

D'un outsider méprisé à un phare d'espoir mondial

Sortir de la pandémie de COVID-19 grâce au vaccin à ARNm

Dr rer. nat. Steve Pascolo

Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich

Vous trouverez l'éditorial relatif à cet article à la page 112 de ce numéro.

Les dénominations académiques ont été corrigées chez S. Pascolo.

Dans la course au vaccin contre le SRAS-CoV-2, le format d'ARN messenger (ARNm) synthétique s'est avéré le plus rapide. Il s'est également prouvé sûr et très efficace, même à la très faible dose de quelques microgrammes par injection.

Introduction

L'acide ribonucléique (ARN) possède les quatre caractéristiques principales des organismes vivants (contenant, répliquant et régulant l'information génétique dans des structures définies), et toutes ont été utilisées pour produire des médicaments:

1. L'ARN peut contenir de l'information génétique, permettant à l'organisme de produire une protéine spécifique (fig. 1); cette approche a été optimisée pour le développement de vaccins depuis près de 30 ans [1] et a obtenu l'approbation réglementaire pour la première fois en décembre 2020 avec le vaccin anti-COVID-19.
2. La formation de structures tridimensionnelles comme dans les ribosomes ou autres complexes ribonucléoprotéiques est utilisée pour générer des aptamères. Cela a conduit au développement de pegaptanib (Macugen®), une structure 2'-fluoro-oligonucléotidique qui lie et bloque le «vascular endothelial growth factor» (VEGF), pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge.
3. L'ARN peut avoir une activité enzymatique comme dans les ribozymes (cette technologie n'a pas encore été traduite en un médicament approuvé).
4. Le contrôle de l'expression des gènes comme avec le microARN (miARN), qui a été converti en un médicament («small interfering RNA» [siRNA]) qui dégrade le messenger codant la transthyréine et est utilisé pour traiter l'amylose à transthyréine héréditaire.

Il est intéressant de noter que le nouveau venu dans cette liste de thérapies à base d'ARN synthétique, le vaccin contre le SRAS-CoV-2 [2], nécessite des doses remarquablement faibles: deux fois 30 µg d'ARN messenger synthétique transcrit in vitro (ivt ARNm) injectés dans le muscle, tandis que le Macugen® est administré par voie intravitreuse à une dose de 3000 µg

toutes les 6 semaines et le patisiran (Onpattro®) par voie intraveineuse à une dose allant jusqu'à 30 000 µg toutes les 3 semaines. Cette très faible dose requise du vaccin à ARNm, ainsi que ses caractéristiques de sécurité et d'efficacité, en font un vaccin puissant pour combattre la pandémie de COVID-19. Il a été autorisée en Suisse sous le nom de Comirnaty® (tozinaméran) le 19 décembre 2020.

Historique des vaccins synthétiques à ARNm non-répliquant

Les vaccins établis de longue date contre la fièvre jaune, la rougeole, les oreillons et la rubéole sont en fait les premières versions des vaccins à ARNm: Les virus atténués utilisés pour la vaccination, injectés par voie sous-cutanée sans adjuvant, libèrent leur génome d'ARN dans les cellules de l'hôte; ces cellules infectées produisent les protéines virales, sentent le danger et déclenchent une inflammation qui permet le développement d'une réponse immunitaire. Ce sont exactement les mêmes mécanismes qui expliquent le fonctionnement des vaccins à ivt ARNm. Cependant, au lieu d'une membrane virale contenant de nombreux composants (lipides et protéines), l'enveloppe du vaccin à ivt ARNm est constituée d'un liposome composé de quelques lipides définis (généralement quatre). En outre, au lieu d'ARNm complexes codant pour de nombreuses protéines virales, le vaccin à ivt ARNm contient un seul ARNm codant pour une protéine sélectionnée (dans le cas des vaccins à ARNm non-répliquant): une protéine de structure d'un agent infectieux, un allergène ou un antigène tumoral, par exemple. Il existe deux variantes des vaccins à ivt ARNm: le non-répliquant, qui ne code que l'antigène, et le répliquant, qui code un antigène ainsi qu'une réplique qui est une polymérase d'ARN capable d'amplifier un ARNm ciblé. Cet article se concentre sur les vaccins à



Steve Pascolo

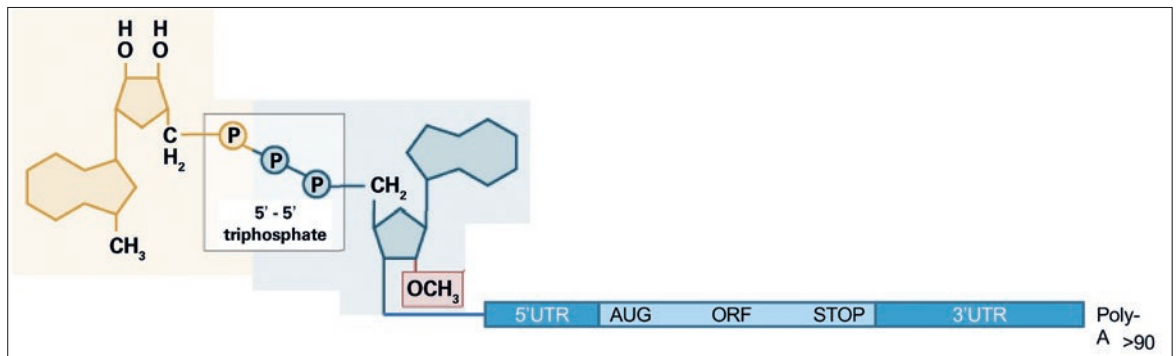


Figure 1: La structure de l'ARNm synthétique transcrit in vitro (ivt ARNm). L'ARNm commence avec une structure de coiffe, puis une région non traduite (5'UTR) jusqu'au codon de départ. Entre le codon de départ et le codon d'arrêt se trouve la séquence de codage. Il est suivi du 3'UTR et d'une queue poly-A.

ivt ARNm non-répliquant, car ce format a maintenant été approuvé comme vaccin contre COVID-19 [2]. La possibilité d'utiliser l'ivt ARNm non-répliquant pour produire des vaccins a été décrite pour la première fois en 1993 par Martinon et al. [3]: l'ivt ARNm codant pour la nucléoprotéine (NP) du virus de la grippe encapsulée dans les liposomes de cholestérol/phosphatidylcholine/phosphatidylsérine a induit des cellules T cytotoxiques spécifiques de la NP chez les souris recevant le vaccin (12 µg dans un régime «prime-boost») par voie sous-cutanée ou intraveineuse. En 2000, Hoerr et al. [4] ont publié qu'une injection intradermique unique de 30 µg d'ivt ARNm, soit nu (dans une solution saline), soit protégé par le peptide cationique protamine, et l'injection intraveineuse d'ARNm dans un liposome induisaient une réponse immunitaire contre la protéine codée. Sur la base de ces données et de quelques autres que j'avais obtenues au laboratoire, nous avons fondé notre propre entreprise en 2000: CureVac. En 2003, nous administrons des vaccins à ivt ARNm par voie intradermique à des patients cancéreux et à moi-même (pour tester la fonctionnalité de l'ivt ARNm chez l'homme) [5]. Les premières études menées sur des patients atteints de mélanome et de carcinome rénal ont indiqué que les formulations du vaccin à ivt ARNm étaient sûres, induisaient des réponses immunitaires et des réponses cliniques [6–8]. Malgré ces résultats prometteurs, un essai de phase IIb évaluant l'efficacité d'un vaccin intradermique à ivt ARNm en monothérapie contre le cancer de la prostate n'a pas montré de bénéfice en termes de survie-sans-progression et de mortalité globale. Cependant, l'échec n'était pas fondamentalement dû au vaccin (une réponse immunitaire contre les protéines codées par les ivt ARNm a été détectée), mais à la réponse immunitaire insuffisante en elle-même: celle-ci n'a pas réussi à contrôler suffisamment la croissance de la tumeur pour être cliniquement efficace. Plusieurs essais de l'ivt ARNm en tant que vaccin anticancéreux sont en

cours, et l'optimisation de la conception de l'ivt ARNm (par exemple, par expression des mutations spécifiques d'un cancer), la formulation (par exemple, dans des liposomes administrés par voie intraveineuse) et l'utilisation (par exemple, en combinaison avec d'autres thérapies anticancéreuses) conduiront certainement à la validation de vaccins ivt ARNm anticancéreux efficaces. Entre-temps, les résultats obtenus chez l'homme avec des vaccins prophylactiques à ivt ARNm destinés à protéger contre la grippe ou la rage ont été publiés [9]. D'autres essais cliniques de phase I/II du vaccin à ivt ARNm contre divers virus (cytomégalovirus, virus Zika, métapneumovirus, virus parainfluenza de type 3) sont en cours. Plus important encore, les vaccins anti-SRAS-CoV-2 sous forme d'ivt ARNm et développés par deux compagnies différentes ont récemment été approuvés dans plusieurs pays.

Avantages des vaccins synthétiques à ARNm

Bien que la production et l'utilisation de l'ivt ARNm en laboratoire pour les recherches soient relativement lourdes et coûteuses, ce format présente de nombreux avantages par rapport à d'autres formats pour l'utilisation clinique [10].

Production rapide et facile dans des conditions pharmaceutiques

Les étapes menant à la production d'ARNm (fig. 2) sont simples, rapides et, surtout, robustes, c'est-à-dire qu'elles ne dépendent pas de la séquence d'ARNm. Ainsi, une fois que le processus pharmaceutique de production d'ARNm est établi, il peut être utilisé pour toute séquence codant pour une protéine quelconque. Ce n'est pas le cas des vaccins à base de peptides, de protéines, de nanoparticules ou de virus. La polyvalence de la production d'ARNm est exploitée pour produire des

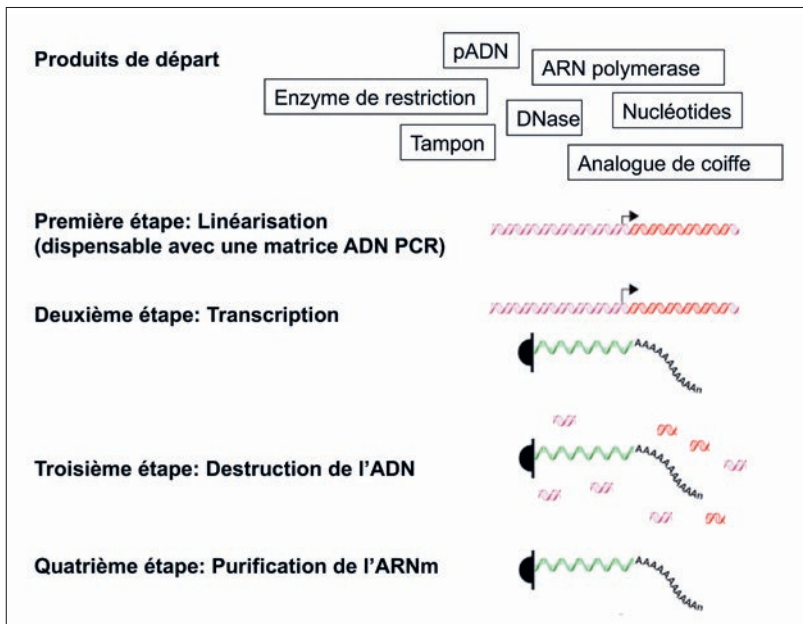


Figure 2: Production d'ivt ARNm. Peu de matériel de départ est nécessaire. Ensuite, les quatre étapes sont toutes robustes (fonctionnent quelle que soit la séquence d'ARNm nécessaire) et ne prennent que quelques heures chacune (chaque étape est de 2 heures en laboratoire). pADN: ADN plasmidique; PCR: «polymerase chain reaction»; ADN: acide désoxyribonucléique; ARN: acide ribonucléique; mARN: ARN messenger.

vaccins anticancéreux individualisés: Les biopsies des tumeurs de chaque patient sont séquencées, les mutations spécifiques au cancer sont identifiées et l'ivt ARNm est produit pour coder des protéines chimériques contenant ces mutations. Chaque patient reçoit son propre vaccin. Le processus qui va de la biopsie au vaccin à ARNm prend moins de trois mois.

Très stable in vitro

Contrairement au préjugé, l'ARN est très stable in vitro. Il est dégradé en présence de RNases ou à un pH élevé. Cependant, si l'ARN est exempt de RNases (ce qui est bien sûr le cas de l'ivt ARNm pharmaceutique) et à un pH neutre/légèrement acide, alors il est très stable. C'est la seule molécule biologique qui peut être précipitée, remise en suspension dans l'eau, chauffée jusqu'à 90 degrés, congelée et lyophilisée sans dommage. Aucun autre produit biologique n'est aussi robuste (surtout lorsqu'il s'agit de températures élevées). De plus, l'ARN lyophilisé peut être conservé à température ambiante pendant très longtemps. Remis en suspension dans l'eau, il est immédiatement à nouveau biologiquement actif (quelle que soit sa séquence, c'est-à-dire quelle que soit la protéine codée). Sur cette base, CureVac a reçu un prix spécial de l'UE de deux millions d'euros en 2014. Le prix a été décerné à des solutions innovantes pour le transport et le stockage de vaccins lorsque la chaîne du froid ne peut être garantie.

Fenêtre thérapeutique sûre et définie

Contrairement aux vaccins à base d'ADN (ADN plasmidique ou virus à ADN), l'ivt ARNm est par nature une molécule transitoire in vivo. Il est complètement dégradé par les abondantes RNases à l'extérieur et à l'intérieur des cellules. Il ne peut pas non plus affecter le génome ADN de l'hôte. Pour ces raisons, l'ivt ARNm est particulièrement sûr pour les thérapies. Un autre avantage de la nature très transitoire de l'ivt ARNm in vivo est que, selon la séquence de l'ARNm et le véhicule de transport, on peut supposer qu'aucun ivt ARNm n'est encore présent quelques jours au maximum après injection. Ainsi, la fenêtre thérapeutique est très définie. Les réinjections peuvent être effectuées et ne se cumulent pas avec les injections précédentes. Par conséquent, aucun effet secondaire surprenant dû à l'accumulation d'ivt ARNm ne peut se produire et les individus/patients peuvent être réinjectés si cela est nécessaire pour l'efficacité du traitement.

Monoantigène

Les vaccins sous forme de virus recombinants contiennent et expriment de nombreuses protéines différentes, dont seule une est importante pour la maladie ciblée (par exemple, la protéine d'enveloppe «spike» du SRAS-CoV-2). Ainsi, les injections peuvent déclencher une forte immunité contre des antigènes non ciblés (en particulier ceux déjà reconnus par une réponse immunitaire mémoire préexistante). De plus, les injections rappel sont neutralisées par les anticorps contre le virus recombinant produits (ou amplifiés) par la première injection. Un problème similaire se pose avec les vaccins recombinants complexes (particules de type viral) ou même les vaccins protéiques qui contiennent intrinsèquement des impuretés (par exemple, produits de dégradation, protéines mal pliées, impuretés de production) qui peuvent déclencher et stimuler des réponses immunitaires qui ne sont pas celles souhaitées.

Conception et optimisation des ivt ARNm non-répliquant

Bien que sa formulation soit simple, le vaccin à ivt ARNm peut être optimisé de nombreuses façons. Cette optimisation a commencé il y a plus de 20 ans et des succès très importants ont été enregistrés tant au niveau de l'ARNm lui-même que de la méthode de livraison.

Optimisation de l'ARNm

Comme le montre la figure 1, on peut définir cinq parties fonctionnelles dans la molécule d'ARNm, dont chacune peut être optimisée indépendamment pour

a) stabiliser l'ARNm dans le cytosol et b) mieux le traduire. De 5' en 3':

1. *La coiffe*: Elle est utilisée pour démarrer la traduction de l'ARNm et consiste en une guanosine méthylée en position 7 et liée au premier nucléotide de l'ARN par une liaison tri-phosphate 5'-5'. Pendant de nombreuses années, un analogue de la coiffe appelé ARCA a été utilisé. Cependant, il posait des problèmes de production et de fonctionnalité de l'ARNm. Une révolution a eu lieu en 2017 avec le système CleanCap® de Trilink®. Il s'agit d'un trinucleotide constitué de la 7-méthylguanosine liée par une liaison triphosphate à une adénosine 2'-méthylée puis à une guanosine par une liaison phosphate normale. CleanCap® permet un coiffage plus efficace de l'ARNm, des fonctionnalités (stabilité et traduction) supérieures et aussi une production cinq à dix fois plus élevée lors de la synthèse de l'ivt ARNm par transcription. Les trois vaccins à ARNm mis au point par les principales sociétés d'ARNm (voir ci-dessous) utilisent tous CleanCap® car cette stratégie est sans précédent.
2. *La région 5' non traduite (UTR)*. Elle est située entre la coiffe et le codon de départ de la traduction. Elle peut contenir entre trois et des centaines de nucléotides. Le ribosome scanne cet UTR et initie la traduction au premier codon AUG dans un environnement correct (appelé Kozak). La séquence de ce 5'UTR peut réguler la traduction. Normalement, dans l'ivt ARNm, le 5'UTR est identique à celui trouvé dans des ARNm très stables, tels que l'ARNm codant pour la globine. Nous avons décrit un 5'UTR optimisé sous la forme d'un aptamer capable d'attirer le complexe eIF4F [11]. D'autres séquences optimisées ont été définies par des méthodes prédictives ou itératives. Les entreprises utilisent en général une séquence 5'UTR qui leur appartient.
3. Suivant le 5' UTR se trouve *la séquence de codage* de la protéine. Cette partie est cruciale pour l'efficacité de traduction et pour la stabilité de l'ARNm dans le cytosol. Bien que les séquences de type sauvage des gènes de mammifères soient généralement naturellement adaptées à notre biais de codons, les séquences d'organismes inférieurs (par exemple les bactéries) peuvent être problématiques pour une traduction efficace dans un cytosol de mammifère. Par conséquent, l'optimisation des codons peut être nécessaire pour certains gènes. Si les gènes sont dérivés de virus de mammifères (tels que le SRAS-CoV-2) et qu'il n'y a pas assez de temps pour tester de nombreuses séquences différentes optimisées par les codons, l'utilisation de la séquence de type sauvage peut être recommandée.

4. Après la séquence de codage se terminant sur le codon stop se trouve le 3'UTR. Il s'agit d'une séquence très critique qui est reconnue à la fois par les protéines cytosoliques et par les ARN interférents et qui affecte grandement la stabilité de l'ARNm. Là encore, les premiers travaux ont utilisé des ivt ARNm avec les 3'UTR identiques à ceux d'ARNm très stables comme ceux codant les globines. Plus récemment, des répétitions en tandem de telles séquences ou de nouvelles séquences, éventuellement combinées, ont montrées des efficacités supérieures [12]. Comme pour le 5'UTR, les entreprises ont généralement leur propre 3'UTR stabilisant dans leurs ivt ARNm et ils assurent tous une stabilisation intracellulaire efficace de la molécule synthétique.

5. L'ARNm se termine par *une queue poly-A*, qui contient idéalement plus de 90 résidus adénine.

L'ivt ARNm peut être constitué des quatre nucléotides canoniques (adénosine, guanosine, cytidine, uridine) ou de nucléotides modifiés tels que la pseudouridine au lieu de l'uridine. Il ne s'agit pas d'une caractéristique essentielle dans le contexte des vaccins à ivt ARNm, et les entreprises utilisent ou non les modifications dans les ivt ARNm de leurs vaccins (voir ci-dessous).

Optimisation de l'administration

Certains composés cationiques peuvent se lier et stabiliser l'ARN qui est par nature anionique. En même temps, ils neutralisent la molécule et génèrent des particules qui facilitent l'absorption dans les cellules et le passage à travers les membranes cellulaires. Les liposomes cationiques et les polymères cationiques ont été utilisés depuis le début de l'optimisation des vaccins à ivt ARNm (par exemple liposomes et protamines dans l'étude de Hoerr [4]). Les formulations optimisées doivent avoir deux propriétés opposées: une structure très stable et résistante qui protège l'ARN en dehors des cellules, et une dissociation très efficace de l'ARN de son porteur dans le cytosol. Si l'interaction entre l'ARN et le porteur est trop forte, l'ARN ne peut pas être libéré dans le cytosol; si elle est trop faible, les particules peuvent être instables à la fois in vitro et après injection, libérant l'ARN avant qu'il ne pénètre dans le cytosol. En outre, le véhicule doit être composé de composés sûrs qui sont naturellement catabolisés. Les liposomes cationiques (en particulier ceux qui contiennent des lipides cationiques ionisables) se sont avérés les meilleurs jusqu'à présent. Leur développement s'est accéléré depuis le début du siècle pour la délivrance d'agents siRNA. Ce siRNA doit atteindre le cytosol des cellules très efficacement pour agir. Des sociétés telles qu'Acuitas Therapeutics ont fait d'énormes progrès dans les formulations liposomales pour la déli-

vance de siRNA, permettant le développement d'Onpattro®, le premier médicament à base de siRNA. Parce que l'Onpattro® traite un défaut génétique, il doit être administré fréquemment, et parce qu'il doit contrôler l'expression des gènes dans un large organe, il doit être administré à une forte dose. Par conséquent, la formulation devait être efficace et non toxique. Elle consiste en l'administration de jusqu'à 30 mg d'ARN toutes les trois semaines par injection intraveineuse. Sur la base de cette expertise, des formulations sûres et efficaces de l'ivt ARNm ont pu être développées. Le liposome utilisé pour administrer le premier médicament à ARNm ivt approuvé, le vaccin de BioNTech/Pfizer, est basé sur les technologies d'Acuitas Therapeutics. CureVac utilise également les formulations d'Acuitas Therapeutics pour son vaccin ivt ARNm contre COVID-19 dans le cadre de ses essais cliniques actuels.

Vaccins anti-SRAS-CoV-2 à ivt ARNm non-répliquant

Depuis le début de la pandémie de COVID-19 et sur la seule base de la séquence du virus SRAS-CoV-2 publiée dans *Nature* le 11 janvier 2020, les trois plus grandes sociétés d'ARNm – BioNTech (Mayence, Allemagne), CureVac (Tübingen, Allemagne) et Moderna (Boston, États-Unis) – ont commencé à utiliser leur expertise et leur infrastructure pour générer un vaccin contre COVID-19. Heureusement, le virus SRAS-CoV-2 est similaire au SRAS-CoV (2003), et on a donc rapidement découvert qu'il utilise la même protéine d'enveloppe (spike) pour pénétrer dans les cellules en reconnaissant l'«angiotensin converting enzyme 2» (ACE2), une enzyme liée à la membrane et exprimée à la surface de nombreuses cellules. La spike est une grande protéine transmembranaire (1273 acides aminés) dont les fonctions sont déterminées par de nombreuses glycosylations et des structures fluctuantes. Elle s'assemble en trimère. Les travaux antérieurs sur les coronavirus ont montré que la spike est présente sur les particules virales dans sa conformation «préfusion». C'est cette conformation qui doit être reconnue par des anticorps destinés à neutraliser le virus. Pour stabiliser cette conformation dans le cadre de la fabrication du vaccin à ARNm contre la spike, deux prolines consécutives dans la partie C-terminale de la protéine remplacent les acides aminés naturels (séquence KV en position 986 et 987 de la protéine) [13]. Les trois entreprises ont utilisé ces connaissances préexistantes pour concevoir leur séquence de codage: tous contiennent les deux prolines, ce qui favorise la structure «préfusion» de la spike de SRAS-CoV-2 exprimée par l'ivt ARNm à la sur-

face des cellules transfectées. Toutefois, il existe des différences subtiles entre les trois vaccins:

Moderna

Avec l'injection du premier volontaire le 16 mars 2020, Moderna est devenu la première compagnie à commencer les essais cliniques d'un vaccin anti-COVID-19. Un seul vaccin constitué d'ARNm modifié par la pseudouridine codant pour la spike entière et en conformation «préfusion» encapsulé dans une enveloppe liposomale a été produit à une vitesse record. La société a publié les résultats de l'étude de phase I (définition de la dose) en novembre 2020 [14]. Les trois doses testées (trois cohortes de 15 participants) de 25, 100 et 250 µg formulées dans des liposomes et administrées par voie intramusculaire selon un régime «injection-rappel» (avec 4 semaines entre les injections) ont produit des titres élevés d'anticorps neutralisants (similaires ou supérieurs aux titres trouvés dans les sérums de patients qui avaient vaincu COVID-19). La moitié des participants ont ressenti des effets secondaires légers du vaccin, notamment de la fatigue, des frissons, des maux de tête, des myalgies et des douleurs au site d'injection. Ces effets secondaires étaient plus prononcés avec l'injection de rappel et avec la dose la plus élevée de 250 µg. Les données de laboratoire n'ont montré aucun problème sérieux. La société a sélectionné la dose moyenne de 100 µg pour une étude plus approfondie et a terminé l'enrôlement de 30 000 participants dans son étude de phase III le 22 octobre 2020. Une analyse préliminaire de la société a montré que le vaccin protège à 95% contre la COVID-19: 196 cas de COVID (185 dans le placebo), 30 cas graves (30 dans le placebo) [15]. Entretemps, des études menées sur des primates non humains vaccinés et exposés au virus ont montré que le vaccin peut empêcher la réplication du virus dans les voies respiratoires supérieures et inférieures [16]. Sur la base des données présentées par la compagnie, la «Food and Drug Administration» (FDA) américaine a approuvé le vaccin pour une utilisation d'urgence. Il s'agit de la deuxième approbation (après celle du vaccin BioNTech, voir ci-dessous) d'un médicament à ARNm, qui est également un vaccin contre le SRAS-CoV-2. Ensuite plusieurs pays (dont ceux de l'UE et la Suisse) ont approuvé ce vaccin.

BioNTech

La société, qui dispose d'une large gamme de technologies à ivt ARNm, a développé quatre vaccins ARNm différents en janvier 2020: Deux ARNm codant pour la spike en conformation «préfusion» sur toute la longueur, l'un avec des pseudo-uridines et l'autre avec des

uridines non modifiées (car il n'y a aucune preuve que l'une ou l'autre version soit la meilleure pour ce type de vaccin), un ARNm codant uniquement le domaine de «liaison au récepteur» de la protéine spike (puisque les anticorps ciblant uniquement ce domaine peuvent être plus efficaces et aussi pour réduire l'éventualité théorique d'induction d'anticorps facilitant l'infection), et un ARNm auto-amplifiant (puisque ce format nécessite des doses beaucoup plus faibles que l'ARNm non-répliquant). Après avoir commencé la première injection le 23 avril 2020, BioNTech a décidé d'utiliser l'ARNm pseudo-U codant pour la spike en conformation «préfusion» (BNT162b2) dans l'essai de phase III. Il s'agit d'un régime «injection-rappel» avec 21 jours entre les injections. Les données de la phase I de ce vaccin, testé à des doses de 10, 30 et 100 µg, ont montré une séroconversion chez tous les sujets et des titres élevés d'anticorps neutralisants (similaires ou supérieurs à ceux des sérums de patients ayant récupéré de COVID-19) même chez les participants de plus de 65 ans, ainsi qu'un bon profil de sécurité [17]. Après que Pfizer et BioNTech aient annoncé leur collaboration le 17 mars 2020, ces sociétés ont évalué conjointement le vaccin, ce qui a considérablement accéléré la mise en place et la réalisation de l'essai de phase III. Celui-ci fut achevé le 18 novembre 2020 [2]. Il a inclus plus de 40 000 participants (avec ou sans infection préalable par le SRAS-CoV-2) et a démontré une protection de 95% contre COVID-19: neuf cas de COVID-19 au moins sept jours après la deuxième dose ont été observés chez les personnes vaccinées et 169 chez les personnes ayant reçu un placebo. Des effets indésirables associés ont été observés dans 21% des cas dans le groupe du vaccin et 5% dans le groupe placebo. Quatre événements indésirables graves ont été signalés chez les personnes ayant reçu le vaccin (blessure à l'épaule associée à l'administration du vaccin, lymphadénopathie axillaire droite, arythmie ventriculaire paroxystique et parésie de la jambe droite). Une grande fatigue a été observée chez environ 4% des bénéficiaires du BNT162b2. Température (38,9–40 °C) chez 0,8% (vaccin) et 0,1% (placebo) des participants après la deuxième dose. Sur la base de ces données favorables de sécurité et d'efficacité, le Royaume-Uni (le 2 décembre 2020, en tant que premier médicament à base d'ARNm et premier vaccin approuvé contre COVID-19) et les Etats-Unis (le 11 décembre 2020) ont approuvé le vaccin pour une utilisation en urgence. Le 19 décembre 2020, la Suisse a accordé une autorisation de mise sur le marché conditionnelle pour le vaccin ARNm anti-SRAS-CoV-2 de BioNTech/Pfizer, commercialisé sous le nom de Comirnaty®. Il s'agit de la première approbation non urgente au monde.

CureVac

La société a lancé son étude de phase I en juin 2020 en utilisant un liposome (cholestérol, 1,2-distéaroyl-sn-glycéro-3-phosphocholine [DSPC], lipide PEG-ylé et un lipide cationique) pour l'administration intramusculaire d'ARNm non modifié codant la spike entière dans la conformation «préfusion». Les doses testées allaient de 2 à 12 µg. Il s'agissait là encore d'un régime «injection-rappel» avec 28 jours entre les injections. La population étudiée était composée de 248 adultes âgés de 18 à 60 ans. La société a indiqué (bien que l'article en question n'ait pas encore été publié dans une revue à comité de lecture, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.11.09.2022851v1.full-text>) que le vaccin était bien toléré (bien que la fréquence et la gravité des effets indésirables augmentaient avec le niveau de la dose) et qu'il induisait des anticorps neutralisants chez tous les sujets à la dose de 12 µg. Le vaccin pourrait également stimuler les réponses immunitaires préexistantes chez des sujets précédemment infectés par le SRAS-CoV-2. L'essai de phase II de CureVac, qui inclut des adultes plus âgés, a commencé fin septembre 2020. Le 14 décembre 2020, la société a annoncé le début de l'essai clinique pivot.

Production et stockage

Les trois principaux acteurs disposaient déjà d'installations de production pour fabriquer de l'ivt ARNm en conditions pharmaceutiques. Cependant, la production en masse d'un vaccin prophylactique dans un délai court est un défi. Si un milliard de doses sont finalement nécessaires d'urgence (pour vacciner deux fois 500 millions de personnes, ce qui couvre environ 10% de la population: par exemple, les personnes à risque et les professionnels de santé), c'est 100 kg d'ARNm nécessaires pour Moderna, 30 kg d'ARNm pour BioNTech et 12 kg d'ARNm pour CureVac. Les volumes de transcriptions in vitro sont alors d'au moins 20 000, 6000 et 2400 litres respectivement (en supposant une concentration d'au moins 5 mg/ml d'ARNm à la fin de la réaction de transcription). Un problème majeur ne serait pas la réaction de transcription ou de purification, mais la disponibilité des produits bruts: principalement CleanCap®, les nucléotides triphosphates et les enzymes. Ces composants ne sont pas produits par les sociétés d'ARNm elles-mêmes. Ils sont achetés auprès de fournisseurs de réactifs biologiques spécialisés tels que Trilink® et New England BioLabs®. Ces vendeurs ont dû améliorer leurs capacités de production pour fournir aux producteurs d'ARNm les matériaux dont ils ont besoin. Toutes ces chaînes de vendeurs et de fabricants seront augmentées et des milliards de doses

seront disponibles en 2021. Pour 2020, BioNTech/Pfizer disposait de 50 millions de doses et Moderna de 20 millions, ce qui a permis de lancer les campagnes de vaccination dans les pays où le vaccin est approuvé. Comme mentionné précédemment, l'ivt ARNm est très stable en tant que molécule pure (exempte de RNases) à température ambiante. Cependant, la formulation liposomale peut être instable à température ambiante et peut se modifier (forme, taille, pourcentage d'ARNm encapsulé, etc.) en raison de la décongélation/congélation. Par conséquent, la distribution du vaccin à une température de stockage adéquate est une exigence de base. Jusqu'à présent, le vaccin de BioNTech/Pfizer est stocké à -70°C et peut être conservé à cette température pendant des mois. Après décongélation, il est conservé à $2-8^{\circ}\text{C}$ pendant cinq jours. Le vaccin de Moderna est stocké à -20°C , est stable à cette température pendant des mois, et devrait être stable à $2-8^{\circ}\text{C}$ pendant 30 jours après décongélation. CureVac a annoncé que le vaccin restera stable pendant au moins trois mois lorsqu'il est conservé à une température standard de $+5^{\circ}\text{C}$ au réfrigérateur, et jusqu'à 24 heures en tant que vaccin prêt à l'emploi lorsqu'il est conservé à température ambiante. Les trois sociétés devraient fournir d'autres données sur la stabilité qui faciliteront encore le transport et la distribution des vaccins.

Perspectives

Le lancement d'un développement industriel du vaccin à ivt ARNm en 2000 a été considéré comme utopique ou non pertinent par la communauté scientifique et médicale. Notre travail de pionnier a été rejeté par les comités d'évaluation des organismes de subventions et par les éditeurs ou les examinateurs de revues scientifiques à haut facteur d'impact. Le tout premier rapport sur l'injection d'ivt ARNm chez l'homme (que j'ai réalisé sur moi-même) a été publié dans la revue *Gene The-*

rapy en 2007, facteur d'impact 4 [5]. Les premiers essais cliniques de vaccins à ivt ARNm ont été publiés dans le *Journal of Immunotherapy* en 2008 et 2009 [7-8], également facteur d'impact 4. Aujourd'hui, en raison de la pandémie COVID-19, les vaccins à ivt ARNm se sont avérés être le format de vaccin le plus rapide, le plus sûr et le plus efficace. D'énormes améliorations de la méthode (ivt ARNm et particules) ont permis de transformer une très petite dose d'ivt ARNm (30 μg par injection pour le premier vaccin homologué, soit moins que ce que nous avons injecté à des souris il y a 20 ans) en un vaccin très efficace chez l'homme! C'est la première fois dans l'histoire qu'un vaccin est validé en moins d'un an après la description d'un nouveau virus (séquence du SRAS-CoV-2 publiée en janvier 2020). Les vaccins à ivt ARNm pourront mettre fin à la pandémie de COVID-19 et protéger le monde contre de nouvelles pandémies. En outre, les thérapies basées sur l'ivt ARNm peuvent être développées pour pratiquement tous les problèmes médicaux. Ainsi, en 20 ans, cette technologie est passée d'un outsider méprisé à un phare d'espoir mondial et sera désormais en mesure de tenir toutes ses nombreuses promesses.

Remerciements

Le laboratoire de Dr rer. nat. Steve Pascolo est actuellement soutenu par le département de dermatologie, par le projet prioritaire de recherche universitaire (URPP, Université de Zurich) «Recherche translationnelle sur le cancer», par la Fondation Monique Dormonville de la Cour et par une subvention du FNS (numéro 198321) de l'appel de projet NRP 78 COVID-19.

Disclosure statement

The author declares he was co-founder of CureVac and its Chief Scientific Officer from 2000 till 2006. He left the company (position and participation) in 2006 and has no activities with CureVac. He works with BioNTech on mRNA vaccines against cancer (not on vaccines against COVID-19). They had a EU grant together: <http://merit-consortium.eu>. The author declares to not benefit financially from any anti-COVID-19 vaccine and to have no shares from BioNTech, CureVac or Moderna.

Références

La liste complète des références est disponible dans la version en ligne de l'article sur <https://doi.org/10.4414/fms.2021.08742>.

Correspondance:

Dr rer. nat. Steve Pascolo
Dermatologische Klinik
Universitätsspital Zürich
Gloriastrasse 31
CH-8091 Zürich
[Steve.Pascolo\[at\]usz.ch](mailto:Steve.Pascolo[at]usz.ch)