

# LES VACCINS À ARN MESSAGER

Philippe Michel (Bx 65)

## Introduction

La Chine déclare le premier cas de Covid-19, maladie due au virus SARS-CoV2, en novembre 2019 à Wuhan. À peine quatre mois plus tard, les essais cliniques en phase II de deux vaccins à ARN messager (ARNm) anti-SARS-CoV2 débutent :

- Aux USA, le 16 mars 2020, pour le vaccin mRNA-1273 du Laboratoire Moderna.

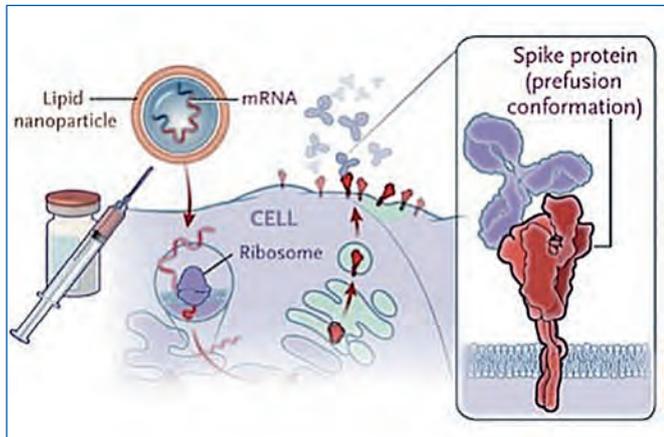
- En Allemagne, le 23 avril 2020 pour le vaccin de BioNTech et Pfizer à l'Institut Paul Ehrlich de Francfort.

... Moins de neuf mois plus tard, l'administration des deux vaccins débute.

Dans l'histoire de la vaccination, c'est la première fois qu'un développement aussi rapide est acquis avec succès en infectiologie.

## Définition

Ce type de vaccin active le système immunitaire par l'intermédiaire d'un ARNm dont la séquence nucléotidique code une protéine identique à l'antigène d'un agent pathogène. Ces protéines activent ensuite les lymphocytes producteurs d'anticorps et des sous-populations lymphocytaires (cellules mémoires, natural killers...). L'ARNm peut être *nu*, délivré directement en solution, ou *vectorisé* dans des nanoparticules, des virus à ARN peuvent aussi être utilisés comme vecteurs vaccinaux.



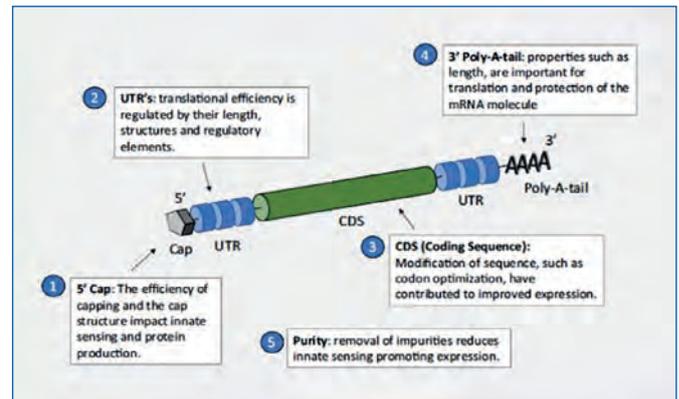
**Image 1** : Encapsulation de l'ARNm, codant la protéine Spike du coronavirus SARS-CoV-2, dans une nanoparticule lipidique. Cet ARN est traduit dans le cytoplasme cellulaire par des ribosomes en protéine vaccinale.

**L'ARNm.** Cette classe d'ARN est isolée et étudiée pour la première fois en 1956 et appelée *DNA-like RNA* (ARN similaire à l'ADN) par Volkin et Astrachan (1), mais sans en comprendre le rôle biologique. C'est François Gros qui caractérise leur rôle quelques années plus tard à la suite de l'hypothèse émise par Jacques Monod. Le concept d'ARNm est ensuite formulé, puis démontré par Jacques Monod, François Jacob et leurs collaborateurs en 1960 (2). Ces travaux sont couronnés par le Prix Nobel de Médecine en 1965.

L'ARNm est une copie simple brin linéaire de l'ADN, comprenant la région codant la protéine d'intérêt, encadrée de régions non codantes. Il est synthétisé sous forme de précurseur dans le noyau de la cellule lors du processus de *transcription*.

## La transcription (3)

L'ARN polymérase se fixe sur une séquence spécifique de l'ADN appelée brin de transcription, juste en amont du début de l'ARNm. Elle sépare alors les deux brins du duplex d'ADN et crée une bulle de transcription, puis synthétise la molécule d'ARN en utilisant le brin d'ADN comme matrice. Un signal de terminaison, situé en aval du ou des gènes transcrits déclenche l'arrêt de la transcription, le détachement de l'ARN polymérase et la libération de l'ARNm terminé. L'ARNm subit ensuite plusieurs étapes de maturation, ses deux extrémités sont modifiées, certaines régions non codantes ou *introns* pourront être excisées lors de l'épissage. L'ARNm maturé est exporté dans le cytoplasme, où il est traduit en protéines dans le ribosome. L'ARNm est constitué d'une série de codons, triplets consécutifs, chacun codant un acide aminé (A.A) constitutif de la protéine. L'enchaînement de ces codons constitue le gène proprement dit ou *cistron*. Le code génétique établit la correspondance entre les codons et les A.A.



**Image 2** : Structure de l'ARNm.

On distingue trois régions fonctionnelles dans un ARNm :

- la région 5' non traduite (5'-UTR),
- le ou les cistrons codants,
- la région 3' non traduite (3'-UTR).

Les deux régions non traduites ou régions UTR (*untranslated regions*) contiennent des signaux d'expression ou de maturation de l'ARN.

Les éléments constitutifs d'un ARNm codent la protéine d'intérêt. Les extrémités sont représentées par une coiffe et une queue poly-A.

Les quatre composants d'un ARNm vaccinal sont, comme le montre l'image 2 : la coiffe 5 (5' cap), les séquences régulatrices UTR flanquant de part et d'autre la séquence codante d'un gène d'intérêt (antigène vaccinal), la queue poly-A (3' Poly-A-tail). Cette dernière est constituée d'une séquence répétée (polyadénosine) qui augmente sa stabilité. La coiffe et la queue sont des structures cruciales dans la mesure où elles permettent l'accès de la molécule d'ARNm aux ribosomes, chargés de la synthèse protéique.

(1) Volkin and Astrachan Phosphorus incorporation in Escherichia coli ribo-nucleic acid after infection with bacteriophage T2. Virology, 1956, april 2(2) : 149-161.

(2) Jacob F ; Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J Mol Biol. 1961 Jun ; 3 : 318-3.

(3) Polack FP, et al. N Engl J Med. 2020 Dec 10.

## L'histoire des vaccins à ARNm (4)

En 1989 la société californienne de biotechnologie Vical, basée à San Diego, réussit à introduire divers types d'ARN dans des nanoparticules lipidiques et les introduire ensuite dans différents types de cellules. Deux ans plus tard Jon A. Wolff et ses collègues de l'université du Wisconsin publient un article dans la revue *Science*, où ils montrent la possibilité d'exprimer chez la souris un ARNm nu (non modifié, non protégé) injecté directement dans le muscle (5). C'est alors la première fois, que des cellules vivantes ayant capté un ARNm sont capables de traduire ce message et de produire la protéine correspondante en quelques jours dans leur cytoplasme. Contrairement aux vaccins à ADN, un vaccin à ARNm n'a pas besoin de pénétrer dans le noyau.

### A – Travaux pionniers sur la grippe et le cancer

- En 1994, X. Zhou, Peter Berglund, et leurs collègues de l'Institut Karolinska (6) rapportent dans la revue *Vaccine* que l'injection intramusculaire de 50µg d'ARN nu (non modifié) provenant du Virus de la Forêt de Semliki (SFV) codant une protéine du virus grippal, induit une réponse spécifique en anticorps chez la souris.

- L'histoire des vaccins anti-cancer à ARNm débute en 1995. Robert M. Conrey et ses collègues de l'université de Birmingham (Alabama) rapportent dans la revue *Cancer Research* que l'injection intramusculaire d'un ARN codant un antigène tumoral induit une réponse en anticorps spécifiques de l'Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE), détecté en quantités élevées dans le sang de certains patients atteints de cancer. L'objectif est alors de concevoir une immunothérapie anti-cancéreuse dans laquelle l'ARNm est le médicament. Ces vaccins sont alors à visée thérapeutique et non prophylactique.

- En 1996, David Boczkowski et ses collègues (7) introduisent in vitro dans des cellules dendritiques de nombreux ARNm provenant d'extraits de cellules tumorales. Injectées par voie sous-cutanée à des souris, ces cellules dendritiques se révèlent efficaces pour inhiber la croissance de tumeurs chez l'animal.

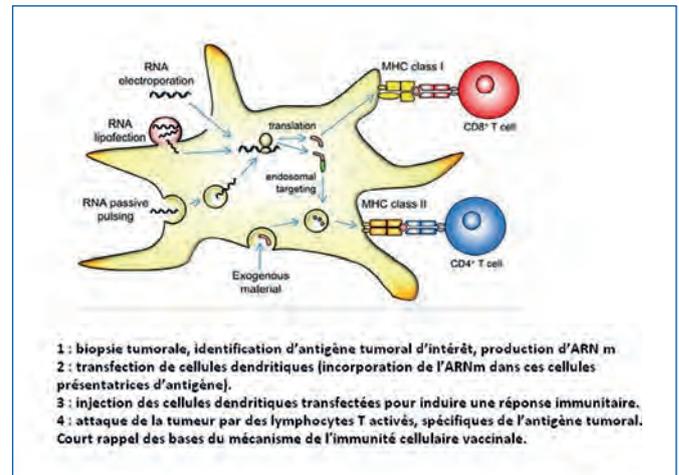
- En 1999, Han Ying et ses collègues du National Cancer Institute (8) parviennent à induire une réponse humorale et cellulaire, en administrant par voie intramusculaire à des souris seulement 0,1µg d'un ARN de SFV codant une protéine (bêta-galactosidase). Cette immunisation se révèle capable de protéger des souris de l'injection de cellules tumorales de côlon exprimant la bêta-galactosidase.

- Ces résultats en modèle animal sont ensuite suivis d'essais cliniques chez l'homme. Le plus souvent, ces derniers ont consisté en l'utilisation d'ARNm introduit dans des cellules dendritiques. Ils ont concerné de nombreux types de tumeurs : cancer de la prostate métastatique, du poumon métastatique, du rein, du pancréas, de l'ovaire, du côlon, de même que diverses tumeurs cérébrales (glioblastome, gliome malin, métastases cérébrales), mélanome...

- En 2002, un essai clinique chez l'homme évalue la sécurité, la tolérance et l'efficacité d'un vaccin anti cancer à ARNm dans le traitement du cancer de la prostate métastatique. Le vaccin prototype consiste en l'injection de cellules dendritiques dans lesquelles est introduit l'ARNm codant l'antigène PSA (*Image 3*). Mené sur treize patients, cet essai présente des résultats encourageants chez trois d'entre eux (élimination transitoire des cellules tumorales circulantes). Pour faciliter la pénétration de l'ARN dans les cellules dendritiques, ces dernières ont subi un choc électrique à haut voltage qui permet de perméabiliser leur membrane externe.

Cette technique **d'électroporation**, permet également d'introduire dans les cellules dendritiques, outre l'ARNm, d'autres molécules pour stimuler l'activité des cellules présentatrices d'antigène.

- En 2008, les résultats du premier essai clinique d'un vaccin à base d'ARNm chez des patients souffrant de mélanome malin sont publiés. D'autres équipes ont utilisé un ARNm codant un cocktail de trois molé-



**Image 3** : Le concept de vaccination thérapeutique anti-cancéreuse à base d'ARNm introduit dans des cellules dendritiques ou CPA (cellules présentatrices de l'antigène).

cules pour optimiser la fonction des cellules dendritiques et les rendre plus efficaces pour stimuler les lymphocytes. Cet ARN est associé dans des cellules dendritiques à un second ARNm codant un antigène lié au mélanome malin. Ces cellules sont administrées à des patients souffrant d'une forme avancée de mélanome, et la tumeur régresse de 30 % environ.

- Sachant que pour un même type de cancer, la nature des mutations dans la tumeur varie d'un patient à l'autre, des traitements personnalisés sont ensuite développés. Le génome de la tumeur est alors séquencé et les mutations spécifiques du cancer identifiées. Parmi celles-ci, certaines peuvent, introduites dans un ARNm administré au patient, déclencher une réaction du système immunitaire spécifique de la tumeur. Elles constituent alors des mutations immunogènes.

*Court rappel des bases du mécanisme de l'immunité cellulaire vaccinale.*

La CPA assure la **présentation** de la protéine libérée sur un support, le **Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)** qui va le présenter aux cellules responsables des mécanismes immunitaires :

- Le **CMH de classe II** le présente aux lymphocytes TCD4 qui permettent la différenciation des lymphocytes B en *plasmocytes*, sécrétateurs d'Ac.

- Le **CMH de Classe I** le présente aux lymphocytes TCD8, qui après reconnaissance de l'antigène se transforment en *cellules cytotoxiques* (Natural killers). Cette seconde rencontre de l'antigène avec le CMH permet la production de *lymphocytes T mémoires*.

- La molécule d'ARNm s'avère donc une stratégie thérapeutique personnalisée dans la mesure où elle devient un médicament conçu en tenant compte des caractéristiques génétiques de la tumeur du patient. Le séquençage complet de la tumeur d'un patient pourrait donc permettre de produire un ou plusieurs ARNm entrant dans la composition d'une immunothérapie anti-cancéreuse personnalisée.

- En juillet 2020, des chercheurs de BioNTech rapportent dans la revue *Nature* l'administration par voie IV. à des patients souffrant de mélanome malin d'un ARN encapsulé dans des liposomes. Des résultats cliniques encourageants sont alors obtenus après administration de l'ARNm seul, ou en association avec une autre forme d'immunothérapie anticancéreuse. D'autres stratégies sont testées comme l'administration de cellules dendritiques ayant intégré un ARNm. Des chercheurs du Memorial Sloan Kettering Cancer Center (New York) et de l'hôpital norvégien du radium (Oslo) suivent cette voie en l'appliquant au traitement du mélanome.

(5) (4) Gozlan M. Réalités biomédicales 19/12/20.

(5) Wolff J.A. et al. Direct gene transfer into mouth muscle in vivo. *Science* (1993)247 : 1465-1468.

(6) Zhou X, Berglund P. et al. Self replicative Semliki Forest Virus RNA in recombinant vaccine protect against SFV infection. *Vaccine* 1994, 12 : 1512-151.

(7) Boczkowski, D., Nair, S. K., Snyder, D. and Gilboa, E. (1996). "Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen - presenting cells in vitro and in vivo." *J Exp Med* 184(2) : 465-72.

(8) Hang Ying et al. (1999) Cancer therapy with self replicating RNA. *Nature Bio Medicine* 5, 823-27.

**B – Vaccins à ARNm et maladies infectieuses**

- Bien que moins nombreux que les précédents, des vaccins prototypes à base d'ARNm ont également été testés pour prévenir les infections. Il est en effet plus facile de juger de l'efficacité d'un vaccin contre un agent infectieux que contre une tumeur. En infectiologie, tout a commencé deux ans plus tôt que les premiers travaux en oncologie.

- Ainsi en 1993 Frédéric Martinon, Pierre Meulien et leurs collègues de l'Inserm (9), de l'Institut Cochin de génétique moléculaire et de Pasteur Mérieux Sérums et Vaccins ont montré qu'un liposome renfermant un ARNm codant une protéine du virus de la grippe induit chez la souris une réponse immunitaire cellulaire (lymphocytes T). Depuis, des vaccins prototypes à ARNm ont été développés contre plusieurs virus, bactéries et parasites.

- De nombreux travaux sur les vaccins à base d'ARN ont été consacrés à l'infection par le virus de la grippe. En 2012, Benjamin Petsch et ses collègues du Friedrich-Loeffler-Institut (Tübingen) rapportent qu'un vaccin ARNm peut conférer une protection contre le virus influenza. Sa capacité à induire une réponse immunitaire, chez la souris, des furets et des porcs, était comparable à celle observée avec un vaccin grippal inactivé conventionnel.

- En 2013, alors que la mise au point d'un vaccin conventionnel contre le virus grippal prend environ six mois, des chercheurs mettent huit jours pour produire un virus à ARNm anti-influenza, après avoir séquencé deux gènes importants (héماغglutinine et neuraminidase) du virus H7N9, responsable d'une épidémie de grippe aviaire en Chine.

- En 2018, Annette B. Vogel et ses collègues de BioNTech (Mayence) montrent qu'un ARNm, non modifié, peut induire la synthèse in vivo chez la souris d'une protéine 12 à 24 heures après une I.M, avec un pic d'expression au 8<sup>e</sup> jour.

- L'infection par le VIH a également fait l'objet d'intenses recherches. Il s'agit d'introduire dans des cellules dendritiques un ARNm codant des antigènes du VIH puis à l'injecter, par voie intradermique et/ou sous cutanée, à des patients atteints du Sida, traités par ailleurs par antirétroviraux. Plusieurs essais cliniques, canadiens, belges et néerlandais, sont ensuite conduits. Le vaccin à ARNm a entraîné une réponse immunitaire spécifique de l'antigène (lymphocytes T CD4 et CD8), mais sans pour autant observer de bénéfice clinique (sans diminution de la charge virale).

- Des efforts ont également été déployés pour développer un vaccin à ARNm contre le virus **Zika**. Une équipe de la Perelman School of Medicine (université de Pennsylvanie, Philadelphie) a rapporté en 2017 dans la revue *Nature* que des réponses immunitaires puissantes et protectrices ont été obtenues par injection intradermique de faibles doses d'un ARNm encapsulé dans des nanoparticules lipidiques chez des souris et des singes macaques rhésus. Chez ces derniers, l'ARNm a été administré à de très faibles doses (50 µg), ce qui correspond à une dose d'environ 0,02 mg par kilogramme de poids corporel. Un vaccin prototype est actuellement en essai clinique chez l'homme.

- Des résultats prometteurs obtenus avec des vaccins à ARNm chez l'animal, peuvent ne pas être confirmés lors d'essais cliniques chez l'homme, comme dans le cas de l'évaluation d'un vaccin contre la rage. Les résultats avaient pourtant été extrêmement prometteurs dans les modèles pré-cliniques. Ce vaccin à ARNm (CureVac AG, Tübingen) avait en effet permis de protéger contre une injection mortelle de virus dans le cerveau de souris et d'induire une réponse, forte et durable, en anticorps neutralisants chez le porc également. Une fois testé chez l'homme, ce vaccin n'est pas à la hauteur des attentes.

**C – Le développement des vaccins à ARNm**

Malgré ces premiers succès, la recherche vaccinale concerne principalement les vaccins à ADN jusqu'en 2010. En effet, les travaux sur les vaccins à ARN font face à quatre facteurs limitants : la faible **stabilité**

de l'ARNm, de sa **délivrance**, mais aussi que l'ARN possède la capacité intrinsèque à **stimuler** le système immunitaire et ce puissant effet immunogène peut entraîner d'importantes **réactions inflammatoires**. Enfin produire de grandes quantités d'**ARNm est compliqué**. Ces questions sont résolues en 2010 grâce à des innovations concernant l'incorporation des nucléotides.

**\* Production de l'ARNm synthétique**

L'ARNm provient de la transcription in vitro d'un ADN circulaire (ADN plasmidique codant l'antigène vaccinal), préalablement linéarisé. La formation de la molécule d'ARN a lieu dans un système acellulaire hors de contaminant infectieux. Les chercheurs ont alors recours à des **nucléotides modifiés** (l'uridine remplacée par une pseudo-uridine). De même, ils procèdent à l'**optimisation des séquences génétiques**. En effet, les codons rares (groupe de trois lettres dans la séquence génétique initiale) sont remplacés par des codons synonymes, permettant d'augmenter l'expression de la protéine vaccinale. Enfin, la **purification** des ARNm permet d'éliminer certains contaminants, des ARN double brin, mais aussi des brins d'ARN à boucle, qui peuvent se former au cours de la réaction in vitro. La Chromatographie à Haute Performance (HPLC) est utilisée pour éliminer ces contaminants. Dans ce cadre, l'équipe de Katalin Karikó (10), alors à l'université de Pennsylvanie (Philadelphie), s'illustre alors dans le développement de solutions scientifiques innovantes. Celles-ci consistent à incorporer des nucléotides modifiés et à éliminer des contaminants. Ces avancées, souvent menées avec Drew Weissman, visent à ce que la molécule d'ARN ne stimule pas de façon inappropriée l'immunité innée.

**\* Les constructions d'ARN messagers**

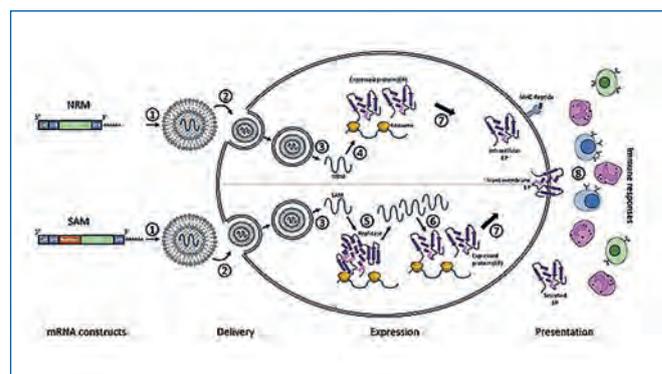


Image 4

Le devenir des deux types de construction possibles dans un vaccin ARNm. NRM (*non-replicating messenger*) et SAM (*self-amplifying messenger*), tous les deux traduits dans le cytoplasme cellulaire. Les **antigènes** ainsi produits sont **présentés** aux cellules du système immunitaire via le CMH ou **sécrétés** par les cellules dans la circulation sanguine. Ce type de vaccin présente certains avantages sur les vaccins à ADN du point de vue de la fabrication, du mode d'administration aux patients et de la sécurité d'utilisation et ses effets prometteurs lors d'essais cliniques chez l'homme.

Plusieurs laboratoires pharmaceutiques, Pfizer, Curevac et Moderna développent alors de tels vaccins, dont plusieurs depuis début 2020 contre la Covid-19. Le vaccin Tozinaméran, développé par BioNTech et Pfizer, reçoit le 2 décembre 2020 au Royaume-Uni la première autorisation pour l'utilisation grand public.

**\* Systèmes de livraison de l'ARNm**

Les matériaux utilisés pour délivrer la molécule d'ARNm portant le code de fabrication de l'antigène vaccinal dans la cellule ont fait l'objet d'intenses recherches ces dernières années. Elles ont enfin vu l'avènement de technologies très efficaces permettant d'améliorer significativement la délivrance de l'ARNm.

(9) Martinon et al. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA T. J.Immunology 22, 7, 1719-22, 1993.

(10) Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. Nat Rev Drug Discov. 2014 Oct ;13 (10) : 759-764.

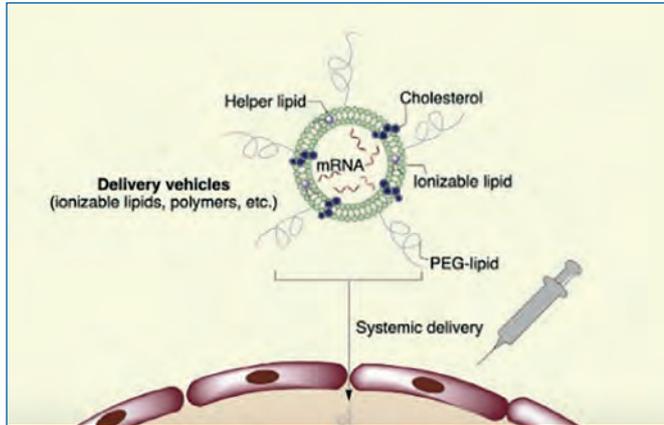


Image 5 : Illustration de l'injection d'un ARNm encapsulé dans une nanoparticule lipidique.

• Ce nouveau vaccin implique la délivrance de la molécule d'ARN dans le cytoplasme. Le premier obstacle est donc d'assurer la pénétration de l'ARNm dans des cellules cutanées et musculaires lors de l'injection.

• Mais la membrane cellulaire, constituée d'une double couche de lipides chargés négativement, constitue un obstacle physique majeur à l'entrée d'une molécule dans le milieu intracellulaire.

• En outre, plusieurs pompes et canaux ioniques créent un potentiel négatif (-40 à -80 mV) de part et d'autre de la membrane et maintiennent une charge électrique négative dans le cytoplasme. Ce potentiel négatif crée une barrière au passage des molécules d'ARNm aussi chargées négativement.

• Enfin l'ARNm est fragile et menacé de dégradation par les ribonucléases extracellulaires, très présentes dans la peau et dans le sang. Il faut donc le protéger de ces enzymes, tout en facilitant sa pénétration dans la cellule. Un moyen efficace pour protéger l'ARNm consiste à l'encapsuler dans des nanoparticules lipidiques (11). Celles-ci sont typiquement composées de quatre éléments différents :

- 1) Des lipides capables de s'auto-agencer en particules sphériques (de 70-100 nanomètres) pour encapsuler l'ARNm, particules ionisables (capables d'acquies des charges positives en fonction du pH) ou cationiques.
- 2) Des phospholipides analogues à ceux de la membrane cellulaire.
- 3) Du cholestérol pour stabiliser la double couche lipidique de la nanoparticule lipidique.
- 4) Un lipide-PEG (polyéthylène glycol) qui apporte une couche hydratée aux nanoparticules et leur permet plus de stabilité.

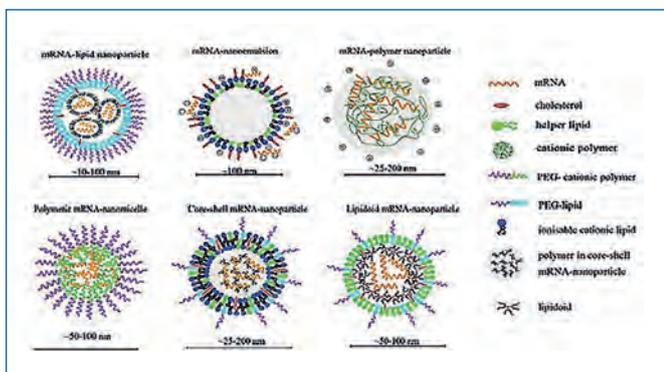


Image 6 : Les multiples formulations de nanoparticules lipidiques servant de système de livraison de l'ARN messenger : lipides ionisables, lipides cationiques, co-lipides (lipides helper), polymères.

Les particules lipidiques encapsulant l'ARNm pénètrent dans la cellule par **endocytose** (12)(13). Une partie de l'ARNm est dégradé. La membrane externe enveloppe et absorbe la vésicule lipidique qui gagne endosomes et lysosomes, petites structures sphériques en forme de vésicules. Il est ensuite libéré dans le cytoplasme, où il est lu au niveau des ribosomes et traduit en protéines (Spike).

### Les variants du SARS-CoV-2

Comme pour tout virus à ARN, des erreurs surviennent de façon aléatoire lors de la réplication du génome du SARS-CoV-2. Celles-ci ont d'autant plus de chances de se produire que le génome des coronavirus est extrêmement long. Celui du SARS-CoV-2 comporte environ 30 000 bases, soit le plus long des génomes de virus à ARN connus. La forte progression de la pandémie en 2020 rend très probable l'apparition de variants de la souche initiale.

#### • Le variant anglais

Le premier cas associé à ce variant est confirmé en France le 25 décembre 2020, à Tours et concerne aujourd'hui plus de 85 % des souches isolées. Ce variant est isolé chez un Français résidant en Angleterre. Arrivé de Londres le 19 décembre, il est pris en charge au CHU le 21 et détecté positif. Le résultat du test fait évoquer le variant circulant au Royaume-Uni. Le Centre National de référence des virus des infections respiratoires effectue le séquençage, l'isole et confirme la présence du variant VOC 202012/02.

Le patient asymptomatique pour la Covid-19, est ensuite isolé à son domicile, où il clôt l'épisode sans encombre.

• **La lignée virale B.1.1.7** qui circule en Angleterre depuis quelques mois, se répand très largement dans plusieurs régions dès le mois de décembre.

Cette nouvelle lignée semble se propager plus facilement à long terme que les précédentes, notamment à la faveur de plusieurs mutations déjà identifiées sur le gène S :

\* La mutation **N501Y** : confère au Sars-CoV-2 une capacité plus élevée à se lier aux cellules humaines.

\* La mutation **P681H** qui permet au virus de pénétrer plus facilement dans la cellule humaine.

\* La mutation **69-70 del** affectant la liaison virus/cellule. Ces trois modifications apparaissent alors ensemble pour la première fois. Les auteurs de cette analyse abordent deux conséquences cliniques majeures. Ce variant B.1.1.7 pourrait prolonger la période asymptomatique tout en restant contagieux. Et ces mutations touchant des régions critiques du gène S pourraient avoir un impact péjoratif sur l'efficacité des vaccinations. Il s'avère que les mutations qui réduisent le plus fortement la liaison des anticorps au RBD se situent dans trois sous-régions distinctes du RBD (*Image ci-dessous*) :

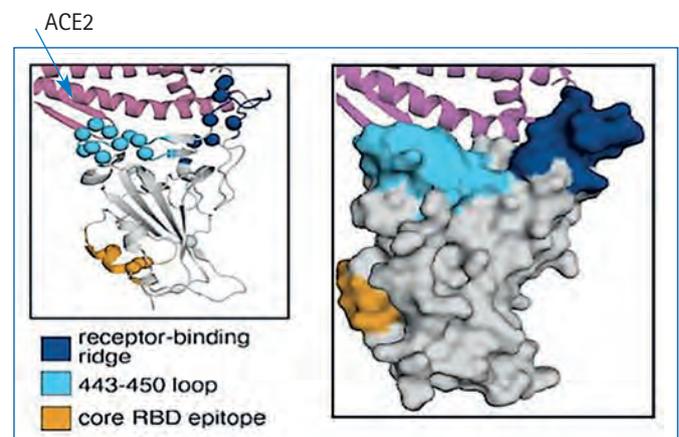


Image 7 : Illustration de l'interaction entre le SARS-CoV-2 et le récepteur ACE2 présent à la surface des cellules cibles du coronavirus.

(11) Kowalski PS, et al. Mol Ther. 2019 Apr 10 ; 27 (4) : 710-728.  
 (12) Zhong Z et al. Nanotoday 2018 Dec. 23 : 16-39.  
 (13) Gómez-Aguado I, et al. Nanomaterials (Basel). 2020 Feb 20 ; 10 (2) : 364.

– Il s'agit tout d'abord de la **crête** (*receptor-binding ridge*), région située au sein du motif de liaison au récepteur (*RBM, receptor-binding motif*) qui entre directement en contact avec le récepteur cellulaire.

– Une deuxième région est une **boucle** (*loop*) couvrant les régions acides aminés 443-450 et les sites adjacents 494-450. Celle-ci est située à l'opposé de la crête.

– Enfin la troisième région dont les mutations ont un impact conséquent en matière de reconnaissance des anticorps concerne une **zone plus large** (*core*), éloignée du motif de liaison du récepteur (*RBM*) (14). La crête et la boucle sont deux zones cibles de nombreux anticorps fortement neutralisants. La boucle est d'ailleurs la cible du cocktail de deux anticorps développés par la firme américaine Regeneron. En revanche, les anticorps développés contre le *core* du RBD ont un plus faible pouvoir neutralisant. Bien qu'associée à une plus forte affinité du virus à se lier au récepteur ACE2 (à une augmentation de la transmissibilité, voire à une charge virale plus élevée), la mutation N501Y ne semble pas affecter la capacité de liaison des anticorps au domaine RBD de la protéine Spike.

Le **RBD** (*receptor binding domain*) est le domaine de liaison au récepteur.

Il s'agit d'une région cruciale de la protéine Spike, qui se lie au récepteur ACE2, plus précisément par l'intermédiaire d'un motif appelé *RBM* (*receptor binding motif*).

#### \* Les variants sud-africain et brésilien

Le premier cas associé au variant sud-africain en France a été confirmé dans un communiqué du 31 décembre : « Il s'agit d'un homme résidant dans le département du Haut-Rhin à proximité de la frontière avec la Suisse, après un séjour en Afrique du Sud ». Outre la mutation N501Y, les deux variants présentent la mutation en position **E484** qui apparaît *préoccupante*. Cette mutation est située dans la crête (RBD), elle a aussi été récemment identifiée dans des variants isolés en Argentine et au Japon. Les chercheurs ont récemment montré que des mutations E484, dans lesquelles l'acide aminé E (acide glutamique) est remplacé par l'acide aminé K (lysine), Q (glutamine) ou P (proline), diminuerait de 35 à 60 fois la capacité de neutralisation des anticorps anti-RBD chez un sujet.

Dans *Nature*, une équipe de l'université du Texas publie des résultats obtenus *in vitro* sur l'effet du vaccin de Pfizer contre le variant sud-africain, et notamment sur la mutation E484K. L'efficacité observée est certes moindre, mais elle est toujours présente à un niveau jugé satisfaisant. Comme toujours avec des travaux réalisés en laboratoire, ceux-ci nécessitent cependant une confirmation sur le terrain. Il faut prendre ces observations avec prudence, car d'autres équipes ont noté un résultat plutôt rassurant : les quatre mutations (S477N, N439K, N501Y, Y453F) les plus fréquentes, ne perturbent pas le pouvoir neutralisant des anticorps anti-RBD.

## Les premières campagnes de vaccinations par vaccins à ARNm

### – La campagne en Israël en avril 2021

\* Près des 3/4 des 10 millions d'Israéliens ont reçu au moins une dose de vaccin. Parmi eux, 80 % des plus âgées ont même reçu les deux doses nécessaires. Un article de *Nature* reprenant une étude du ministère israélien de la Santé, montre que les premiers effets se font sentir : les courbes des nouveaux cas et des hospitalisations ont commencé à diminuer. Il faut néanmoins s'assurer qu'il ne s'agit pas d'un effet du troisième confinement en vigueur dans le pays. Cela ne semble pas être le cas : si l'on regarde par classe d'âge, on remarque que la courbe des personnes âgées, très vaccinées, diminue bien plus vite que celle des plus jeunes. Si cela était dû au confinement, elles auraient diminué au même rythme.

\* La vaccination semble donc bien montrer ses effets. Il y a pourtant eu une inquiétude en Israël, car cette diminution était attendue plus tôt. Cela s'explique par le fait que la campagne de vaccination a coïncidé avec une flambée des cas, notamment provoquée par l'émergence du variant britannique plus contagieux dans le pays.

Cela n'a cependant a priori pas eu d'incidence sur l'efficacité des vaccins utilisés en Israël, en particulier celui de Pfizer/BioNTech à base d'ARNm.

### – La pandémie en France et la vaccination par vaccins à ARNm

\* Au 12 Avril 2021, la situation est *très préoccupante*, avec certains jours plus de 40 000 tests Covid-19 positifs et des taux d'incidence dépassant 700 cas pour 100 000 habitants dans certaines zones. Cette « troisième vague » nécessite alors par son ampleur la mise en place d'un nouveau confinement à l'échelle nationale. À cette date l'immunité globale de la population adulte peut être évaluée à environ 20 % pour le territoire métropolitain, incluant dans ce calcul les 3 millions de personnes diagnostiquées Covid-19 + au cours des années 2020 et 2021.

\* Cette immunité générale devrait rapidement évoluer avec la mise en place récente des vaccins Moderna à ARNm et AstraZeneca (Adenovirus + greffe gène prot S). L'objectif d'une couverture vaccinale à 60 % de la population adulte pourrait alors être envisagée pour la fin de l'été, avec de nouveaux vaccins, Janssen en particulier (Adenovirus recombinant protéine S) et probablement la disponibilité d'autres vaccins, dont celui ou ceux de Sanofi.

## Conclusions

Le rôle joué depuis quatre mois par les vaccins à ARNm dans le contrôle de la pandémie est essentiel, encore aujourd'hui où l'incidence de la maladie est plus forte que lors de la « seconde vague » du mois d'octobre 2020. Les deux vaccins à ARNm Pfizer et BioNTech et Moderna utilisés sont protecteurs à plus de 90 %. Ils induisent également une bonne activité protectrice vis-à-vis du variant anglais B.1.1.7.

Ce type de vaccin possède également la capacité d'être rapidement *adapté* à un nouveau variant échappant à l'immunité induite par la formulation actuelle. Seuls ensuite les processus de tolérance, d'industrialisation et de distribution qui pourraient limiter leur disponibilité.

Enfin, si le rôle des vaccins à ARNm est capital depuis le début de la pandémie, la nécessité d'atteindre une plus large couverture vaccinale est impérative. Elle seule est capable de réduire rapidement la circulation du virus. Aussi, d'autres sources vaccinales doivent compléter le panel actuel. Ainsi le vaccin AstraZeneca (Suède) (Adenovirus de chimpanzé recombinant protéine S) est autorisé depuis quelques semaines, mais avec restrictions le réservant aux plus de 55 ans. Un autre vaccin de *Janssen et Johnson* basé sur le même principe de vecteur viral entre dès ce mois d'avril dans le schéma vaccinal.

Avant de clore ce chapitre, il faut noter que le Laboratoire Sanofi poursuit ses activités pour la mise au point de deux vaccins utilisables en 2021.

Associé au Laboratoire anglais *GSK*, les études du vaccin à ADN recombinant sur une souche de rougeole intégrant une « nouvelle formulation » de la protéine S. Elles sont entrées en phase II en mars de cette année et la phase III est annoncée pour débuter en juin et l'AMM envisagée pour le mois de septembre.

Des études précliniques sur un vaccin à ARNm, en collaboration avec le Laboratoire *Translate Bio* ont mis en évidence la production de concentrations élevées d'anticorps après injection du candidat vaccin *MRT 5500*. Le laboratoire a annoncé le début des essais cliniques I/II de ce vaccin le 12 mars et celui des études phase III qui pourrait débuter en juillet 2021.

(14) Saxena SK, et al. Virus disease. 2020 Dec 5 ; 31 (4) : 1-9.