

# Abords nouveaux pour une prophylaxie de la grippe

La grippe est une maladie très contagieuse, et ses conséquences sont lourdes en santé publique et sur le plan économique. Elle est due à une famille de virus, *influenza virus A et B*, dont deux protéines exposées en surface, hémagglutinine et neuraminidase, sont à la fois très immunogènes et de séquence extrêmement variable. Des épidémies presque annuelles sont liées à des mutations de ces protéines, c'est la dérive génétique (*genetic drift*). Plus rarement, à intervalles variés et imprévisibles, des pandémies majeures, telles la grippe espagnole de 1918-1920, sont dues au passage inter-espèces de sous-types nouveaux dont les oiseaux sont des réservoirs (*genetic shift*). L'épidémie observée à Hong Kong en 1997, due au sous-type H5N1, montre que ce risque est très présent (*m/s 1998, n° 5, p. 659*).

La vaccination est jusqu'à présent la mesure préventive la plus efficace. Les vaccins inactivés classiques sont des mélanges d'hémagglutinines issues de deux souches d'influenza A et d'une souche d'influenza B. La nécessité de définir en permanence la meilleure adéquation possible entre les souches utilisées pour le vaccin et celles en circulation a motivé un effort international de prévision, qui dure depuis 50 ans sous l'égide de l'OMS. La protection est cependant incomplète, et la vaccination doit être effectuée tous les ans. Ces limites justifient les recherches afin d'obtenir une meilleure prophylaxie. De nouvelles stratégies vaccinales, utilisant un ADN plasmidique ou un ARN viral exprimant un gène viral, sont peut-être prometteuses, mais sont encore à une phase initiale, nécessitant l'injection de quantités importantes d'ADN. On n'en connaît ni la sécurité, ni l'efficacité. Deux autres stratégies préventives sont actuellement plus avancées.

Des chercheurs de l'Université de Gand, en Belgique, se sont focalisés

sur la recherche d'une protéine virale constante, dont on pourrait artificiellement augmenter le pouvoir immunogène [1]. M2, protéine intégrale du virus A, répond à cette définition. C'est une protéine mineure, de 97 acides aminés, dont l'extrémité amino-terminale de 24 résidus est exposée à la surface, le reste étant transmembranaire ou cytoplasmique. L'alignement des séquences amino-terminales de cette protéine dans différentes souches a montré leur extrême conservation dans le temps, depuis 1933, deux souches mutées seulement étant divergentes. La protéine M2 est abondamment exprimée à la surface des cellules infectées, elle l'est aussi, quoique dans une moindre proportion, à la surface de la particule virale. Il s'agit d'un homotétramère : deux dimères liés par des ponts disulfure sont réunis par des liaisons non covalentes.

La faible immunogénicité de M2 a été vérifiée expérimentalement chez la souris. Des anticorps spécifiques sont aussi retrouvés chez l'homme au décours d'une infection grippale. L'utilisation de cette protéine pour un vaccin ne pouvait donc se concevoir sans une augmentation de ce pouvoir immunogène. Le moyen

employé a été l'obtention d'une protéine de fusion entre les 23 résidus qui constituent la partie extracellulaire de la protéine M2 et la protéine du core de l'hépatite C, HBC (*figure 1*). HBC est ici utilisée comme un « transporteur » de l'épitope hétérologue M2, qui se localise spontanément à sa surface. Des essais d'immunisation contre le virus de la grippe ont été faits chez la souris par voie intrapéritonéale et ont confirmé le bien fondé de cette stratégie qui a permis d'obtenir une immunité durable contre un large spectre de virus A. Tous les paramètres observés ont montré une différence significative avec les séries témoins : la survie était 9-11/12 dans les séries traitées (3 séries de 12 animaux) contre 2/12 chez les témoins ( $p < 0,005$ ). La présence des anticorps a persisté pendant plus de 6 mois, et l'immunité était efficace contre une infection homologoue ou hétérologue, vérifiée en particulier dans le cas habituel où un acide aminé diffère entre les souches de culture et les souches de terrain (*figure 1*). La mise en évidence d'une protection passive par le sérum d'animaux immunisés démontre le rôle d'une immunité humorale. Des essais plus récents, enfin, ont montré l'utili-

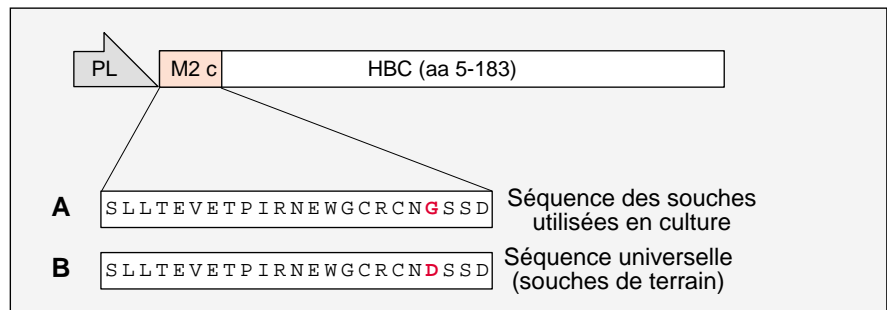


Figure 1. Protéine de fusion M2HBC, obtenue par couplage du segment extracellulaire (23 aa) de M2 à l'extrémité N-terminale de HBC. P<sub>L</sub> est le promoteur gauche du phage λ nécessaire pour l'expression dans E. coli. La séquence A représente celle qu'on retrouve dans la majorité des cultures vaccinales. La séquence B, différente par un résidu, est la séquence universelle de presque toutes les souches recueillies sur le terrain.

sation possible de la voie intranasale pour l'immunisation, sans adjuvant, ce dernier abord se présentant comme peut-être encore plus prometteur. On peut aussi envisager l'immobilisation du vaccin sur des microsphères, ce qui permettrait une libération prolongée.

Une option complètement différente de l'option vaccinale est ciblée sur le développement d'une nouvelle classe d'antiviraux, les inhibiteurs de la neuraminidase [2]. La logique de cet abord vient de ce que cette protéine de surface du virus, dont le site actif est très conservé, a un rôle majeur dans l'infektivité. Parce qu'elle clive un acide sialique, la neuraminidase détruit le récepteur de l'hémagglutinine des cellules infectées, permettant ainsi la libération du virus et l'invasion d'autres cellules. Les inhibiteurs de la neuraminidase, en se fixant sur le site actif, empêchent cette libération virale et la diffusion qui en résulte. Les premiers essais dans cette direction avaient utilisé l'amantadine (*Mantadix*) ou son dérivé la rimantadine, à titre prophylactique, avec ou sans vaccin classique. L'utilisation de ces deux molécules a cependant des limites: effets secondaires pénibles, développement de souches résistantes, absence d'action sur les souches de virus B. L'analyse cristallo-

graphique tridimensionnelle de la neuraminidase a permis plus récemment une recherche rationnelle de drogues efficaces. Un groupe coopératif réunissant plusieurs universités, et les laboratoires Roche, a publié une étude sur l'utilisation d'un inhibiteur de la neuraminidase administré par voie orale [3]. Le phosphate d'oseltamivir (GS4104, *Tamiflu*, Laboratoires Roche), qui est le précurseur pharmacologique de l'inhibiteur de neuraminidase GS4071, s'est avéré protecteur contre l'infection grippale chez l'homme. Le produit a été essayé au cours de l'épidémie de 1997-1998 dans deux séries d'essais menées en double aveugle, l'une en Virginie, l'autre au Texas et au Kansas. Son efficacité a été montrée par une diminution de 50 % du nombre de sujets atteints de grippe, évalué par la recherche clinique d'un épisode grippal et confirmé par des cultures positives pour le virus ( $p < 0,001$ ). La tolérance a été bonne: quelques effets secondaires, à type de nausées ou de troubles digestifs, ont été observés, en général précoces, n'empêchant pas la poursuite du traitement. La durée de la protection reste encore à déterminer, mais la valeur prophylactique du produit semble avérée, en l'absence de vaccination, en adjonction à celle-ci, ou en cas de pandémie.

Un autre inhibiteur de la neuraminidase a aussi fait l'objet d'une étude, et a même franchi l'étape d'une mise sur le marché. Il s'agit du Zanamivir (*Relenza*, Glaxo Wellcome), présenté comme efficace à titre prophylactique et à titre curatif, par inhalations [4]. Tous ces résultats restent toutefois partiels, la grippe n'est sans doute pas encore vaincue, les épidémies sont fréquentes et une pandémie d'origine aviaire reste redoutable et redoutée.

1. Neirynek S, Droo T, Saelens X, Vanlandschoot P, Min Jou W, Fiers W. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nat Med* 1999; 5: 1157-63.
2. Cox NJ, Hughes JM. New options for the prevention of influenza. *N Engl J Med* 1999; 341: 1387-8.
3. Hayden JG, Atmar RL, Schilling M, et al. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med* 1999; 341: 1336-43.
4. Monto AS, Robinson DP, Herlocher MI, Hinson JM, Elliott MJ, Crisp A. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282: 31-5.

#### Dominique Labie

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Mimétisme protéique et fonctionnel par les bactéries et les virus.** Deux articles parus dans *Science* montrent comment le mimétisme des protéines cellulaires par des protéines d'agents pathogènes permet l'entrée dans une cellule hôte et perturbe le système immunitaire. L'entrée de *Persinia pseudotuberculosis* dans les cellules eucaryotes est relayée par l'invasine, une protéine de la membrane externe qui se lie aux intégrines avec une affinité supérieure à celle des substrats naturels comme la fibronectine [1]. La comparaison de la structure cristalline de l'invasine et de la fibronectine révèle une évolution convergente au cours de laquelle la

surface de liaison de l'invasine à l'intégrine est optimisée par rapport aux substrats naturels. Cela jouerait en faveur de la bactérie lors de la compétition entre invasine et ligands naturels pour l'accrochage sur les récepteurs cellulaires. Le virus Epstein-Barr infecte les cellules épithéliales et les lymphocytes B. Il est associé au développement de plusieurs cancers et de lymphomes B. LMP1 est une protéine de latence virale essentielle à la transformation cellulaire. Cette protéine interagit avec plusieurs molécules de signalisation qui se lient normalement au CD40. Celui-ci, activé par la fixation de son ligand CD40-L, est un puissant système

d'activation des lymphocytes B. Grâce à des souris transgéniques, Uchida *et al* montrent que LMP1 mime un CD40 actif constitutionnellement [2]. Contrairement au CD40, la signalisation par LMP1 ne requiert pas la fixation du ligand pour induire la prolifération cellulaire et la sécrétion d'anticorps. En revanche, LMP1 bloque la formation des autres centres germinatifs qui sont les sites de maturation et de genèse des cellules B mémoires, ce qui aiderait à la survie du virus.

- [1. Hamburger ZA, et al. *Science* 1999; 286: 291-5.]
- [2. Uchida J, et al. *Science* 1999; 286: 300-3.]