



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

Recherches sur les vaccins à Tours : du vaccin contre l'hépatite B à un vaccin bivalent contre les hépatites B et C[☆]

Vaccine research in Tours: From hepatitis B vaccine to a bivalent vaccine against hepatitis B and C

P. Roingeard

Inserm U1259 MAVIVH, CHU de Tours, université de Tours, 10, boulevard Tonnellé, 37032 Tours cedex, France

Reçu le 29 décembre 2021 ; accepté le 29 décembre 2021

Disponible sur Internet le 26 juillet 2022

MOTS CLÉS

Virus de l'hépatite C ;
Virus de l'hépatite B ;
Vaccin ;
Prophylaxie

Résumé Au milieu des années 70, le professeur Philippe Maupas mettait au point à Tours le tout premier vaccin contre le virus de l'hépatite B (VHB), basé sur l'utilisation des particules d'excès d'enveloppe qui accompagnent le virus dans le sang de sujets chroniquement infectés. À l'époque, ces particules sous-virales étaient purifiées à partir du plasma de porteurs chroniques du VHB pour produire un vaccin dit « plasmatisé ». Ce vaccin a fait preuve de son efficacité et été utilisé pendant plusieurs années avant d'être remplacé progressivement par des vaccins produits par génie génétique. En effet, l'expression in vitro de la protéine d'enveloppe du VHB conduit à la production de ces particules sous-virales. Le virus de l'hépatite C (VHC) n'a, lui, été identifié qu'au début des années 90, et il n'existe toujours pas de vaccin contre ce virus, en partie du fait des difficultés techniques pour produire et purifier ses protéines d'enveloppe. Au cours des 15 dernières années, l'équipe de virologie de Tours a décrypté les mécanismes de morphogénèse des virus des hépatites B et C. Ces travaux de recherche fondamentale ont été déterminants pour mettre au point des protéines chimères entre les enveloppes du VHB et du VHC capables de former également des particules sous-virales. Ces particules ressemblent à celles du vaccin contre le VHB, mais ont l'avantage de contenir la totalité des protéines d'enveloppe du VHC. Elles constituent donc la base d'un vaccin bivalent qui pourrait être utilisé pour protéger à la fois contre le VHB et le VHC.

© 2022 l'Académie nationale de médecine. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

[☆] Journées des 27 et 28 septembre 2021 délocalisées à Tours.

Adresse e-mail : roingeard@med.univ-tours.fr

KEYWORDS

Hépatite C virus;
Hépatite B virus;
Vaccin;
Prophylaxie

Summary. – In the mid-1970s, Professor Philippe Maupas developed the first vaccine against the hepatitis B virus (HBV) in Tours, based on the use of excess envelope particles that accompany the virus in the blood of chronically infected subjects. At the time, these subviral particles were purified from the plasma of chronic HBV carriers to produce a so-called “plasma vaccine”. This vaccine proved to be effective and was used for several years before being progressively replaced by vaccines produced by genetic engineering. Indeed, the *in vitro* expression of the HBV envelope protein leads to the production of these subviral particles. The hepatitis C virus (HCV) was only identified in the early 1990s, and there is still no vaccine against this virus, partly because of the technical difficulties in producing and purifying its envelope proteins. Over the past 15 years, the virology team in Tours has deciphered the mechanisms of morphogenesis of hepatitis B and C viruses. This basic research has been instrumental in developing chimeric proteins between the envelopes of HBV and HCV that can also form subviral envelope particles. These particles resemble those of the HBV vaccine, but have the advantage of containing the entire envelope proteins of HCV. They, therefore, constitute the basis of a bivalent vaccine that could be used to protect against both HBV and HCV.

© 2022 l'Académie nationale de médecine. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

L'infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) induit des pathologies graves du foie, pouvant évoluer vers une cirrhose et un carcinome hépatocellulaire. En 1981, il y a 40 ans, le premier vaccin prophylactique contre le VHB était commercialisé. Celui-ci représentait le premier vaccin préventif d'une pathologie cancéreuse, et on pouvait, de fait, parler de vaccin « anti-cancer ». À ce jour, plus d'un milliard de doses de vaccin ont été utilisées pour la prévention de l'hépatite B dans le monde, avec une efficacité de ce vaccin estimée à 95 %.

Au moment où ce vaccin contre le VHB était mis au point, on savait qu'un autre virus était responsable d'hépatites chroniques évoluant aussi vers des cirrhoses et des cancers du foie, mais il n'avait pas été identifié et on parlait alors de virus « non-A non-B ». Ce virus allait finalement être caractérisé au début des années 90 et nommé naturellement virus de l'hépatite C (VHC) [1]. Depuis, ce virus a fait l'objet d'intenses études par la communauté scientifique, débouchant sur la mise au point de molécules antivirales extrêmement efficaces, appelées antiviraux à action directe (AAD), capables d'éliminer, dans 95 % des cas, le virus chez les individus traités [2]. Ce formidable succès de la médecine moderne a été salué par l'attribution du Prix Nobel de Médecine 2020 aux trois co-découvreur de ce virus (Harvey Alter, Michael Houghton et Charles Rice), et a conduit l'Organisation mondiale de la santé (OMS) à proposer un objectif ambitieux et global, adopté en 2016, visant à éradiquer les hépatites virales B et C d'ici 2030 [3].

Cependant, et malgré l'efficacité remarquable de ces nouvelles molécules antivirales, la tâche s'avère très complexe et cet objectif paraît finalement irréaliste [4]. En effet, à l'échelle planétaire, plus de 70 millions de sujets sont porteurs chroniques du virus et plus de 90 % d'entre eux ignorent qu'ils sont infectés, jusqu'à ce que la maladie se déclare. À ce stade, les médicaments sont moins efficaces, car s'ils permettent d'éliminer le virus, ils ne permettent pas toujours d'éviter la progression de la cirrhose et le développement d'un cancer du foie. Dans beaucoup de pays, une logistique de dépistage et de traitement de ces porteurs chroniques avant le développement de signes

cliniques d'une maladie hépatique n'est malheureusement pas mise en place. Par ailleurs, si ces traitements antiviraux permettent d'éliminer le virus chez un sujet chroniquement infecté, ils n'empêchent pas une réinfection. L'OMS estime que plus de 2 millions de nouvelles infections surviennent chaque année dans le monde. Toutes les études de modélisation montrent que globalement l'épidémie ne régresse pas au niveau mondial. En effet, si celle-ci régresse dans certains pays où un dépistage et un traitement sont bien mis en place, elle progresse au contraire dans d'autres pays. De plus, ces études de modélisation ont été faites avant la pandémie de COVID-19, et il est probable que celle-ci va amplifier l'épidémie d'hépatite C du fait de retards pris dans le dépistage [5]. Pour toutes ces raisons, la mise au point d'un vaccin prophylactique contre le VHC est un enjeu majeur, représentant le seul espoir de pouvoir contrôler l'épidémie d'hépatite C à l'échelle mondiale. Cependant, la nature de l'immunogène et la place d'un vaccin contre l'hépatite C dans un schéma vaccinal global constituent des éléments essentiels dans la réflexion à mener pour développer un tel vaccin. Sur ce dernier point, son association avec le vaccin contre l'hépatite B serait indéniablement un avantage, puisque ces virus induisent le même type de pathologie et connaissent les mêmes mécanismes de transmission.

Le vaccin contre le virus de l'hépatite B

Une caractéristique assez unique de ce virus est la capacité de son enveloppe à s'auto-assembler en particules vides et donc non infectieuses. Ainsi, quand on observe en microscopie électronique le sérum de patients infectés, on distingue deux types de structures (Fig. 1) : des particules sphériques de 42 nm qui constituent le virion complet, qui sont infectieuses et dont la concentration peut dépasser 10^9 particules par millilitre et des billes et des bâtonnets de 22 nm de diamètre, ayant une longueur variable pour les bâtonnets qui correspondent à des enveloppes vides et dont le taux peut atteindre 10^{13} particules par millilitre [6]. La particule virale complète comporte une enveloppe portant l'antigénicité HBs (Ag HBs), une capsid portant l'antigénicité HBc (Ag HBc, dont la forme sécrétée dans le sang est l'Ag HBe),

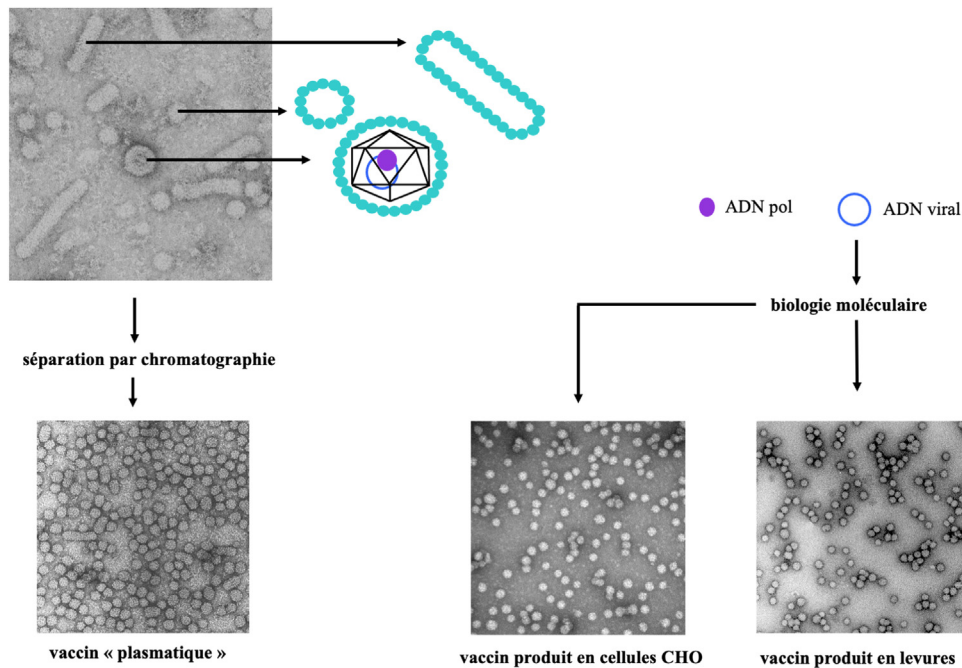


Figure 1 Le virus de l'hépatite B et ses particules sous-virales d'enveloppe, base du développement du vaccin contre l'hépatite B. Le VHB circule dans le sang des sujets chroniquement infectés toujours accompagné de particules d'excès d'enveloppe, prenant la forme de billes et bâtonnets. Ce phénomène est lié aux propriétés remarquables de sa protéine d'enveloppe (S, pour surface, en bleu) qui s'auto-assemble pour former des structures particulières. Ces particules d'excès d'enveloppe qui contiennent uniquement la protéine S du virus sont non infectieuses et représentent la base du vaccin contre le VHB. Les premiers vaccins, avant l'avènement de la biologie moléculaire, étaient basés sur une purification de ces particules d'excès d'enveloppe à partir du plasma de porteurs chroniques du virus (vaccins dits « plasmatiques »). Des vaccins de seconde génération ont été mis au point grâce au clonage du génome viral, à l'identification de la séquence codante pour la protéine S dans ce génome, et aux techniques de biologie moléculaires. Exprimée en cellules de mammifère (de type CHO) ou en levure, la protéine S du virus s'auto-assemble pour former des particules d'excès d'enveloppe qui ressemblent à celles circulant dans le sang des patients.

un génome à acide désoxyribonucléique (ADN) partiellement bicaténaire de 3,2 kb et une ADN polymérase.

Très tôt, dès 1972, il est apparu que le sérum des sujets ayant guéri d'une hépatite B contenait des immunoglobulines (Ig) riches en anticorps dirigés contre l'Ag d'enveloppe du VHB (Ag HBs) conférant une immunité protectrice vis-à-vis d'une contamination par le VHB. En même temps, naissait l'idée d'utiliser cet Ag HBs purifié comme « candidat vaccin », le principal facteur limitant le développement d'un vaccin étant l'obtention en quantité de cet antigène dans des conditions optimales de sécurité alors que le virus était (et reste difficilement) non cultivable. Cependant, la quantité impressionnante de particules d'excès d'enveloppe circulant dans le sang de sujets chroniquement infectés par le VHB incita Philippe Maupas, à Tours, à mettre au point le premier vaccin contre l'hépatite B, en purifiant par chromatographie ces particules sous-virales à partir du sang de porteurs chroniques asymptomatiques du virus (Fig. 1). Cette première génération de vaccin, dits « plasmatiques », fit l'objet, en 1976, d'une première série de résultats extrêmement encourageants [7] qui devaient déboucher sur la mise sur le marché de ce premier vaccin « historique », en 1981.

Cinq années plus tard, l'avancée considérable du génie génétique à travers les travaux de Pierre Tiollais à l'institut Pasteur de Paris ont permis la production de cet antigène HBs par génie génétique à partir de culture de cellules de

mammifères (cellules CHO pour *Chinese Ovary Cells*), puis à partir de levures (*Saccharomyces cerevisiae*) (Fig. 1) [8]. Les particules sous-virales d'enveloppe produites en biofermenteurs par ces cellules de mammifères ou les levures transduites ressemblent en tous points à celles du vaccin plasmatique. La découverte du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) dans les mêmes années a renforcé la nécessité de cette conception par génie génétique plutôt que l'utilisation d'un vaccin plasmatique, devant les difficultés d'utilisation des produits dérivés du sang. Le grand mérite du vaccin plasmatique aura été d'établir la preuve de concept de ce vaccin basé sur les particules d'excès d'enveloppe (ou particules sous-virales) qui se sont avérées extrêmement immunogènes. Dès 1987, l'OMS lançait un programme de pré-qualification des vaccins qui a permis d'harmoniser internationalement les normes de production des vaccins contre l'hépatite B.

Le concept d'un vaccin bivalent hépatite B hépatite C

Des travaux pionniers menés par l'équipe de Michael Houghton (l'un des 3 lauréats du Prix Nobel de Médecine 2020) au sein de la société Novartis ont démontré que pour élaborer un vaccin contre le VHC, les protéines d'enveloppe constituent un bon immunogène pour induire des anticorps

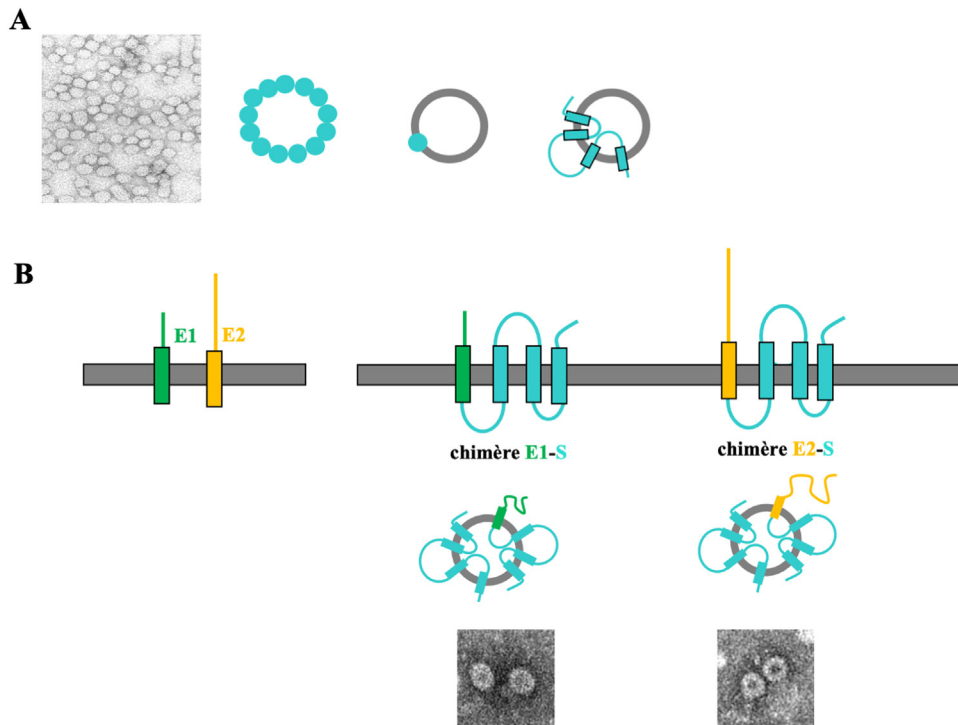


Figure 2 Principe des protéines chimères d’enveloppe et du vaccin bivalent hépatite B – hépatite C. A. Une particule d’excès d’enveloppe du VHB est constituée d’une centaine de copie de la protéine S (en bleu) et c’est la forte interaction entre toutes ces protéines qui structure la particule, qui est très compacte. Chaque copie a une topologie transmembranaire bien définie dans la particule, formant 4 domaines transmembranaire. B. À la différence de la protéine S du VHB qui s’auto-assemble pour former des particules sous-virales qui sont sécrétées, les deux protéines d’enveloppe du VHC (E1 : en vert ; E2 : en jaune) n’ont qu’un seul domaine transmembranaire ne sont pas sécrétées. Elles sont, au contraire, retenues dans les compartiments intracellulaires et sont, de fait, très difficiles à purifier. Exprimées en cellules de mammifère de type CHO, ces protéines chimères d’enveloppe VHB-VHC (E1-S et E2-S) sont stablement sécrétées sous forme de particules sous-virale d’enveloppe, et constituent ainsi la base d’un vaccin bivalent.

neutralisant le virus [9]. Le problème rencontré par les chercheurs et les industriels jusqu’alors a été que ces protéines sont très difficiles à produire et à purifier pour réaliser un vaccin disponible à grande échelle. À la différence, comme mentionné ci-dessus, la protéine d’enveloppe du virus de l’hépatite B est capable à elle seule de former des petites particules vaccinales qui sont sécrétées par la cellule qui produit cette protéine d’enveloppe (Fig. 1). C’est à partir de ces constats qu’ont été mises au point à Tours des protéines chimères entre les enveloppes du VHB et du VHC, qui elles aussi ont la propriété de s’auto-assembler en particules vaccinales et qui sont sécrétées par la cellule qui les exprime (Fig. 2). Ces particules ressemblent à celles du vaccin contre le VHB (elles peuvent être purifiées de la même façon) et ont l’avantage de contenir la totalité des protéines d’enveloppe du VHC (Fig. 2). Ces travaux de mise au point de particules chimères ont constitué un aboutissement de recherches plus fondamentales portant sur la morphogénèse des deux virus, le VHB et le VHC. Ils illustrent le fait qu’une recherche fondamentale puisse être très utile en amont pour déboucher sur une recherche plus appliquée, comme de mettre au point un vaccin. En effet, dès 2007, il avait été montré que la protéine de capsid du VHC constitue le moteur du bourgeonnement de ce virus [10] à la différence du VHB, pour lequel la protéine d’enveloppe est capable

de bourgeonner spontanément. Dans le même temps, ceci avait permis d’étudier finement les mécanismes de bourgeonnement de la protéine d’enveloppe du VHB en particule sous-virale d’enveloppe [11]. L’observation de mécanismes de morphogénèse complètement différents pour ces deux virus a ainsi naturellement conduit à l’idée de mettre au point des particules chimères d’enveloppe VHB-VHC, qui permettent de résoudre les problèmes de production et de purification des protéines d’enveloppe du VHC évoqués ci-dessus. Les outils, mis au point pour étudier l’assemblage des protéines d’enveloppe du VHB, ont été cruciaux pour identifier les conditions permettant d’obtenir un assemblage des protéines chimères d’enveloppe VHB-VHC en particules sous-virales [12].

Il a ensuite été montré que ces particules chimères peuvent induire en modèle animal (souris, lapins) des anticorps qui neutralisent *in vitro* différents génotypes du VHC [13]. Bien que les particules chimères contenaient une enveloppe de VHC de génotypes 1a, tous les génotypes testés étaient neutralisés, même si la neutralisation était plus efficace pour les génotypes 1a et 1b, comparés aux génotypes 2a et 3a, plus distants génétiquement. Par ailleurs, les particules vaccinales induisent une réponse équivalente à celle induite par un vaccin commercial contre l’hépatite B. Ceci renforce l’idée que de telles particules

vaccinales pourraient se substituer au vaccin actuel contre l'hépatite B, avec l'immense avantage de pouvoir aussi protéger contre le VHC, pour lequel il n'existe pas de vaccin actuellement. Ces particules ont aussi l'avantage de pouvoir être produites comme celles du vaccin contre le VHB, réduisant les délais et coûts de mise au point industrielle d'un tel vaccin. Il a été aussi démontré qu'une immunisation préalable avec le vaccin contre l'hépatite B ne gêne pas l'induction des anticorps anti-HCV par les particules chimères d'enveloppe VHB-VHC [14]. Ce résultat est important, car de nombreux pays ont adopté la vaccination contre l'hépatite B dès la naissance. De fait, ce vaccin bivalent pourrait être utilisé soit en première intention pour induire une immunité contre les deux virus, soit en rappel de vaccination hépatite B pour restimuler la réponse immunitaire contre le VHB et, à cette occasion, induire également une immunité protectrice contre le VHC. Dans la continuité de ces travaux, des particules chimères portant l'enveloppe de VHC de différents génotypes (notamment les génotypes 1b, 3a et 4a qui sont les plus courants) ont aussi été produites, et il a été démontré que l'immunisation avec un mélange de particules vaccinale de ces différents génotypes augmente sensiblement la réponse cross-neutralisante intergénotypes, renforçant le potentiel de ce vaccin [15].

Conclusion

Ces travaux ont formé un continuum entre recherche fondamentale et recherche appliquée. Ils démontrent que des travaux très fondamentaux sur les mécanismes de morphogénèse des virus ont pu déboucher sur des applications très concrètes, avec la mise au point de ce vaccin contre le virus de l'hépatite C. À l'heure où des antiviraux très efficaces ont été mis au point contre le VHC, on se rend compte que ceux-ci ne pourront pas suffire à atteindre l'objectif d'une éradication de l'hépatite C à l'échelle planétaire, et qu'un vaccin prophylactique contre ce virus est absolument nécessaire. Le vaccin mis au point à Tours a de multiples avantages, car il peut être produit par des procédés déjà établis dans le monde industriel et il constitue un vaccin bivalent, protégeant à la fois contre le virus de l'hépatite B et le virus de l'hépatite C, qui peut sans doute facilement trouver sa place dans les schémas vaccinaux, en lieu et place du vaccin hépatite B seul. Un tel vaccin bivalent pourrait renforcer le potentiel « anti-cancer » du vaccin contre le VHB, en protégeant aussi contre un autre agent infectieux responsable d'un cancer du foie viro-induit.

Déclaration de liens d'intérêts

Philippe Roingeard est co-signataire de deux brevets « Fusion proteins and use thereof for preparing hepatitis C vaccines » (2009) et « New immunogenic compositions and their use in the preparation of hepatitis C vaccines » (2020).

Remerciements

Les travaux sur la vaccin bivalent VHB-VHC réalisés au sein de l'unité INSERM U1259 MAVIVH ont bénéficié du soutien financier de l'ANR (Agence nationale de la recherche),

l'ANRS (Agence nationale de la recherche sur le sida et les hépatites virales), la Région Centre Val de Loire (programme Biomédicaments), les comités régionaux (Grand Ouest) de Ligue contre le cancer. Je remercie tout particulièrement Élodie Beaumont, Elsa Gomez-Escobar, Romuald Patient et Christophe Hourieux qui ont travaillé à mes côtés sur ce projet.

Références

- [1] Houghton M. Discovery of the hepatitis C virus. *Liver Int* 2009;29:82–8.
- [2] Pawlotsky JM, Feld JJ, Zeuzem S, Hoofnagle JH. From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *J Hepatol* 2015;62:S87–99.
- [3] World Health Organization. Global hepatitis report 2017. Geneva, Switzerland; 2017 [<https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (accessed December 29, 2021)].
- [4] Roingeard P, Beaumont E. Hepatitis C vaccine: 10 good reasons for continuing. *Hepatology* 2020;71:1845–50.
- [5] Blach S, Kondili LA, Aghemo A, Cai Z, Dugan E, Estes C, et al. Impact of COVID-19 on global HCV elimination efforts. *J Hepatol* 2021;74:31–6.
- [6] Patient R, Hourieux C, Roingeard P. Morphogenesis of hepatitis B virus and its subviral envelope particles. *Cell Microbiol* 2009;11:1561–70.
- [7] Maupas P, Goudeau A, Coursaget P, Drucker J, Bagros P. Immunisation against hepatitis B in man. *Lancet* 1976;7974:1367–70.
- [8] Michel ML, Pontisso P, Sobczak E, Malpèce Y, Streeck RE, Tiollais P. Synthesis in animal cells of hepatitis B surface antigen particles carrying a receptor for polymerized human serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:7708–12.
- [9] Houghton M. Prospects for prophylactic and therapeutic vaccines against the hepatitis C viruses. *Immunol Rev* 2011;239:99–108.
- [10] Hourieux C, Ait-Goughoulte M, Patient R, Fouquenot D, Arcanger-Doudet F, Brand D, et al. Core protein domains involved in hepatitis C virus-like particle assembly and budding at the endoplasmic reticulum membrane. *Cell Microbiol* 2007;9:1014–27.
- [11] Patient R, Hourieux C, Sizaret PY, Trassard S, Sureau C, Roingeard P. Hepatitis B virus subviral envelope particle morphogenesis and intracellular trafficking. *J Virol* 2007;81:3842–51.
- [12] Patient R, Hourieux C, Vaudin P, Pagès JC, Roingeard P. Chimeric hepatitis B and C viruses envelope proteins can form subviral particles: implications for the design of new vaccine strategies. *N Biotechnol* 2009;25:226–34.
- [13] Beaumont E, Patient R, Hourieux C, Dimier-Poisson I, Roingeard P. Chimeric hepatitis B virus/hepatitis C virus envelope proteins elicit broadly neutralizing antibodies and constitute a potential bivalent prophylactic vaccine. *Hepatology* 2013; 57:1303–13.
- [14] Beaumont E, Roingeard P. Chimeric hepatitis B virus (HBV)/hepatitis C virus (HCV) subviral envelope particles induce efficient anti-HCV antibody production in animals pre-immunized with HBV vaccine. *Vaccine* 2015;33: 973–6.
- [15] Beaumont E, Joël Clément B, Guérin V, Chopin L, Roch E, Gomez-Escobar E, Roingeard P. Mixing particles from various HCV genotypes increases the HBV-HCV vaccine ability to elicit broadly cross-neutralizing antibodies. *Liver Int* 2020;40:1865–71.