

Mettre au point un vaccin : les méthodes traditionnelles dépassées par la pandémie COVID ?

Frédéric Tangy
ftangy@pasteur.fr

Laboratoire d'innovation vaccinale
Institut Pasteur, Paris




Institut Pasteur

Vaccins : l'héritage d'Edward Jenner et Louis Pasteur

- ✓ Comprendre la maladie, sa transmission, sa protection
- ✓ Isoler l'agent responsable
- ✓ Concevoir un produit biologique sûr, efficace, facile à manufacturer et à délivrer à faible coût



Jenner, le médecin qui inocule le virus de la vaccine à l'homme



Pasteur, le chimiste qui révolutionne la médecine en inactivant les microbes

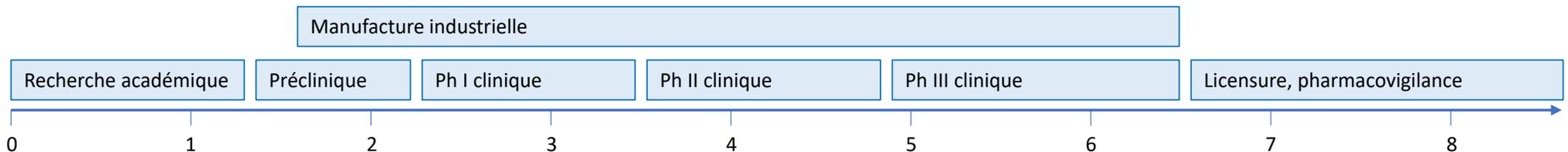
Les vaccins antiviraux

Virus vivants-atténués	Virus tués ou inactivés	Pseudo-particules	Nouvelles technologies
Variole Fièvre jaune Polio Rougeole Oreillons Rubéole Varicelle, zona Dengue Rotavirus	Rage Grippe Polio Hépatite A JEV, TBE	HBV HPV	DNA mRNA Vecteurs viraux Adjuvants Protéines recombinantes

Défiance



Etapas habituelles du développement vaccinal (durée représentée plutôt courte)



Le succès des vaccins vivants contre les maladies virales

Vaccins vivants-atténués

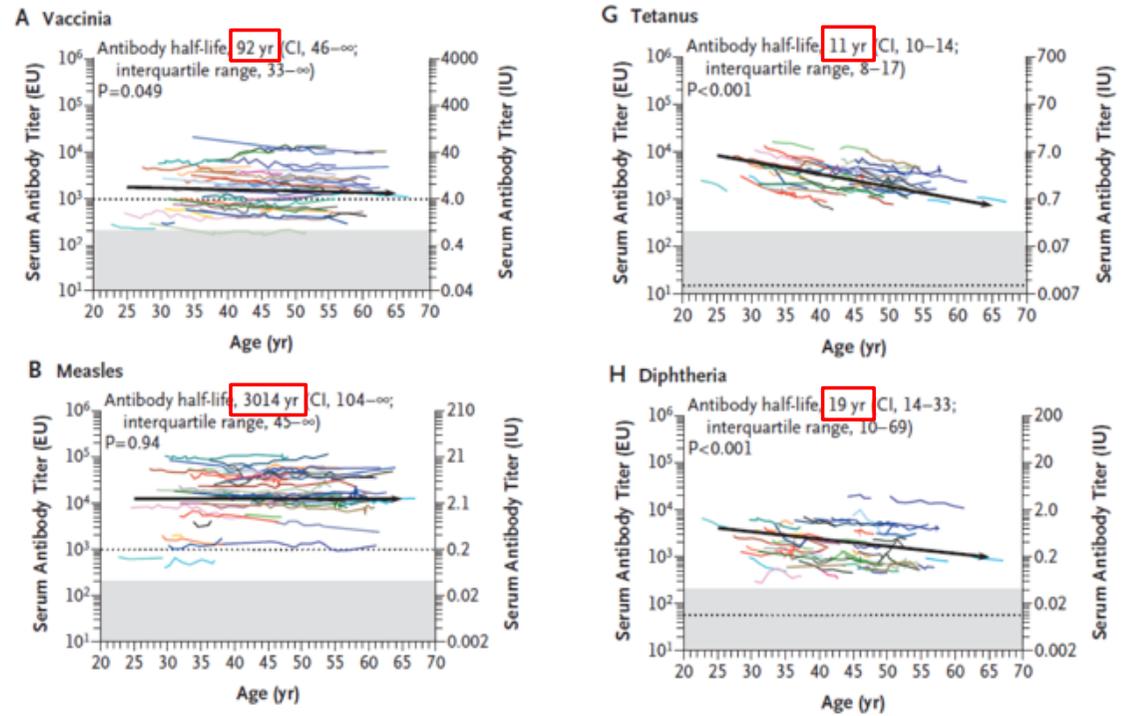
- Variole (éradiquée)
- Poliomyélite (>95% réduction morbidité)
- Rougeole (>95% réduction morbidité)
- Oreillons (>95% réduction morbidité)
- Rubéole (>95% réduction morbidité)
- Fièvre jaune (>95% efficacité)
- Varicelle (80% réduction morbidité)

Besoins pratiques

- Vaccins pédiatriques/adolescents
- 1 ou 2 administrations
- Sûreté absolue
- Immunité humorale / cellulaire
- Longue mémoire
- Faible coût et manufacture à grande échelle

Mémoire des vaccins vivants atténués

Serum antibody levels were measured on serial samples collected over a period of several years

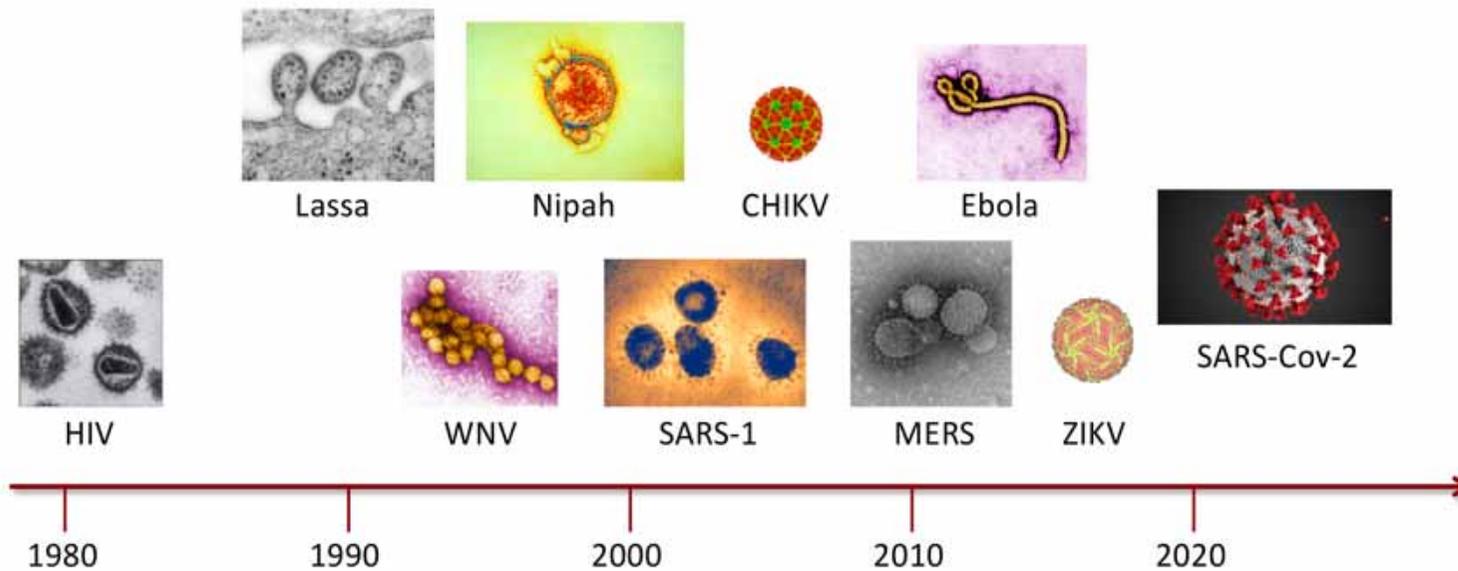


Amanna et al, N Engl J Med 2007;357:1903-15.

Les infections virales létales émergentes ou ré-émergentes menacent l'humanité

Mondialisation, accroissement de la population, voyages, réchauffement climatique

Nouveaux virus respiratoires humains (1997-2013)

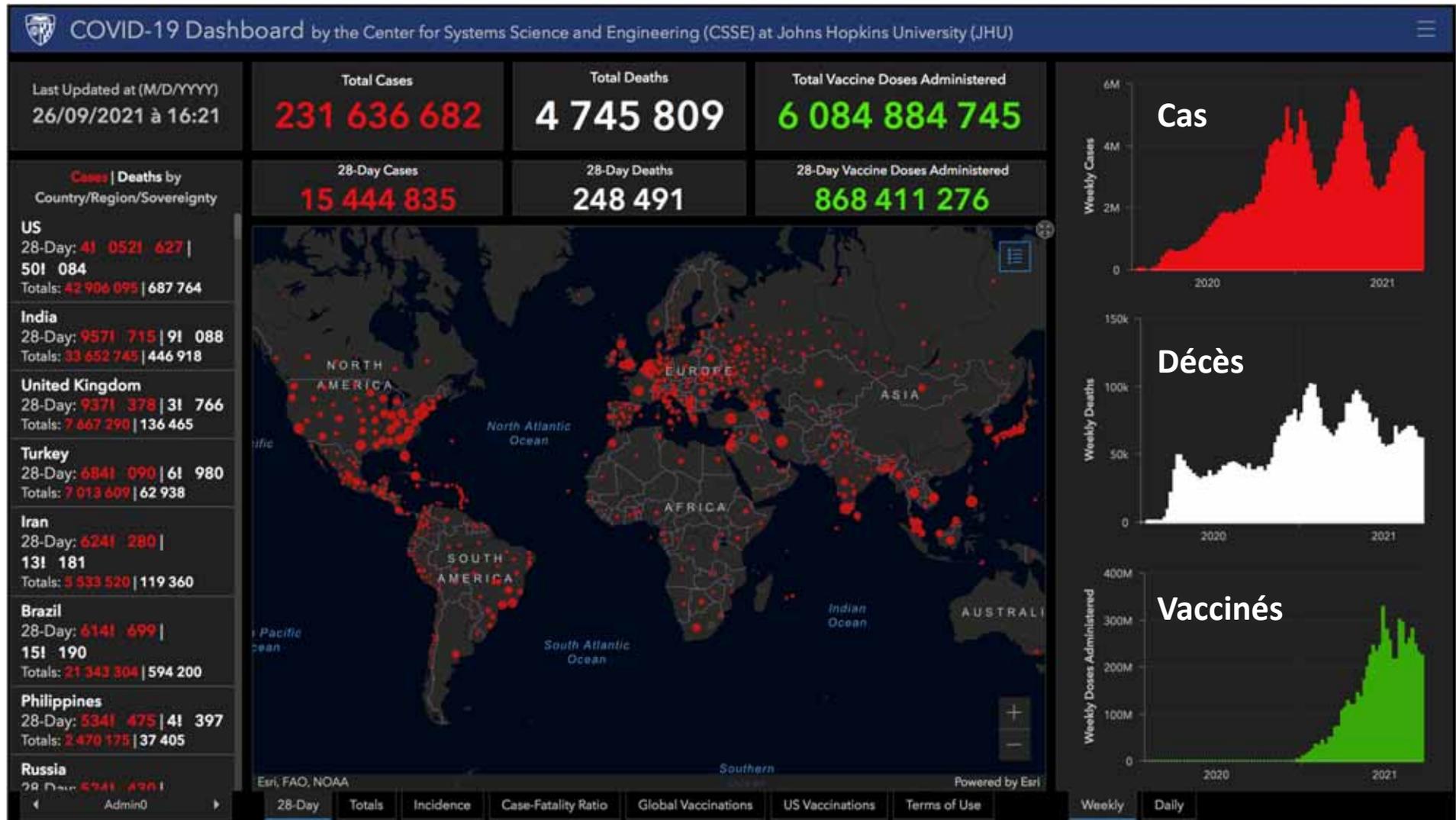


<u>Virus</u>	<u>Family</u>	<u>Year</u>
H5N1	Influenza virus	1997
Hendra-Nipah	Paramyxovirus	2000
hMPV	Paramyxovirus	2001
SARS-CoV	Coronavirus	2003
H7N7	Influenza virus	2003
HCoV-NL63	Coronavirus	2004
HCoV-HKU1	Coronavirus	2005
HBoV	Parvovirus	2005
KI/WU-PyV	Polyomavirus	2007
MeIV (Kam V)	Orthoreovirus	2007
H1N1v	Influenza virus	2009
HPBV	Picobimavirus	2010
H3N2 porcine	Influenza virus	2011
HCoV-EMC	Coronavirus	2012
H7N9	Influenza virus	2013
MERS-CoV	Coronavirus	2012

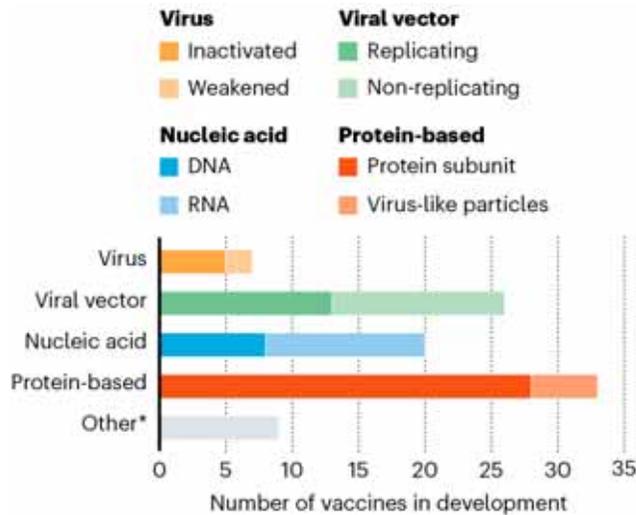
La perte de PIB mondial due au Covid est estimée entre 3 et 10 milliards de milliards de dollars en 5 ans

<https://www.jbs.cam.ac.uk/faculty-research/centres/risk/>

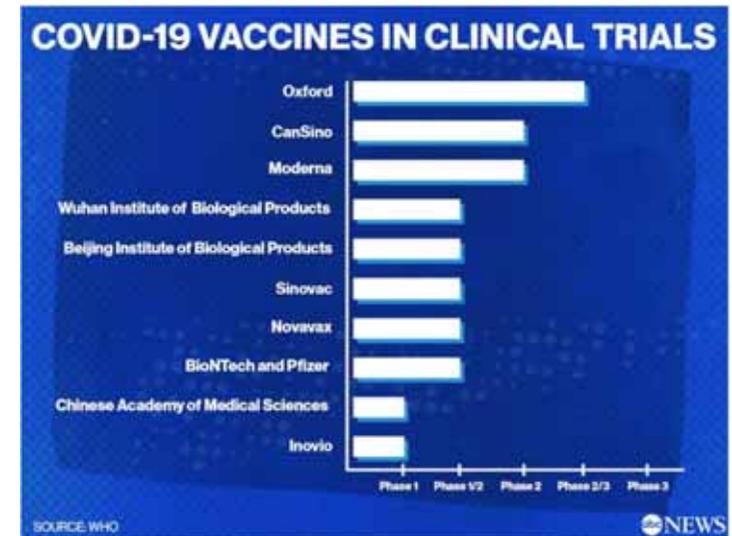
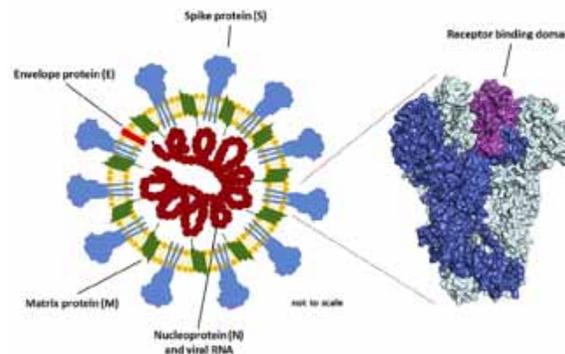
La pandémie de SARS-CoV-2 est-elle en voie d'être contrôlée au bout de deux ans?



Plus de 200 candidats vaccins contre le SARS-Cov-2

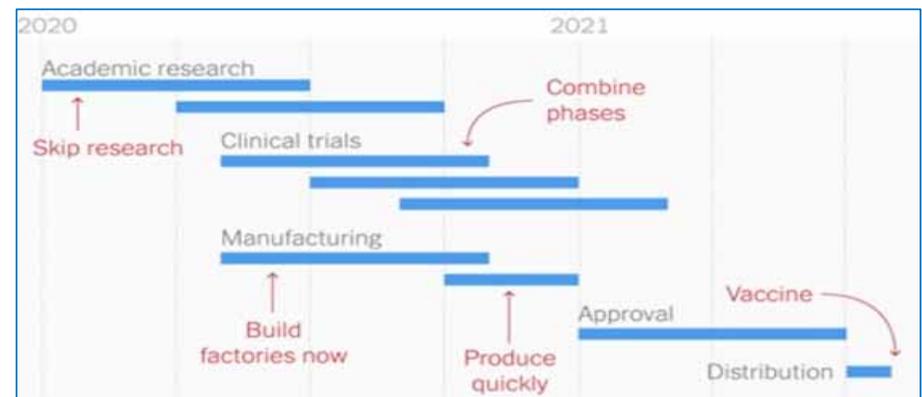


Tous dirigés contre la protéine spike du virus SARS-Cov-2



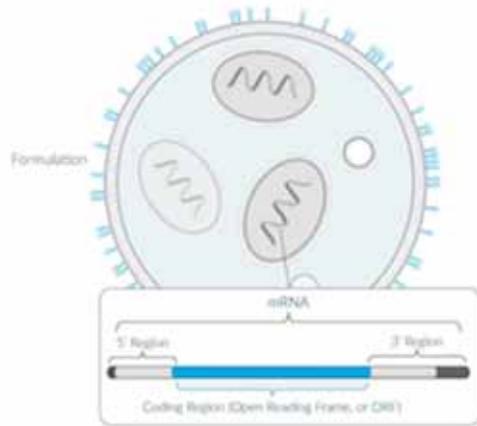
Vaccins	Clinique	Préclinique
Inactivés	6	9
Atténués	0	3
Vecteur viral non répliatif	5	19
Vecteur viral répliatif	2	18
ARN	6	17
ADN	4	12
Protéines sous-unitaires	13	52

Délais accélérés

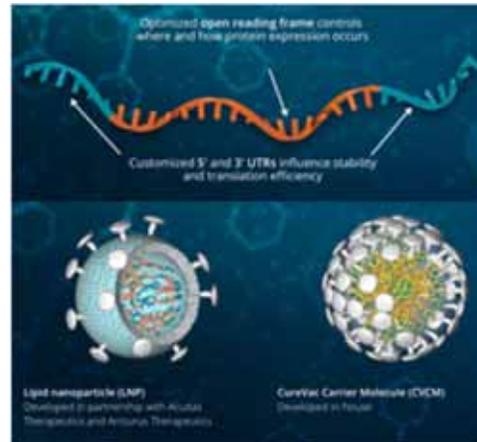


Les vaccins contre le SARS-Cov-2 utilisent les nouvelles technologies

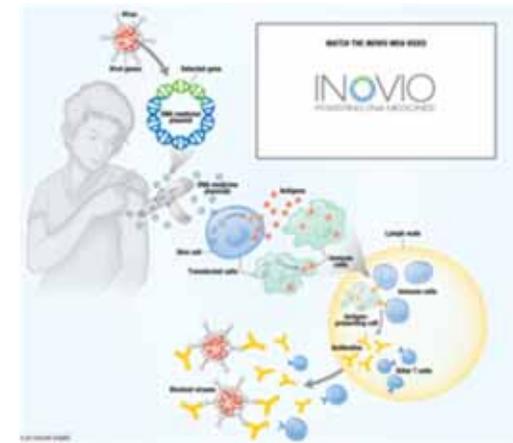
MODERNA (mRNA)



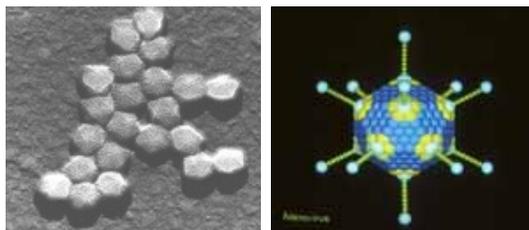
CUREVAC (mRNA)



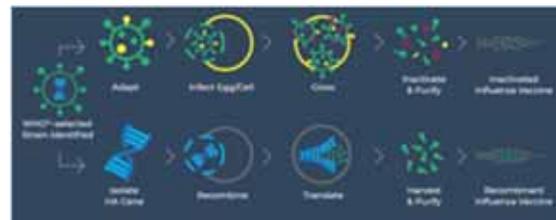
INOVIO (DNA)



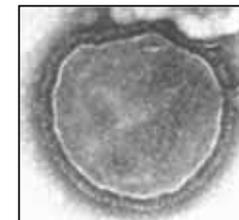
**OXFORD
(ChAdOx)**



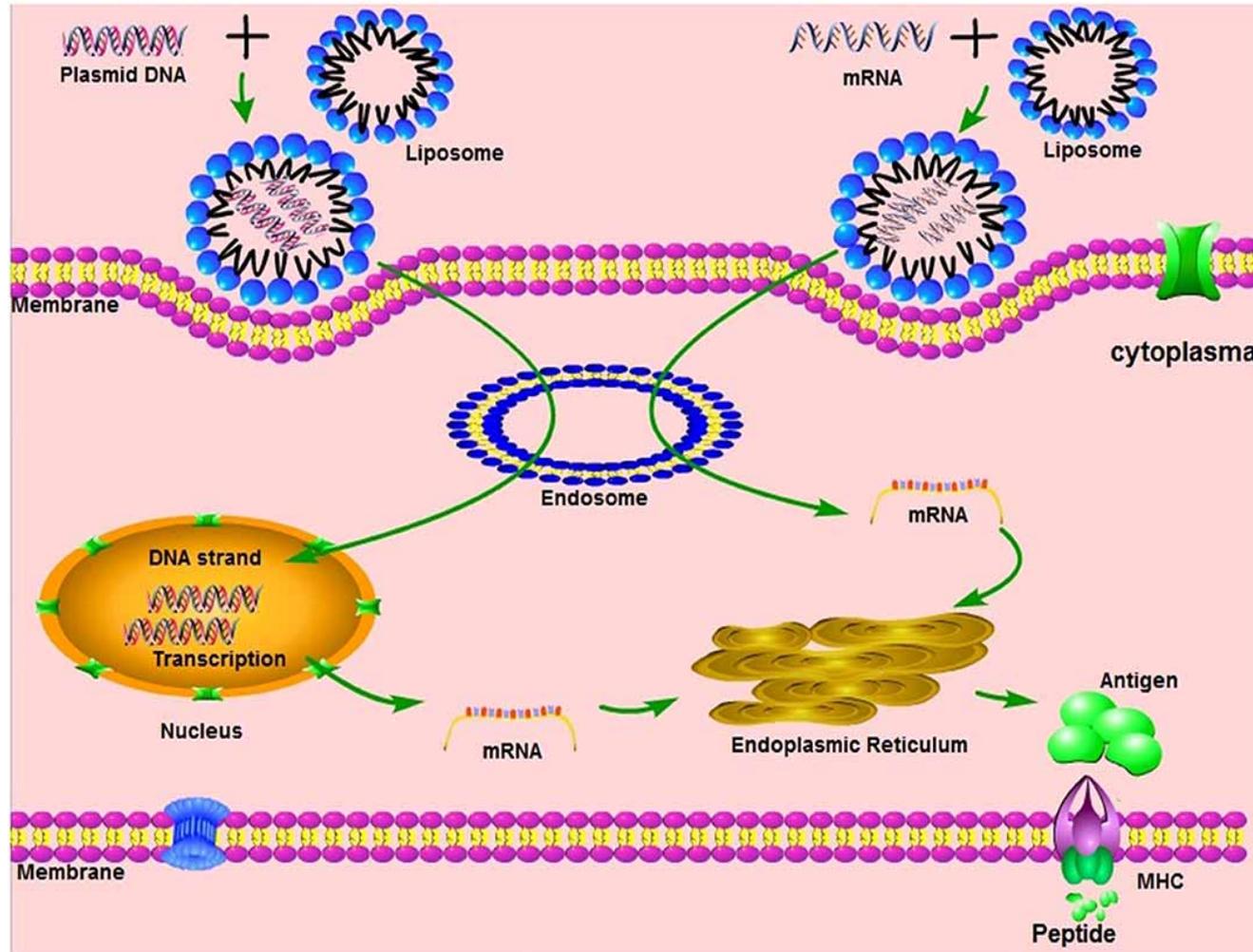
**SANOPI
(Protéine baculovirus)**



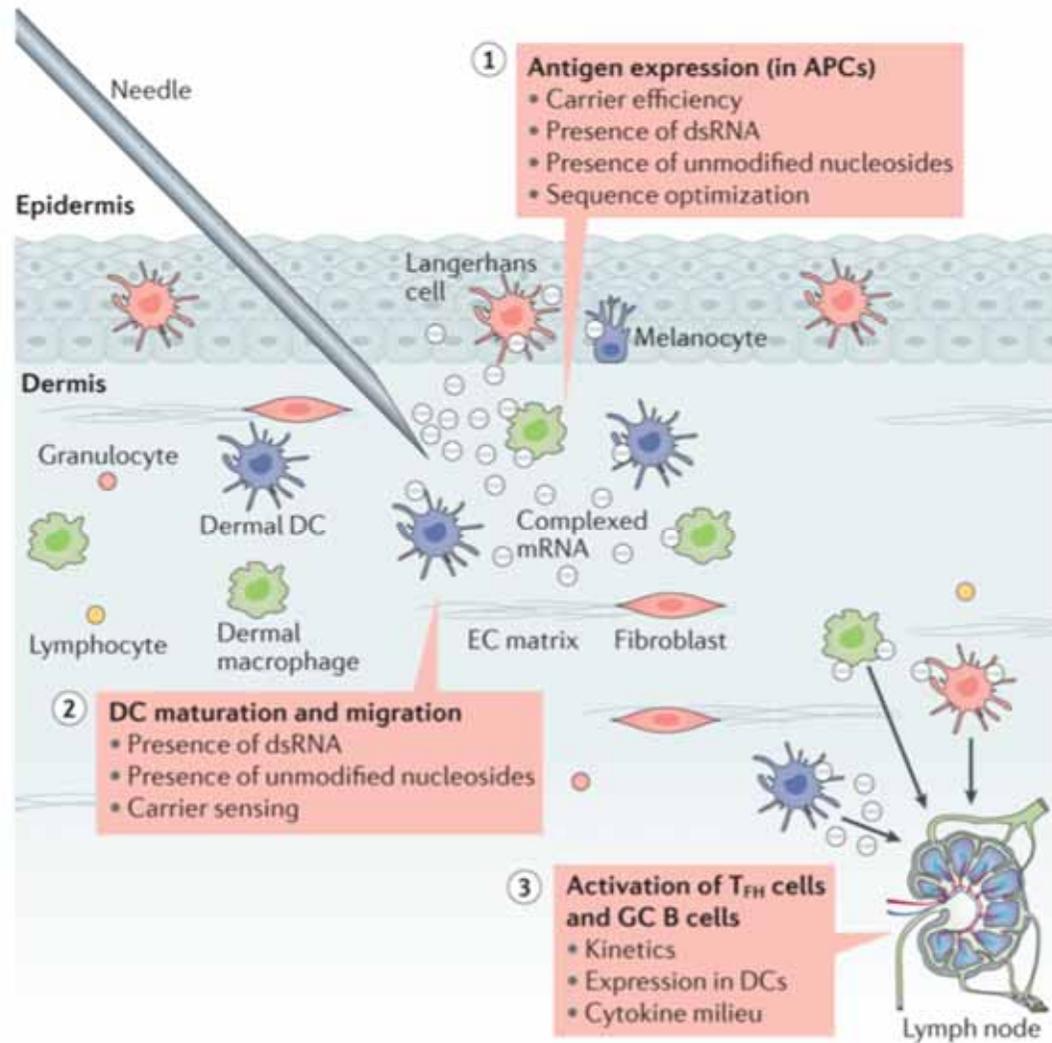
**INSTITUT PASTEUR
(vecteur rougeole)**



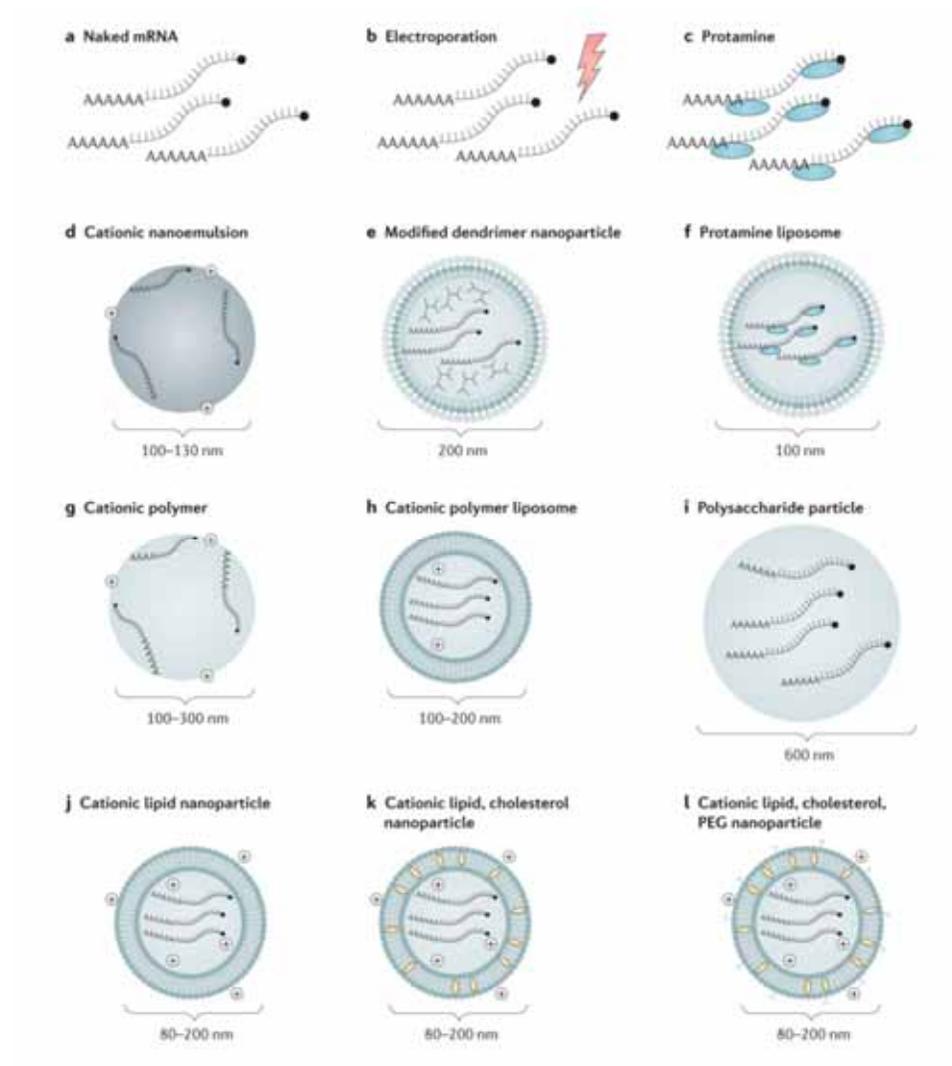
Les vaccins génétiques



Mode d'action des vaccins à ARN messager



Formulation des vaccins à ARN messager



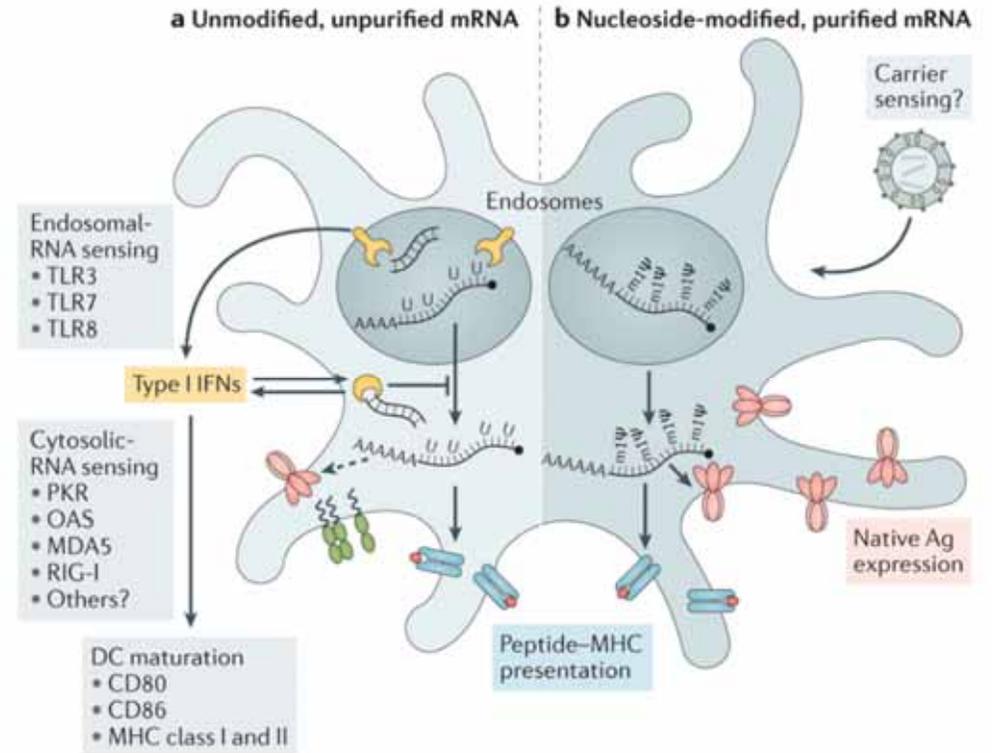
Améliorer l'efficacité des vaccins ARN

Box 1

Strategies for optimizing mRNA pharmacology

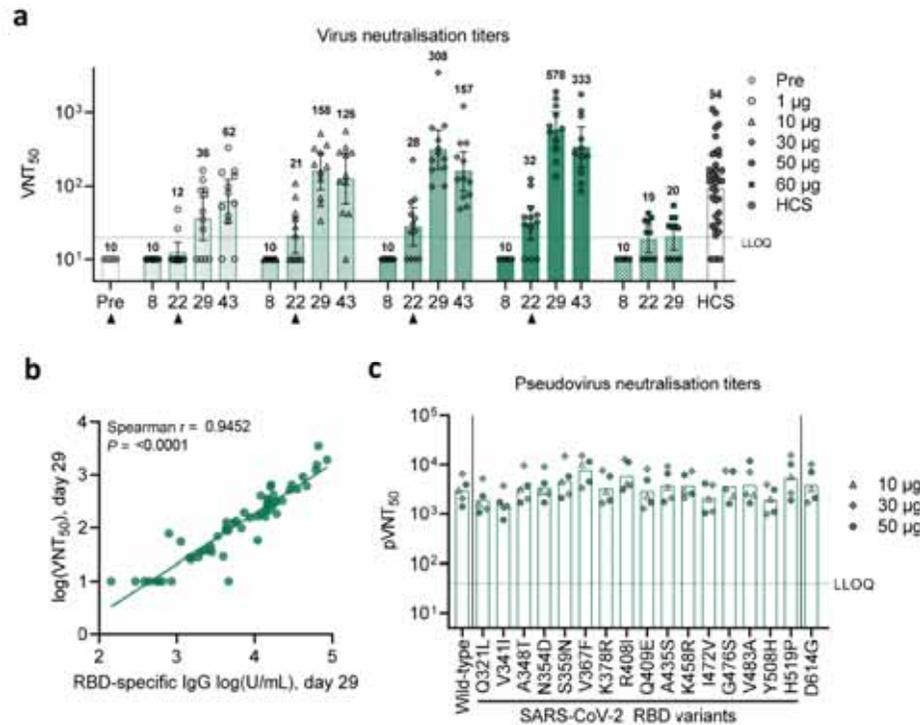
A number of technologies are currently used to improve the pharmacological aspects of mRNA. The various mRNA modifications used and their impact are summarized below.

- Synthetic cap analogues and capping enzymes^{26,27} stabilize mRNA and increase protein translation via binding to eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E)
- Regulatory elements in the 5'-untranslated region (UTR) and the 3'-UTR²³ stabilize mRNA and increase protein translation
- Poly(A) tail²⁵ stabilizes mRNA and increases protein translation
- Modified nucleosides^{9,48} decrease innate immune activation and increase translation
- Separation and/or purification techniques: RNase III treatment (N.P. and D.W., unpublished observations) and fast protein liquid chromatography (FPLC) purification¹³ decrease immune activation and increase translation
- Sequence and/or codon optimization²⁹ increase translation
- Modulation of target cells: co-delivery of translation initiation factors and other methods alters translation and immunogenicity

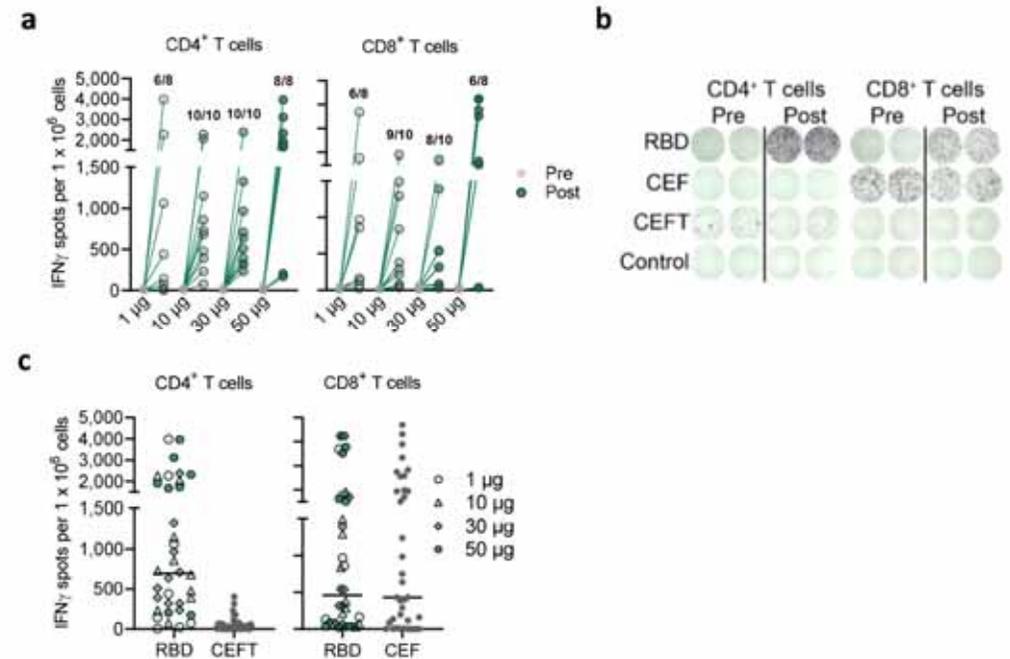


Résultats de l'essai clinique de phase I/II du vaccin ARN Biontech / Pfizer

Réponse anticorps



Réponse cellulaire

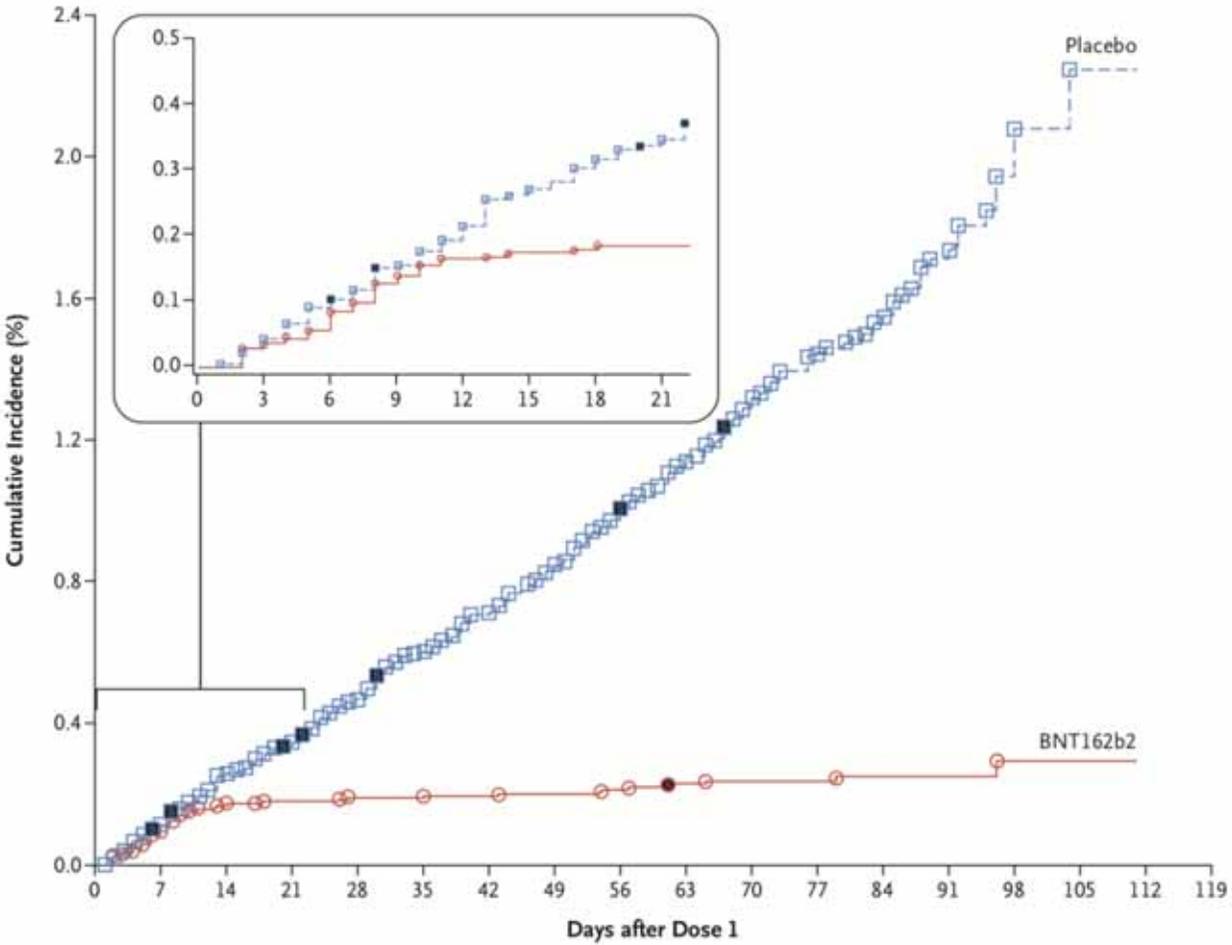


Résultats de l'essai clinique d'efficacité de phase III du vaccin ARN Biontech / Pfizer

Table 2. Vaccine Efficacy against Covid-19 at Least 7 days after the Second Dose.*

Efficacy End Point	BNT162b2		Placebo		Vaccine Efficacy, % (95% Credible Interval)‡	Posterior Probability (Vaccine Efficacy >30%)§
	No. of Cases	Surveillance Time (n)†	No. of Cases	Surveillance Time (n)†		
		(N=18,198)		(N=18,325)		
Covid-19 occurrence at least 7 days after the second dose in participants without evidence of infection	8	2.214 (1,7411)	162	2.222 (17,511)	95.0 (90.3–97.6)	>0.9999
		(N=19,965)		(N=20,172)		
Covid-19 occurrence at least 7 days after the second dose in participants with and those without evidence of infection	9	2.332 (18,559)	169	2.345 (18,708)	94.6 (89.9–97.3)	>0.9999

Résultats de l'essai clinique d'efficacité de phase III du vaccin ARN Biontech / Pfizer



Les vecteurs viraux de vaccination

- Virus à ADN ou ARN non pathogènes
 - Enveloppés ou non-enveloppés
 - Réplicatifs or non-réplicatifs
 - Virus vivants atténués
 - Virus d'autres espèces non pathogènes
 - Délivrent des antigènes hétérologues aux cellules présentatrices d'antigènes de l'hôte
 - Induisent des réponses immunes à large spectre (innée, Ab, CD4, CD8)
 - Ont des propriétés adjuvantes intrinsèques
 - Faciles à construire grâce à la génomique virale, la génétique inverse et la culture cellulaire
 - Basés sur des virus dont les propriétés de sûreté et d'efficacité sont connues
- Seulement deux vaccins de ce type avaient été licenciés auparavant, basés sur le vaccin YFV17D :
 - Sanofi Dengvaxia, vaccin ChimeriVax contre la dengue
 - Sanofi IMOJEV, vaccin contre l'encéphalite Japonaise
 - Les essais d'efficacité précédents avec d'autres vecteurs avaient été décevants :
 - Essai STEP HIV de Merck avec vecteur Ad5
 - Sanofi ALVAC-HIV 31% efficacité en prime boost hétérologue non reproduit en Afrique

Les vecteurs viraux de vaccination

Virus à ADN

- Poxvirus: Vaccinia, MVA, ALVAC, NYVAC
- Adenovirus (Ad5, Ad26, Ad35, ChAd)
- Adeno-Associated Virus (AAV)
- Herpes virus 1 and 2, VZV, CMV
- HBs particles

Virus à ARN

- Alphavirus: Venezuelan Equine Encephalitis Virus replicons, Sindbis Virus, Semliki Forest Virus
- Picornavirus: Poliovirus, Mengovirus, Rhinovirus
- Flavivirus: Yellow Fever Virus, Dengue 4
- Negative RNA virus: Measles, VSV, Influenza, Rabies
- Retro-lenti-viruses: HIV lentivector

Les vecteurs viraux de vaccination

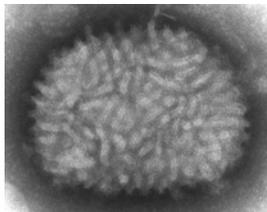
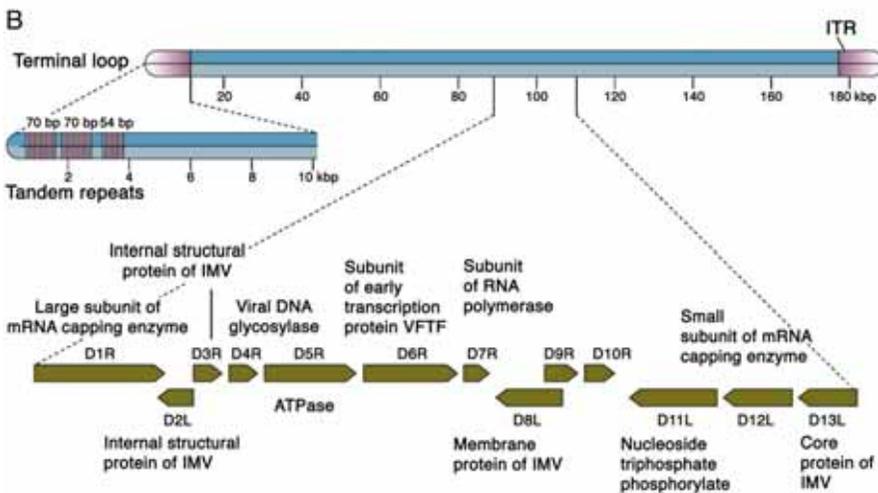
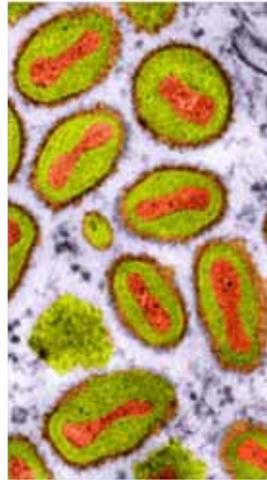
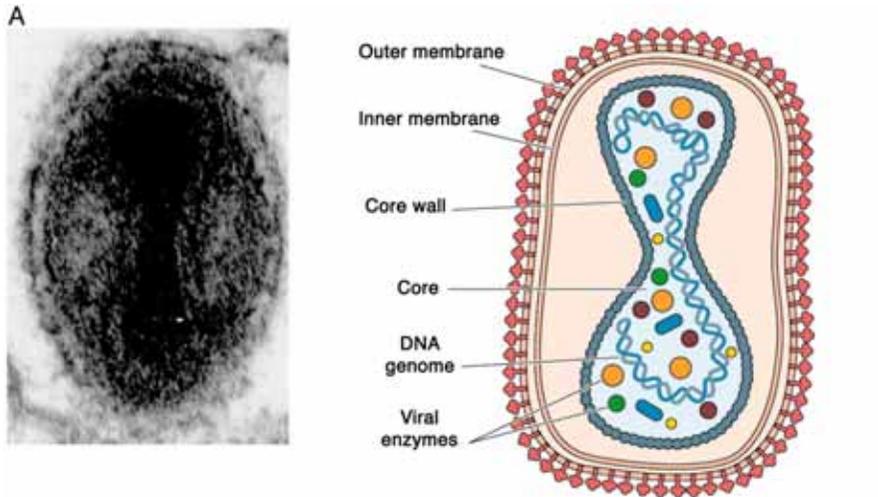
Virus à ADN

- Poxvirus: Vaccinia, **MVA**, ALVAC, NYVAC
- Adenovirus (**Ad5**, **Ad26**, Ad35, **ChAd**)
- Adeno-Associated Virus (AAV)
- Herpes virus 1 and 2, VZV, CMV
- **HBs particles**

Virus à ARN

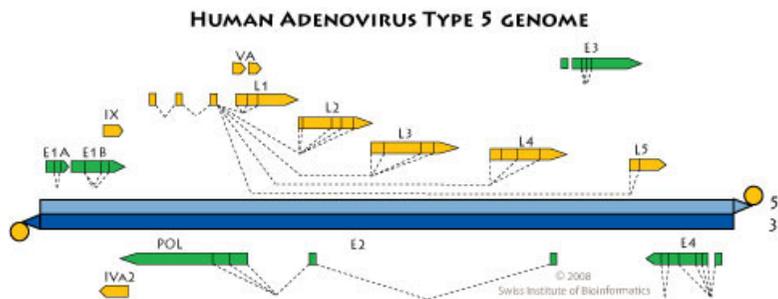
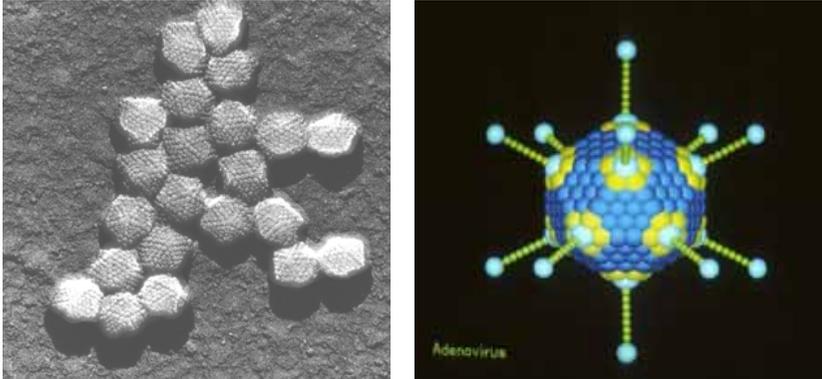
- Alphavirus: Venezuelan Equine Encephalitis Virus replicons, Sindbis Virus, Semliki Forest Virus
- Picornavirus: Poliovirus, Mengovirus, Rhinovirus
- Flavivirus: **Yellow Fever Virus**, **Dengue 2**
- Negative RNA virus: **Measles**, **VSV**, Influenza, Rabies
- Retro-lenti-viruses: **HIV lentivector**

Virus de la vaccine souche Ankara (vecteur MVA)



- Le virus modifié de la vaccine Ankara a été licencié comme vaccin de 3^e génération contre la variole
- Atténué par 570 passages sériés en culture de fibroblastes primaires de poulet (CEF)
- Ne réplique pas dans les cellules mammifères
- Grande capacité de « packaging »
- Pas de persistance chez l'hôte
- A été testé dans de nombreux essais cliniques (doses 5×10^7 à 2×10^8 pfu)
 - Malaria, HIV, Influenza, TB, SARS, MERS, H5N1, Ebola, WNV
- Induction d'anticorps et de réponses cellulaires T CD4 et CD8 modérées

Les adénovirus humains (HuAd)



- Petits virus à ADN (> 30 kb) non enveloppés à capside icosaédrique
- Une centaine de types (40 infectent l'homme), 52 sérotypes
- Large tropisme (récepteur CAR)
- Pharyngite, conjonctivite, pneumonie, gastro-entérite
- Infections répétées
- Vecteurs **non répliatifs** (délétion des gènes précoces)
 - 35% des adultes aux USA possèdent des Ac neutralisants contre **Ad5**, et plus de 90% en Côte d'Ivoire
 - 20% des adultes aux USA possèdent des Ac neutralisants contre **Ad26**, et plus de 90% en Afrique du Sud
- CAR n'est pas exprimé sur les cellules dendritiques et la stimulation des cellules T dépend des réactions croisées
- Forte stimulation des réponses T CD8
- Stimulation vigoureuse des réponses innées
- **Fortes doses nécessaires (10^{10} pfu) -> toxicité**
- Des centaines d'essais cliniques réalisés, peu d'essais d'efficacité
 - Malaria, HIV, Influenza, TB, Ebola, SARS-CoV-2

Les adénovirus de chimpanzé (ChAd)

Ont été développés pour échapper aux réponses Ac préexistantes

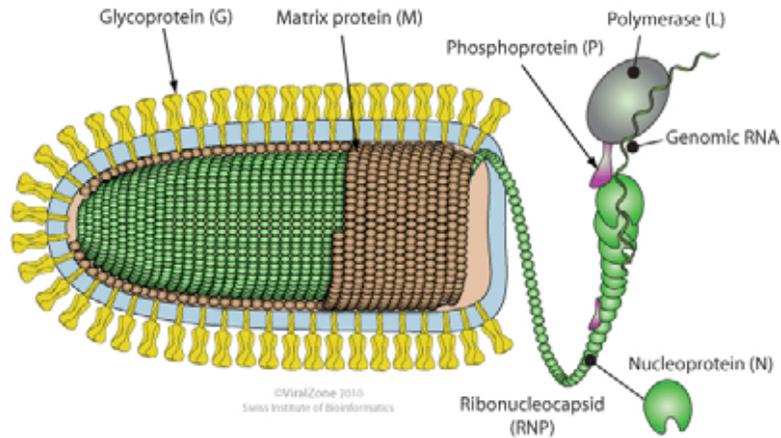
Summary of clinical trials of replication-deficient chimpanzee adenovirus-vectored vaccines							
Vector	Disease	Insert/antigen	Trial phase	Age group	Country	N ^a	
ChAd63		ME-TRAP	I and II	Adults, children, infants, neonates	UK, Kenya, The Gambia, Burkina Faso, Senegal	1005	[4,3,54]
	Malaria	CSP	I and II	Adults	UK, Ireland	96	[55,56]
		MSP-1	I and II	Adults	UK	65	[50,54]
		AMA-1	I and II	Adults	UK	60	[50,34,57]
		PvDBP	I	Adults	UK	24	NCT01816113
		RH5	I	Adults	UK	24	NCT02181088
	HIV	Pfs25	I	Adults	UK	24	NCT02532049
		HIVconsv (Gag, Pol, Vif, Env)	I	Adults	UK	116	[6,58]
							NCT02362217 NCT01712425 NCT02425241
ChAd3	HCV	NSmut (NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B)	I and II	Adults	UK, USA, Ireland, Switzerland	446	[7,58,59] NCT01436357 NCT02362217 NCT02568332
	Ebola	Glycoprotein (Ebola virus Zaire ± Sudan)	I, II and III	Adults and children	UK, Switzerland, USA, Senegal, Mali, Uganda, Liberia	4500 ^b	[19**,20,33,59–61] NCT02354404 NCT02344407
PanAd3	RSV	F, N, M2-1	I	Adults	UK	70	[9] NCT01805921
ChAOx1	Influenza	NP, M1	I	Adults	UK	87	[8]
	Tuberculosis	85A	I	Adults	UK	42	NCT01829490

For ongoing trials, 'N' refers to target enrolment numbers indicated on clinicaltrials.gov, accessed 29th February 2016.

^a For phase II studies, participants receiving placebo are not included in total.

^b Excluding the PREVAIL trial in Liberia, which aims to recruit 28 170 participants randomised to receive either ChAd3-EBO Z, VSVG-ZEBOV or placebo.

Virus de la stomatite vésiculaire (VSV)

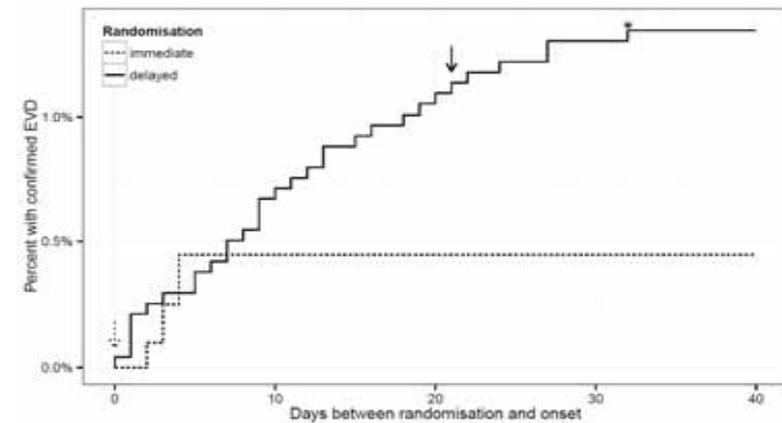


- Rhabdoviridae, mononegavirales
- Transmis par des phlébotomes
- Infecte le bétail, les chevaux, les porcs
- Zoonose chez l'homme

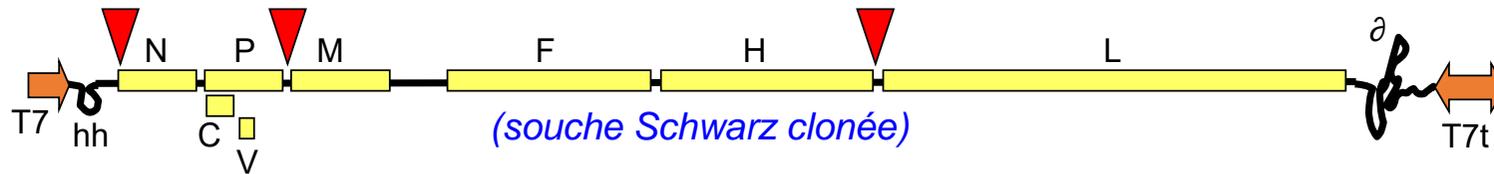
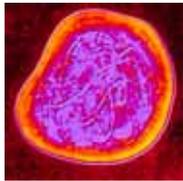


"Ebola ça suffit"

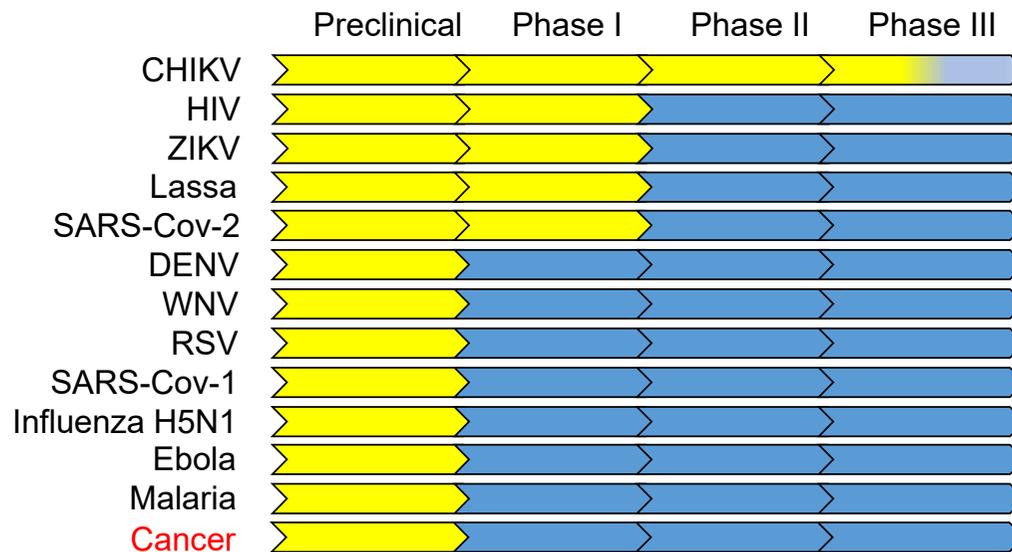
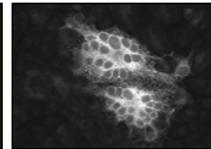
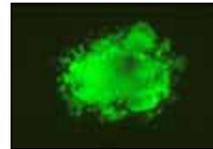
Essai d'efficacité du candidat vaccin rVSV-ZEBOV en Guinée, juillet 2015
(vaccination en ceinture)



La plateforme vaccinale vecteur rougeole à l'Institut Pasteur



- Clonage
- Génétique inverse
- Amplification
- Caractérisation



Cette plateforme vaccinale a démontré sa sûreté et son immunogénicité dans de nombreux essais précliniques et cliniques en présence d'immunité préexistante anti-rougeole.



La coalition pour l'innovation et la préparation aux épidémies (CEPI)

The image shows the top portion of the CEPI website. The background is a photograph of a person in a full-body protective suit, including a hood and a clear face shield, standing in a large, brightly lit room with many other people in the background. The person in the foreground is looking towards the camera. The website's navigation menu is at the top, and the main headline is on the left side of the dark blue overlay.

CEPI

About us Get involved Research & development

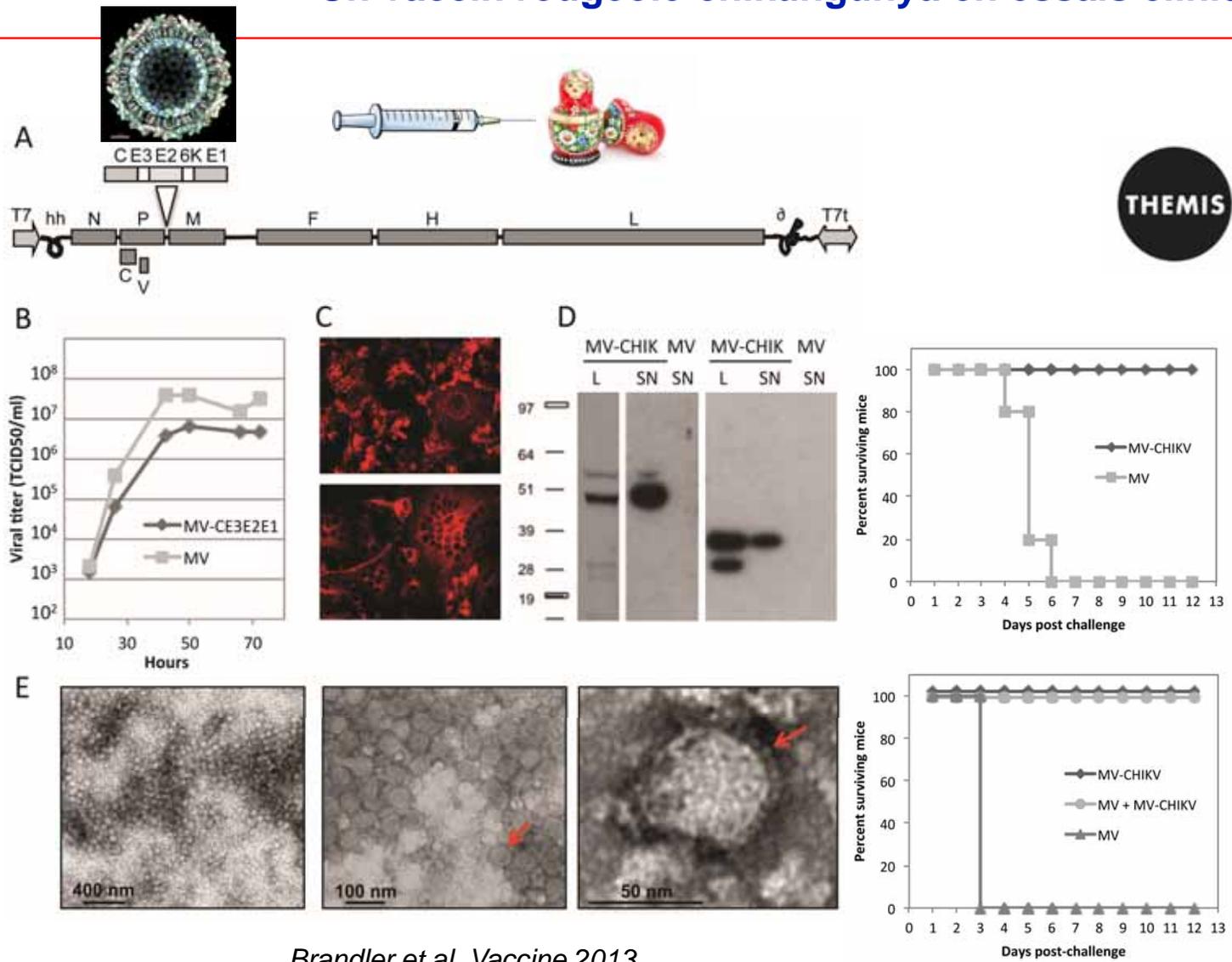
COVAX Marketplace News & stories Careers Contact

New vaccines for a safer world

The Coalition for Epidemic Preparedness Innovations (CEPI) is a global partnership launched in 2017 to develop vaccines to stop future epidemics.

[FIND OUT MORE](#)

Un vaccin rougeole-chikungunya en essais cliniques avancés



Essais cliniques de phase I et II

- ❑ MV-CHIK est sûr et bien toléré
- ❑ MV-CHIK induit des anticorps neutralisants contre Chikungunya après une seule dose (90%)
- ❑ Augmenter la dose améliore le taux de séroconversion et le titre
- ❑ Un rappel augmente le titre neutralisant Chikungunya dans tous les groupes (100%)
- ❑ L'immunité préexistante contre le vecteur n'interfère pas avec les réponses contre les antigènes du Chikungunya

Ramsauer et al, *Lancet Inf Dis*, 2015
 Reisinger et al, *Lancet* 2018

Brandler et al, *Vaccine* 2013

L'immunité préexistante rougeole ne réduit pas l'efficacité du vaccin

Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant measles-virus-based chikungunya vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, first-in-man trial

Katrin Ramsauer*, Michael Schwameis*, Christa Fibas, Matthias Mullner, Robert J Putnak, Stephen J Thomas, Philippe Després, Erich Tauber, Bernd Jilma, Frederic Tangy

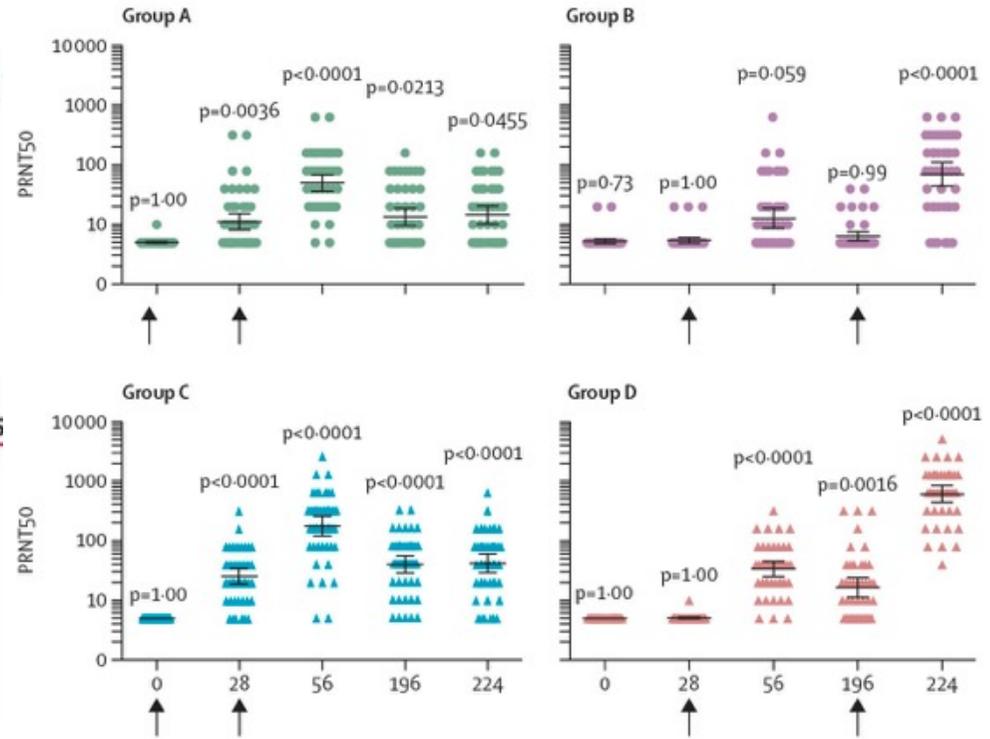
www.thelancet.com Published online November 5, 2018 [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32488-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32488-7)

Immunogenicity, safety, and tolerability of the measles-vectored chikungunya virus vaccine MV-CHIK: a double-blind, randomised, placebo-controlled and active-controlled phase 2 trial

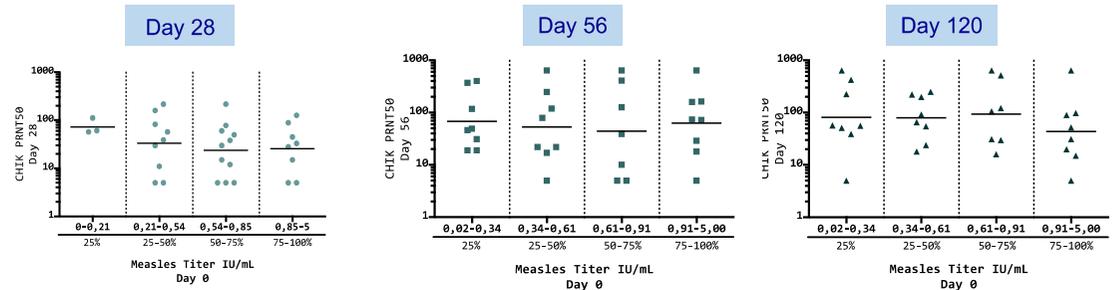
Emil C Avisingit, Roland Tschumann, Eckhard Reschke, Ursula Wiedemann, Christa Fibas, Micha Loebmann, Andrea Pfeiffer, Matthias Mueller, Erich Tauber, Katrin Ramsauer



Articles



100% seroconversion rate in all groups
No effect of pre-existing immunity



Une dose unique de vaccin rougeole-Lassa protège 100% des primates

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

EMERGING INFECTIONS

Vaccines inducing immunity to Lassa virus glycoprotein and nucleoprotein protect macaques after a single shot

Mathieu Mateo^{1,2}, Stéphanie Reynard^{1,2}, Xavier Carnec^{1,2}, Alexandra Journeaux^{1,2}, Nicolas Baillet^{1,2}, Justine Schaeffer^{1,2}, Caroline Picard^{1,2}, Catherine Legras-Lachuer³, Richard Allan³, Emeline Perthame⁴, Kenzo-Hugo Hillion⁴, Natalia Pietrosevoli⁴, Marie-Agnès Dillies⁴, Laura Barrot⁵, Audrey Vallve⁵, Stéphane Barron⁵, Lyne Fellmann⁶, Jean-Charles Gaillard⁷, Jean Armengaud⁷, Caroline Carbonnelle⁵, Hervé Raoul⁵, Frédéric Tangy⁸, Sylvain Baize^{1,2*}

Copyright © 2019
The Authors, some rights reserved;
exclusive licensee
American Association
for the Advancement
of Science. No claim
to original U.S.
Government Works

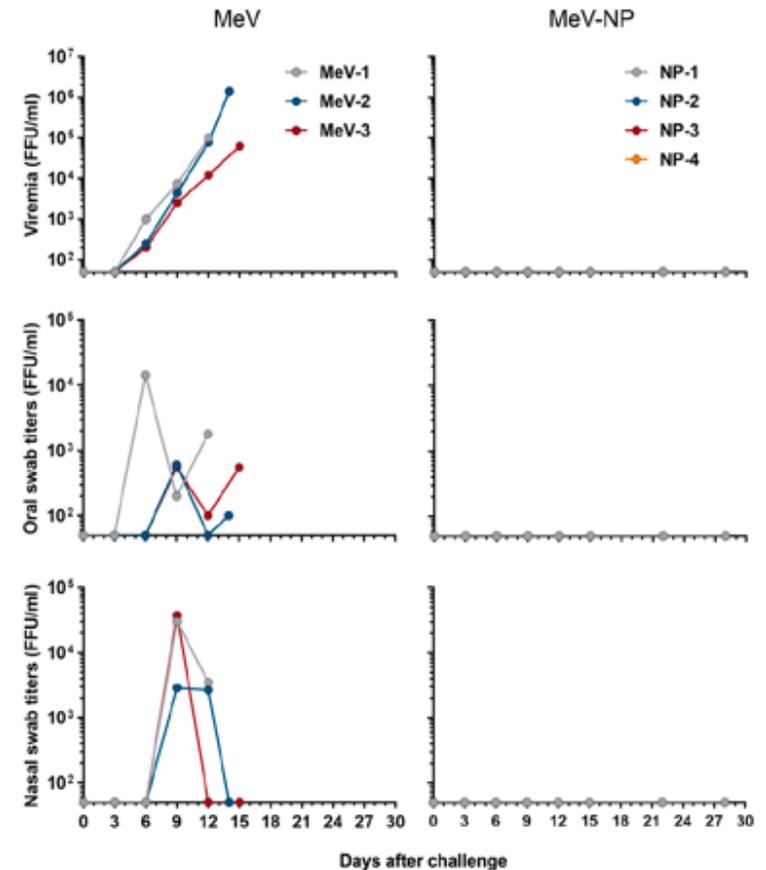
SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

EMERGING INFECTIONS

A single-shot Lassa vaccine induces long-term immunity and protects cynomolgus monkeys against heterologous strains

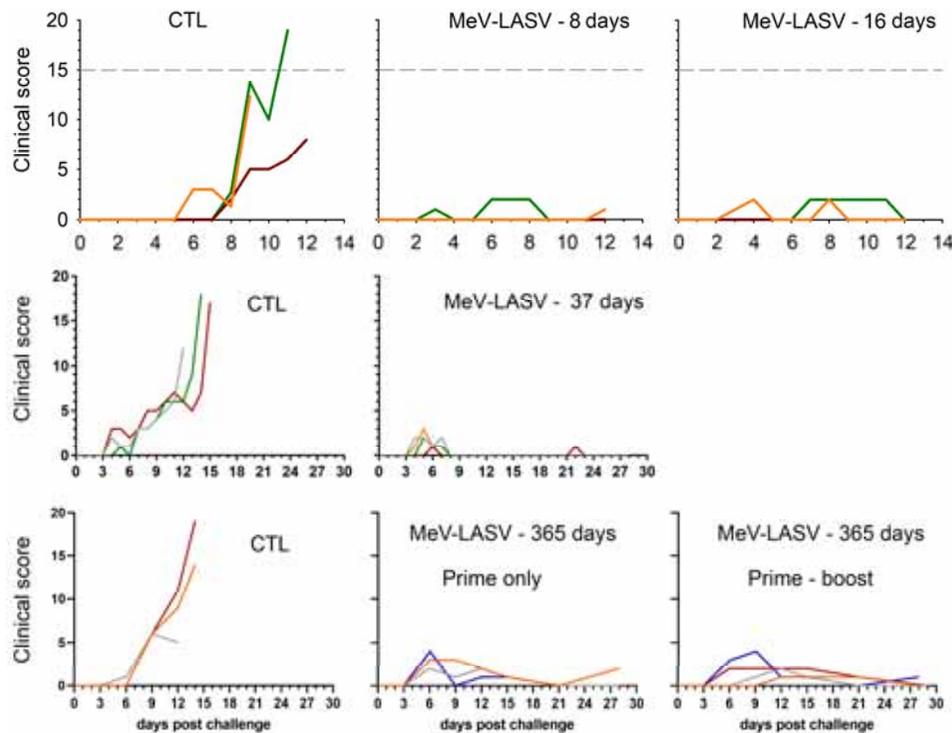
Mathieu Mateo^{1,2}, Stéphanie Reynard^{1,2}, Alexandra Journeaux^{1,2}, Clara Germain^{1,2}, Jimmy Hortion^{1,2}, Xavier Carnec^{1,2}, Caroline Picard^{1,2}, Nicolas Baillet^{1,2}, Virginie Borges-Cardoso^{1,2}, Othmann Merabet^{1,2}, Audrey Vallve³, Stéphane Barron³, Ophélie Jourjon³, Oriane Lacroix³, Aurélie Duthey³, Manon Dirheimer⁴, Gregory Jouvion^{5,6}, Pierre-Henri Moreau⁷, Lyne Fellmann⁷, Caroline Carbonnelle³, Hervé Raoul³, Frédéric Tangy⁸, Sylvain Baize^{1,2*}

Copyright © 2021
The Authors, some rights reserved;
exclusive licensee
American Association
for the Advancement
of Science. No claim
to original U.S.
Government Works



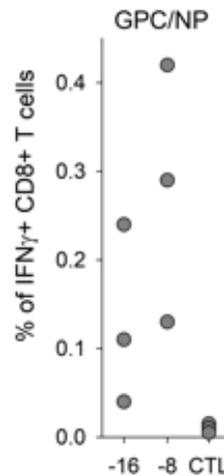
L'immunité préexistante rougeole ne réduit pas l'efficacité du vaccin

MV-LASV: 2×10^6 FFU, IM route / challenge LASV Josiah, 1,000 FFU at different times after immunization (**8, 16, 37 or 365 days**), disease uniformly lethal in controls



- NHP challenged at 8 and 16 days after immunization were **measles pre-immune** (prime-boost after birth)
- NHP challenged at 37 and 365 days after immunization were **measles naive**

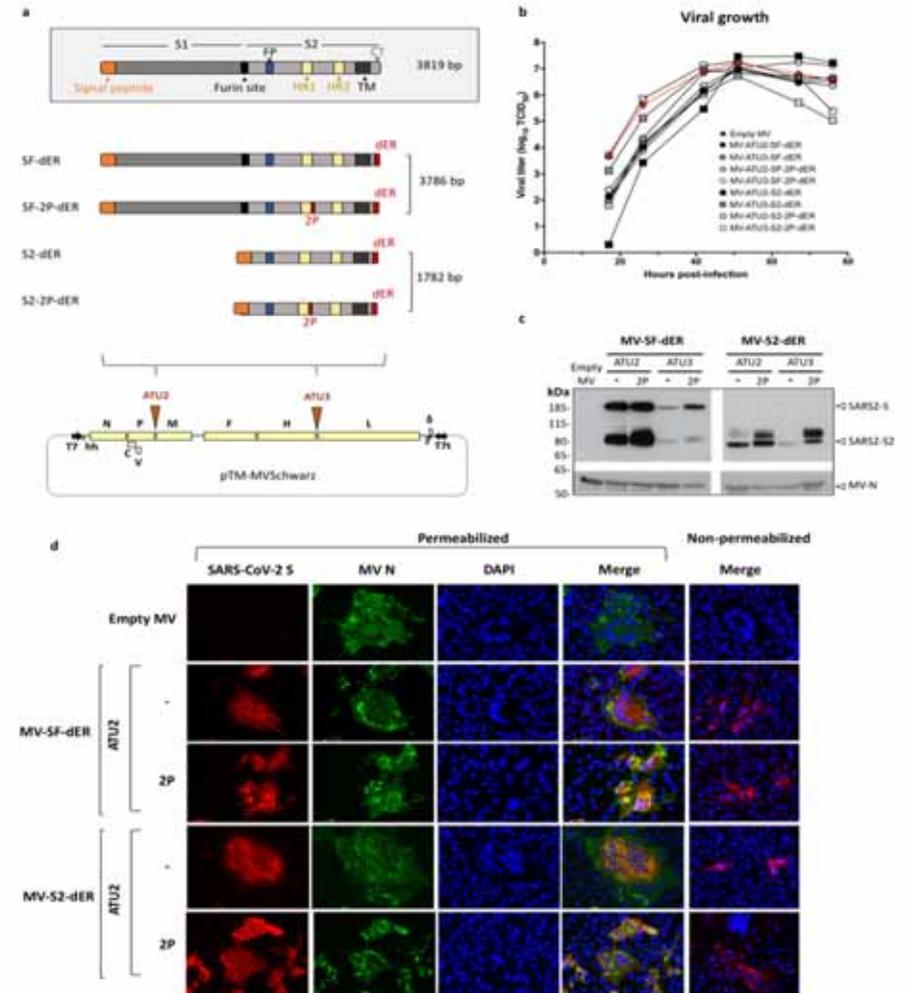
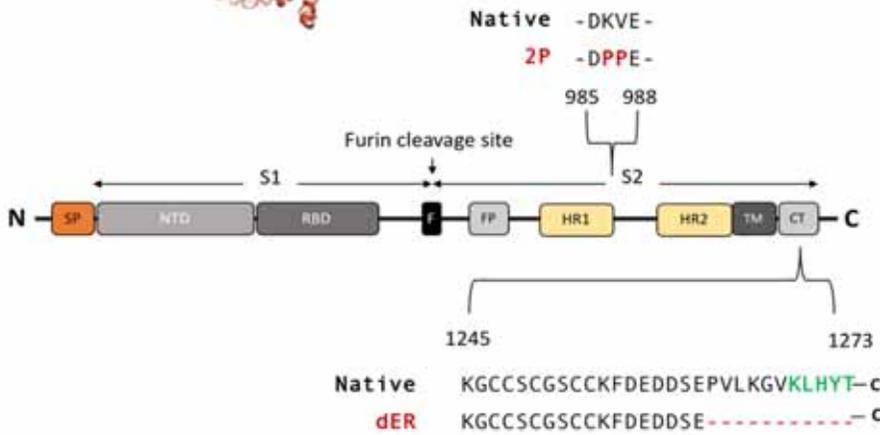
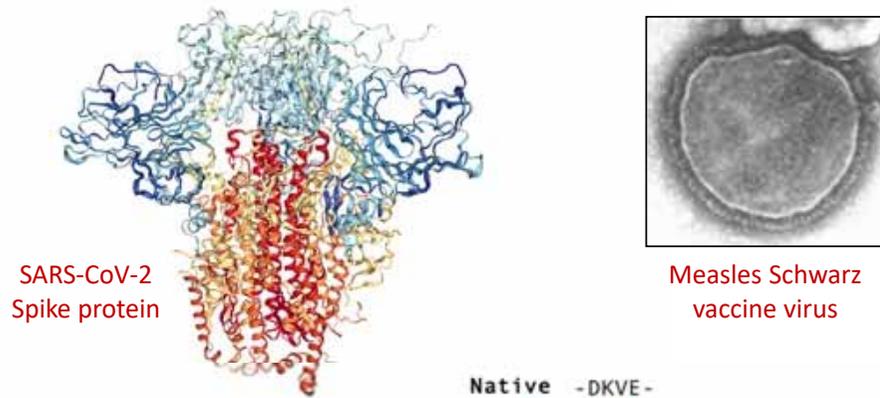
➔ A similar, even better, protection was observed 8 and 16 days after a single shot in **measles pre-immune animals** than in measles naïve NHP challenged one month or one year after



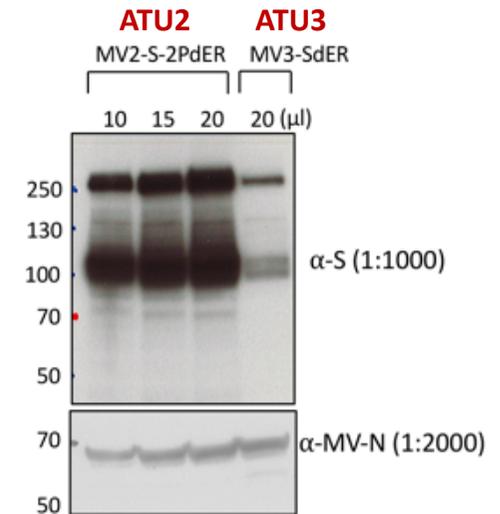
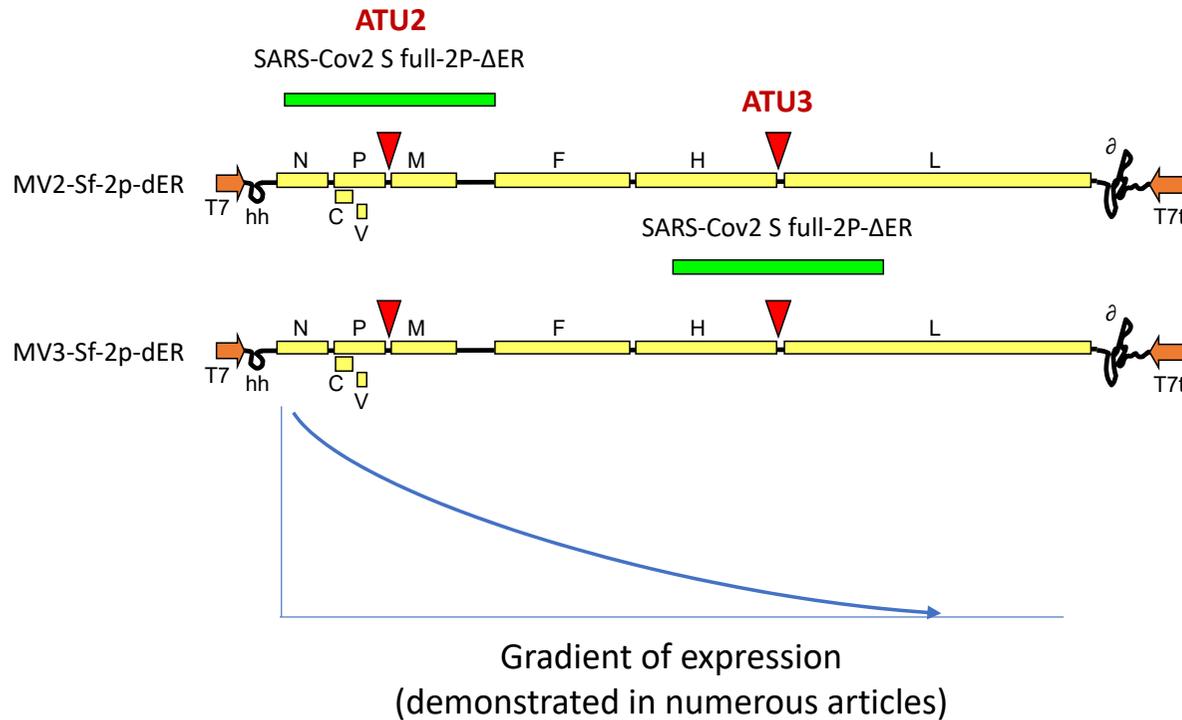
T-cell responses at day 9 after challenge are primarily CD8+ IFN γ + in measles pre-immune NHP and of similar intensity as for measles naive cynos (IgG not yet tested in pre-immune)

PHASE 1 trial – Prime-boost immunization
Pre-existing immunity in humans did not impede induction of a robust LASV-specific IgG responses as well as T-cells specific for LASV GPC and NP

Construction de candidats vaccins rougeole-SARS-CoV-2



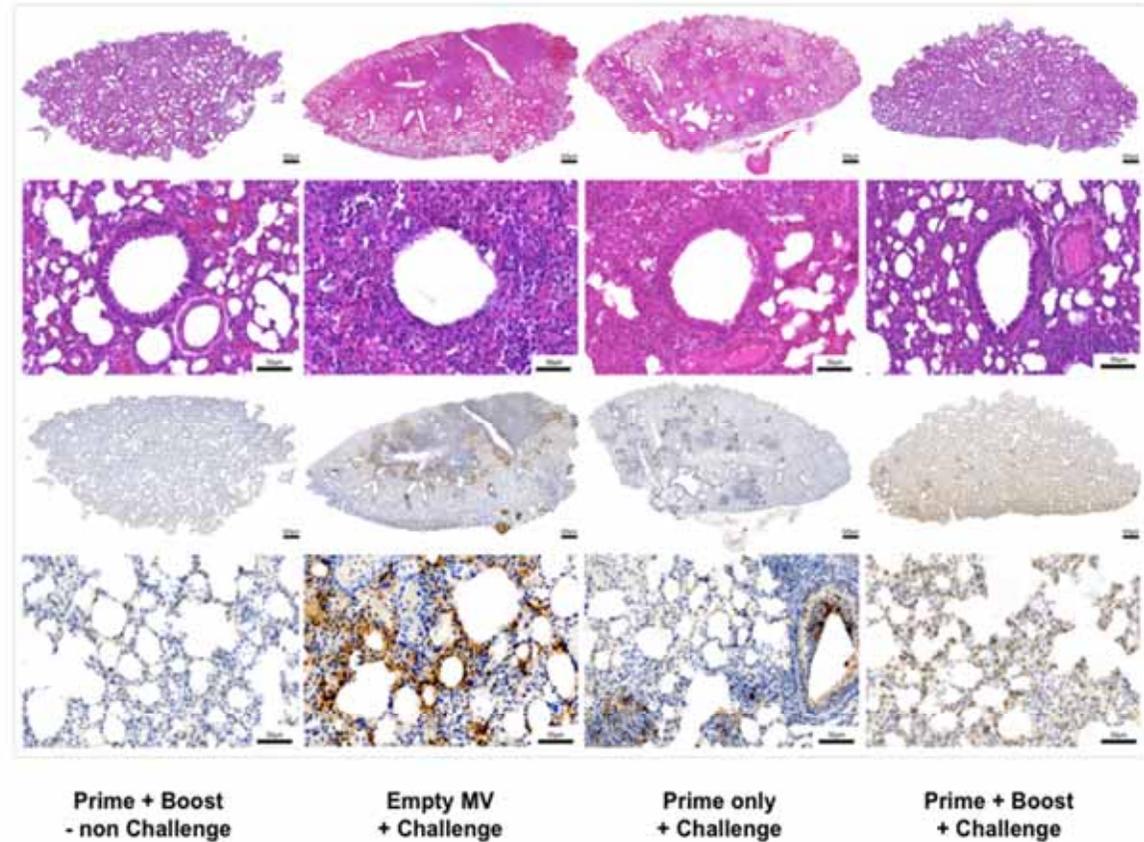
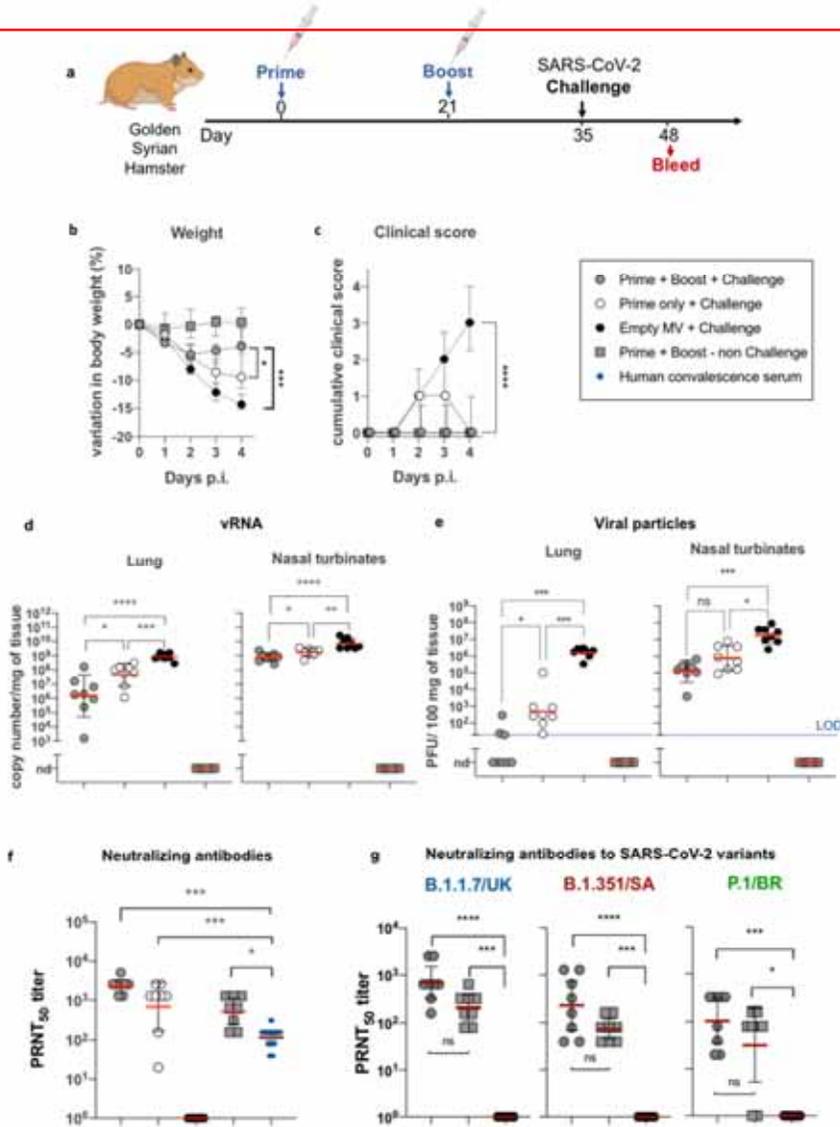
Différents promoteurs d'expression des antigènes par le vecteur rougeole



Easy rescue of complex constructs
thanks to 293-T7-NP helper cell line

- $S_{\text{SARS-Cov2}}$ is expressed much stronger from ATU2 than ATU3
- Vaccine candidate is very stable genetically after 10 passages in Vero cells, WB and NGS confirmed

Protection des hamsters dorés par MV-ATU2-SARS-Cov2



Frantz et al, Nature Comm, 2021

Développement d'un vaccin rougeole-SARS-CoV-2

Programme CEPI Institut Pasteur, Themis Biosciences, Pittsburg University

• Conception et construction du vaccin à l'Institut Pasteur avec le clone vaccinal rougeole Schwarz, basé sur l'expérience clinique du vecteur	Janvier 2020	Synthèse des gènes SARS-Cov-2
	Février	Clonage et génération des vecteurs
	Mars	
• Tests précliniques chez le rongeur à l'Institut Pasteur	Avril	Essais précliniques chez le rongeur
	Mai	Essais précliniques chez le primate
• Tests précliniques chez le primate à Pittsburgh University	Juin	
	Juillet	Préparation des semences
• Manufacture par Themis (ABL à Lyon)	Août	Manufacture du lot clinique GMP
• Essai de phase 1 (Institut Pasteur, CIC Cochin et SGS Anvers)	Septembre	
	Octobre	Essai clinique de phase I
• Programme acheté par MSD pour le développement clinique futur et la commercialisation	Novembre	
	Décembre	
	Janvier 2021	Résultats

Hypothèses de l'échec clinique du candidat testé et solutions possibles

- Expression insuffisante de l'antigène S dans le promoteur ATU3 vs ATU2 → • Utiliser ATU2
- Mutation delta furin site dans l'antigène S : pseudotypes possibles, S1 non clivée de S2 et blocage des récepteurs ACE2 sur les cellules cibles → • Eviter la mutation delta furin site dans l'antigène S
- Problème de manufacture (cellules Vero, 32°C vs 37°C, activité des protéases, dose, purification) → • Cultiver à 37°C, augmenter la dose
- Préimmunité trop forte dans la population âgée (ayant eu la rougeole) qui a bloqué la réplication du vecteur → • Cette plateforme est conçue pour protéger la population pédiatrique et jeune adulte de la transmission du virus (immunité mucoale du vaccin rougeole). Peu adaptée à la population âgée qui a déjà eu la rougeole

Conclusions

- La technologie ARNm a démontré sa faisabilité et son succès contre le SARS-CoV-2, en particulier à protéger du développement de la maladie
- Son développement a été réalisé en un temps record et avec des moyens financiers jamais égalés dans l'histoire
- L'immunité « stérilisante » est cependant difficile à atteindre avec ces vaccins
- La mémoire ne semble pas de très longue durée

- Les vecteurs viraux non-réplicatifs de type Adénovirus ont pu être développés et déployés rapidement
- Les vecteurs viraux réplicatifs (VSV, rougeole) ont échoué contre toute attente et pour diverses raisons, dont le manque de temps pour tester d'autres candidats améliorés
- Leur efficacité contre d'autres indications n'est pas remise en cause

Merci de votre attention