorés. Enfin, les menaces émergentes imposent une accélération de la recherche, préparant la communauté scientifique et médicale à la mise en place rapide des contremesures médicales et prophylactiques. L'ensemble de ces éléments justifient la place prédominante que prennent les recherches chez l'animal dans le développement des vaccins pour l'homme.

L'APPORT DES ÉTUDES CHEZ L'ANIMAL EN RECHERCHE VACCINALE

Au-delà des tests précliniques de toxicologie, réglementaires, l'évaluation de nouveaux concepts, la preuve du pouvoir immunogène d'une nouvelle approche, la compréhension des mécanismes immunitaires mis en jeu ainsi que l'estimation de l'efficacité dans les modèles de maladies et l'identification des corrélats de protection, représentent autant d'étapes où la complexité des mécanismes biologiques impliqués ne permet pas une approche exclusivement *in vitro* ou *ex vivo*. Par comparaison au développement des autres produits de santé, des contraintes particulières s'imposent à la recherche et au développement des vaccins chez l'homme qui justifient une utilisation plus importante des animaux à des fins scientifiques. En effet, le

vaccin est l'un des rares produits pharmaceutiques administré à des individus en bonne santé et dont le bénéfice est attendu à une échéance plus moins distante de son administration. D'une part, ceci implique une précaution particulière dans l'évaluation de son innocuité qui peut augmenter très significativement la durée de la recherche et de son développement, ainsi que le coût associé. D'autre part, il en résulte une perception moins facile et immédiate du bénéfice individuel au regard du risque de la vaccination. Des effets indésirables mineurs peuvent pour cette raison représenter un frein à l'acceptation du vaccin. Les études chez l'animal permettent de tester des stratégies d'immunisation qui réduisent aux mieux les réactions de l'hôte à l'injection du vaccin, tout en préservant leur efficacité. La fréquence des effets plus sévères, même s'ils sont difficiles à éradiquer, doit être infiniment plus faible que la proportion des individus auxquels le vaccin apportera un bénéfice. Déceler ces effets qui sont rares impose des tests chez un nombre important d'individus. Les études préalables chez l'animal facilitent leur prédiction. Le bénéfice individuel est la résultante de l'efficacité à protéger l'individu vacciné et de la limitation de la circulation des pathogènes au sein d'une population, lorsqu'une proportion d'individus vaccinés (ou couverture vaccinale) est suffisante. L'évaluation de cette efficacité est compliquée par le fait que seule une proportion plus ou moins large de la population potentiellement bénéficiaire du vaccin est affectée par le pathogène et que, par ailleurs, de nombreuses infections sont naturellement asymptomatiques. Au cours d'une épidémie ou lors des endémies, la maladie n'affecte donc qu'une proportion plus moins importante de la population, généralement inférieure aux nombre d'individus qui hébergent le pathogène. En conséquence, l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin au cours des essais de phases III chez l'homme, implique dans une majorité de cas l'inclusion d'un nombre important d'individus, fonction de l'incidence de la maladie, et pour des durées parfois longues, de manière à permettre une évaluation statistique avec une puissance suffisante (Boily *et al* 1999). A titre d'exemple, l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin anti-VIH, chez une population dont l'incidence serait de 2%, nécessite le recrutement d'environ 25 000 volontaires par bras testé. Au rythme de 100 recrutements par semaine, le temps d'inclusion du nombre de volontaires requis est estimé à de 4,8 années. Lorsque les modèles animaux reproduisent la maladie observée chez l'homme, ils permettent alors d'estimer l'efficacité des meilleurs stratégies d'immunisation envisagées et d'accélérer le processus d'optimisation et de sélection des candidats vaccins qui seront testés chez l'homme. Enfin, certaines épidémies sont parfois naturellement résolues dans un temps inférieur à celui nécessaire pour développer un vaccin. Les récentes épidémies d'Ebola en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale en sont un bon exemple. Les études chez l'animal représentent dans ce cas l'unique approche possible pour prédire leur efficacité chez l'homme et donc la préparation à une riposte rapide aux futurs épisodes épidémiques.

LES MODÈLES EXPÉRIMENTAUX EN RECHERCHE VACCINALE

Par définition, les modèles expérimentaux, qu'ils impliquent ou non des études chez l'animal, ne reproduisent que partiellement les pathologies humaines, et les maladies infectieuses n'y font pas exception. En conséquence, la prédiction des mécanismes biologiques, ainsi que de l'innocuité et l'efficacité d'une stratégie thérapeutique ou vaccinale, doit s'accompagner nécessairement d'une appréciation rigoureuse des avantages et des limites du modèle expérimental. Cette évaluation peut être complexe et nécessiter une caractérisation approfondie des mécanismes cellulaires et moléculaires afin de s'assurer au mieux leur ressemblance avec les mécanismes mis en jeu dans l'organisme humain. Il n'y a pas, par ailleurs, d'espèce animale privilégiée pour l'étude des infections humaines, le choix du modèle expérimental et la justification de son utilisation est dépendante de la question scientifique abordée. Ce choix doit tenir compte de la connaissance des limites au-delà desquelles l'incertitude de sa valeur prédictive augmente. Les primates non humains (PNH) ont une place particulière dans la lutte contre les maladies infectieuses humaines. En raison de leur proximité phylogénétique ils représentent, d'une part, une source significative de zoonoses et, d'autre part, une opportunité unique pour modéliser les maladies humaines et développer des stratégies pour les prévenir et les traiter. Les PNH sont les hôtes d'un grand nombre de pathogènes qui affectent également l'homme (Wolfe *et al* 2007, Gardner *et al* 2008, Estes *et al* 2018). Ils sont impliqués dans la circulation des arbovirus comme le virus de la fièvre jaune, le virus Zika ou le *chikungunya*, ils sont les hôtes intermédiaires de pathogènes comme le virus Ebola, et ils constituent la source de pathogènes qui peuvent émerger lors de passages accidentels inter-espèces, comme c'est le cas pour différentes souches de plasmodiums ou de lentivirus. Au cours des dernières décennies, le VIH est, en effet, l'un des exemples le plus marquant et le plus dramatique. Les primates africains sont à l'origine du virus qui affecte aujourd'hui plus de 30 millions de personnes (Sharp *et al* 2000, Keele *et al* 2006). Paradoxalement, ils représentent également un espoir pour la recherche contre le SIDA. En effet, la majorité des espèces africaines qui hébergent naturellement des lentivirus proches du VIH ne développent pas la maladie. Comprendre les mécanismes qui protègent du développement du SIDA dans ces espèces est certainement clé pour le développement d'un vaccin ou les traitements du VIH/SIDA chez l'homme (Silvestri *et al* 2007, Pandrea *et al* 2008, Chahroudi *et al* 2012, Joas *et al* 2018). Les PNH, et les macaques en particulier, ont contribué de manière très importante à la recherche sur les moyens de prévenir des maladies infectieuses. Les exemples les plus significatifs sont le développement des vaccins contre les virus de la fièvre jaune et de la polio (Stulberg *et al* 1948, Mason *et al* 1973, Monath *et al* 1983, Gardner *et al* 2008, Monath 2013, Sato *et al* 2013, Shen *et al* 2017). Aujourd'hui, la recherche préclinique sur les vaccins implique largement l'utilisation de PNH en raison de leur capacité sans équivalent à prédire les effets des vaccins chez l'homme. Au cours des 25 dernières années, les outils néces-

saires à l'exploration de la réponse immune chez les PNH et le monitoring des infections expérimentales se sont sophistiqués et développés de manière considérable (Li *et al* 2012, Palgen *et al* 2018, Rosenbaum *et al* 2018). Ils permettant une caractérisation approfondie des biomarqueurs liés à l'innocuité, le pouvoir immunogène et l'efficacité des vaccins destinés à l'homme. Le séquençage des génomes des espèces les plus utilisées représente un atout sans précédent pour la recherche préclinique (Palgen *et al* 2018, Rosenbaum *et al* 2018). Des outils d'immunologie parmi les plus sophistiqués sont disponibles. Les technologies avancées pour l'imagerie *in vivo* sont en pleine expansion

L'IMAGERIE *IN VIVO*, UN EXEMPLE DES AVANCÉES RÉCENTES DANS LES TECHNOLOGIES POUR LA RECHERCHE PRÉCLINIQUE

La recherche sur les moyens de mieux prévenir les infections nécessite, d'une part, une meilleure compréhension des mécanismes fondamentaux de la pénétration et la dissémination des microorganismes pathogènes, de la mise en place des défenses de l'hôte, et de la pathogénèse, et d'autre part, l'amélioration des outils pour le diagnostic et l'évaluation de l'efficacité des traitements. Dans le cas des maladies infectieuses, les interactions entre le pathogène et l'organisme hôte sont très dynamiques et prennent fréquemment place dans des environnements complexes, comme des tissus et des organes, qui peuvent eux-mêmes être diversifiés et varier dans le temps. Les innovations récentes dans les technologies d'imagerie, appliquées à l'échelle moléculaire, microscopique ou de l'organisme entier, sont particulièrement puissantes pour capter ces interactions dans le temps et dans l'espace. La microscopie est sans aucun doute la technologie qui a, depuis Pasteur et Flemming, contribué le plus à la microbiologie et l'étude des mécanismes infectieux. Elle a été longtemps appliquée à des virus, des bactéries ou des parasites isolés en culture ou dans des tissus sortis de leur contexte ou inertes. Les nouvelles technologies permettent dorénavant d'envisager l'étude approfondie des microorganismes dans des tissus vivants, jusqu'à visualiser la complexité des phénomènes dans un organisme entier et vivant (Naninck *et al* 2018). Elles permettent d'accroître la précision des observations et la caractérisation des éléments visualisés au point où il est possible d'envisager, par exemple, l'identification d'un pathogène spécifique, dans les tissus profonds dans une espèce animale modèle ou directement chez le patient, à l'aide d'instruments comme l'IRM ou la tomographie par émission de positons (TEP) couplée à un scanner (TEP-CT). On peut ainsi limiter de manière très significative les interventions invasives, comme les biopsies. Chaque animal pouvant être mieux suivi dans le temps, il en résulte que les sujets peuvent être leur propre témoin en les imageant avant et après un traitement ou un vaccin et ainsi réduire considérablement le nombre d'animaux nécessaires dans les études. En préclinique des maladies infectieuses, ces modalités d'imagerie *in vivo* sont encore peu répandues de par l'accès limité

à des structures et des équipements adéquats et la nécessité de maintenir ces instruments dans des laboratoires en confinement biologique pour les pathogènes. Des études récentes montrent cependant leur potentiel. A titre d'exemple, la biodistribution des vaccins, peut-être visualisée, au sein de corps entier, par la combinaison des technologies d'imagerie par infra-rouge et de TEP-CT (Lindsay *et al* 2019). Enfin, l'identification des sites actifs de réplication virale dans l'infection expérimentale du macaque par le virus de l'immunodéficience simienne (SIV), utilisé en tant que modèle de l'infection par le VIH, a pu être « cartographiée » par imagerie TEP-CT. Une telle approche permettrait de mieux identifier les sanctuaires pharmacologiques persistant sous traitement (Santangelo *et al* 2015).

CONCLUSION

La qualité des animaux mis à disposition des chercheurs a également beaucoup progressé du fait d'un développement raisonné des élevages spécialisés. Ils prennent mieux en compte le bien être animal, un domaine en constante évolution. Ils produisent des animaux mieux caractérisés, notamment génétiquement, et dépourvus de pathogènes spécifiques. Aujourd'hui, tous les éléments sont en place pour une utilisation raisonnée, basée sur une méthodologie rigoureuse, des PNH pour la recherche biomédicale et en accord avec les règles préconisées par le Centre National pour le remplacement, raffinement et réduction des animaux en recherche (NC3Rs) basé au Royaume Uni (<https://www.nc3rs.org.uk/>).

BIBLIOGRAPHIE

- Boily MC, Masse BR, Desai K, Alary M, Anderson RM. Some important issues in the planning of phase III HIV vaccine efficacy trials. *Vaccine*. 1999; 17: 989-1004.
- Chahroudi A, Bosinger SE, Vanderford TH, Paiardini M, Silvestri G. Natural SIV hosts: showing AIDS the door. *Science*. 2012; 335: 1188-1193.
- Estes JD, Wong SW, Brenchley JM. Nonhuman primate models of human viral infections. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18: 390-404.
- Gardner MB, Luciw PA. Macaque Models of Human Infectious Disease. *Ilar Journal*. 2008; 49: 220-255.
- Joas S, Parrish EH, Gnanadurai CW, Lump E, Sturzel CM, Parrish NF *et al.*. Species-specific host factors rather than virus-intrinsic virulence determine primate lentiviral pathogenicity. *Nat Commun*. 2018; 9: 1371.
- Keele BF, Van Heuverswyn F, Li Y, Bailes E, Takehisa J, Santiago ML *et al.*. Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1. *Science*. 2006; 313: 523-526.
- Li D, Romain G, Flamar AL, Duluc D, Dullaers M, Li XH *et al.*. Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4+ T cells. *J Exp Med*. 2012; 209: 109-121.
- Lindsay KE, Bhosle SM, Zurla C, Beyersdorf J, Rogers KA, Vanover D *et al.*. Visualization of early events in mRNA vaccine delivery in non-human primates via PET-CT and near-infrared imaging. *Nat Biomed Eng*. 2019; 3: 371-380.
- Mason RA, Tauraso NM, Spertzel RO, Ginn RK. Yellow fever vaccine: direct challenge of monkeys given graded doses of 17D vaccine. *Appl Microbiol*. 1973; 25: 539-544.
- Monath TP. 17D Yellow Fever Virus Vaccine. *Am J Trop Med Hyg*. 2013; 89: 1225.
- Monath TP, Kinney RM, Schlesinger JJ, Brandriss MW, Bres P. Ontogeny of yellow fever 17D vaccine: RNA oligonucleotide fingerprint and monoclonal antibody analyses of vaccines produced world-wide. *J Gen Virol*. 1983; 64 Pt 3: 627-637.
- Naninck T, Coutte L, Mayet C, Contreras V, Loch C, Le Grand R, Chapon C. In vivo imaging of bacterial colonization of the lower respiratory tract in a baboon model of Bordetella pertussis infection and transmission. *Sci Rep*. 2018; 8: 12297.
- Palgen JL, Tchitchek N, Elhmozi-Younes J, Delandre S, Namet I, Rosenbaum P *et al.*. Prime and Boost Vaccination Elicit a Distinct Innate Myeloid Cell Immune Response. *Sci Rep*. 2018; 8: 3087.
- Pandrea I, Ribeiro RM, Gautam R, Gaufin T, Pattison M, Barnes M *et al.* Simian immunodeficiency virus SIVagm dynamics in African green monkeys. *J Virol*. 2008; 82: 3713-3724.
- Rosenbaum P, Tchitchek N, Joly C, Stimmer L, Hocini H, Dereuddre-Bosquet N *et al.* Molecular and Cellular Dynamics in the Skin, the Lymph Nodes, and the Blood of the Immune Response to Intradermal Injection of Modified Vaccinia Ankara Vaccine. *Front Immunol*. 2018; 9: 870.
- Santangelo PJ, Rogers KA, Zurla C, Blanchard EL, Gumber S, Strait K *et al.* Whole-body immunoPET reveals active SIV dynamics in viremic and antiretroviral therapy-treated macaques. *Nat Methods*. 2015; 12: 427-432.
- Sato Y, Shiosaki K, Goto Y, Sonoda K, Kino Y. Antibody responses of *Macaca fascicularis* against a new inactivated polio vaccine derived from Sabin strains (sIPV) in DTaP-sIPV vaccine. *Biologicals*. 2013; 41: 184-189.
- Sharp PM, Bailes E, Gao F, Beer BE, Hirsch VM, Hahn BH. Origins and evolution of AIDS viruses: estimating the time-scale. *Biochem Soc Trans*. 2000; 28: 275-282.
- Shen L, Chen CY, Huang D, Wang R, Zhang M, Qian L *et al.* Pathogenic Events in a Nonhuman Primate Model of Oral Poliovirus Infection Leading to Paralytic Poliomyelitis. *J Virol*. 2017; 91: pii: e02310-16.
- Silvestri G, Paiardini M, Pandrea I, Lederman MM, Sodora DL. Understanding the benign nature of SIV infection in natural hosts. *J Clin Invest*. 2007; 117: 3148-3154.
- Stulberg CS, Slater EA, Brumfield HP, Halvorson HO. Purified human poliomyelitis virus; infectivity for cynomolgus monkeys. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1948; 68: 282-284.
- Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007; 447: 279-283.