

**UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE  
MASTER IMMUNOTECHNOLOGIE 2005-2006**

**Session Janvier 2006  
M2 Module II**

La vaccination ADN est apparue ces dernières années comme une stratégie vaccinale prometteuse.

Le schéma d'immunisation le plus simple consiste à injecter l'ADN plasmidique directement dans le muscle à la fréquence d'une injection toutes les deux à trois semaines et cela pendant 1 à 2 mois (3 injections en moyenne).

1. Rappeler brièvement les avantages et les inconvénients de la vaccination génétique utilisant de l'ADN nu. (10 lignes maximum)

La lenteur d'apparition de la réponse immunitaire cellulaire, développée après injection intramusculaire de l'ADN, a poussé de nombreuses équipes à optimiser les modalités d'administration de l'ADN pour augmenter l'activation lymphocytaire.

2. Proposez une explication de la faible vitesse d'apparition de la réponse immunitaire cellulaire suite à une vaccination ADN intramusculaire. (5 lignes maximum)

L'équipe de Haanen (*Bins et al ; Nature medecine 2005*) a comparé l'effet de la voie d'administration de l'ADN (injection intramusculaire ou intradermique) sur l'efficacité de transfection, le niveau d'expression de l'antigène, la cinétique et l'intensité de la réponse immunitaire.

a) Influence sur l'efficacité d'immunisation

Pour tester les réponses immunitaires observées après les différentes méthodes d'administration de l'ADN, l'équipe de Haanen a choisi d'utiliser un plasmide comportant la séquence génétique de l'épitope NP366-374 (noté NP<sub>366</sub>, présenté par les molécules H-2D<sup>b</sup>) dérivé de la nucléoprotéine du virus de la grippe (Influenza A) et directement liée à la séquence génétique du fragment carboxy-terminale de la toxine tétanique (d1TTFC-NP).

3. Justifiez le modèle antigénique.

Le plasmide d1TTFC-NP a été injecté 3 fois à 2 semaines d'intervalle par voie intramusculaire (100µg d'ADN par injection ; triangles) ou par voie intradermique utilisant un dermographe (20µg d'ADN à chaque utilisation de l'appareil de tatouage ; cercles). Sept jours après la dernière injection, la réponse immunitaire induite est évaluée par marquage sur le sang avec les tétramères H-2D<sup>b</sup>/NP<sub>366</sub>. Les résultats sont représentés dans la Figure 1 (les barres correspondent aux moyennes des groupes).

4. Décrivez la Figure 1 et proposez des hypothèses permettant d'expliquer les différences observées (5 lignes maximum).

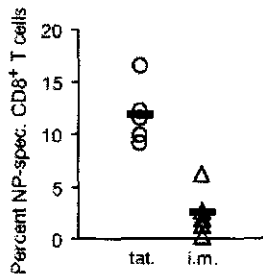


Figure 1. Evaluation de la fréquence de cellules spécifiques de NP366 dans le sang sept jours après la dernière injection de l'ADN d'ITFC-NP réalisée par voie intramusculaire (i.m.) ou par « tatouage » (tat.).

b) Cinétique d'expression de l'antigène :

L'évaluation de l'expression antigénique a pu être quantifiée en utilisant un autre plasmide dont le gène d'intérêt code une protéine hybride Luc-NP<sub>366</sub> composée de l'antigène NP<sub>366</sub> fusionné à la luciférase (Luc). Le niveau d'expression de la protéine a été quantifiée après une injection intramusculaire (100µg d'ADN ; triangles) ou après tatouage (20µg d'ADN par dermographe; cercles).

5. Décrivez la Figure 2 et interprétez les différences de cinétique d'expression de l'antigène.

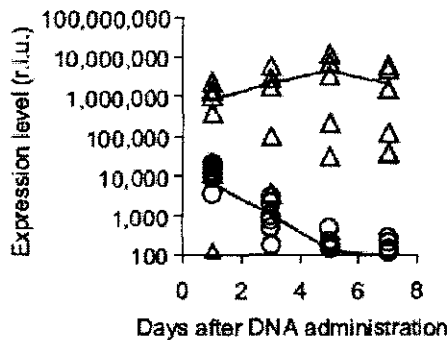


Figure 2. Cinétique d'expression de Luc-NP détectée in vivo par luminescence après injection de luciférase (substrat) chez des souris immunisées par une injection intramusculaire (triangles) ou une injection intradermique (cercles).

c) Influence sur l'activation lymphocytaire

Pour évaluer l'efficacité de ces méthodes à présenter l'antigène vaccinal NP<sub>366</sub> aux lymphocytes T naïfs résidant dans les ganglions lymphatiques drainant, les auteurs ont transféré 5 millions de splénocytes prélevés à partir de souris TCR transgéniques F5 et marqués par le carboxy-fluorocéine diacétate succinimidyl ester (CFSE) chez les souris immunisées avec l'ADN Luc-NP un, huit ou vingt-deux jours avant le transfert. L'activité luciférase est évaluée le jour du transfert et 3 jours plus tard, la perte du marquage CFSE par les cellules F5 des ganglions drainants est mesurée par cytométrie de flux. Les résultats sont donnés dans la Figure 3.

6. Décrivez brièvement les résultats de la Figure 3 et indiquez quelle stratégie est la plus efficace pour induire la réponse vaccinale.

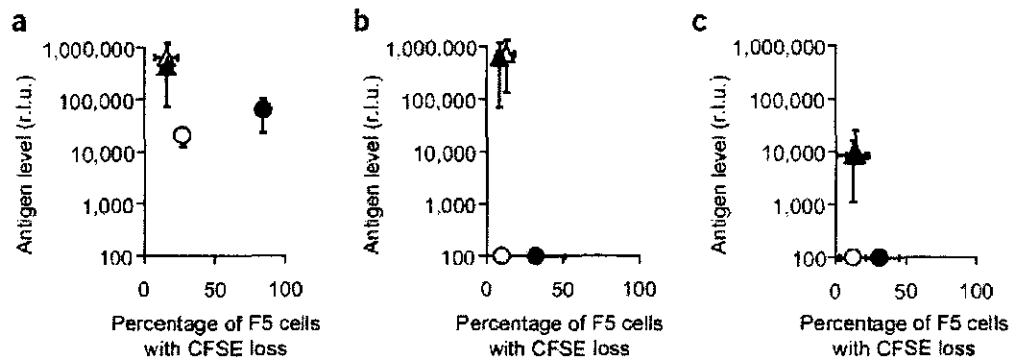


Figure 3 : Expression et présentation antigénique.

Les souris sont immunisées par une injection de l'ADN Luc-NP par voie intramusculaire (100 µg ; triangles noirs) ou par tatouage (20 µg ; ronds noirs). Des souris contrôles sont injectées soit par voie intramusculaire (triangles blancs) ou par tatouage (ronds blancs) avec un plasmide codant la luciférase uniquement.

Les lymphocytes T F5 marqués au CFSE sont transférés au jour 1 (a), 8 (b) ou 22 (c) après l'immunisation et sont analysés 3 jours après le transfert au niveau des ganglions drainant le site d'immunisation.

7. Considérant l'ensemble de ces résultats, proposez le protocole vaccinal qui vous semble optimal.
  
8. Quelles autres stratégies peuvent être envisagées pour augmenter encore les réponses vaccinales et plus particulièrement les réponses immunitaires de type cellulaire. (15 lignes maximum)