

## L'apport des nouvelles technologies en vaccinologie

Claude Leclerc

► Grippe aviaire, SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère), Chikungunya, virus du Nil occidental... La succession de ces alertes « aux virus » a réveillé les peurs ancestrales de l'humanité face aux grandes épidémies du passé. En un temps où, par sa maîtrise des technologies de pointe, l'homme semble dominer le monde, le syndrome d'immunodéficience acquise (sida), la tuberculose et le paludisme prélèvent chaque année une dîme de plusieurs millions de morts. La découverte des antibiotiques et les succès remarquables remportés par la vaccination dans l'éradication de la variole et dans la réduction de l'incidence de nombreuses maladies, telles que la poliomyélite ou la rougeole, ont, pendant quelques décennies, créé l'illusion que les maladies infectieuses appartenaient au passé. Il n'en est rien et, à l'aube de ce nouveau millénaire, les maladies infectieuses restent la principale cause de décès dans le monde. Plus que jamais, les vaccins s'avèrent la seule arme pour lutter efficacement contre les épidémies. ◀



Unité de Régulation Immunitaire et Vaccinologie, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France et Inserm, U833, Paris, France. [cleclerc@pasteur.fr](mailto:cleclerc@pasteur.fr)

je ferai donc le point essentiellement sur deux approches, différentes dans leur concept de base, mais qui se révèlent aujourd'hui très convergentes. La première, totalement empirique, se fonde sur la très grande efficacité de vaccins existants (fièvre jaune, rougeole...), ou sur les propriétés immunostimulantes de certains virus (adénovirus) ou bactériens pour délivrer au système immunitaire des antigènes d'intérêt vaccinal, supposés « protecteurs ». Dans la seconde stratégie, rationnelle et fondée sur nos avancées les plus récentes en immunologie, des approches moléculaires sont utilisées pour délivrer l'antigène aux cellules présentatrices d'antigènes, en association avec des signaux définis, capables de stimuler l'immunité innée.

### Vaccins ADN

Né dans les années 1990, le concept de vaccination génétique, dit de vaccins à ADN, a connu un succès extraordinaire. Les premières études, réalisées chez la souris, montraient en effet une efficacité remarquable de l'immunisation par injection directe d'ADN plasmidique. Quinze ans après ces premiers travaux qui ont été suivis de la publication de milliers d'articles, le bilan est cependant loin d'être aussi encourageant.

Le principe de la vaccination « génétique » est très simple. Un gène codant pour un antigène d'intérêt

Les technologies de développement de vaccins utilisées jusqu'à présent, relativement empiriques, s'avèrent aujourd'hui limitées et insuffisantes pour combattre le paludisme, le sida ou la tuberculose de l'adulte. Les avancées récentes dans la compréhension de l'interaction entre les composantes du système immunitaire de l'hôte et les micro-organismes pathogènes, la connaissance grandissante du génome des pathogènes ainsi que le développement de nouvelles technologies permettant de les exploiter, ouvrent d'innombrables possibilités d'approches pour le développement de nouveaux candidats vaccins.

Les technologies de vaccination sont en nombre sans cesse croissant et il serait impossible d'en faire ici l'inventaire exhaustif. Dans cet article,

Article reçu le 1<sup>er</sup> septembre 2006, accepté le 20 novembre 2006.

vaccinal est inséré dans un plasmide bactérien, sous le contrôle d'un promoteur approprié (en général, le promoteur du cytomégalo-virus). Le plasmide est ensuite produit dans des bactéries, purifié et injecté par voie intramusculaire ou intradermique, ou par des procédés permettant d'optimiser la capture de cet ADN par les cellules, comme la technique de *gene-gun* ou l'électroporation. Chez la souris, ou en vaccination vétérinaire, ce procédé de vaccination permet notamment d'induire des réponses cellulaires, qui se caractérisent par de fortes réponses T cytotoxiques et T CD4<sup>+</sup> à dominante Th1<sup>1</sup>. La capacité des vaccins ADN à stimuler de telles réponses est, en partie, liée au fait que les plasmides bactériens contiennent des séquences CpG non méthylées, capables, après leur interaction avec le récepteur de type Toll-9 (*Toll like receptor-9*, TLR-9), de stimuler la production de cytokines pro-inflammatoires. De multiples développements ont été faits autour de la technologie de base, notamment pour augmenter la capture de l'ADN plasmidique par les cellules présentatrices d'antigènes ou pour stimuler l'immunité innée, par l'administration simultanée de divers adjuvants ou de gènes codant pour des cytokines.

L'efficacité de cette technologie de vaccination dans de nombreux modèles animaux a amené rapidement à la tester chez le primate non humain et chez l'homme, et ceci dans diverses infections (VIH, paludisme, hépatite B, papillomavirus) et cancers (prostate, mélanome, côlon, lymphomes) [1]. Très peu d'effets secondaires ont été notés lors de ces divers essais cliniques, indiquant une excellente tolérance de ces vaccins génétiques. Dans l'ensemble, cependant, les réponses immunitaires obtenues, notamment les réponses anticorps, ont été d'intensité modeste à faible [2]. Des résultats beaucoup plus prometteurs ont cependant été obtenus dans des protocoles de type *prime-boost* comme nous le détaillons dans la suite de cet article.

## Vecteurs vivants

Des virus ou des bactéries intracellulaires vivants, atténués et génétiquement manipulés pour exprimer des antigènes hétérologues, peuvent être utilisés comme vecteurs pour délivrer des immunogènes au système immunitaire. De tels vecteurs vivants ont l'avantage d'être peu coûteux à produire, permettant une distribution à large échelle.

## Vecteurs viraux

L'efficacité des vaccins viraux atténués a amené beaucoup d'équipes à utiliser ces mêmes virus atténués comme vecteurs d'antigènes hétérologues. Compte tenu de leur capacité à infecter les cellules hôtes aboutissant à la présentation, par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, des antigènes synthétisés par la cellule infectée, les virus permettent notamment l'induction de réponses T cytotoxiques élevées, ce qui

constitue une propriété essentielle pour beaucoup d'approches vaccinales. Des alphavirus (Semliki, Sindbis), des adénovirus (notamment non répliquatifs), le virus *Herpes simplex*, des lentivirus, des poxvirus (des souches atténuées comme MVA ou NYVAC), des virus de la variole du canari (ALVAC) ou de la variole aviaire (FPV), des parvovirus (AAV-1 et AAV-2), des rhabdovirus (virus de la stomatite vésiculaire), la souche Schwarz du virus de la rougeole [3] ou la souche vacinale 17D du virus de la fièvre jaune [4] sont parmi les principaux vecteurs viraux actuellement à l'étude.

Plusieurs de ces vecteurs sont actuellement en développement clinique, notamment pour la mise au point de vaccins contre le VIH [5], la tuberculose [6] ou le paludisme [7]. Même si certains de ces vecteurs, comme l'adénovirus de type 5 (Ad5), ont donné d'excellents résultats dans divers essais chez l'homme, il est difficile de comparer leur efficacité. Peu d'études ont en effet comparé les réponses immunitaires induites contre un même antigène délivré par ces divers micro-organismes recombinants. Il est d'ailleurs probable que le profil des réponses induites par ces vecteurs diffère en fonction des cellules qu'ils infectent et des composantes de l'immunité innée qu'ils stimulent. Ainsi, l'efficacité de la souche vaccinale 17D du virus de la fièvre jaune serait liée à sa capacité de stimuler fortement l'immunité innée, par son interaction avec les TLR 2, 7, 8 et 9 [8]. Les divers TLR peuvent en effet agir en synergie [9].

L'immunité contre ces vecteurs vivants, liée à une pré-exposition naturelle ou induite par la vaccination (rougeole, fièvre jaune) limite en général les réponses immunitaires induites par une immunisation avec le même vecteur. Diverses stratégies ont été développées pour résoudre ce problème. La première consiste à utiliser des vecteurs contre lesquels il n'existe pas d'exposition naturelle de la population à vacciner (par exemple, adénovirus de sérotypes rares ou non humains [10]). Une seconde stratégie a été développée par l'équipe de D. Barouch qui a construit un adénovirus chimère échappant aux réponses immunitaires anti-adénovirus de type 5, à forte prévalence dans la population humaine. Cette stratégie est fondée sur la démonstration que les réponses anticorps anti-Ad5 neutralisantes sont essentiellement dirigées contre des épitopes des régions hypervariables de la protéine de l'hexon. La substitution de ces épitopes par des séquences d'un adénovirus rare (Ad48) a permis d'obtenir un virus chimère, échappant à l'immunité spécifique anti-Ad5 [11]. Enfin, dans le cas du vecteur basé sur le vaccin YF 17D<sup>2</sup>, la protéine d'enve-

<sup>1</sup> Les lymphocytes Th1 produisent des cytokines comme l'interleukine-2 (IL-2) et l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) qui favorisent l'immunité cellulaire.

<sup>2</sup> Souche vaccinale atténuée du virus de la fièvre jaune. Ce vaccin vivant atténué est produit dans des embryons de poulet.

loppe est remplacée par celle codée par les gènes correspondants d'un autre flavivirus. Ainsi ont été construits des virus chimères entre le virus 17D de la fièvre jaune et les virus de l'encéphalite japonaise, de la dengue (4 sérotypes) et du Nil occidental (*West Nile virus*). Les vaccins ChimeriVAX-JE (encéphalite japonaise), ChimeriVax-Dengue (dengue, formulation tétravalente) et ChimeriVax-West Nile développés par Acambis sont en cours d'évaluation chez l'homme.

### Vecteurs bactériens

Les vecteurs bactériens les plus étudiés actuellement sont les salmonelles, les listeria, les shigelles et le BCG. Ce dernier représente un vecteur très sûr pour délivrer des antigènes hétérologues. En effet, avec plus de trois milliards de doses administrées, le BCG est le vaccin le plus utilisé dans le monde, sans effet secondaire majeur. Des gènes codant pour de nombreux immunogènes hétérologues ont été introduits dans le génome du BCG. Des BCG recombinants portant des antigènes viraux (VIH ou SIV, le virus d'immunodéficience simien), bactériens (*Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*) ou parasitaires (*Leishmania major*, *Plasmodium falciparum*) ont été capables d'induire des réponses humorales et cellulaires et notamment la production d'interféron  $\gamma$ .

### Stratégie de primo-immunisation

#### suivie d'une injection de rappel hétérologue

Les protocoles de vaccination ont été jusqu'ici surtout fondés sur une ou plusieurs administrations du même vaccin, selon le schéma classique vaccination/rappel(s). Récemment, une nouvelle stratégie utilisant une primo-immunisation suivie d'une injection de rappel hétérologue s'est montrée d'une efficacité remarquable dans l'induction de réponses immunitaires à médiation cellulaire [12]. Dans cette approche, l'immunisation des individus se fait contre le même immunogène présenté successivement dans le contexte de deux (voire trois) vecteurs ou formulations différents. Ainsi, chez le primate, une immunité protectrice contre un virus SHIV<sup>3</sup> a été obtenue par un protocole de type ADN/ADN/MVA [13]. Chez l'homme, des réponses immunitaires élevées contre des antigènes du VIH ont été obtenues par immunisation par des combinaisons de types ADN/adénovirus de type 5 [14]. Plusieurs essais cliniques sont en cours pour tester l'efficacité de ces diverses combinaisons. Il est cependant très probable que le choix de la combinaison « gagnante » sera dépendant de l'antigène et du pathogène cible de la vaccination [15]. Les mécanismes responsables de cette efficacité remarquables des protocoles de type *prime-boost* restent mal compris. Une étude récente a montré que le nombre d'immunisations influence de façon importante le phénotype des lymphocytes mémoires T CD8<sup>+</sup>. L'immunisation par des protocoles de type *prime-boost* semble en particulier favoriser l'induction de lymphocytes mémoire de type effecteur [16].

<sup>3</sup> Virus chimérique VIS-VIH, pathogène chez le singe et utilisé couramment comme modèle de l'infection par le VIH chez l'homme.

### Vecteurs moléculaires de ciblage des antigènes vers les cellules dendritiques

Si les approches utilisant des vecteurs vivants ont fait la preuve de leur efficacité, elles posent cependant des problèmes, notamment en terme de sécurité. L'augmentation des exigences réglementaires et les risques potentiels liés à l'utilisation de virus ou de bactéries vivants chez le nouveau-né ou le sujet immunodéprimé, peuvent devenir des obstacles importants à leur utilisation. De plus, la complexité de l'interaction de ces microorganismes avec le système immunitaire fait que les réponses qu'ils induisent sont très difficilement prédictibles et peuvent, de plus varier, d'un individu à l'autre.

En parallèle, la compréhension du rôle majeur joué par les cellules dendritiques (CD) dans l'induction des réponses immunitaires a fait de ces cellules un élément clef dans le développement vaccinal. Le ciblage de l'antigène aux cellules dendritiques représente donc un objectif très important en vaccinologie.

### Stratégies de ciblage par utilisation d'anticorps spécifiques des cellules dendritiques

Certaines molécules exprimées à la surface des CD peuvent être utilisées comme cibles afin de délivrer les antigènes vers ces cellules présentatrices d'antigènes par l'utilisation d'anticorps spécifiques de ces molécules. Cette approche a été essentiellement développée par l'équipe de R. Steinman. Le couplage de l'ovalbumine à un anticorps spécifique de CD205, molécule exprimée de façon spécifique par les CD, permet de délivrer très efficacement cet antigène à ces cellules [17, 18] ce qui entraîne l'induction de réponses T CD8<sup>+</sup>, spécifiques de l'ovalbumine, après co-administration avec un anticorps anti-CD40. Cette stratégie a été récemment appliquée à l'induction de réponses immunitaires spécifiques d'antigènes du VIH [19] ou de *Plasmodium yoelli* [20]. Cependant, administré seul, l'anticorps anti-CD205 couplé à l'ovalbumine induit une tolérance spécifique de cet antigène. De plus, l'activation de réponses immunitaires par cette stratégie requiert l'utilisation d'adjuvants puissants, comme l'anticorps anti-CD40 et le poly I:C, ce qui limite fortement son intérêt. Son efficacité dans des modèles de protection contre l'infection reste également à établir.

Il faut noter que le ciblage vers d'autres molécules exprimées par les CD comme le récepteur F4/80 permet l'activation de réponses immunitaires en



l'absence de signaux adjuvants [21]. Le ciblage par des anticorps dirigés contre la molécule DC-SIGN<sup>4</sup> semble également efficace, au moins *in vitro*, pour délivrer des antigènes à des CD humaines [22].

### Stratégies de ciblage par utilisation de protéines bactériennes se liant aux cellules dendritiques

L'utilisation des toxines bactériennes en vectorisation a fait l'objet de nombreux travaux. En effet, grâce à leur capacité à pénétrer dans des cellules cibles après leur interaction spécifique avec leurs récepteurs, ces molécules permettent de délivrer des substances pharmacologiquement actives dans divers compartiments cellulaires. Certaines de ces toxines bactériennes possèdent de plus la capacité de cibler les cellules présentatrices d'antigènes. C'est notamment le cas d'une toxine bactérienne produite par *Bordetella pertussis*, l'adénylate cyclase, qui est capable de cibler les CD en se fixant sur une molécule présente à la surface d'une grande partie de ces cellules, le CD11b [23, 24]. Des immunogènes d'intérêt vaccinal peuvent être génétiquement insérés dans des sites bien caractérisés d'une forme détoxifiée de cette molécule. Le vecteur d'immunisation qui en résulte préserve sa capacité à se fixer sur CD11b à la surface des CD. Une partie de la molécule recombinante, portant l'antigène inséré, est ensuite transférée vers le cytoplasme et les endosomes des CD. L'antigène est alors capable de gagner les voies de présentation antigénique par les molécules de CMH de classe I et de classe II. Ce vecteur vaccinal est très efficace dans la stimulation de réponses T cytotoxiques et Th1 spécifiques de toute une variété d'épitopes viraux et tumoraux [25-27]. Un vaccin thérapeutique contre le cancer du col de l'utérus, fondé sur ce vecteur, est en cours de développement clinique par BT Pharma [28]. D'autres toxines bactériennes, comme la sous-unité B de la toxine de Shiga [29] ou l'antigène protecteur (PA) produit par *Bacillus anthracis* [30] sont également employés comme vecteurs d'antigènes. Des protéines de choc thermique, comme Hsp70 ou gp96, sont capables de se lier à divers récepteurs à la surface des CD, notamment au CD91 [31], et ont été employées dans plusieurs modèles expérimentaux pour vectoriser des antigènes [32].

### Conclusion et perspectives

Des progrès spectaculaires ont été faits dans la connaissance du système immunitaire et de son interaction avec les microorganismes. La transformation de ces acquis dans la mise au point de nouveaux vaccins rencontre cependant un certain nombre de difficultés. Le nombre croissant d'antigènes candidats, de vecteurs vivants ou moléculaires potentiels et d'adjuvants possibles aboutit à un nombre élevé de candidats vaccins pour une infection donnée. Les limites de la plupart des modèles animaux rendent de plus difficile l'analyse de l'efficacité (et des effets secondaires

potentiels) des candidats vaccins afin de sélectionner ceux devant faire l'objet d'essais cliniques. Une des priorités pour les années à venir sera très probablement de comprendre, et de contrôler, les modalités d'interaction des divers candidats vaccins avec le système immunitaire inné. Le ciblage des cellules dendritiques, associé à une stimulation appropriée des réponses innées, devrait permettre de stimuler à « la carte » les réponses immunitaires adaptatives. La mise au point d'adjuvants capables de stimuler de façon sélective les diverses voies de signalisation de l'immunité innée, devrait permettre une stimulation appropriée de ces diverses réponses. Il est clair cependant que le succès de telles stratégies demandera un décloisonnement des approches actuellement utilisées en vaccinologie et une vision globale, allant de la recherche fondamentale à la recherche clinique. ♦

### SUMMARY

#### New technologies for vaccine development

Despite important success of preventive vaccination in eradication of smallpox and in reduction in incidence of poliomyelitis and measles, infectious diseases remain the principal cause of mortality in the world. Technologies used in the development of vaccines used so far, mostly based on empirical approaches, are limited and insufficient to fight diseases like malaria, acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or adult tuberculosis. Until recently, technologies for making vaccines were based on live attenuated microorganisms, whole killed microorganisms and subunit vaccines such as purified toxoids. Fortunately, the recent advances in the understanding of host-pathogen interaction as well as our increasing knowledge of how immune responses are triggered and regulated have opened almost unlimited possibilities of developing new immunization strategies based on recombinant microorganisms or recombinant polypeptides or bacterial or viral vectors, synthetic peptides, natural or synthetic polysaccharides or plasmid DNA. Thus, considering the expending number of technologies available for making vaccines, it becomes possible for the first time in the history of vaccinology to design vaccines based on a rational approach and leading to increased efficacy and safety. ♦

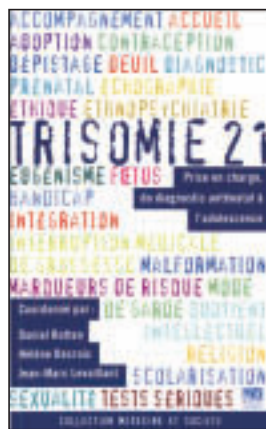
### RÉFÉRENCES

1. Lowe DB, Shearer MH, Kennedy RC. DNA vaccines: successes and limitations in cancer and infectious disease. *J Cell Biochem* 2006; 98 : 235-42.

<sup>4</sup> Dendritic cell (DC)-specific intercellular adhesion molecule (ICAM)-3-grabbing nonintegrin (DC-SIGN)

2. Cui Z. DNA vaccine. *Adv Genet* 2005 ; 54 : 257-89.
3. Lorin C, Delebecque F, Labrousse V, et al. A recombinant live attenuated measles vaccine vector primes effective HLA-A0201-restricted cytotoxic T lymphocytes and broadly neutralizing antibodies against HIV-1 conserved epitopes. *Vaccine* 2005 ; 23 : 4463-72.
4. Lai CJ, Monath TP. Chimeric flaviviruses: novel vaccines against dengue fever, tick-borne encephalitis, and Japanese encephalitis. *Adv Virus Res* 2003 ; 61 : 469-509.
5. Girard MP, Osmanov SK, Kiény MP. A review of vaccine research and development: the human immunodeficiency virus (HIV). *Vaccine* 2006 ; 24 : 4062-81.
6. Kaufmann SH. Envisioning future strategies for vaccination against tuberculosis. *Nat Rev Immunol* 2006 ; 6 : 699-704.
7. Li S, Locke E, Bruder J, et al. Viral vectors for malaria vaccine development. *Vaccine* 2007 (sous presse).
8. Querec T, Benouna S, Alkan S, et al. Yellow fever vaccine YF-17D activates multiple dendritic cell subsets via TLR2, 7, 8, and 9 to stimulate polyvalent immunity. *J Exp Med* 2006 ; 203 : 413-24.
9. Napolitani G, Rinaldi A, Berton F, et al. Selected Toll-like receptor agonist combinations synergistically trigger a T helper type 1-polarizing program in dendritic cells. *Nat Immunol* 2005 ; 6 : 769-76.
10. Bangari DS, Mittal SK. Development of nonhuman adenoviruses as vaccine vectors. *Vaccine* 2006 ; 24 : 849-62.
11. Roberts DM, Nanda A, Havenga MJ, et al. Hexon-chimaeric adenovirus serotype 5 vectors circumvent pre-existing anti-vector immunity. *Nature* 2006 ; 441 : 239-43.
12. Woodland DL. Jump-starting the immune system: prime-boosting comes of age. *Trends Immunol* 2004 ; 25 : 98-104.
13. Amara RR, Villinger F, Altman JD, et al. Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science* 2001 ; 292 : 69-74.
14. Shiver JW, Fu TM, Chen L, et al. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature* 2002 ; 415 : 331-5.
15. Vuola JM, Keating S, Webster DP, et al. Differential immunogenicity of various heterologous prime-boost vaccine regimens using DNA and viral vectors in healthy volunteers. *J Immunol* 2005 ; 174 : 449-55.
16. Masopust D., Ha SJ, Vezyz V, et al. Stimulation history dictates memory CD8 T cell phenotype: implications for prime-boost vaccination. *J Immunol* 2006 ; 177 : 831-9.
17. Bonifaz L, D Bonnyay, K Mahnke, et al. Efficient targeting of protein antigen to the dendritic cell receptor DEC-205 in the steady state leads to antigen presentation on major histocompatibility complex class I products and peripheral CD8<sup>+</sup> T cell tolerance. *J Exp Med* 2002 ; 196 : 1627-38.
18. Bonifaz LC, Bonnyay DP, Charalambous A, et al. In vivo targeting of antigens to maturing dendritic cells via the DEC-205 receptor improves T cell vaccination. *J Exp Med* 2004 ; 199 : 815-24.
19. Trumpfheller C, Finke JS, Lopez CB, et al. Intensified and protective CD4<sup>+</sup> T cell immunity in mice with anti-dendritic cell HIV gag fusion antibody vaccine. *J Exp Med* 2006 ; 203 : 607-17.
20. Boscardin SB, Hafalla JC, Masilamani RF, et al. Antigen targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. *J Exp Med* 2006 ; 203 : 599-606.
21. Corbett AJ, Caminschi I, McKenzie BS, et al. Antigen delivery via two molecules on the CD8<sup>+</sup> dendritic cell subset induces humoral immunity in the absence of conventional « danger ». *Eur J Immunol* 2005 ; 35 : 2815-25.
22. Tacken PJ, de Vries IJ, Gijzen K, et al. Effective induction of naive and recall T-cell responses by targeting antigen to human dendritic cells via a humanized anti-DC-SIGN antibody. *Blood* 2005 ; 106 : 1278-85.
23. Guernonprez P, Khelef N, Blouin E, et al. The adenylate cyclase toxin of *Bordetella pertussis* binds to target cells via the alpha(M)beta(2) integrin (CD11b/CD18). *J Exp Med* 2001 ; 193 : 1035-44.
24. Guernonprez P, Fayolle C, Rojas MJ, et al. In vivo receptor-mediated delivery of a recombinant invasive bacterial toxoid to CD11c<sup>+</sup> CD8alpha<sup>+</sup> CD11bhigh dendritic cells. *Eur J Immunol* 2002 ; 32 : 3071-81.
25. Saron MF, Fayolle C, Sebo P, et al. Anti-viral protection conferred by recombinant adenylate cyclase toxins from *Bordetella pertussis* carrying a CD8<sup>+</sup> T cell epitope from lymphocytic choriomeningitis virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 3314-9.
26. Mascarell L, Fayolle C, Bauche C, et al. Induction of neutralizing antibodies and Th1-polarized and CD4-independent CD8<sup>+</sup> T-cell responses following delivery of human immunodeficiency virus type 1 Tat protein by recombinant adenylate cyclase of *Bordetella pertussis*. *J Virol* 2005 ; 79 : 9872-84.
27. Mascarell L, Bauche C, Fayolle C, et al. Delivery of the HIV-1 Tat protein to dendritic cells by the CyaA vector induces specific Th1 responses and high affinity neutralizing antibodies in non human primates. *Vaccine* 2006 ; 24 : 3490-9.
28. Preville X, Ladant D, Timmerman B, et al. Eradication of established tumors by vaccination with recombinant *Bordetella pertussis* adenylate cyclase carrying the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Cancer Res* 2005 ; 65 : 641-9.
29. Vingert B., Adotevi O, Patin D, et al. The Shiga toxin B-subunit targets antigen in vivo to dendritic cells and elicits anti-tumor immunity. *Eur J Immunol* 2006 ; 36 : 1124-35.
30. Lu Y, Friedman R, Kushner N, et al. Genetically modified anthrax lethal toxin safely delivers whole HIV protein antigens into the cytosol to induce T cell immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 8027-32.
31. Basu S, Binder RJ, Ramalingam T, et al. CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin. *Immunity* 2001 ; 14 : 303-13.
32. Hauser H, Shen L, Gu QL, et al. Secretory heat-shock protein as a dendritic cell-targeting molecule: a new strategy to enhance the potency of genetic vaccines. *Gene Ther* 2004 ; 11 : 924-32.

**TIRÉS À PART**  
C. Leclerc



ISBN : 2-84254-105-7 248 pages

## Bon de commande

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex  
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Trisomie 21** : 15 € + 3 € de port = **18 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |