

La révolution des vaccins à ARN contre les maladies infectieuses

Franck J. D. Mennechet¹ & Christian Siatka^{2,3}

1 Université de Montpellier, Équipe U1058 INSERM- Pathogenèse et Contrôle des Infections Chroniques

2 Équipe Chrome EA7352, Université de Nîmes

3 École de l'ADN, Muséum d'Histoire Naturelle, Nîmes

Résumé

Au cours de ces trois dernières décennies, les technologies à base d'ARN ont suscité un large intérêt pour le développement de vaccins prophylactiques et thérapeutiques. Des essais précliniques et cliniques ont montré que les vaccins à ARN messagers (ARNm) fournissent une réponse immunitaire sûre et durable chez les modèles animaux, mais aussi chez l'homme. La pandémie du SARS-Cov2 nous a enseigné qu'il était à propos de réagir vite et d'exploiter toutes les connaissances et expertises acquises dans le domaine des vaccins à ARNm afin de trouver une stratégie de vaccination rapide et efficace pour combattre la maladie du COVID-19. Nous proposons un bref aperçu des progrès actuels de la recherche sur les vaccins à ARNm. Ce sont des vaccins à fort potentiel puisqu'ils peuvent être fabriqués rapidement et peuvent par conséquent devenir de puissants outils contre les maladies infectieuses. Il apparaît important de souligner ici leur potentiel avenir, notamment dans cette première étape de développement inouïe pour combattre la maladie du COVID-19.

Portrait de Louis Pasteur par A. Edelfelt



Préambule

La vaccination est l'approche médicale la plus efficace pour la prévention et le contrôle des maladies. Le développement et l'utilisation réussie de vaccins ont non seulement prouvé leur efficacité mais ont aussi sauvé des millions de vies chaque année et limité de grandes pertes financières notamment en matière de santé publique [1,2]. Dans un avenir proche, les vaccins pourraient être utilisés non seulement contre les maladies infectieuses, mais aussi contre le cancer en prophylaxie et traitement, ainsi que pour l'élimination des allergènes ou de certaines maladies auto-immunes [3,4].

La sécurité des vaccins est bien évidemment un sujet d'actualité pour les patients, les prestataires de soins de santé, les fabricants et les distributeurs de vaccins. Le succès des programmes de vaccination modernes est évident : l'incidence de nombreuses maladies infantiles évitables par la vaccination a diminué de plus de 90 % en quelques décennies. Mais cette réduction massive de la morbidité et de la mortalité est aussi associée à une diminution des séquelles mortelles des maladies qui sont évitables par la vaccination. Contrairement aux médicaments prescrits destinés à soigner les patients malades, les vaccins sont administrés aux patients asymptomatiques à des fins de prévention primaire et doivent donc répondre aux normes les plus élevées possibles pour « d'abord, ne pas nuire » et surtout améliorer la santé de la population dans son ensemble [5].

Le scepticisme et la désinformation concernant les vaccins ne sont pas nouveaux. Les avantages de tous nos vaccins actuels utilisés en routine l'emportent clairement sur les risques potentiels. Ces derniers temps, une « guerre » particulièrement violente contre la science a éclaté, probablement liée également à une forte méfiance des organismes et autorités dirigeantes. La vaccination est devenue pour beaucoup « un marqueur identitaire », aux origines de la défiance vaccinale. Le manque d'information pèse parfois moins que le manque de confiance dans les autorités sanitaires. Le respect du « libre arbitre » pouvant conduire les autorités à négliger la promotion du « devoir vaccinal ». L'attitude des individus souvent guidée par leurs croyances de santé (ou leur ignorance), soutenues par une perception du risque erronée [6]. Aujourd'hui, les médias sociaux contribuent largement à la désinformation sur les vaccins, se propageant notamment avec des personnalités, parfois très connues, qui n'hésitent pas à relayer de fausses informations. Un récent sondage Gallup a révélé que le soutien du public aux vaccins est aujourd'hui nettement inférieur à ce qu'il était en 2001. Toujours selon un sondage Gallup, les Français, pourtant « enfants de Pasteur » sont devenus les plus sceptiques au monde concernant la vaccination. Un Français sur trois pense que les vaccins sont dangereux, et près de 20% estiment qu'ils ne sont pas efficaces [7]. Les indicateurs de la confiance envers la vaccination chez les français sont donc aujourd'hui encore très bas, même si les derniers sondages nationaux semblent montrer une très nette augmentation et un revirement en faveur de la vaccination chez les français ces derniers jours (AFP, France Info du 14 janv. 2021). Bien entendu, il ne faut pas confondre les individus qui refusent tout vaccin avec ceux qui hésitent. La majorité de la population défiante et hésitante est prête à entendre des arguments scientifiques et rassurants. Il est légitime de se poser des questions sur un sujet complexe qui touche notre santé et celle de nos enfants. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Fonds des Nations Unies pour l'enfance (UNICEF) ont mis en garde aujourd'hui contre une baisse alarmante du nombre d'enfants recevant des vaccins vitaux dans le monde. Les progrès en matière de couverture vaccinale à l'échelle mondiale étaient maintenus à 85 % avant la pandémie COVID-19 pour le DTC3 (antidiphtérique-antitétanique-anticoquelucheux) et le vaccin contre la rougeole. La probabilité qu'un enfant qui naît aujourd'hui reçoive tous les vaccins recommandés avant l'âge de cinq ans est inférieure à 20 pour cent [8]. Une diminution

de la couverture vaccinale se traduit aujourd'hui par la réémergence d'épidémies d'oreillons, de coqueluche, de rougeole et de varicelle dans le monde. Les spécialistes des sciences sociales ont assez bien présenté le problème du mouvement anti-vaccin, mais les mécanismes permettant de le résoudre sont loin d'être clairs ou simples.

Historique

Avant les années 80, des vaccins étaient essentiellement développés pour la protection contre les microorganismes pathogènes. Empiriquement, des vaccins inactivés ont été produits par traitement thermique ou chimique, et des vaccins vivants atténués ont généralement été développés chez des animaux, ou à partir de lignées cellulaires. Au cours du développement des vaccins, les mécanismes impliqués dans l'immunité étaient inconnus. Néanmoins, l'utilisation de vaccins vivants atténués ou à base d'organismes entiers inactivés a eu un énorme succès dans le contrôle et l'éradication d'un certain nombre de maladies infectieuses humaines graves, notamment la variole, la polio, la rougeole, les oreillons, la rubéole et les maladies infectieuses animales, telles que peste porcine, peste bovine et anémie infectieuse équine [9]. Plus récemment, des vaccins vivants atténués (LAV - Live Attenuated Vaccines), à base de sous-unités et de peptides ont été développés grâce aux avancées de la biotechnologie en biologie et génétique moléculaire [10]. Les résultats obtenus avec la vaccination LAV ont considérablement élargi nos connaissances sur les mécanismes liés à la réponse immunitaire de ces vaccins. Pour les vaccins inactivés, les anticorps spécifiques de l'antigène contribuent largement à la prévention et au contrôle des maladies infectieuses initiées par les virus ou les bactéries. Les LAV provoquent généralement une robuste réponse immunitaire adaptative cytotoxique dépendante des lymphocytes CD8⁺ (réponse CTL – Cytotoxic T Lymphocytes), essentielle pour éradiquer de nombreux agents pathogènes intracellulaires tels que les virus, certaines bactéries ou parasites [11]. Néanmoins, certains échecs des vaccins inactivés peuvent être attribués à des mutations ou dérives (ou glissement) des antigènes de surface des agents pathogènes. D'autres préoccupations concernant les applications de LAV incluent le potentiel de provoquer une maladie chez les individus immunodéprimés et la possibilité d'une réversion vers une forme plus virulente en raison de potentielles mutations en retour [12]. Néanmoins, les vaccins sous-unitaires et peptidiques sont moins efficaces pour déclencher une réponse immunitaire CTL.

La vaccination à base de vaccins constitués d'acide nucléique est une innovation en matière de stratégie vaccinale. C'est une administration non virale qui limite l'infection ou l'immunisation avec des microorganismes vivants et stimule spécifiquement la réponse immunitaire adaptative (Lymphocytes T et B) [13]. En outre, la fabrication de tels vaccins non viraux à base d'acides nucléiques est donc sur certains aspects plus sûre, mais surtout plus rapide que les vaccins conventionnels. Comme le processus de fabrication d'un ARN messenger synthétique, l'ARNm ne nécessite pas de produits chimiques toxiques ni de cultures cellulaires susceptibles d'être contaminées accidentellement par des virus, la production d'ARNm évite les risques courants associés à d'autres plateformes de vaccins, notamment les vaccins à virus vivants, à vecteurs viraux, à virus inactivés ou de sous unités protéiques [14]. Une des limites pour la plupart des maladies infectieuses dévastatrices émergentes et ré-émergentes, et aussi le principal obstacle, est l'obtention d'un stock de vaccins important en peu de temps. Les vaccins à base d'acide nucléique peuvent rapidement répondre à ce besoin et réduire considérablement les temps de production [15]. Les acides nucléiques délivrés sont soit de l'ADN ou de l'ARN. Depuis leur administration jusqu'à l'expression de l'antigène, les vaccins à ADN et à ARN sont traités par différentes voies. Dans les diverses étapes

d'immunisation avec une matrice d'ADN qui entrent en jeu pour assurer l'expression de l'antigène cible, l'ADN doit traverser la membrane cytoplasmique, la membrane nucléaire, être transcrit en ARNm et revenir dans le cytoplasme afin de lancer le processus de traduction (**figure 1**). Bien que ce type de stratégie soit séduisante en présentant une bonne tolérance et aussi une bonne immunogénicité, les vaccins à ADN n'ont pas remporté le succès attendu lors des premiers essais cliniques [16]. Les technologies d'administration ont été optimisées et ont augmenté l'efficacité de ces vaccins à ADN chez l'homme. Cependant les méthodes d'administration n'ont pas réduit le risque potentiel d'intégration de cet ADN exogène dans le génome de l'hôte, ce qui peut provoquer de sévères mutations et par conséquent induire de nouvelles maladies [17].

En contrepartie, la stratégie de vaccins à ARNm est moins complexe dans son principe, puisque l'ARNm obtenu par transcription *in vitro* est exprimé *in vivo* après injection directe dans le muscle. Les premiers résultats observés sur la souris dès 1990 [18], ont été largement étudiés sur des plateformes thérapeutiques. En raison du développement spectaculaire des études et des applications de vaccins à base d'ARN, une pléthore de vaccins à ARNm est entrée en essais cliniques [14]. Comparativement, les vaccins à ARNm confèrent plusieurs avantages par rapport aux vaccins traditionnels et aux vaccins à ADN, dans la mesure où ils sont non infectieux et non intégratifs et ont aujourd'hui une immunogénicité suffisante. À ce jour, l'utilisation de l'ARN en qualité de stratégie vaccinale a été largement revue [2,9], il nous apparaît cependant important de faire le point sur les aspects fondamentaux des vaccins à ARNm en qualité de stratégie d'avenir dans la prévention et le contrôle des maladies infectieuses. De plus les 2 premiers vaccins anti COVID-19 disponibles en France étant dérivés de cette technologie, nous sommes donc tous concernés !

Les vaccins à ARNm : Comment ça marche ?

Un vaccin à ARN (ou plus justement à ARNm), est un type de vaccin activant le système immunitaire adaptatif au moyen d'ARNm dont la séquence nucléotidique code une protéine identique ou semblable à un antigène d'agent pathogène ou à un antigène tumoral. Cette protéine est produite directement dans les cellules cibles par traduction de l'ARNm contenu dans le vaccin, et est reconnue par le système immunitaire de l'organisme, qui réagit en produisant des lymphocytes B (et anticorps associés) et des lymphocytes T, spécifiquement dirigés contre l'agent pathogène ou le cancer que l'on cherche à neutraliser. L'ARNm peut être nu, ou bien vectorisé dans des nanoparticules lipidiques. Des virus à ARN sont également étudiés comme vecteurs possibles de vaccins à ARN.

Par rapport aux vaccins à ADN, l'intérêt des vaccins à ARN est qu'ils sont traduits dans le cytosol des cellules, ce qui les dispense de devoir pénétrer dans les noyaux cellulaires et écarter le risque de voir leur matériel génétique être incorporé au génome de l'hôte.

Les vaccins à ARNm se sont révélés efficaces pour le transfert de gènes direct pour la première fois par Woff et coll. il y a plus de 30 ans [18]. Actuellement, deux formes de vaccins à ARNm ont été développées : les vaccins à ARNm conventionnels et les vaccins à ARNm auto amplifiant, qui sont dérivés de virus à ARN à brin positif. Bien que les vaccins à ARNm aient été testés pour la première fois au début des années 1990, ces vaccins n'étaient pas initialement largement utilisés en raison des problèmes liés à leur fragile stabilité, car ils sont dégradés rapidement par des ribonucléases omniprésentes. L'autre problème était lié à leur production, réalisée à l'époque seulement à petite échelle. La démonstration initiale que la stabilité de l'ARNm peut être améliorée par l'optimisation de la formulation et a été publiée par Ross et ses collègues en 1995 [19]. Depuis lors, les études sur les vaccins à ARNm ont explosé et l'ARNm peut maintenant être produit par synthèse *in vitro*, au moyen d'une simple réaction de

transcription enzymatique sans cellule. La réaction de transcription *in vitro* comprend une matrice d'ADN plasmidique linéarisé codant pour le vaccin ARNm, une ARN polymérase recombinante et des nucléosides triphosphates comme composants essentiels. Cet ARNm est stabilisé artificiellement sur son extrémité 5' par une coiffe synthétique qui est ajoutée par réaction enzymatique en une seule étape et en 3' par une queue poly (A) pour compléter sa stabilité [20].

Les vaccins à ARNm conventionnels comprennent dans leur plus simple structure un cadre ouvert de lecture (ORF) pour l'antigène cible, flanqué des régions non traduites (UTR) associées à une queue poly (A) terminale. Après transfection, ils conduisent l'expression antigénique transitoire. En plus des stratégies vaccinales conventionnelles, il existe une autre stratégie de vaccin à ARNm basée sur le génome des virus à brin positif, le plus souvent inspiré des alphavirus (virus *Sindbis*, du virus *Semliki Forest*) [21,22]. Ces vaccins à ARNm sont basés sur un génome viral modifié contenant les gènes codant pour la « machinerie de réplication » de l'ARNm, le gène d'intérêt remplace les séquences protéiques structurales du virus. Les produits de ces ARNm sont appelés des « réplicons ». Ces vaccins « ARNm auto-amplificateurs », sont capables de diriger leur auto-réplication, par la synthèse du complexe ARN polymérase ARN-dépendant, générant ainsi de multiples copies de l'ARNm codant pour l'antigène, déclenchant à la fois la production d'anticorps et celle de lymphocytes T spécifiques [23]. Les ARNm auto amplifiés présentent des tailles comprises entre 9 et 11 kb, et sont générés à partir de la matrice d'ADN avec des procédures similaires à celles décrites précédemment pour les ARNm conventionnels. Ces molécules d'ARN peuvent être ainsi produites à grande échelle *in vitro*. Une fois que le réplicon d'ARN purifié est délivré dans les cellules hôtes, soit sous forme de particules virales, soit sous forme d'ARN synthétisé *in vitro*, il est traduit de massivement par son ARN polymérase. Si l'on compare à l'expression rapide des ARNm conventionnels, les résultats publiés ont montré que la vaccination avec des vaccins à ARNm auto amplifiant entraîne des niveaux d'expression d'antigène plus élevés, leur dégradation est retardée dans le temps ce qui leur permet de persister plusieurs jours *in vivo* [24]. Par ailleurs, en raison de la délétion des structurales virales, le réplicon ne produit pas de particules virales infectieuses. De plus, les ARNm conventionnels et les ARNm auto amplificateurs ne peuvent potentiellement pas s'intégrer dans le génome de l'hôte et sont dégradés naturellement dans le cytoplasme après le processus d'expression de l'antigène. Ces caractéristiques moléculaires illustrent précisément que les vaccins à ARNm ont le potentiel d'être beaucoup plus sûrs que les autres vaccins et constituent une stratégie vaccinale particulièrement prometteuse.

Les vaccins à ARNm conçu avec une efficacité puissante

La stabilité et la traduction de l'ARNm sont cruciales pour un vaccin à ARN. Dans le processus de traduction, la pureté de l'ARNm est essentielle pour déterminer sa stabilité et son rendement en protéines [25]. La contamination par des ARNdb, dérivés d'activités aberrantes de l'ARN polymérase, conduit à l'inhibition de la traduction et à la dégradation de l'ARNm cellulaire et de l'ARN ribosomique, diminuant ainsi l'expression des protéines en interrompant la machine de traduction. L'élimination de l'ARNdb augmente par conséquent considérablement la traduction. Les composants en excès et les ARN courts ou double brin (ARNdb) peuvent être éliminés par purification. La purification par chromatographie liquide protéique rapide (FPLC) ou chromatographie liquide haute performance (HPLC) est utilisée pour éliminer tout produit restant et produire de l'ARNm à grande échelle conforme aux processus de bonnes pratiques de fabrication (BPF) [26]. Les séquences non codantes flanquant les extrémités 5' et 3' du cadre de lecture ouvert (ORF) sont cruciales pour la traduction. La région non traduite 5', telle que la séquence kozak, ou 5' caps est nécessaire pour une production optimale de protéines. La région

non traduite 3' contenant le signal poly (A) garantie la stabilité de l'ARNm et assure une augmentation de la traduction des protéines. En outre, la réécriture de la séquence pour l'optimisation des codons est une méthode éprouvée pour éviter les codons rares à faible utilisation, afin d'augmenter le rendement de production de protéines, mais aussi la stabilité de l'ARNm [27].

Les vaccins à ARNm sont très efficaces pour l'expression de l'antigène, cependant la séquence et les structures secondaires formées par les ARNm sont reconnues par un certain nombre de récepteurs immunitaires naturels (**figure 1**), et cette reconnaissance peut inhiber la traduction des protéines. Grâce aux progrès de la compréhension de la biologie de l'ARN, plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour augmenter le potentiel des vaccins à ARNm, y compris l'optimisation de la séquence et l'utilisation de nucléosides modifiés. La reconnaissance des capteurs immunitaires innés peut être évitée en incorporant des nucléosides modifiés, tels que la pseudo-uridine (Ψ), la 5-méthylcytidine (5mC), la structure cap-1 et des codons optimisés, qui à leur tour améliorent l'efficacité de la traduction [13,14]. Pendant la phase de transcription *in vitro* de l'ARNm, l'ARNm immature serait produit sous forme de contamination qui inhiberait la traduction en stimulant l'activation immunitaire innée. La purification par FPLC et HPLC résout ce problème [28].

Actuellement, la plupart des vaccins utilisés, à l'exception de certains vaccins pour animaux, doivent être transportés et stockés dans le cadre d'un processus ininterrompu de chaîne du froid, qui est voué à l'échec, en particulier dans les zones rurales pauvres des pays tropicaux. Ces exigences ne sont pas satisfaites par les vaccins efficaces disponibles pour prévenir et contrôler les maladies infectieuses. Par conséquent, le développement de vaccins thermostables suscite un intérêt croissant. L'optimisation de la formulation des vaccins à ARNm synthétique a montré qu'il est possible de générer des vaccins thermostables. Les résultats décrits par Jones ont montré que l'ARNm lyophilisé avec du tréhalose ou de l'ARNm nu est stable pendant au moins 10 mois à 4 °C. Après avoir été transfectés, ces ARNm exprimaient des niveaux élevés de protéines et conféraient une immunité hautement efficace et durable chez des modèles animaux [29]. Un autre vaccin à ARNm lyophilisé s'est révélé stable entre 5 et 25 °C pendant 36 mois et 40 °C pendant 6 mois. Stitz et ses collègues ont montré que lorsqu'un vaccin contre le virus de la rage à base d'ARNm conventionnel encapsulé dans de la protamine était soumis à des températures oscillantes entre 4 et 56 °C pendant 20 cycles et une exposition à 70 °C, son immunogénicité et ses effets protecteurs n'étaient pas compromis [30]. L'encapsulation de l'ARNm avec un liposome cationique ou un peptide de pénétration cellulaire (CPP) a protégé l'ARNm de la dégradation par la RNase. Ces approches sont cependant discutées dans les méthodes de livraison.

Les vaccins à ARN pour lutter contre le COVID-19

Avant la survenue de la pandémie de COVID-19, uniquement quatre vaccins à ADN ont reçu les autorisations réglementaires nécessaires à leur exploitation chez l'animal. Ils sont utilisés par exemple pour protéger les saumons d'élevage contre la nécrose hématopoïétique infectieuse et contre une maladie du pancréas, les poulets contre la grippe aviaire, ou pour soigner les chiens atteints d'un mélanome buccal [31]. Mais ces résultats prometteurs obtenus chez l'animal n'avaient pas encore été reproduits chez l'être humain, car l'immunogénicité de ces vaccins était insuffisante pour conférer aux patients une protection efficace et durable contre les agents pathogènes ciblés. Au cours de la dernière décennie, d'importants investissements dans l'innovation technologique et la recherche ont permis à l'ARNm de devenir un outil

thérapeutique prometteur dans les domaines du développement de vaccins et de la thérapie de remplacement des protéines. L'utilisation de l'ARNm présente plusieurs caractéristiques avantageuses par rapport aux virus atténués sous-unitaires, tués et vivants, ainsi qu'aux vaccins à base d'ADN.

La sécurité : Comme l'ARNm est une plate-forme non infectieuse et non intégratrice, il n'y a pas (ou très peu) de risque potentiel d'infection ou de mutagenèse d'insertion. En outre, l'ARNm est dégradé par des processus cellulaires normaux, et sa demi-vie *in vivo* peut être régulée par l'utilisation de diverses modifications et méthodes d'administration [27]. L'immunogénicité inhérente de l'ARNm peut être modulée à la baisse pour augmenter encore le profil de sécurité [28].

L'efficacité : Diverses modifications rendent l'ARNm plus stable et hautement traduisible. Une distribution *in vivo* efficace peut être obtenue en formulant l'ARNm en molécules porteuses, ce qui permet une absorption et une expression rapides dans le cytoplasme. Par conséquent, l'immunité anti-vectorielle est évitée, ce qui pose en revanche un véritable souci pour d'autres types de vaccins, tel que ceux dérivés de virus (à noter également que de nombreux vaccins, anti-COVID-19 en cours de développement utilisent cette stratégie, mais il s'agit là d'une autre histoire !). Les vaccins à ARNm peuvent donc être administrés de manière répétée !

La production : Les vaccins à ARNm ont le potentiel d'une production rapide, une fabrication peu coûteuse et évolutive, principalement en raison des rendements élevés des réactions de transcription *in vitro*. Dans le cas du nouveau variant anglais COVID-19 par exemple, une estimation de 6 semaines uniquement serait nécessaire pour modifier un vaccin dérivé des ARNm et l'adapter à de nouveaux variants. Dans la situation sanitaire actuelle, c'est un argument majeur.

Le domaine des vaccins à ARNm se développe extrêmement rapidement ; un grand nombre de données précliniques ont été accumulées au cours des dernières années, et de multiples études cliniques sur l'homme ont été engagées, parmi lesquels un vaccin contre la grippe, le virus de la rage, le virus Zika ou encore un certain nombre de cancers. Les données actuelles suggèrent que les vaccins à ARNm ont le potentiel de résoudre de nombreux problèmes liés à la mise au point de vaccins pour à la fois les maladies infectieuses et le cancer [14]

Les risques potentiels des vaccins à ARN

Le principal risque des vaccins à ARN est celui du déclenchement d'une réponse immunitaire excessive par activation de la réponse immunitaire naturelle [32]. La réponse immunitaire naturelle est activée par liaison de l'ARN aux récepteurs de type TLR (*Toll Like Receptor*) comme les TLR-3,7 ou 8, ou de type RLR (*RIG-I Like Receptor*) comme les protéine RIG-I (*Retinoic Acid Inducible Gene I*) et MDA5 (*Melanoma Differentiation Associated gene 5*) ou encore la PKR (*Protein Kinase RNA-activated*) [33,34] (**figure 1**). On atténue ce risque en concevant des ARNm ayant des séquences semblables à celles produites par les cellules de mammifères et en introduisant des nucléosides modifiés, ce qui a pour effet de limiter la réponse immunitaire, et donc de retarder sa dégradation, d'où un meilleur taux de traduction en antigène. Certains vaccins à ARN peuvent également produire une forte réponse immunitaire inflammatoire associée à une production massive d'interférons de type I (IFN-I) et

potentiellement pouvant conduire à des manifestations auto-immunes pathologiques. Les individus prédisposés aux maladies auto-immunes sont donc potentiellement des sujets à risque pour l'utilisation de ces vaccins à ARNm et par « principe de précaution » ne devraient pas se faire vacciner avec ce type de vaccin en attendant les données complémentaires sur plus long terme et grande échelle [20].

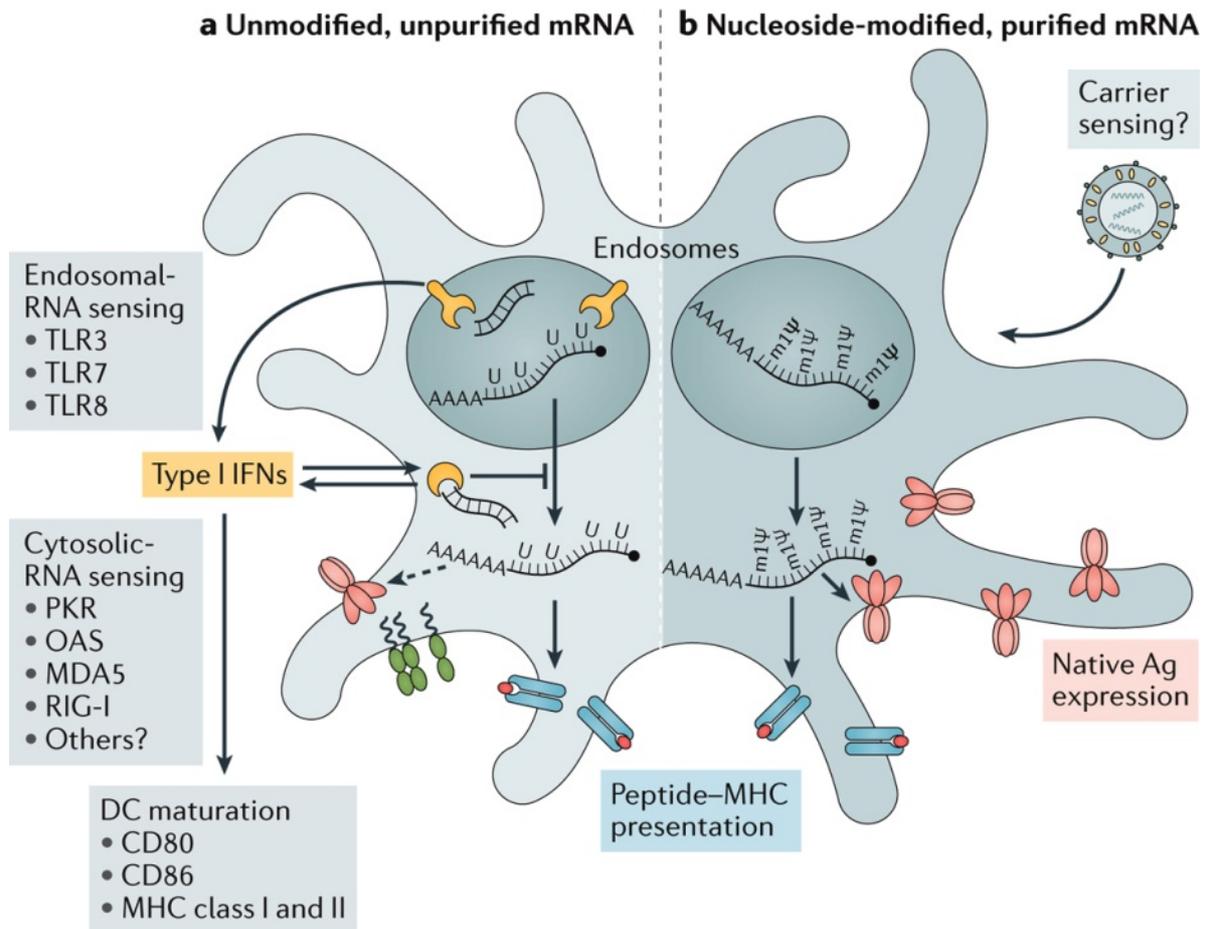
L'ARN extracellulaire est aussi connu pour être un facteur favorisant la coagulation sanguine et augmentant la perméabilité de l'endothélium, ce qui peut éventuellement entraîner des risques d'infarctus (notamment d'infarctus cérébral), de thrombose ou encore d'embolie pulmonaire. Cependant, L'ARN qui se retrouve dans le sang est toutefois détruit très rapidement par des RNases s'il n'est pas internalisé efficacement dans les cellules [17].

Mécanismes d'actions

La production d'antigène dans le cytosol de la cellule cible (exemple une CPA, *Cellule Présentatrice des Antigènes*) permet l'apprêtement et la présentation des épitopes de l'antigène sur les CMH (*Complexes Majeurs d'Histocompatibilité*) de classe I et II à la surface de la CPA aux Lymphocytes T (**figure 1**). Les antigènes peuvent aussi être exprimés en surface indépendamment du CMH (si sous forme de protéine transmembranaire) ou sécrétés par les cellules pour être ensuite transportées par la circulation sanguine.

Un ARN messenger peut être traduit en un nombre de protéines d'autant plus élevé que cet ARNm est stable.

Les vaccins à ARN ont généralement une forte immunogénicité et ne nécessitent pas l'addition d'adjuvant. Cependant, les propriétés immunostimulatrices de l'ARNm peuvent être augmentées par l'inclusion d'un adjuvant afin d'augmenter l'efficacité de certains formats de vaccins à ARNm. Il s'agit notamment d'adjuvants traditionnels ainsi que de nouvelles approches qui tirent parti de l'immunogénicité intrinsèque de l'ARNm ou de sa capacité à coder des protéines immunomodulatrices. Par exemple, les vaccins à ARN autorépliquant ont montré une immunogénicité et une efficacité accrues après avoir formulé l'ARN dans une nanoémulsion cationique basée sur l'adjuvant MF59® (Novartis), adjuvant immunologique à base de squalène, actuellement utilisé dans le vaccin annuel et conventionnel contre la grippe. Une autre stratégie adjuvante efficace est le TriMix® une combinaison d'ARNm codant pour trois protéines d'activation du système immunitaire : CD70, le ligand CD40 (CD40L) et la protéine TLR4 constitutivement active.



Nature Reviews | Drug Discovery

D'après N., Hogan, M., Porter, F. *et al.* mRNA vaccines - A new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 17, 261–279 (2018).

Figure 1 Détection immunitaire naturelle des vaccins à ARNm

Mécanismes de détections immunitaires naturels de deux types de vaccins à ARNm par une Cellule Dendritique (DC) qui est une CPA professionnelle : L'ARNm non modifié, non purifié (**partie a - gauche**) et L'ARNm modifié par des nucléosides, purifiés par FPLC (**partie b - droite**). L'ARNm exogène est intrinsèquement immunostimulateur, car il est reconnu par une variété de récepteurs génériques de surfaces cellulaires, d'endosomes et de récepteurs immunitaires cytosoliques de l'immunité naturelle (aussi appelé PRR - Pattern Recognition Receptor). Ces « capteurs » des ARNm sont représentés en jaune, l'antigène en rouge, les facteurs de maturation de la DC en vert et le peptide associé au CMH en bleu clair et rouge. Une liste non exhaustive présente les principaux capteurs d'ARN connus qui contribuent à la reconnaissance des ARN simple brin et double brin et non modifiés.

IFN (interferon); m1Ψ (1-méthylpseudouridine); OAS (2'-5'-oligoadenylate synthetase) ; Ag (antigène)

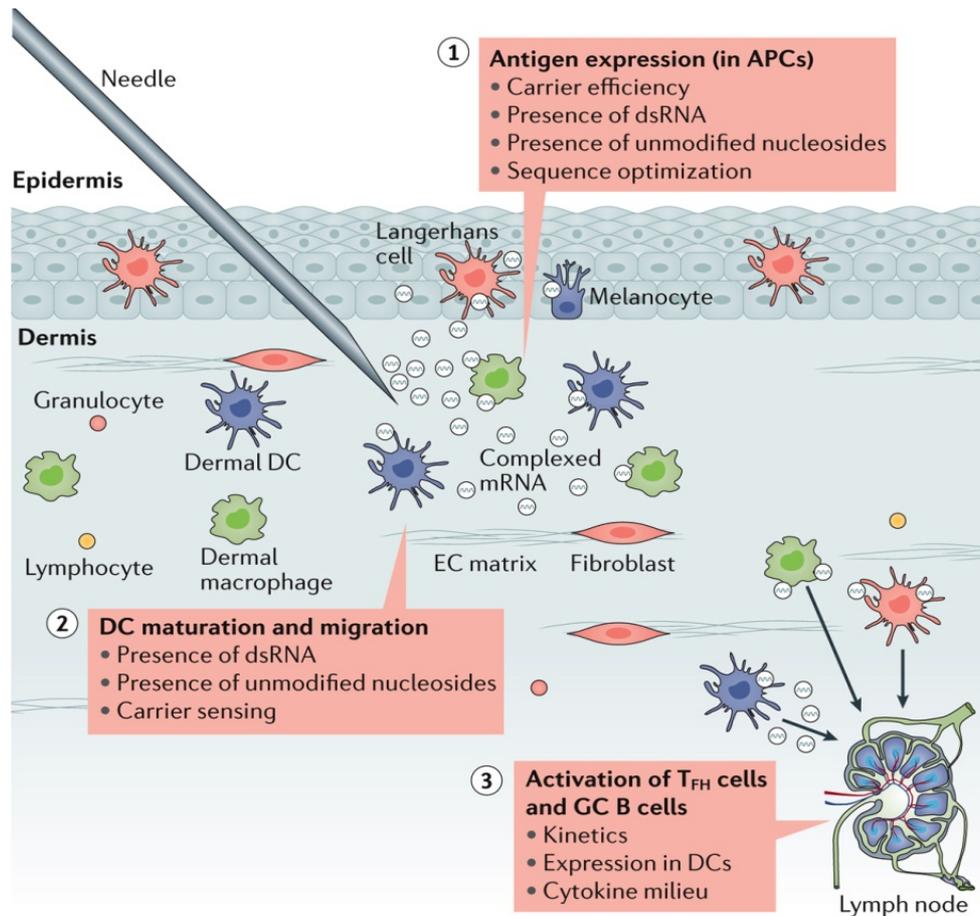
Les difficultés

Des difficultés subsistent néanmoins pour assurer complètement l'efficacité des vaccins à ARNm. L'un des obstacles principaux consiste à réussir à amener les ARNm dans le cytoplasme. Il faut pour cela franchir les membranes des cellules. Il est également difficile de cibler les cellules spécialisées dans la présentation des antigènes.

Pour y parvenir, plusieurs solutions sont possibles. On peut utiliser un virus modifié pour servir de vecteur à l'acide nucléique que l'on souhaite introduire dans les cellules (ARN ou ADN). Une autre approche consiste à fabriquer de toutes pièces une enveloppe artificielle, une sorte de virus synthétique. C'est d'ailleurs cette stratégie qui a été choisie par Pfizer/BioNtech et

Moderna qui utilise des particules nanolipidiques pour transporter l'ARNm vaccinal dans leurs vaccins Anti-COVID-19.

La formulation des ARNm vaccinaux, la voie et la méthode d'injection ainsi que le mode d'entrée dans la cellule vont jouer un rôle décisif pour l'activation du système immunitaire. Les vaccins à ARNm sont généralement administrés par voie intramusculaire (IM) ou en intradermique (ID) (**figure 2**). Dans le cas de la vaccination anti-COVID-19, les vaccins à ARNm qui sont disponibles et utilisés aujourd'hui sont injectés par voir IM. C'est un format d'administration de vaccin attrayant en raison de son efficacité, de sa simplicité d'administration et de son faible coût financier.



Nature Reviews | Drug Discovery

D'après Pardi, N., Hogan, M., Porter, F. *et al.* mRNA vaccines - A new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 17, 261–279 (2018).

Figure 2 : Facteurs contribuant à l'efficacité d'un vaccin à ARNm injecté directement (ici par voie intradermique). La voie d'administration d'un vaccin constitue donc un paramètre crucial, car elle influence à la fois la réponse immunitaire, mais aussi les effets secondaires. Une grande variété et quantité de CPA résident dans la peau, ce qui en fait un site idéal pour l'administration d'immunogènes en vaccination. Les principaux facteurs qui vont participer à l'efficacité du vaccin lors de son injection directe sont ; 1) Le niveau d'expression des antigènes vaccinaux dans les CPA (étroitement associé à la vectorisation de l'ARNm). 2) Le niveau d'activation/maturation des CPA et de leur capacité à migrer vers les ganglions lymphatiques (qui dépend principalement de l'activation des récepteurs de l'immunité naturelle mis en jeu. 3) La capacité des CPA à activer et orienter la réponse immunitaire adaptative (principalement les cellules T CD4⁺ folliculaires et les centres germinatifs où les lymphocytes B vont se différencier et produire des anticorps protecteurs).

Dans la course aux vaccins contre le COVID-19 [35,36], les 2 premiers vaccins aujourd'hui disponibles en France et en Europe utilisent la technologie des ARNm, et ont clairement été développés à une vitesse inhabituelle en raison de l'urgence sanitaire mondiale. La vitesse de production de ces vaccins a d'ailleurs fortement contribué à détériorer la confiance que les Français avait envers la campagne de vaccination anti-COVID-19. Cependant, il est important de préciser que toutes les étapes de contrôle et toutes les règles classiques de réglementation ont été rigoureusement appliquées et respectées selon les normes en vigueur des pays demandeurs, voir même renforcées en raison des enjeux et de l'atmosphère particulièrement suspicieuses que nous subissons. Il faut aussi rappeler que la recherche théorique fondamentale et préclinique de ces 20 dernières années sur ce type de vaccin a constitué une base solide permettant de nous nous lancer en clinique avec un indice de confiance satisfaisant. Nous vivons également une situation sanitaire jamais rencontrée auparavant, ou presque aucune barrière administrative, scientifique ou financière n'ont freiné l'avancement du développement des vaccins. Associées à un chevauchement des différentes étapes de production et de tests cliniques, ainsi qu'une prise de risque relative des compagnies pharmaceutiques concernant les prédictions d'efficacité des vaccins, les vaccins anti-COVID-19 ont globalement été développés en un temps record. Néanmoins, Il est évident que cette situation sanitaire a été une formidable opportunité pour lancer ces nouveaux vaccins à grande échelle.

1) Le vaccin COMIRNATY® COVID-19 à ARNm (BNT162b2) a été développé par les firmes BioNTech et Pfizer. C'est le premier vaccin à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché conditionnelle en Europe (règlement CE n°507/2006), (AMM du 21 décembre 2020).

2) Le vaccin MODERNA COVID-19 à ARNm (nucleoside modified) (mRNA-1273) a été développé par la firme Moderna. (AMM du 6 janvier 2021).

Le vaccin de Pfizer/BioNTech, comme celui de Moderna, repose sur l'injection intramusculaire d'un ARNm codant la protéine S (Spike) de l'enveloppe du SARS-CoV-2. Il s'agit de la protéine S stabilisée « en conformation pré-fusion », autrement dit dans l'état conformationnel dans laquelle elle se trouve avant que l'enveloppe du virus fusionne avec la membrane de la cellule qu'elle infecte. La protéine S est l'élément de l'enveloppe du SARS-CoV-2 qui reconnaît le récepteur ACE2 présent à la surface des cellules cibles (récepteur connu du virus SARS-CoV-2).

Le vaccin COMIRNATY® COVID-19

Selon les données de phases 2/3, le vaccin assure une grande efficacité (**95 % de taux de protection sur l'ensemble des données analysées**) pour prévenir les formes symptomatiques légères à modérées de COVID-19 chez les personnes n'ayant jamais été infectées par SARS-CoV-2. L'efficacité apparaît rapidement avec un taux de protection d'environ **50 % dès la première injection** (confirmée par les données les plus récentes obtenues en Israël où la campagne de vaccination est la plus avancée à ce jour).

Ce vaccin a été validé par l'Agence Européenne du Médicament (AEM), puis par la Commission européenne et a obtenu une autorisation de mise sur le marché conditionnelle le 21 décembre 2020. La HAS (Haute Autorité de Santé) confirme l'utilité de ce vaccin dans la stratégie vaccinale contre le COVID-19, et publie en parallèle des recommandations destinées aux médecins généralistes pour les guider dans la conduite d'une consultation de pré-vaccination qui sont les suivants :

Le vaccin Comirnaty® (BNT162b2) à ARNm COVID-19 a été autorisé dans le cadre « d'une immunisation active pour prévenir du COVID-19, chez les personnes âgées de 16 ans et plus »

Comment et pour qui faut-il recommander l'utilisation de ce vaccin ?

Pour établir la place du vaccin dans la stratégie vaccinale, la HAS s'est appuyée sur les données cliniques transmises par les laboratoires Pfizer et BioNtech et sur l'autorisation de mise sur le marché octroyée par l'AEM. Les résultats des études cliniques ont un recul de 1,5 mois et démontrent chez l'adulte que ce vaccin, administré en 2 doses espacées de 21 jours, est efficace à 95% pour se protéger des formes symptomatiques du COVID-19. Ce vaccin est efficace, quels que soient l'âge des personnes (y compris chez celles de plus de 65 ans), leur sexe, leur indice de masse corporelle et leurs éventuelles comorbidités.

Le profil de tolérance est satisfaisant : en balance de ces données d'efficacité, les effets secondaires dus au vaccin Comirnaty® sont pour la grande majorité légère (douleur au point d'injection, fatigue, céphalées), avec de rares cas d'effets indésirables graves documentés par l'AEM [37].

En France, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé va en faire le suivi et fera régulièrement le point sur les données de pharmacovigilance ; **les recommandations de la HAS seront susceptibles d'être revues si d'autres effets indésirables graves ou inattendus se déclareraient.**

Le vaccin Moderna COVID-19

Le vaccin Moderna a reçu une autorisation de mise sur le marché conditionnelle en Europe dans l'indication « d'une immunisation active pour prévenir du COVID-19 lié au virus SARS-CoV-2, chez les personnes âgées de 18 ans et plus » le 6 janvier 2021. C'est le second vaccin disponible pour lutter contre le COVID-19. L'efficacité du vaccin est avérée pour diminuer drastiquement le nombre de cas symptomatiques du COVID-19. Il manque encore des données nécessaires pour conclure sur un effet concernant la transmission du virus.

Cependant !

Si les résultats pour ces 2 vaccins aujourd'hui sont globalement encourageants (en particulier, avec le contrôle des données cours en Israël où la campagne de vaccination avec le vaccin Pfizer/BioNTech est aujourd'hui la plus avancée), de nombreuses questions persistent :

- Quelle est la durée de l'immunité conférée ?
- Quelle est l'efficacité de la protection des personnes les plus à risque de formes sévères ?
- Quel est l'impact de ce vaccin sur la transmission du virus par les personnes vaccinées ?
- Quelle est la toxicité sur le long terme ?

Il n'y a pas assez de données sur :

- La possibilité d'effets indésirables graves, rares ou décalés dans le temps,
- La possibilité d'un COVID-19 aggravée par la vaccination (les données actuelles sur ce point sont pour le moment rassurantes),
- La toxicité chez les moins de 16 ans, les femmes enceintes et allaitantes et les personnes immunodéprimées.

Il est par conséquent évident, que **des études complémentaires et rapides sont nécessaires**, ainsi que la mise en place d'un **dispositif de vaccinovigilance [38]**. Ce qui est actuellement en e en Europe.

Conclusion

Au cours des deux dernières décennies, les vaccins à ARNm ont été largement étudiés pour la prévention des maladies infectieuses et pour la prophylaxie et le traitement du cancer. Les progrès accomplis jusqu'à ces derniers jours sont considérables. Les vaccins à ARNm ont un grand potentiel et offrent certains avantages par rapport aux vaccins conventionnels, comme une vitesse de production augmentée pour une efficacité et sécurité au moins équivalente, atout majeur contre les épidémies émergentes. Le nombre croissant de résultats précliniques et cliniques démontrent que la prophylaxie et la thérapie avec l'ARNm promettent d'être utiles pour prévenir les maladies infectieuses. Récemment ces données ont été vérifiées à grande échelle pour lutter contre l'expansion du COVID-19. Il aura tout de même fallu cette catastrophe planétaire qui est celle de la diffusion du SARS-Cov2, pour mobiliser des équipes internationales industrielles et académiques et ainsi capitaliser 30 années de recherche en un temps record afin de réaliser en première mondiale des vaccins à ARNm révolutionnaires. Entre craintes de l'inconnu et du nouveau, et espoirs de ne pas se contaminer ou du moins avoir une forme atténuée, peut-être que notre avenir ne tient qu'à un fil : un fragment d'ARN !

Références

1. Ehreth J. The global value of vaccination. *Vaccine* 2003 ; 21 : 596–600.
2. Hui C, Dunn J, Morton R, *et al.* Interventions to Improve Vaccination Uptake and Cost Effectiveness of Vaccination Strategies in Newly Arrived Migrants in the EU/EEA: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 .
3. Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, *et al.* Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science* 2018 ; 359 : 1156–1161.
4. Scheiblhofer S, Thalhamer J, Weiss R. DNA and mRNA vaccination against allergies. *Pediatr Allergy Immunol* 2018 ; 29 : 679–688.
5. Morris L, Swofford S. Vaccine Safety. *Prim Care* 2020 ; 47 : 431–441.
6. Housset B. Défiance vis-à-vis de la vaccination : pourquoi ? *Revue des Maladies Respiratoires* 2019 ; 36 : 955–961.
7. World survey reveals people trust experts but want to know more about science | Wellcome n.d. ;
8. L'OMS et l'UNICEF mettent en garde contre une baisse de la vaccination pendant la pandémie de COVID-19 n.d. ;
9. Francis MJ. Recent Advances in Vaccine Technologies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2018 ; 48 : 231–241.
10. Minor PD. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology* 2015 ; 479–480 : 379–392.
11. Li J, Arévalo MT, Chen Y, *et al.* T-cell-mediated cross-strain protective immunity elicited by prime-boost vaccination with a live attenuated influenza vaccine. *Int J Infect Dis* 2014 ; 27 : 37–43.
12. Zhou B, Meliopoulos VA, Wang W, *et al.* Reversion of Cold-Adapted Live Attenuated Influenza Vaccine into a Pathogenic Virus. *J Virol* 2016 ; 90 : 8454–8463.
13. Pardi N, Parkhouse K, Kirkpatrick E, *et al.* Nucleoside-modified mRNA immunization elicits influenza virus hemagglutinin stalk-specific antibodies. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 3361.
14. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, *et al.* mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 2018 ; 17 : 261–279.
15. Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, *et al.* New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Front Immunol* 2018 ; 9 : 1963.
16. Kutzler MA, Weiner DB. DNA vaccines: ready for prime time? *Nat Rev Genet* 2008 ; 9 : 776–788.
17. Geall AJ, Mandl CW, Ulmer JB. RNA: the new revolution in nucleic acid vaccines. *Semin Immunol* 2013 ; 25 : 152–159.
18. Wolff JA, Malone RW, Williams P, *et al.* Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990 ; 247 : 1465–1468.
19. Ross J. mRNA stability in mammalian cells. *Microbiol Rev* 1995 ; 59 : 423–450.
20. Pardi N, Weissman D. Nucleoside Modified mRNA Vaccines for Infectious Diseases. *Methods Mol Biol* 2017 ; 1499 : 109–121.
21. Anraku I, Harvey TJ, Linedale R, *et al.* Kunjin virus replicon vaccine vectors induce protective CD8+ T-cell immunity. *J Virol* 2002 ; 76 : 3791–3799.
22. Johanning FW, Conry RM, LoBuglio AF, *et al.* A Sindbis virus mRNA polynucleotide vector achieves prolonged and high level heterologous gene expression in vivo. *Nucleic Acids Res* 1995 ; 23 : 1495–1501.
23. Tews BA, Meyers G. Self-Replicating RNA. *Methods Mol Biol* 2017 ; 1499 : 15–35.
24. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, *et al.* Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Mol Ther* 2018 ; 26 : 446–455.
25. Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. mRNA-based therapeutics--developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2014 ; 13 : 759–780.
26. Pascolo S. Vaccination with messenger RNA. *Methods Mol Med* 2006 ; 127 : 23–40.
27. Thess A, Grund S, Mui BL, *et al.* Sequence-engineered mRNA Without Chemical Nucleoside Modifications Enables an Effective Protein Therapy in Large Animals. *Mol Ther* 2015 ; 23 : 1456–1464.
28. Karikó K, Muramatsu H, Ludwig J, *et al.* Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : e142.
29. Jones KL, Drane D, Gowans EJ. Long-term storage of DNA-free RNA for use in vaccine studies. *Biotechniques* 2007 ; 43 : 675–681.
30. Stitz L, Vogel A, Schnee M, *et al.* A thermostable messenger RNA based vaccine against rabies. *PLoS Negl Trop Dis* 2017 ; 11 : e0006108.
31. Richaud M, Bendriss-Vermare N. [Cancer immunotherapy via systemic RNA delivery to dendritic cells]. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 852–856.
32. Poveda C, Biter AB, Bottazzi ME, *et al.* Establishing Preferred Product Characterization for the

Evaluation of RNA Vaccine Antigens. *Vaccines (Basel)* 2019 ; 7 .

33. Tatematsu M, Funami K, Seya T, *et al.* Extracellular RNA Sensing by Pattern Recognition Receptors. *J Innate Immun* 2018 ; 10 : 398–406.
34. Edwards DK, Jasny E, Yoon H, *et al.* Adjuvant effects of a sequence-engineered mRNA vaccine: translational profiling demonstrates similar human and murine innate response. *J Transl Med* 2017 ; 15 : 1.
35. Zhao J, Zhao S, Ou J, *et al.* COVID-19: Coronavirus Vaccine Development Updates. *Front Immunol* 2020 ; 11 : 602256.
36. Karpiński TM, Ożarowski M, Seremak-Mrozikiewicz A, *et al.* The 2020 race towards SARS-CoV-2 specific vaccines. *Theranostics* 2021 ; 11 : 1690–1702.
37. DIMITROVA EK. Comirnaty. *European Medicines Agency* 2020.
38. Création d'un dispositif de vaccinovigilance - Sénat n.d. ;.