

Peut-on augmenter l'efficacité du BCG en l'utilisant comme vecteur d'une protéine recombinante ?

La tuberculose reste aujourd'hui la première endémie mondiale – un tiers de l'humanité pourrait être porteur de bactéries latentes – et la première cause de morbidité et de mortalité par maladie infectieuse avec huit millions de nouveaux cas chaque année, et deux millions de décès. Une des caractéristiques de cette infection est l'existence d'une phase de latence, survenant après la primo-infection et dont la durée peut être très longue, avant l'éventuelle survenue d'une tuberculose active. Un travail récent, pluricentrique, coordonné à l'University College of London, a étudié les modes de persistance latente de *M. tuberculosis* [1]. L'étude a été menée parallèlement dans deux pays de forte endémicité, Mexique et Éthiopie, et dans un pays de faible endémicité, la Norvège. Des prélèvements nécropsiques ont été effectués sur le tissu pulmonaire de plusieurs séries de sujets, et étudiés par PCR conventionnelle et *in situ*. Les témoins positifs étaient des sujets éthiopiens morts de tuberculose, les témoins négatifs des sujets norvégiens indemnes de la maladie. La recherche elle-même était faite chez des sujets éthiopiens (n = 13) et mexicains (n = 34), tous morts de causes autres que la tuberculose. Dans des proportions voisines, et quelle que soit la technique de PCR, on identifiait 30 à 40 % d'individus positifs, les résultats attendus de 100 et 0 % étant retrouvés chez les témoins. Il est intéressant de noter que les bactéries n'étaient pas localisées dans d'anciennes lésions dormantes, mais au niveau de tissus sains, dans les macrophages alvéolaires et interstitiaux, les pneumocytes et les cellules endothéliales,

sans la moindre évidence histologique de tuberculose. Ce type de localisation intracellulaire, loin de toute lésion active, et d'une présentation antigénique minimale, devra être pris en compte dans des perspectives d'éradication.

De nombreux travaux portent actuellement sur la recherche vaccinale, rendue urgente par le développement rapide de résistances aux traitements curatifs habituels. Le vaccin traditionnel utilise le bacille de Calmette-Guérin (BCG), une souche vivante atténuée de *Mycobacterium bovis*. Si sa sécurité d'emploi et son faible prix de revient sont des atouts, son efficacité reste cependant variable, de l'ordre de 50 % (35 à 80 %), justifiant des efforts pour développer de nouvelles stratégies vaccinales. Outre la recherche de souches atténuées, plusieurs études ont porté ces dernières années sur le développement de vaccins fondés sur des protéines purifiées ou des vaccins ADN, simples ou en combinaisons multivalentes [2, 3]. Aucun de ces essais, cependant, n'avait jusqu'à présent permis d'induire une immunité supérieure à celle qui est obtenue avec le BCG traditionnel. D'où l'intérêt d'un travail récent, dû à une équipe de l'Université de Californie à Los Angeles, utilisant un BCG recombinant exprimant la protéine majeure de 30 kDa [4]. Cette protéine extracellulaire, sécrétée par *M. tuberculosis*, avait permis d'induire chez le cobaye une protection contre une infection ultérieure, vérifiée par des signes cliniques atténués et une moindre croissance de la souche virulente dans les poumons et la rate de l'animal. Elle était donc susceptible, comme agent de vaccination, de

conférer une bonne protection [5]. L'efficacité n'était cependant pas supérieure à celle du BCG. L'originalité, ici, est d'utiliser le BCG, vecteur vivant apte à se multiplier, comme vecteur de distribution dans l'organisme de la protéine recombinante de 30 kDa [4]. Un plasmide exprimant cette protéine a été introduit par électroporation dans la souche de BCG, et les effets vaccinaux de la nouvelle souche, rBCG30, ont été comparés à ceux du BCG sauvage. L'étude, menée chez le cobaye, a comporté une analyse des réactions dermiques, évidemment insuffisante, mais surtout l'infection de l'animal par une souche virulente par voie d'aérosols. Si les animaux immunisés par le BCG ou le vaccin rBCG30 sont protégés de façon semblable contre une détérioration rapide de leur état général, une différence considérable a été observée en revanche, en ce qui concerne la croissance de la bactérie dans les différents organes. Celle-ci est en effet très réduite dans le poumon et dans la rate. La protéine sécrétée a donc un pouvoir immunogène, dû sans doute au fait qu'elle soit libérée directement dans les cellules de l'hôte, et donc probablement disponible pour sa présentation à la surface de ces cellules par le complexe majeur d'histocompatibilité. La protéine 30 kDa utilisée ici, qui ne diffère que par deux acides aminés de la protéine endogène *M. bovis*, comporte de nombreuses régions immunoréactives, et ces épitopes sont très proches de ceux de la protéine endogène qui serait responsable de l'effet vaccinal du BCG [6]. Ce n'est sans doute pas cette différence de deux acides aminés qui explique la supériorité du rBCG30,

mais plutôt l'expression élevée de la protéine recombinante.

Il s'agit ici d'une expérimentation chez le cobaye. La protection induite chez cet animal très susceptible en fait un modèle valable, qui permet d'espérer une protection accrue du BCG recombinant chez l'homme. Le modèle d'un BCG atténué exprimant une protéine extracellulaire et induisant une forte immunité pourrait aussi être étendu à d'autres mycobactéries, *M. leprae*, agent de la lèpre, *M. avium-intracellulare*, responsable d'infections opportunistes chez les immunodéprimés, *M. bovis* enfin, agent de la tuberculose du bétail.

1. Hernandez-Pando R, Jeyanathan M, Mengistu G, et al. Persistence of DNA from *Mycobacterium tuberculosis* in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet* 2000; 356: 2133-8.
2. Morris S, Kelley C, Howard A, Li Z, Collins F. The immunogenicity of single and combination DNA vaccines against tuberculosis. *Vaccine* 2000; 18: 2155-63.
3. Delogu G, Howard A, Collins FM, Morris SL. DNA vaccination against tuberculosis: expression of a ubiquitin-conjugated tuberculosis protein enhances antimycobacterial immunity. *Infect Immun* 2000; 68: 3097-102.
4. Horwitz MA, Harth G, Dillon BJ, Maslesa-Galic S. Recombinant bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccines expressing the *Mycobacterium tuberculosis* 30-kDa major secretory protein induce greater protective immunity against tuberculosis than conventional BCG vaccines in a highly susceptible animal model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13853-8.

5. Horwitz MA, Lee BWE, Dillon BJ, Harth G. Protective immunity against tuberculosis induced by vaccination with major extracellular proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1530-4.
6. Lee BY, Horwitz MA. T-cell epitope mapping of the three most abundant extracellular proteins of *Mycobacterium tuberculosis* in outbred guinea pig. *Infect Immun* 1999; 67: 2665-70.

Dominique Labie

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

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Efficacité d'un vaccin ADN dans la prévention du SIDA chez le macaque.** L'immunité cellulaire joue un rôle important dans le contrôle de la réplication du VIH. Les stratégies de vaccination utilisant des vecteurs d'ADN ou des virus recombinants de la variole, soit du canari (*canary pox*), soit de la souche Ankara (rMVA) exprimant les gènes du VIH, administrés seuls, combinés, ou associés à l'administration de cytokines, ont permis d'obtenir des résultats intéressants dans les dernières années [1, 2]. En général la réponse immunitaire cellulaire induite chez le singe par la combinaison de ces vecteurs est supérieure (10 à 100 fois) à celle obtenue lorsqu'ils sont administrés isolément. Un essai récent [3] réalisé chez le macaque a montré l'efficacité d'un vaccin ADN codant pour un virus chimère SIV/VIH (exprimant des gènes du virus simien SIV et l'enveloppe du VIH) administré à deux reprises à deux mois d'inter-

valle, suivi d'une injection de rappel utilisant rMVA six mois plus tard. Les voies d'administration des vaccins ont été intradermiques ou intramusculaires. Dans tous les cas, cette association vaccinale a permis d'induire une forte réponse lymphocytaire T CD4 et CD8 (jusqu'à près de 20 % des cellules circulantes) synthétisant de l'interféron gamma. Cependant, cette réponse immunitaire n'a pas permis d'empêcher l'infection de l'ensemble des macaques vaccinés après administration intrarectale d'une souche virulente SIV/VIH. Contrairement aux animaux non immunisés, les macaques vaccinés ont une évolution favorable à long terme avec la persistance d'un taux normal de lymphocytes T CD4, l'absence de développement du SIDA, et une charge virale modérée après infection. La persistance, trois mois après l'infection, d'une réponse lymphocytaire T CD4 spécifique de faible intensité chez les animaux vaccinés

explique le maintien d'une réponse T cytotoxique permettant le contrôle de la réplication virale chez les animaux vaccinés. Cette association vaccinale permet donc d'induire une réponse immunitaire significative, incapable de prévenir l'infection d'une souche virulente, mais suffisante pour contrôler à long terme la réplication virale et prévenir l'évolution vers le SIDA. Ces résultats confortent les essais thérapeutiques actuellement en cours évaluant l'administration de vaccins canary pox recombinants seuls, ou associés à des cytokines, dans le but de prévenir la progression vers le SIDA chez les patients infectés.

- [1. Barouch DH, et al. *Science* 2000; 290: 486-92.]
- [2. Robinson HL, et al. *Nat Med* 1999; 5: 526-34.]
- [3. Amara RR, et al. *Science* 2001; 292: 69-74.]