

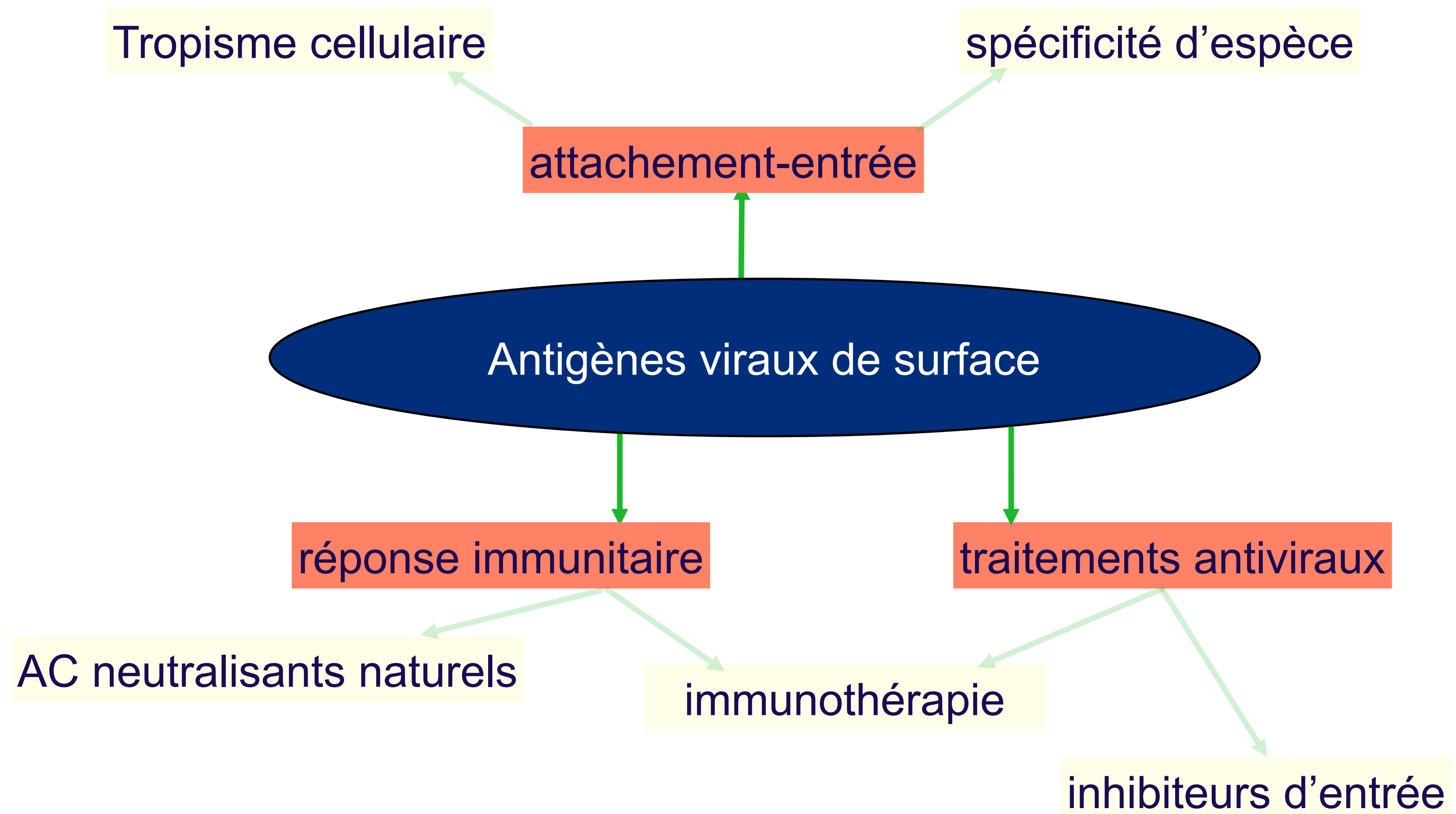
Interactions virus - cellules: Antigènes viraux, anticorps antiviraux

Dr Dorian McILROY
(mais diapos majoritairement par Dr Céline Bressollette-Bodin)

Virologie
UE Microbiologie-Pathologies
2023-2024

Plan du cours

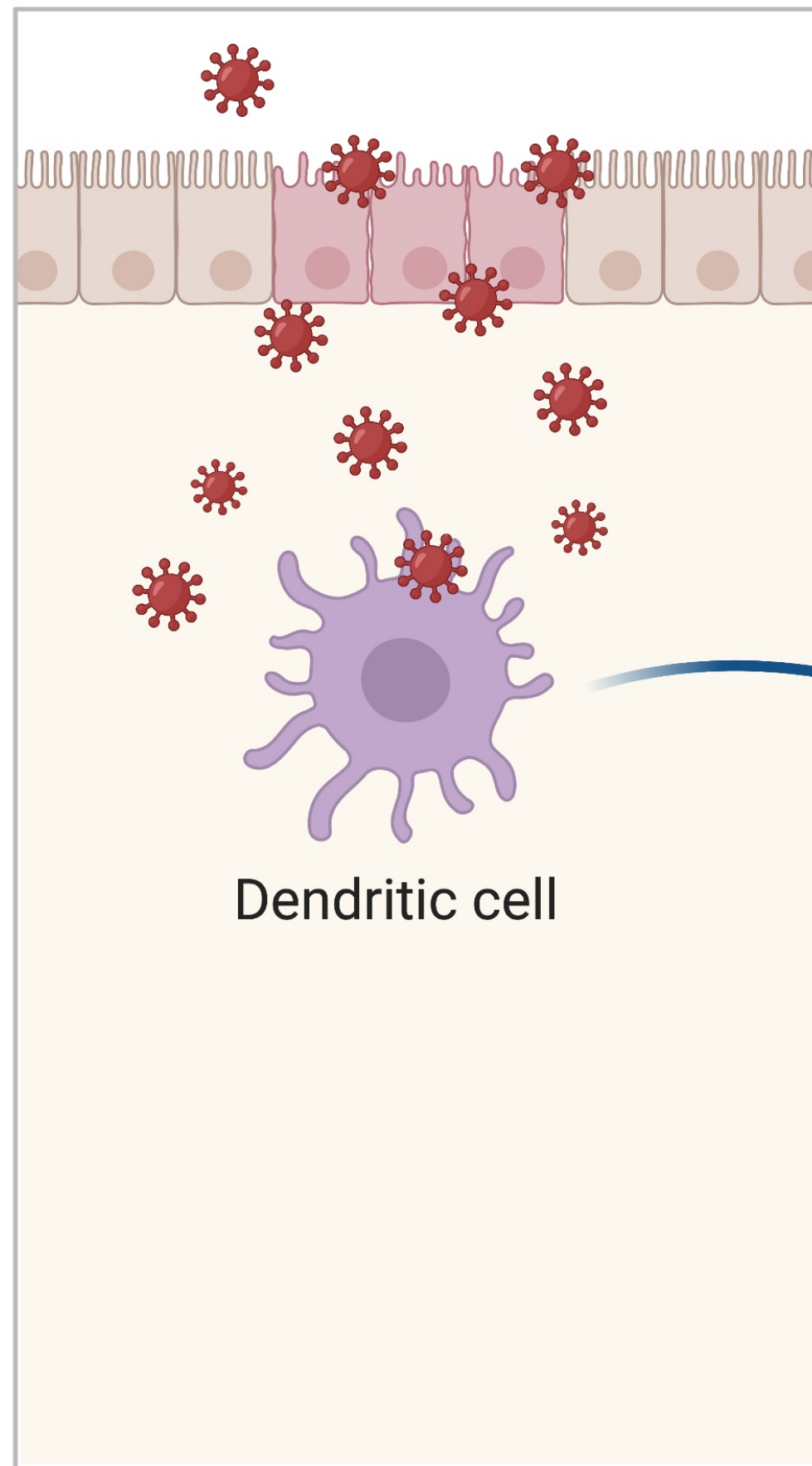
- Rappels: la réponse humorale dans les réponses antivirales
- Les antigènes viraux cibles des anticorps
- Les tests de séroneutralisation, à quoi ça sert?
- Les anticorps pour prévenir et traiter les infections virales
- Échappement viral à la neutralisation



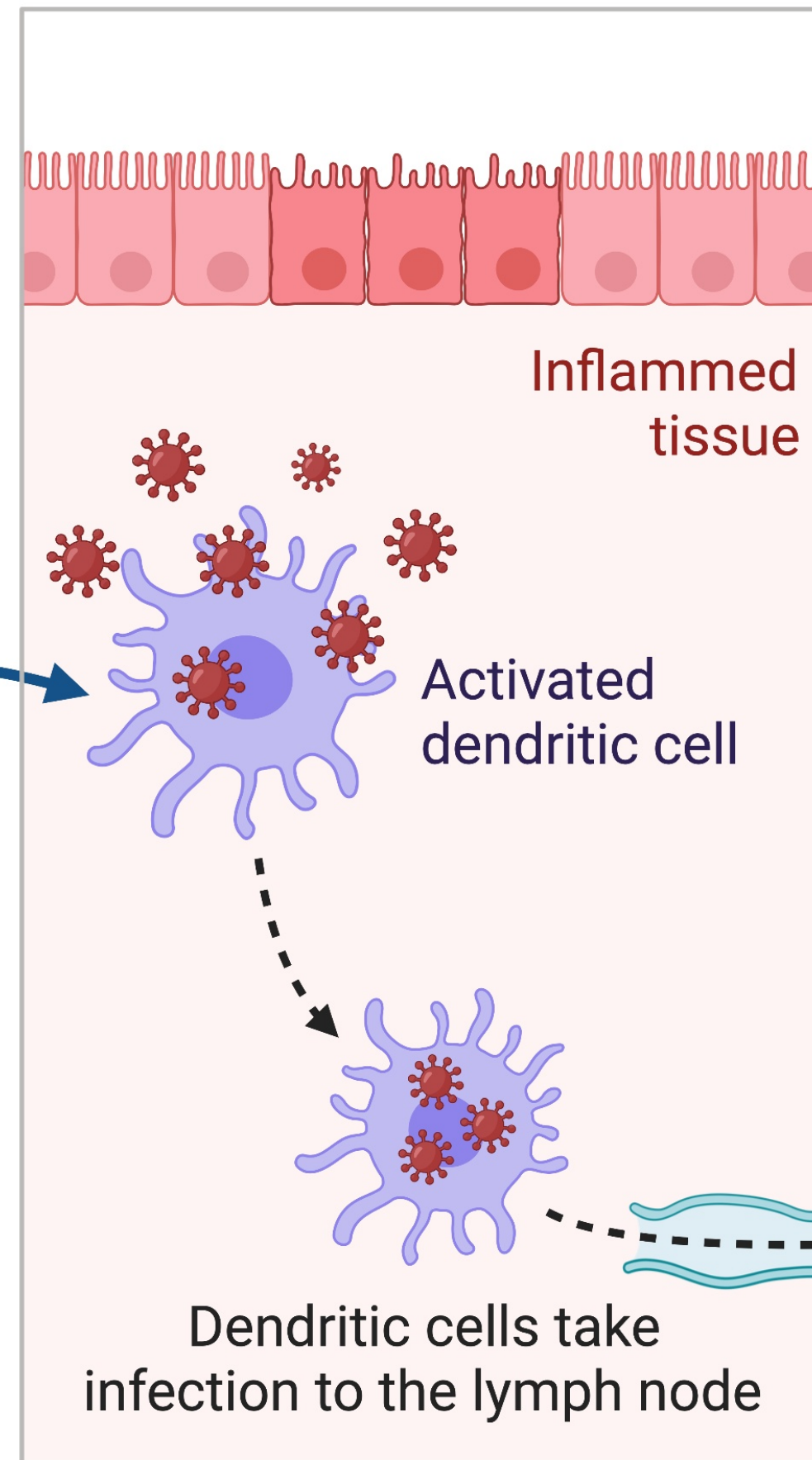
Immunité adaptative anti-virale

Adaptive Immunity

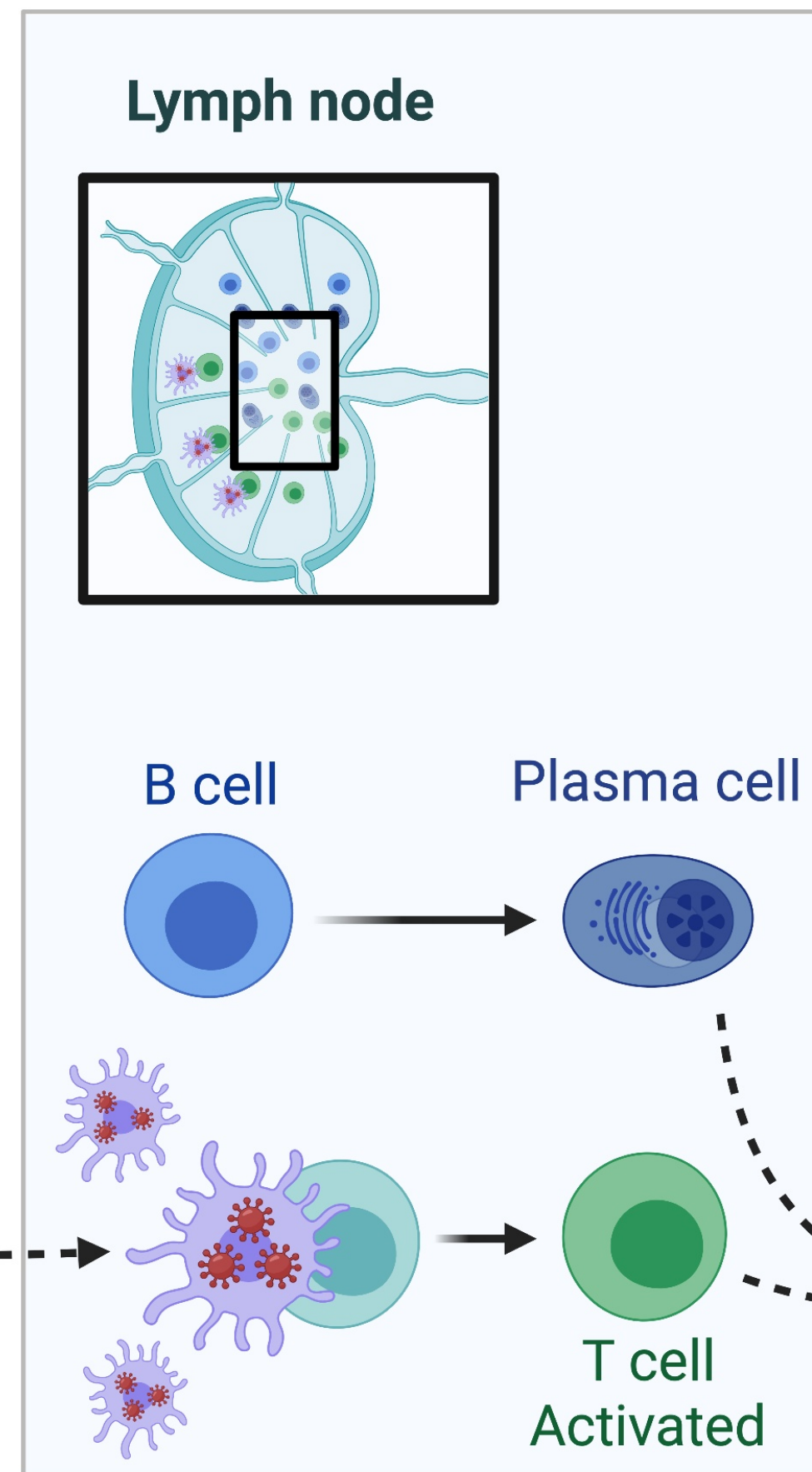
① Virus infects and replicates within the epithelium



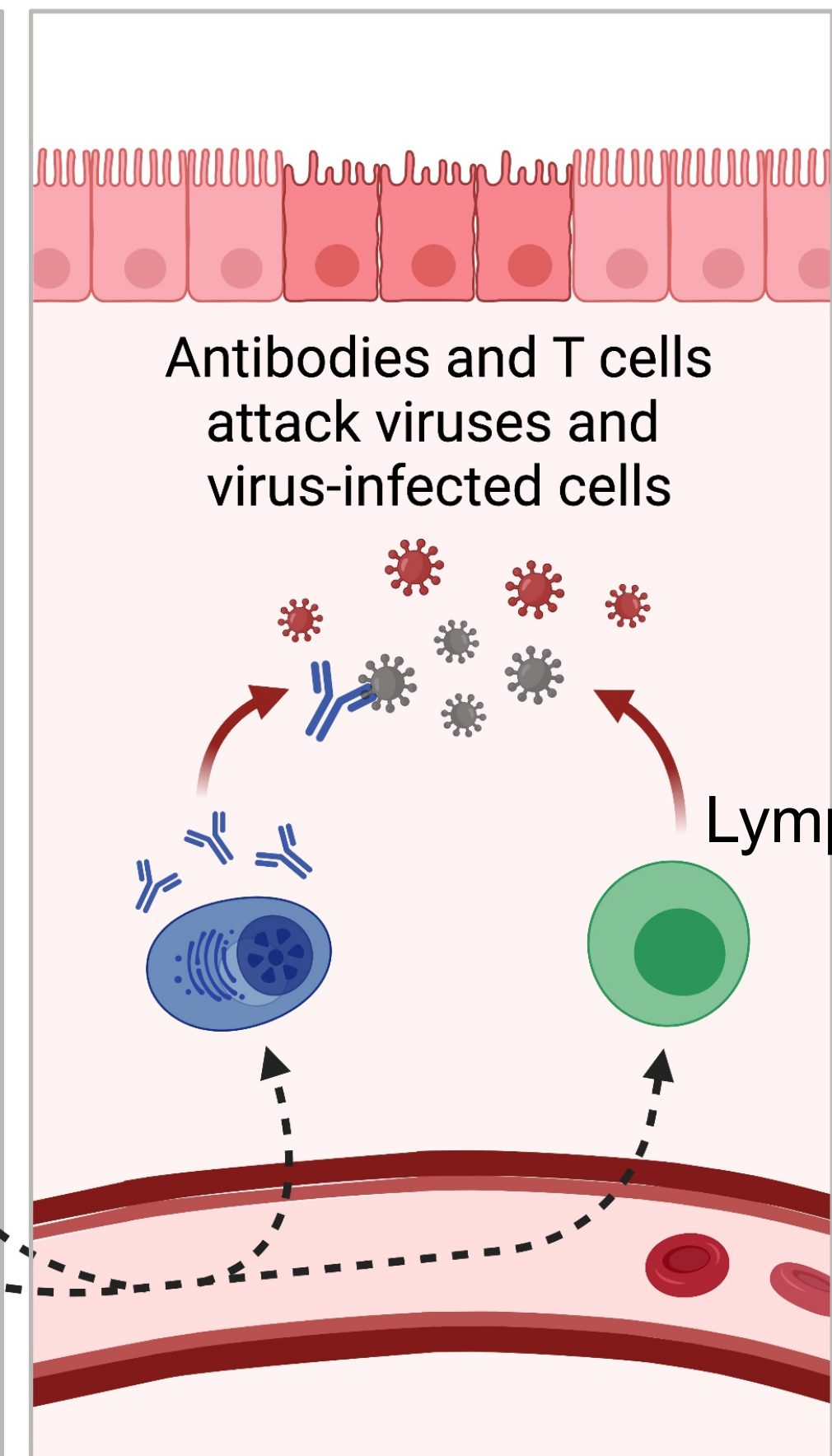
② Dendritic cell activation



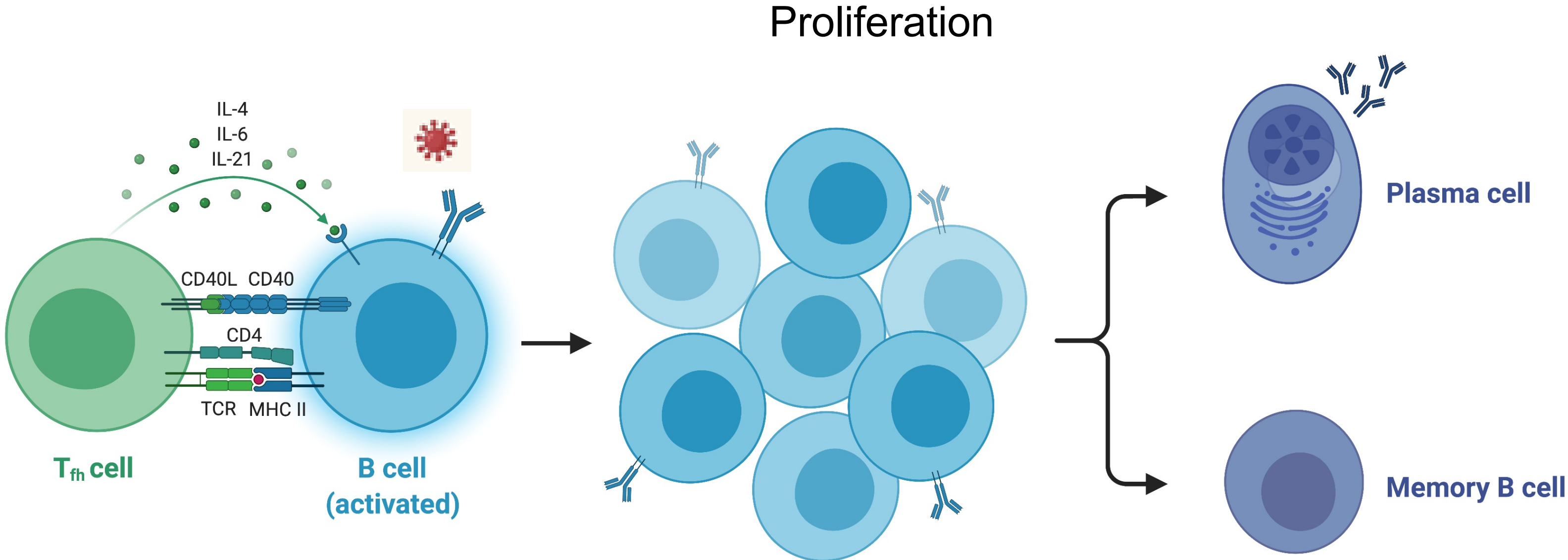
③ T and B cell priming in the lymph node



④ Adaptive immunity



Immunité adaptative anti-virale: rôle de la réponse humorale



*Mécanismes anti-viraux des Ac:
(action extra-cellulaire++):*

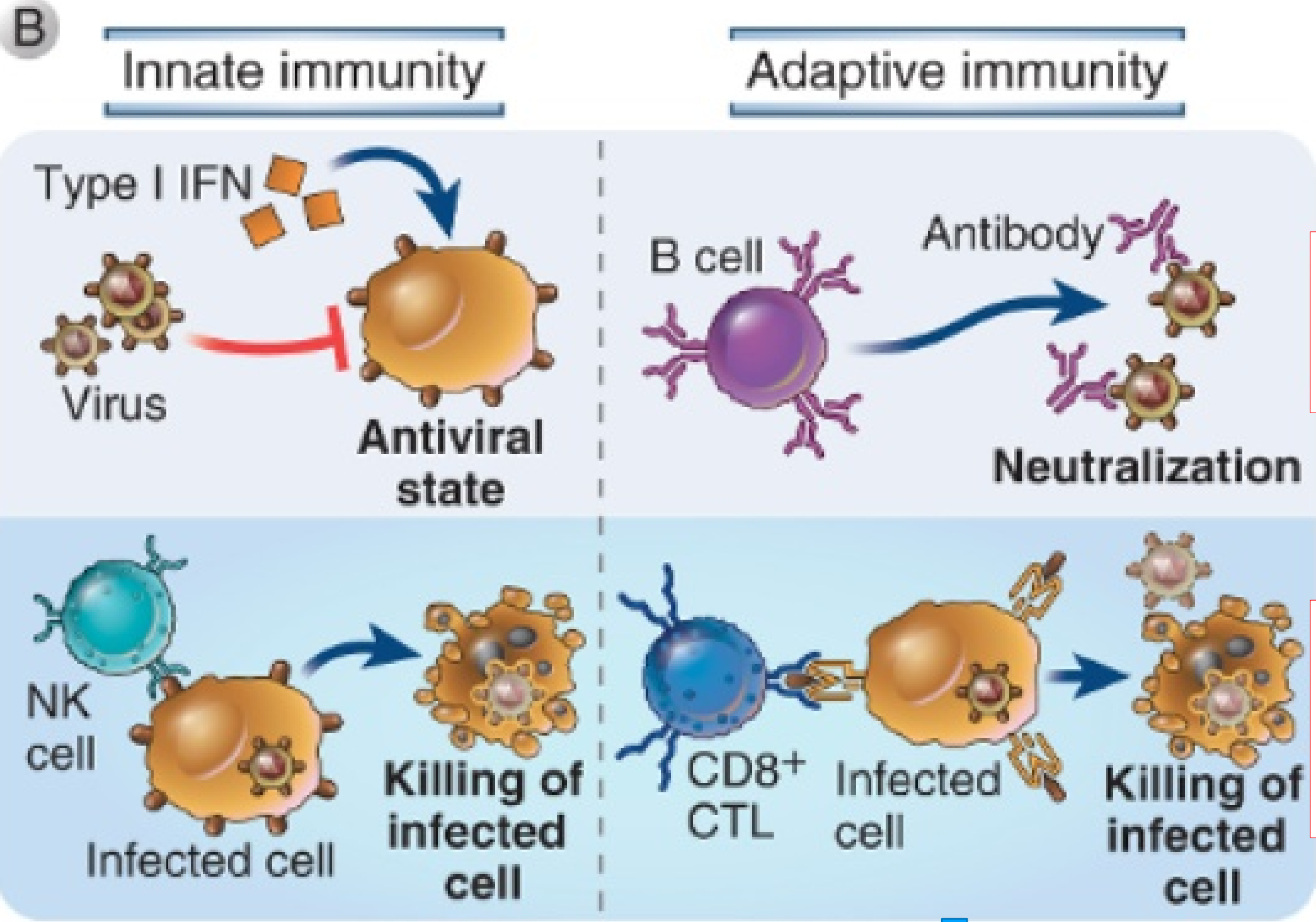
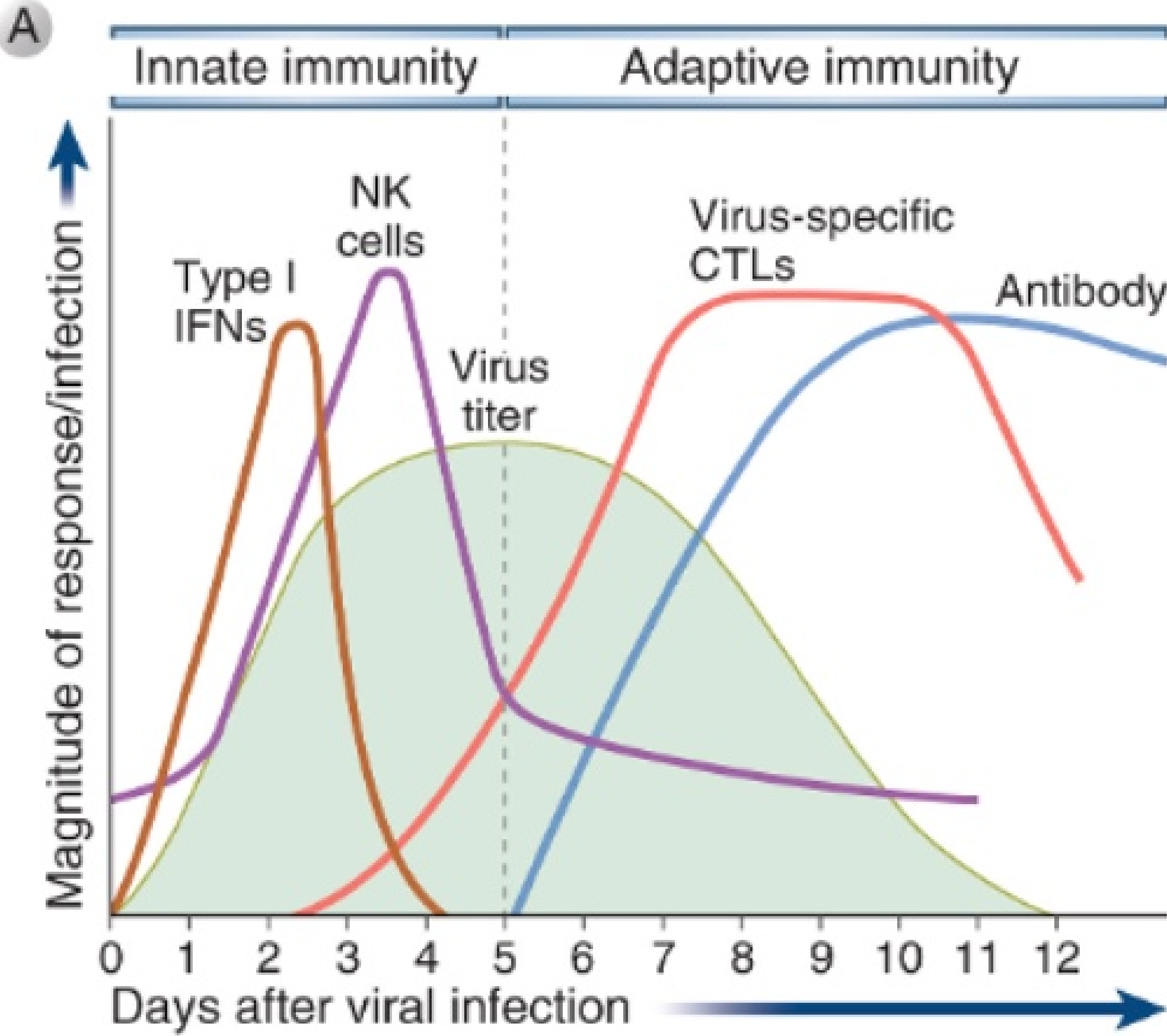
- **Neutralisation +++ (IgG, IgA muqueuses)**
- Opsonisation (IgG)

- Réponses humorales **thymo-dépendantes++** (coopération avec T CD4+)
- Permet la production d'Ac de haute affinité (centre germinatif)

Rôle des anticorps neutralisants:

- **Prévention de l'infection** (post-infection ou post vaccination)
 - Limite la dissémination virale

Dynamique des réponses innée et adaptative contre les virus

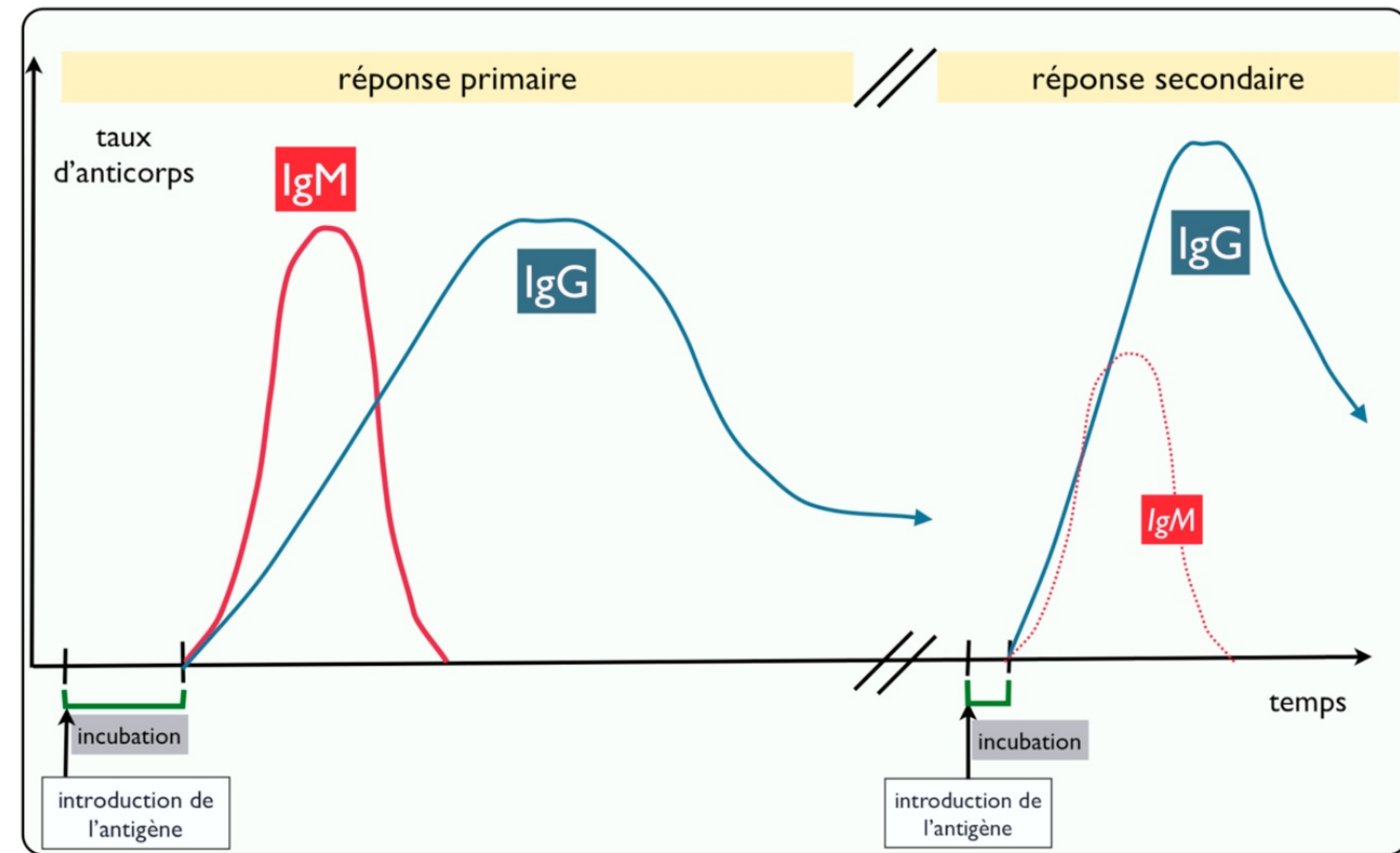
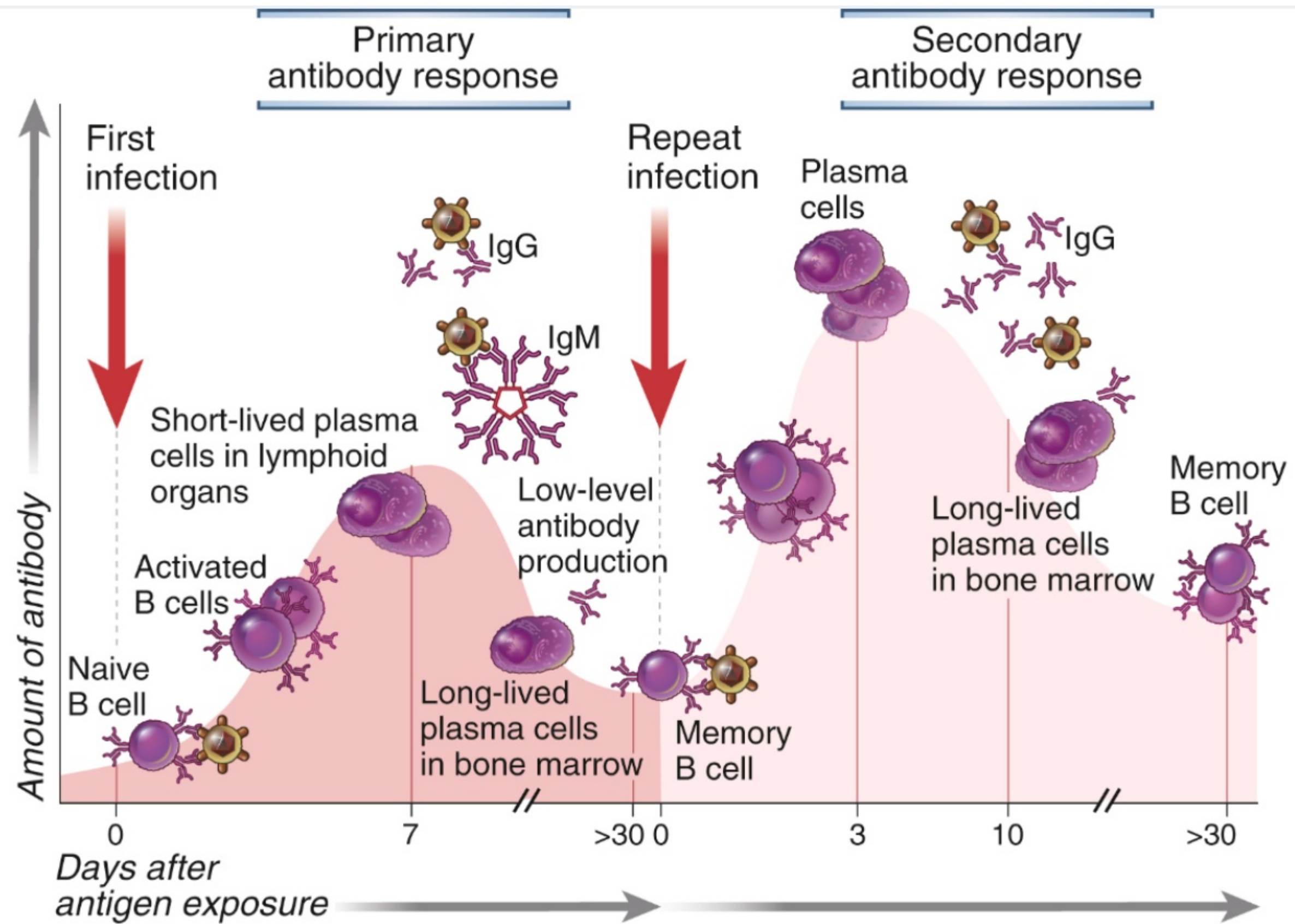


Protection contre des infections futures

Eradication de l'infection

Développement de lymphocytes **mémoires**
 > protection à long terme

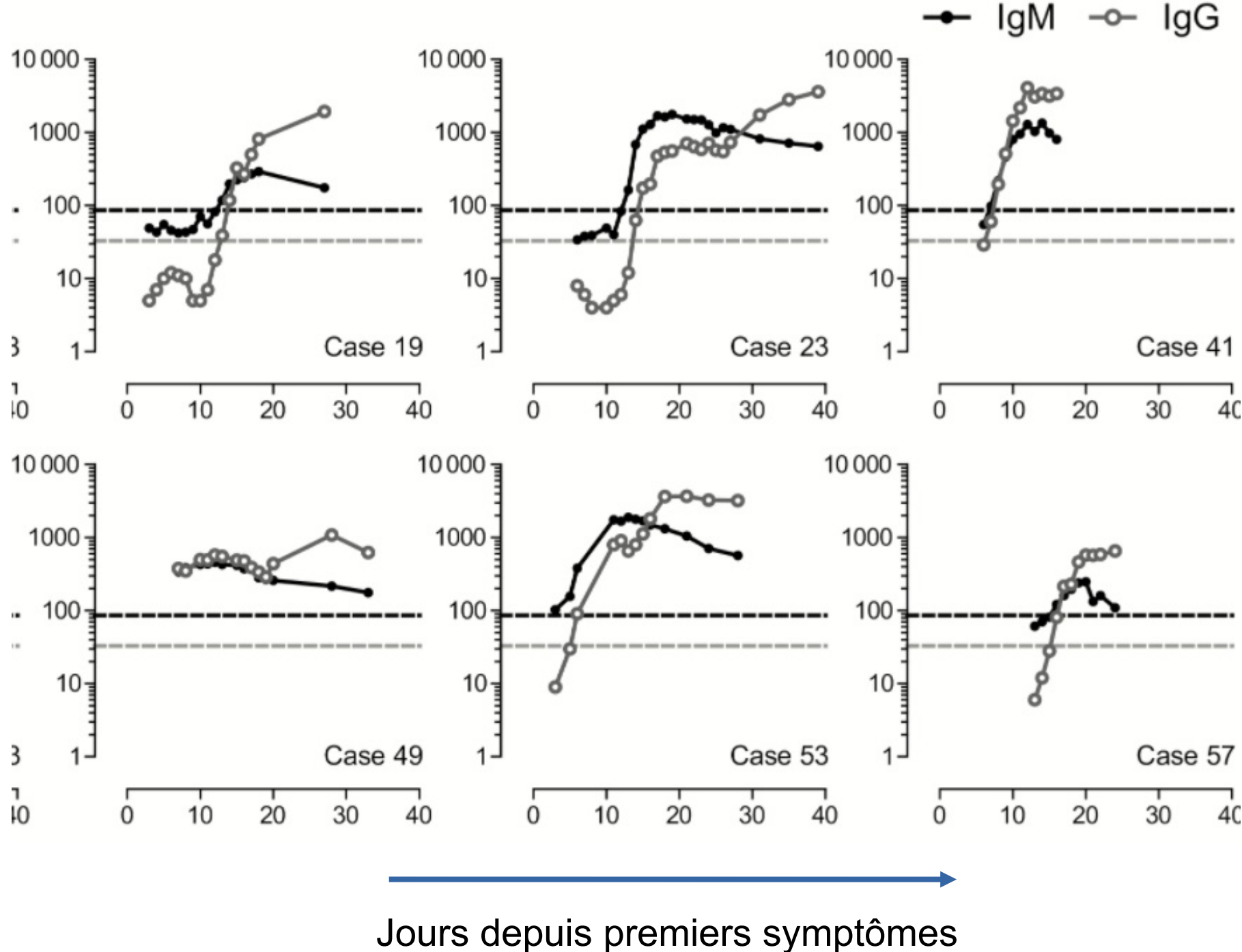
Immunité adaptative: réponses humorale primaire et secondaire (= mémoire)



Dosages sérologiques des IgM et IgG spécifiques: intérêt pour le diagnostic des primo-infections virales

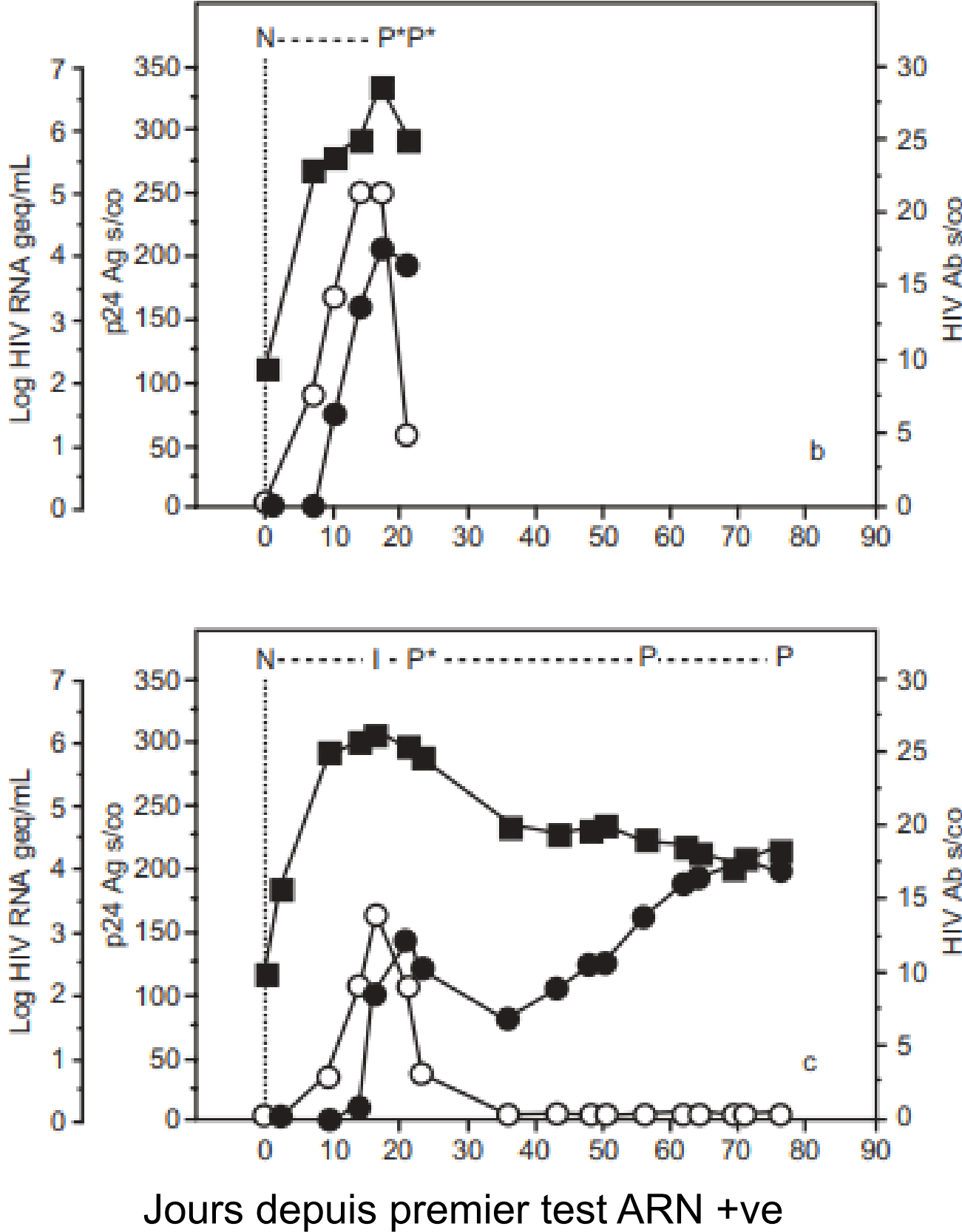
Dynamique de la réponse humorale antivirale - exemples

Etude de 94 infections **SARS-CoV2** aiguës
 ELISA anti-S IgG / IgM
[Lynch et al. CID 2020](#)



Séroconversion 1-2 semaines PSO
 IgM souvent détectable ~2-3 jours avant IgG
 A partir de 2-3 semaines PSO,
 IgM baissent, IgG persiste

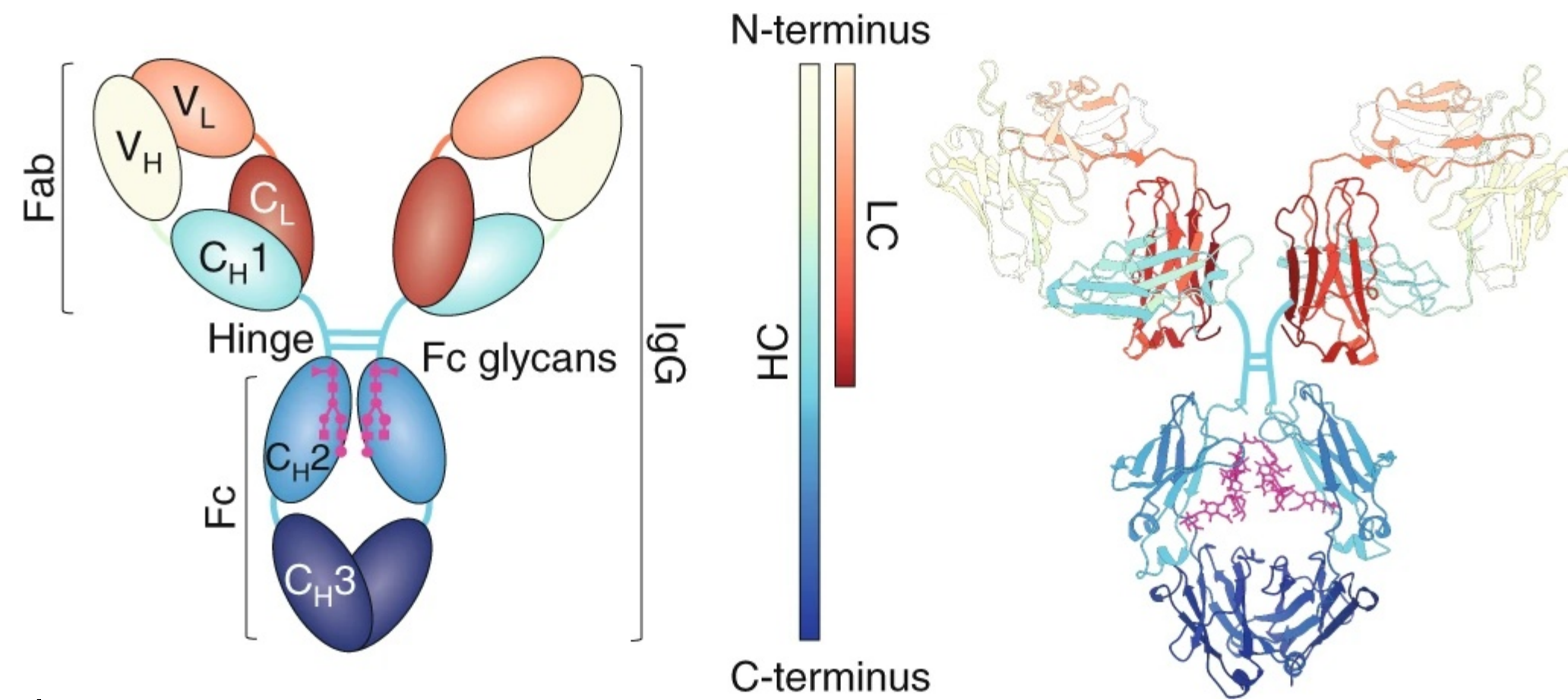
Etude de 44 primo-infections **VIH-1**
 ELISA anti-VIH IgG / IgM
[Fiebig et al. AIDS 2003](#)



- - Charge virale ARN
- - Titre anticorps (IgM+IgG)
- - Antigène p24

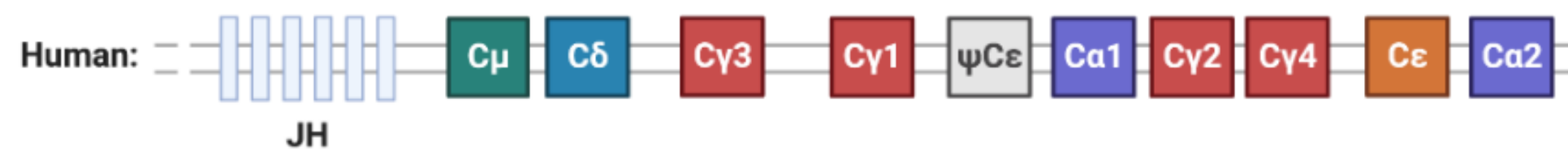
Séroconversion 2-3 semaines
Post-infection
 (première CV détectable)

rappels: fonctions effectrices des AC



Structure d'un anticorps

Murin CD, Nat Microbiol. 2019



Isotype	Activation Complément	FcγR (ADCC)	Neutralisation	Autres
IgM	+	-	+	
IgA1/A2	-	-	+	FcαR (PMN, Eosino, Mono)
IgG1	+	+	+	
IgG2	+	-	+	
IgG3	(faible)	+	+	
IgG4	(faible)	-	+	
IgE	-	-	+	FcεR (Eosino, Masto)

La réponse humorale antivirale

- réponse adaptative humorale → production d'AC spécifiques
- **réponse AC primaire** = IgM + IgA à la surface des muqueuses / IgM + IgG dans le sérum
- **réponse AC secondaire** – principalement IgG, titre ↑↑↑
- IgA, IgM: Ig sécrétoires → infection localisée aux muqueuses
- IgG, IgM: ++ infection disséminée par voie lymphatique ou sanguine
- Ac non-neutralisants
- dirigés/fragment de virions ou protéines virales relarguées par cellules infectées lysées/apoptotiques

- **AC neutralisants** : blocage de l'interaction Ag viral/ récepteur par encombrement stérique
- +++ IgA et IgG de forte affinité
- **inhibition du pouvoir infectieux** des virus

Mécanismes d'action des Ac neutralisants

- a) Blocage de la fixation au récepteur cellulaire (exemples - MAb spécifique du domaine RBD du SARS-CoV2)
- ~~b) Blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire: (réponse autoimmune! Pas un mécanisme très utile)~~
- c) Blocage de l'entrée du virus après fixation (exemple – blocage de fusion membranaire chez les virus enveloppés; Nirsevimab)
- d) Blocage de la décapsidation

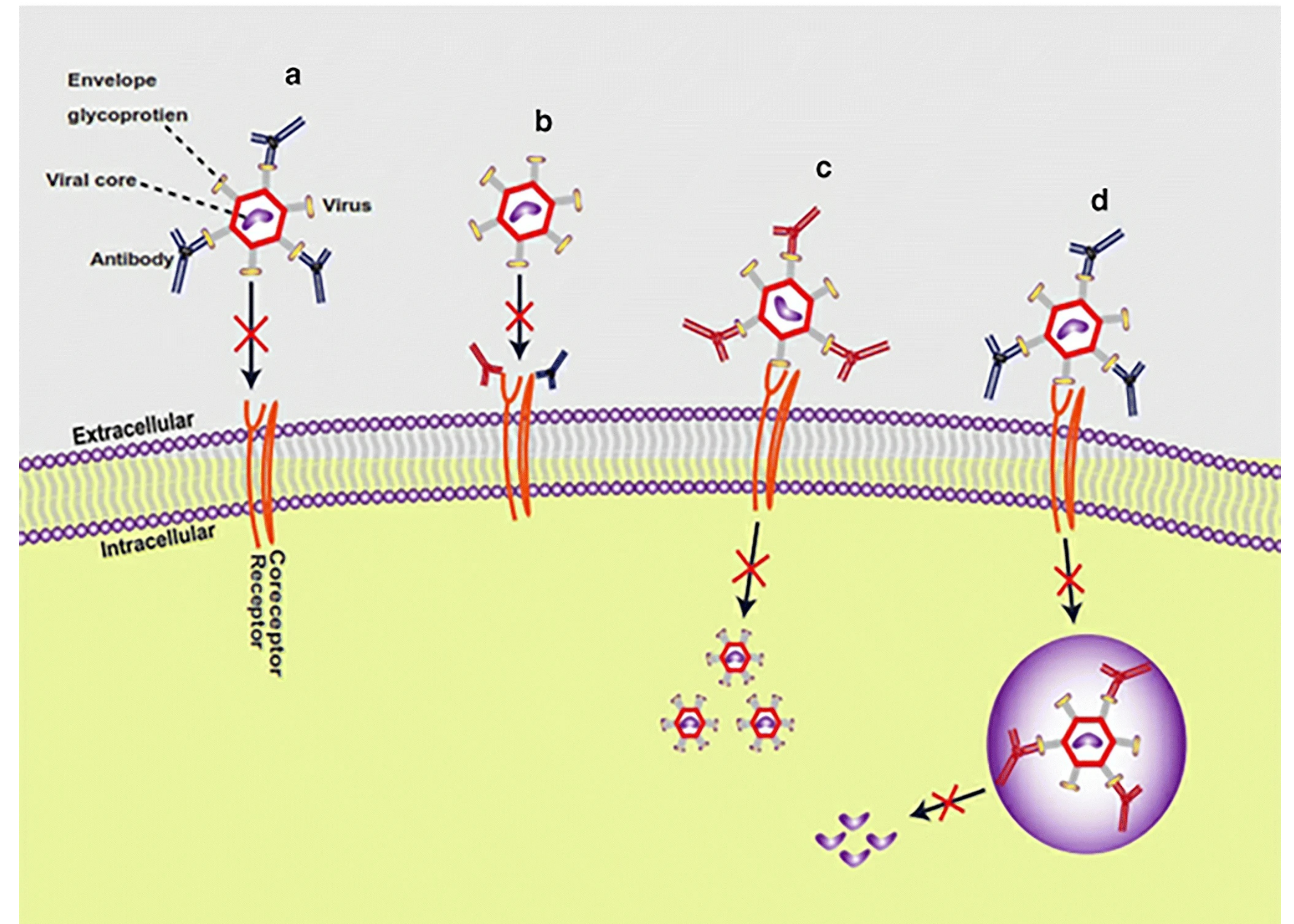
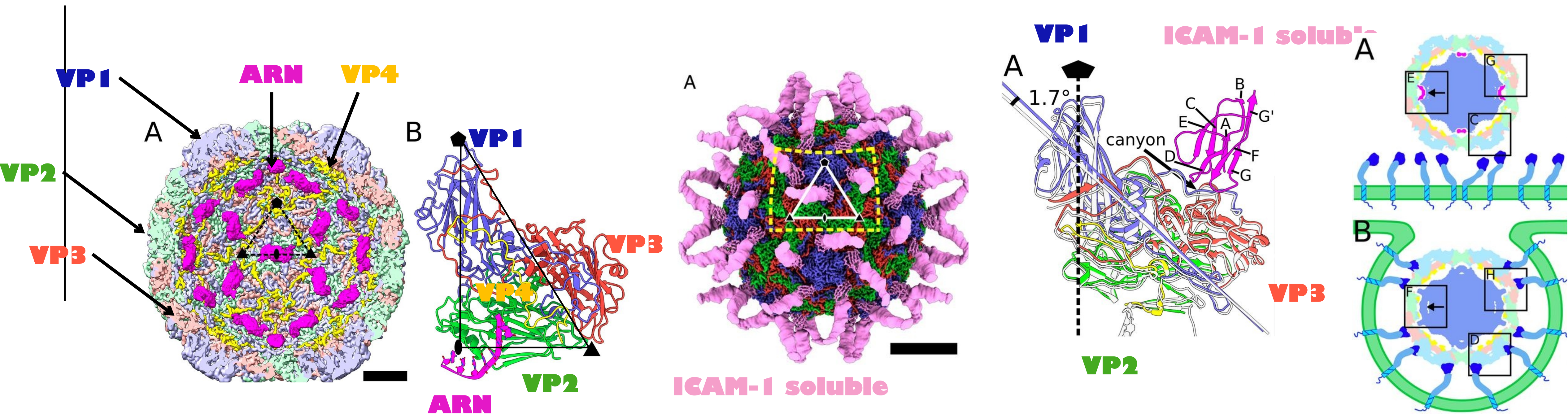


Image credit - [Gumah Ali et al. 2020](#) PMID : 33161557

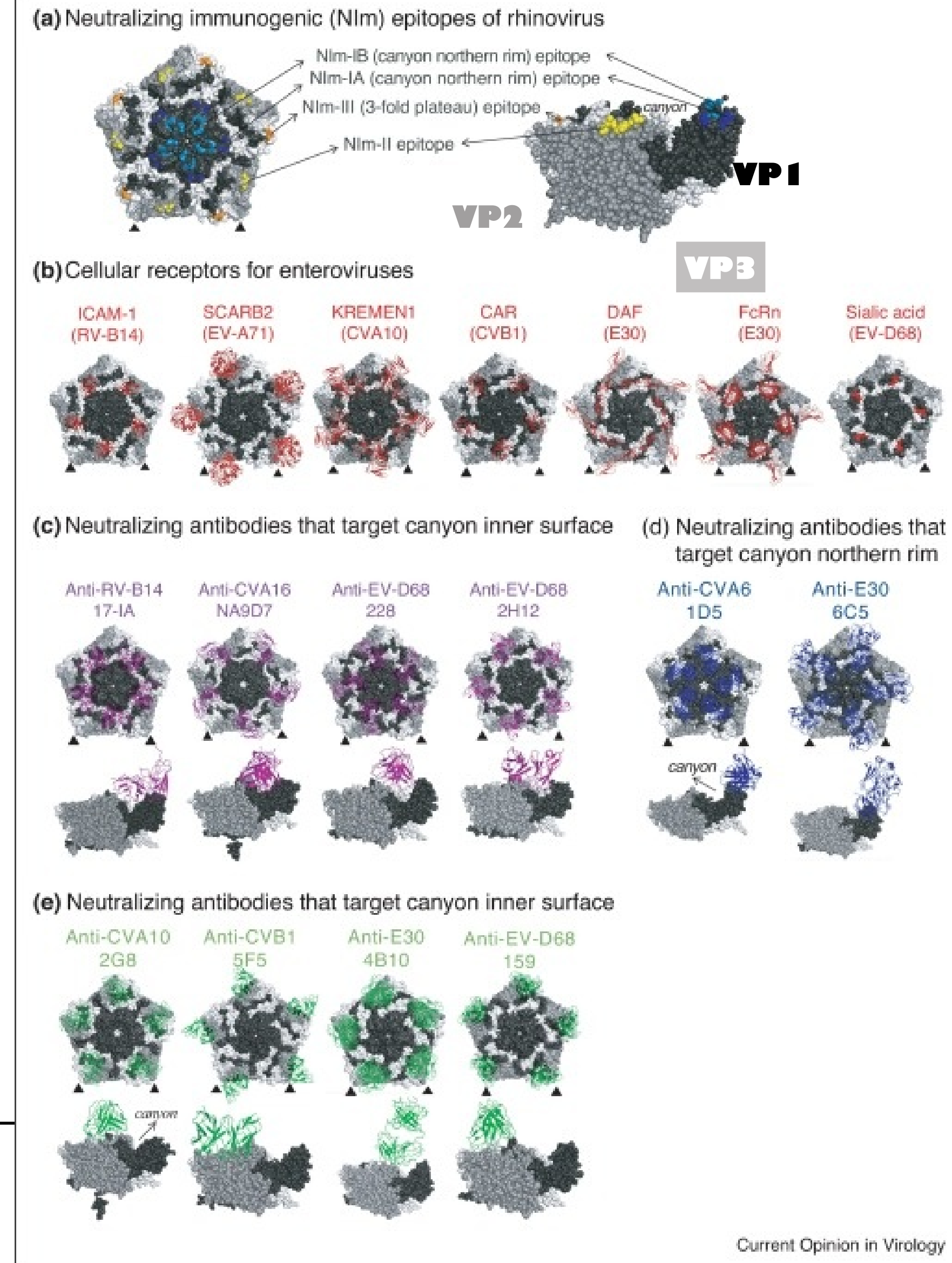
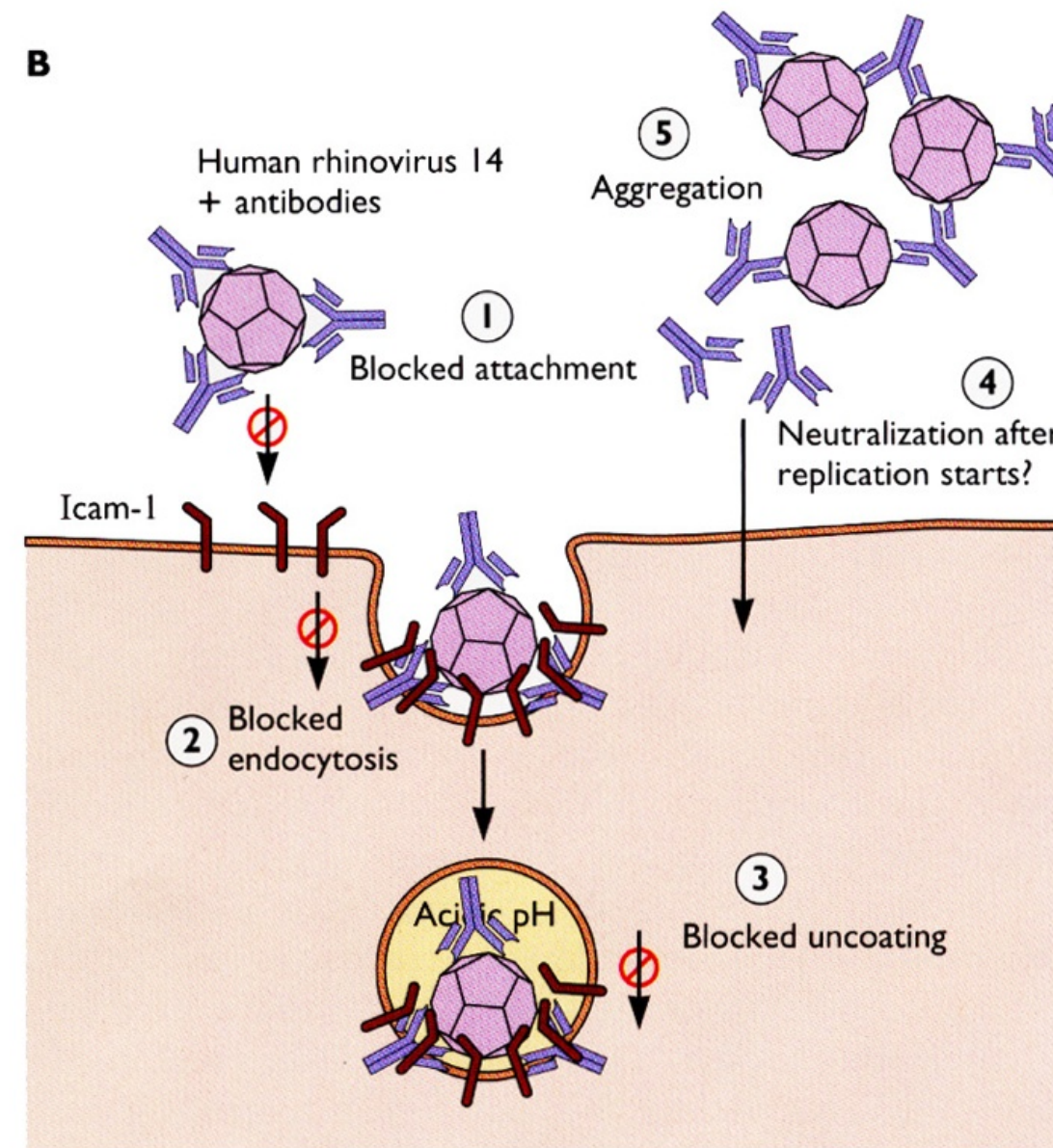
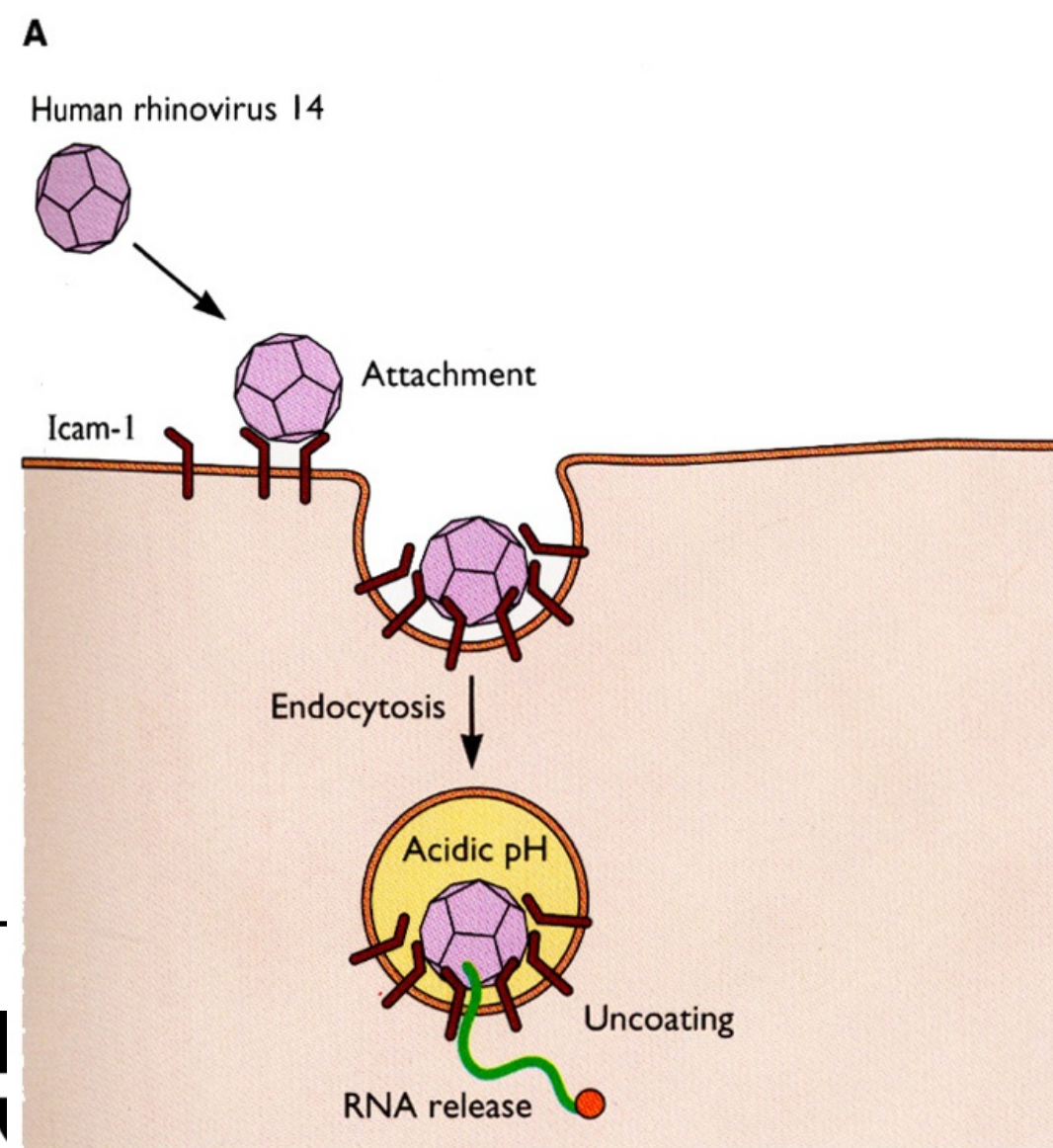
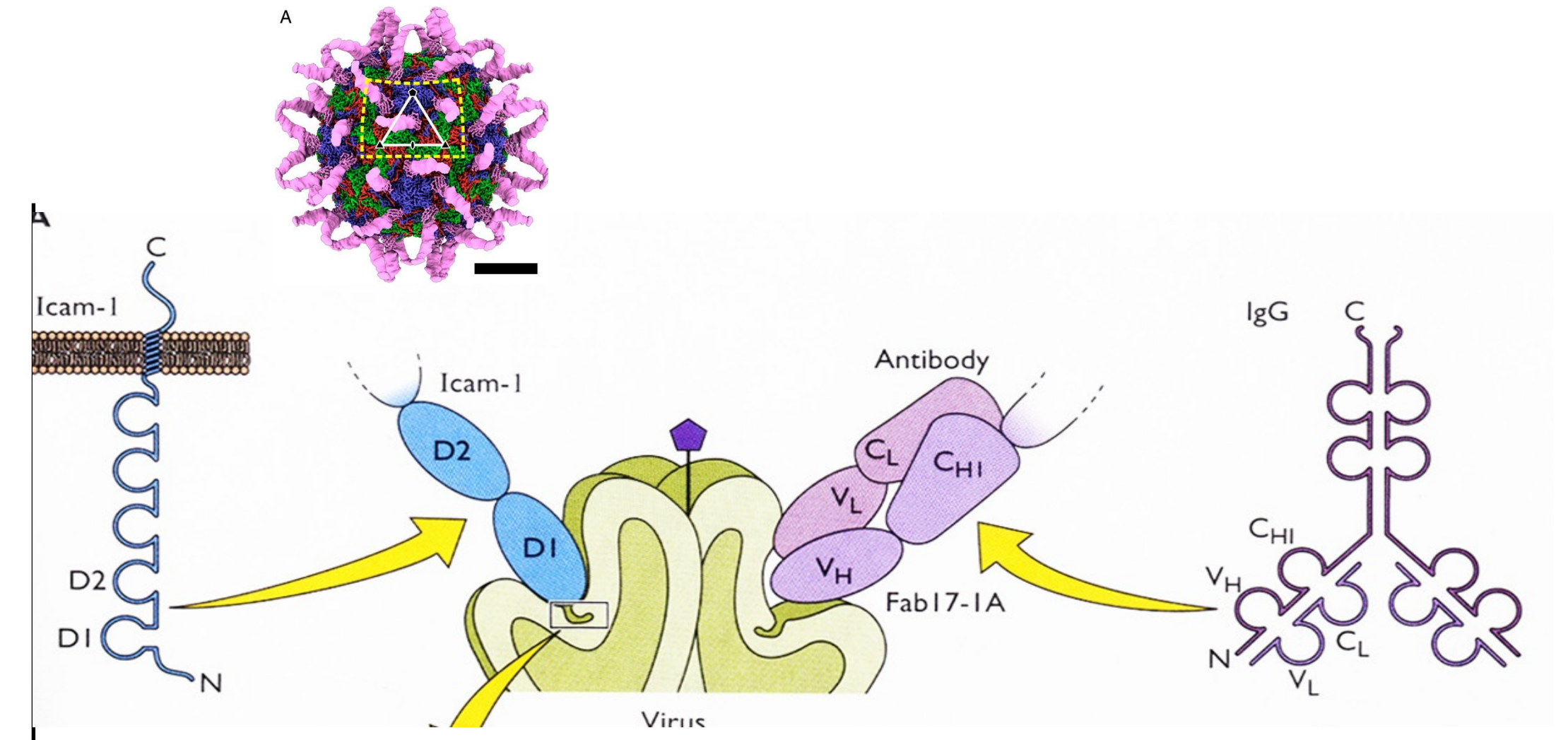
Les anticorps neutralisants: exemple des rhinovirus

virus nus: protéines d'attachement = motifs conformationnels des protéines de capside



Hrebík D, Proc Natl Acad Sci U S A. 2021

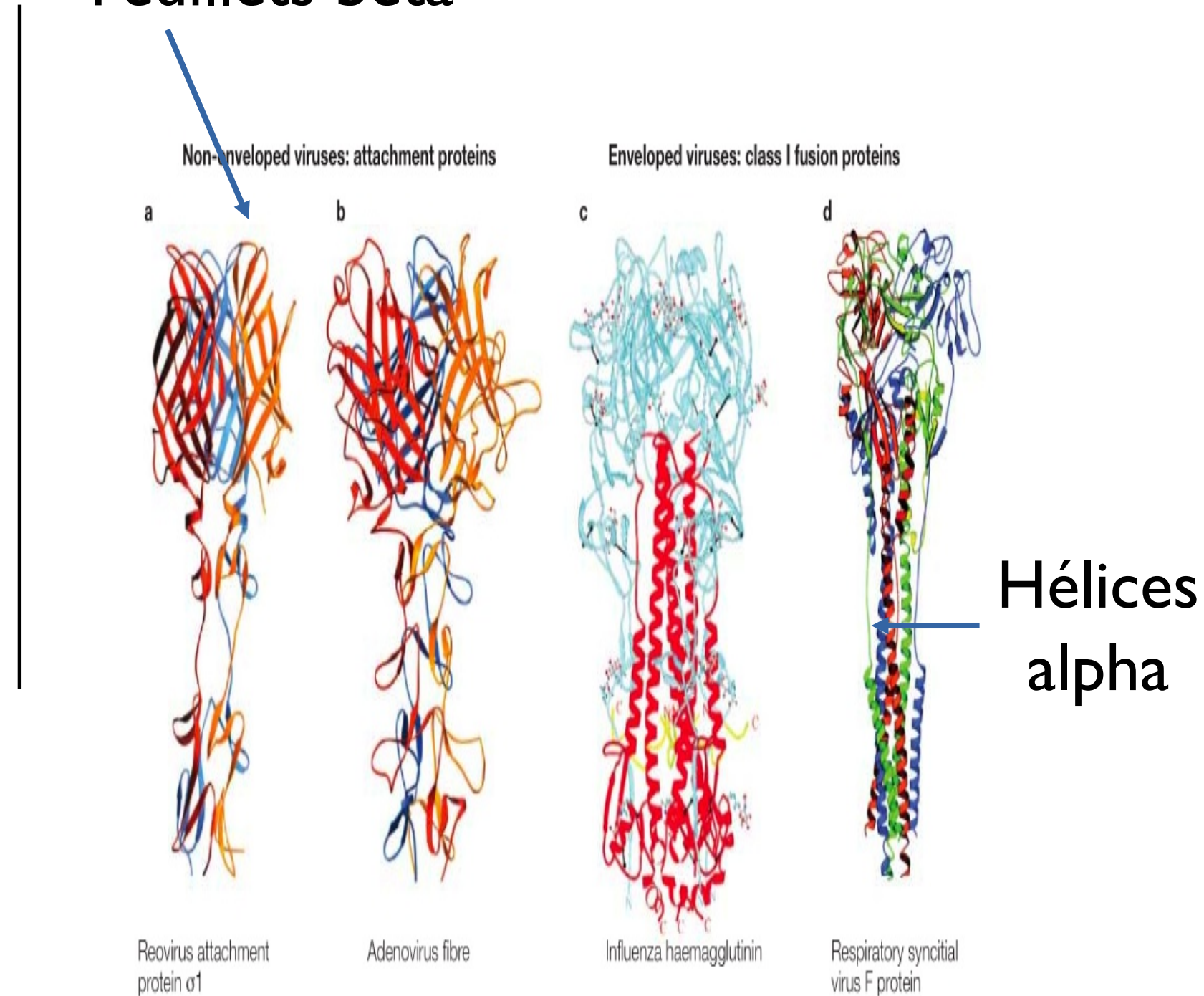
Les anticorps neutralisants: exemple des rhinovirus



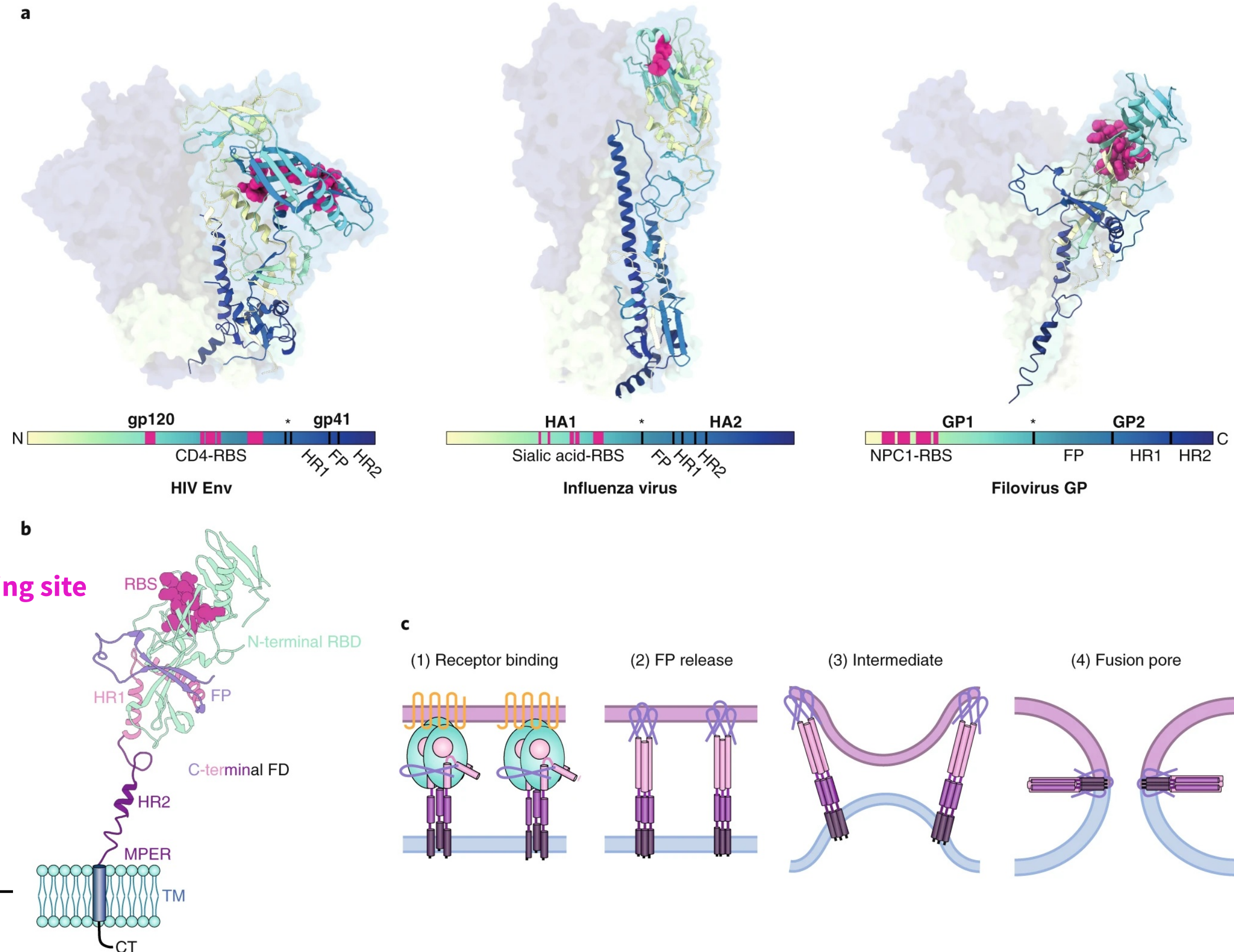
Les anticorps neutralisants: exemple des virus enveloppés

virus enveloppés = glycoprotéines de surface > protéines de fusion

Feuillets beta



Dimitrov DS, Nature Rev. Microbiol., 2004



Murin CD, Nat Microbiol. 2019

Les anticorps neutralisants: exemple des virus enveloppés

SARS-CoV2

b

S1 NTD nAbs

4A8
COV2-2676
5-7
S2M28
C1717
C1520

S2 FP nAbs

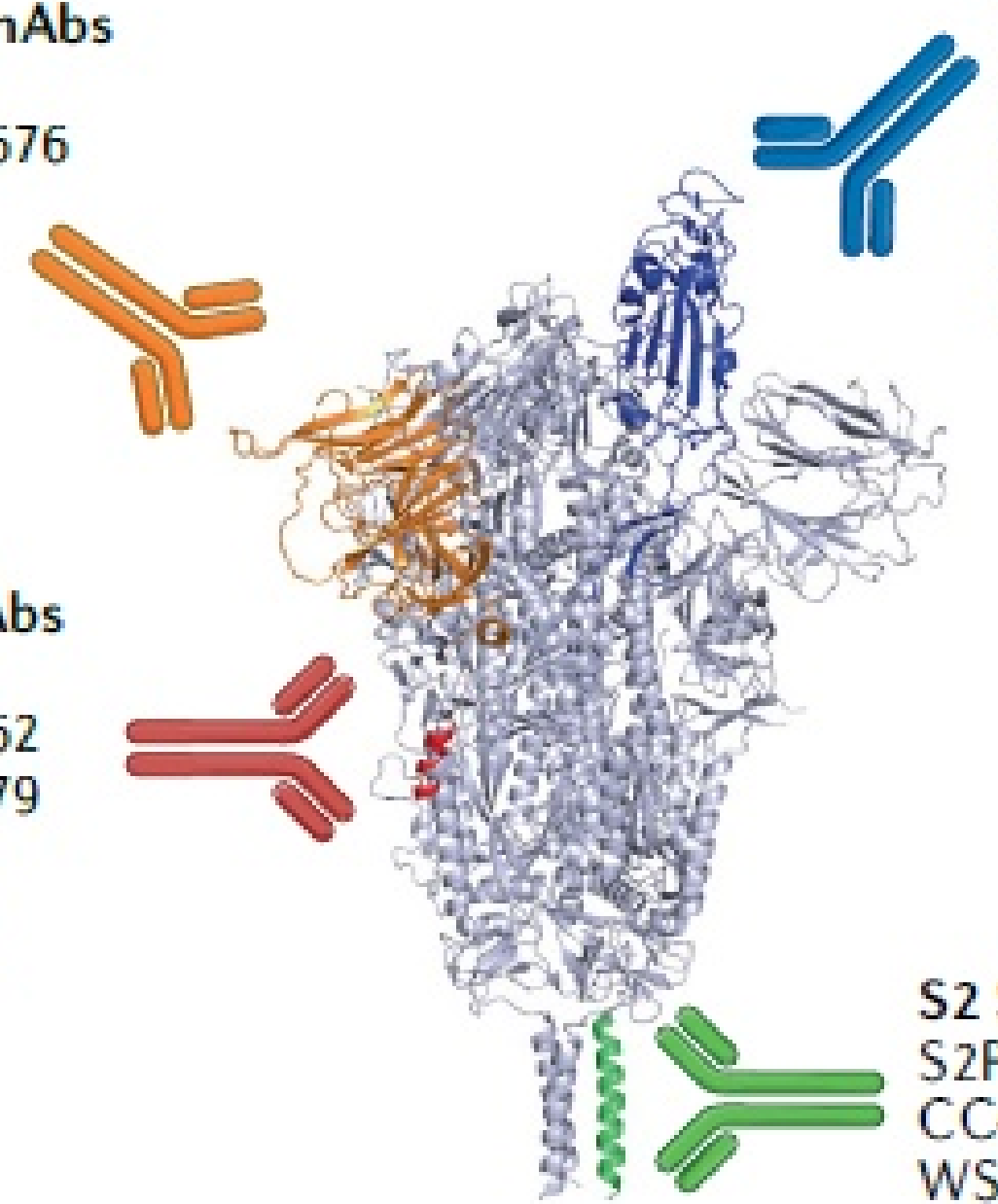
76E1
COV44-62
COV44-79
VN01H1
VP12E7
C77G12

S1 RBD nAbs

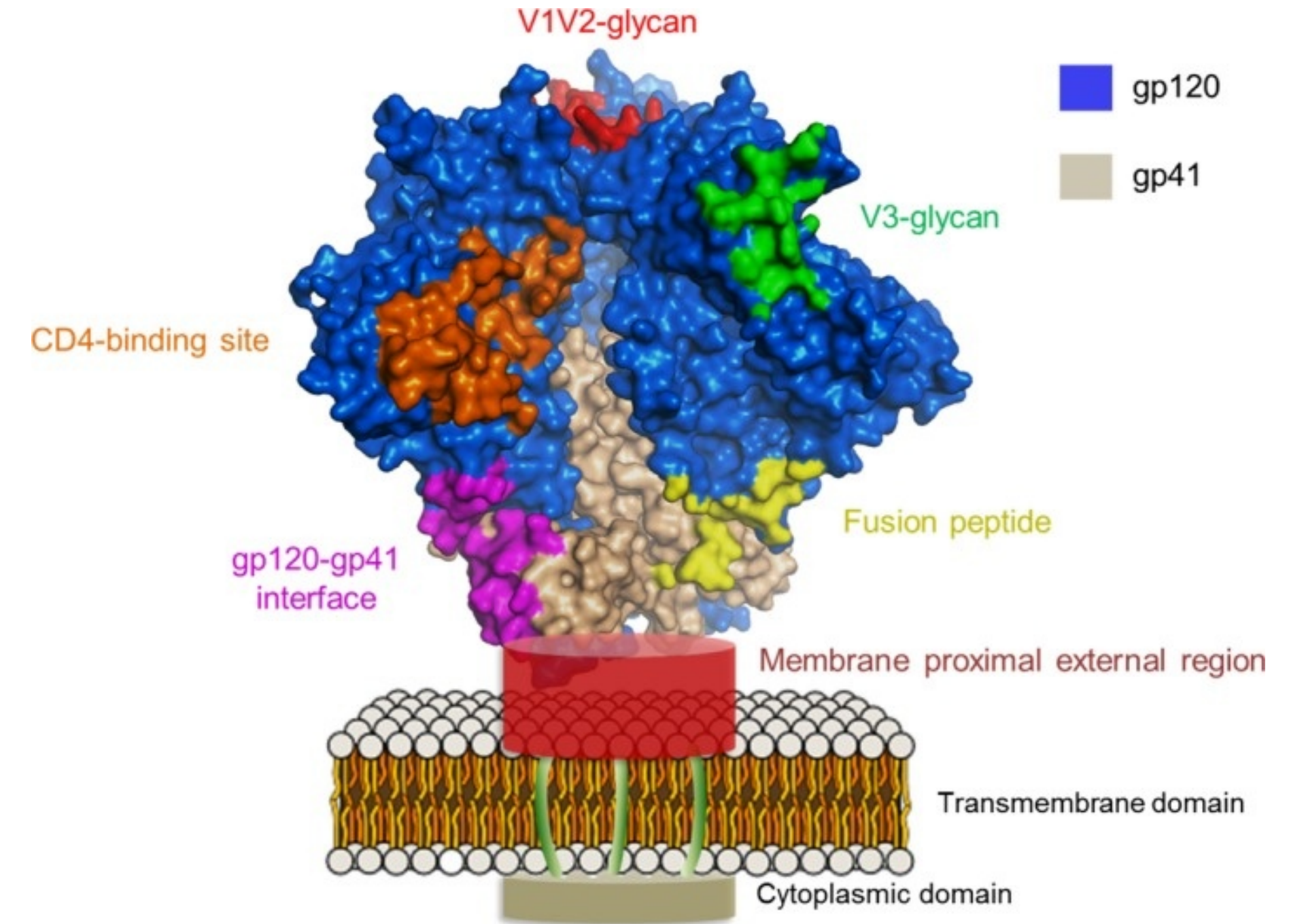
CB6
LY-CoV555
S309
CR3022
LY-CoV1404
2-36

S2 SH nAbs

S2P6
CC40.8
WS6



VIH-1

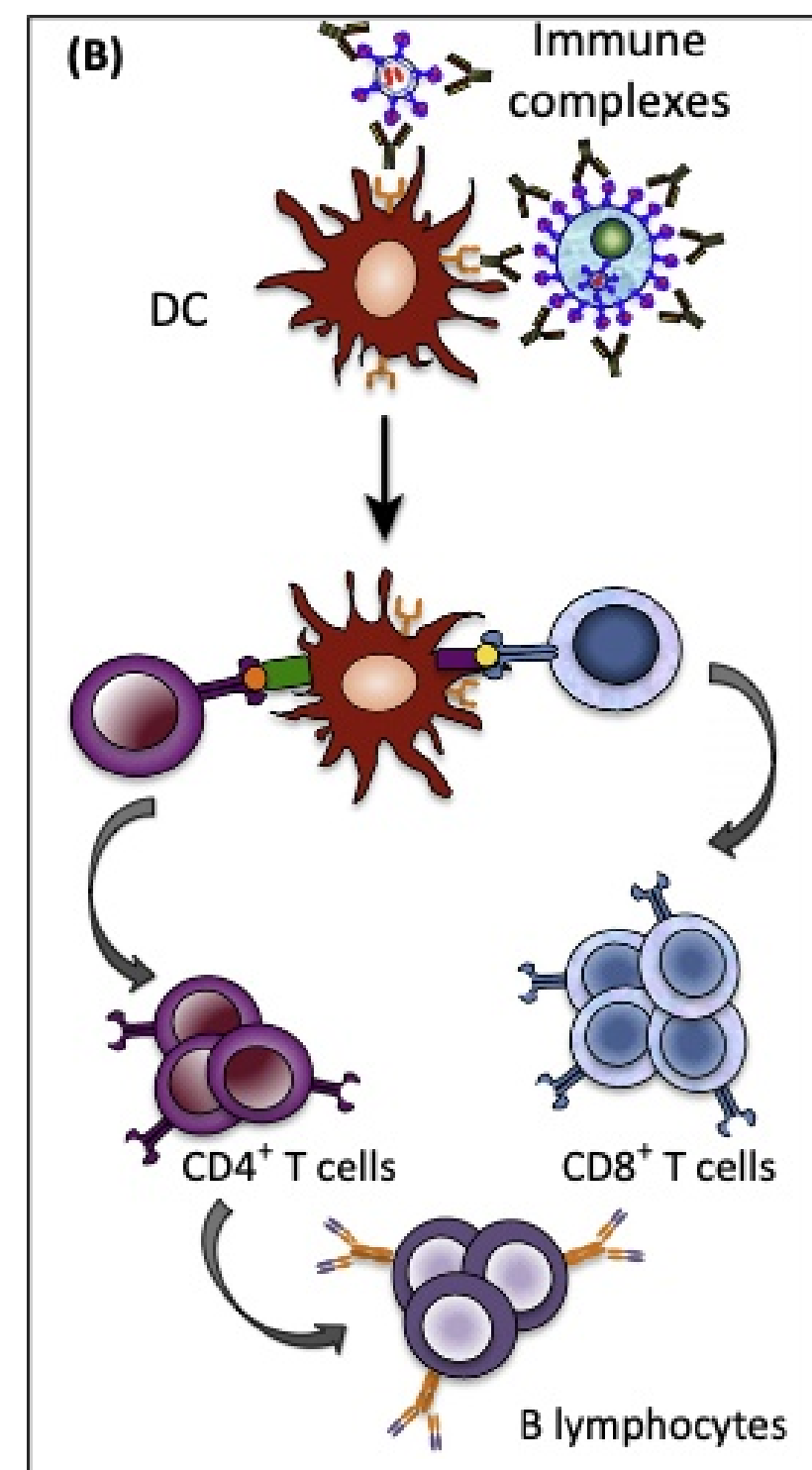
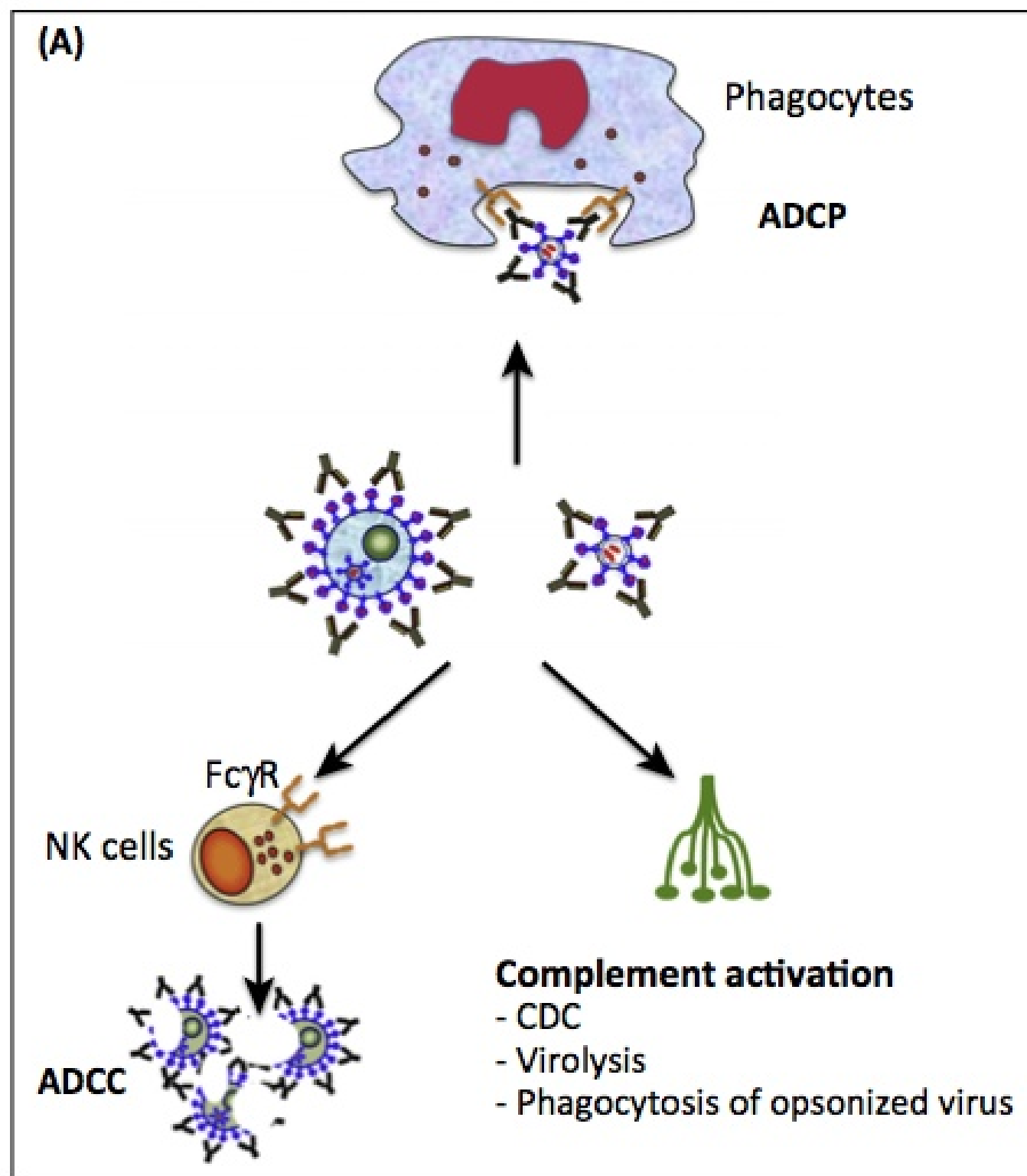


4 cibles sur la glycoprotéine S

Image credits :

[Chen et al. Nat. Rev. Immunol. 2022](#)

Autres mécanismes d'action des anticorps antiviraux



- mécanismes de protection médiés par fragment Fc
- CDC = complement-dependent cytotoxicity
→ lyse des particules virales
- ADCP = antibody-dependent cellular phagocytosis
- ADCC = antibody-dependent cellular cytotoxicity
- ADCVI = antibody-dependent, cell-mediated virus inhibition
- formation de complexes immuns virus/Ab ou cellule infectée/Ab → reconnaissance par cellules APC type DC → boost de la réponse adaptative (effet «vaccine like»)

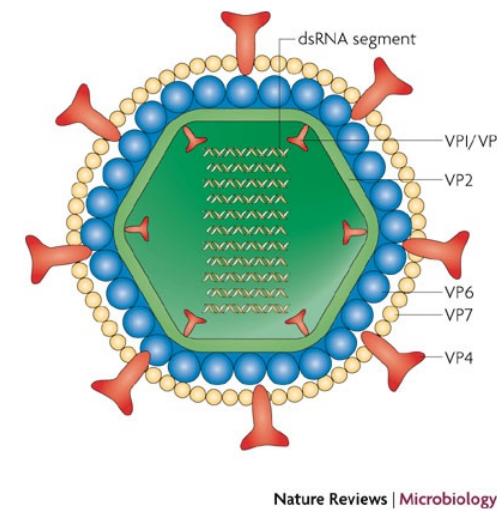
Pelegriin et al, Trends in Microbiology 2015

La séroneutralisation

■ Applications

- **Typage des virus: sérotypes viraux** définis par AC neutralisants

Typage Rotavirus: AC neutralisants dirigés contre les protéines de la capside externe = VP4 et VP7

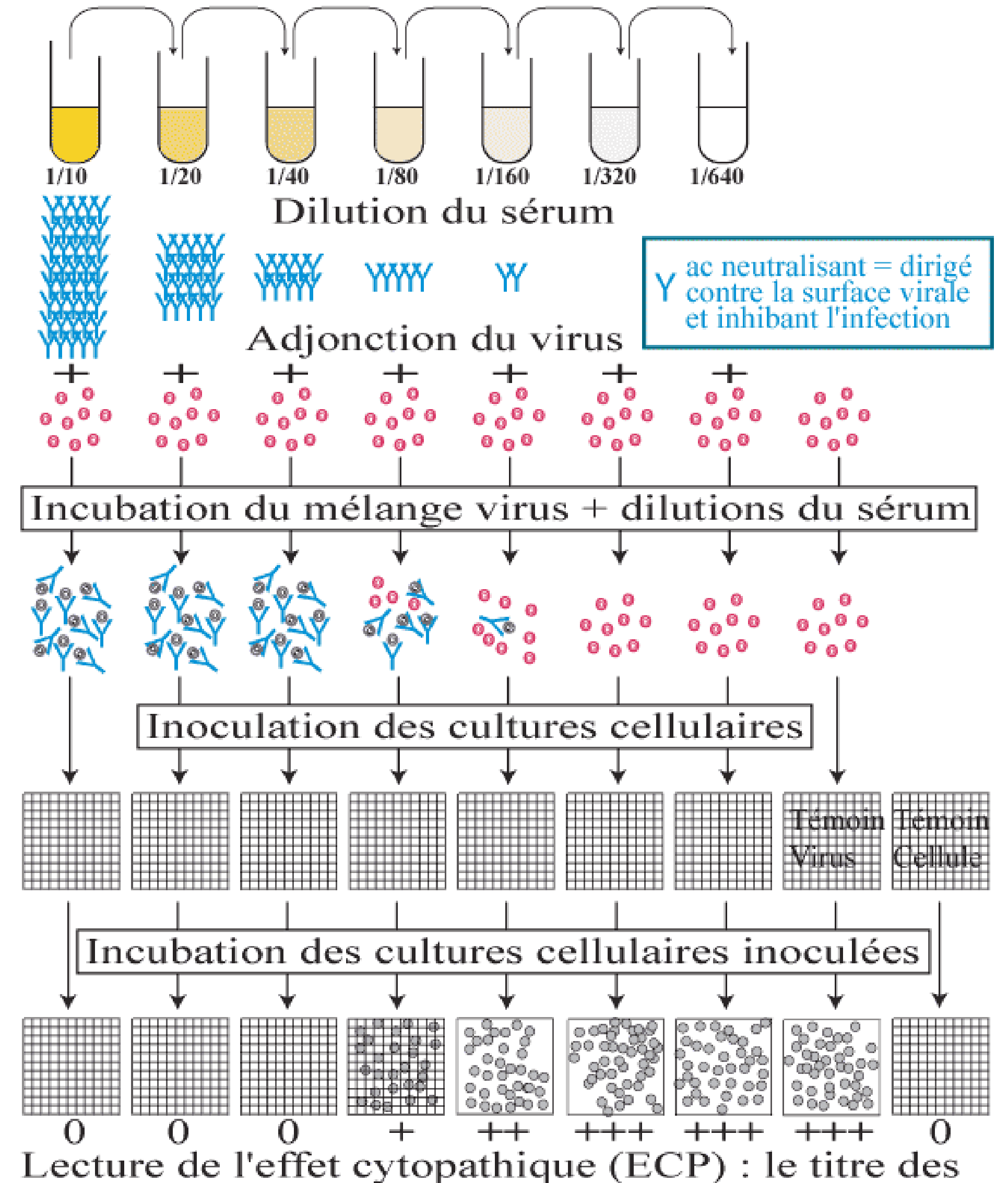


Typage poliovirus: AC neutralisants dirigés contre la protéine de capside VP1
Utilisation d'antisérums spécifiques PV1, PV2, PV3

- **Détermination du titre neutralisant des AC dans un sérum**

- cultures cellulaires infectées par des sérotypes viraux connus, en présence d'un sérum à tester
- la présence d'AC dans le sérum inhibe la multiplication virale et l'apparition d'un effet cytopathogène

Titration des anticorps neutralisants dans un sérum

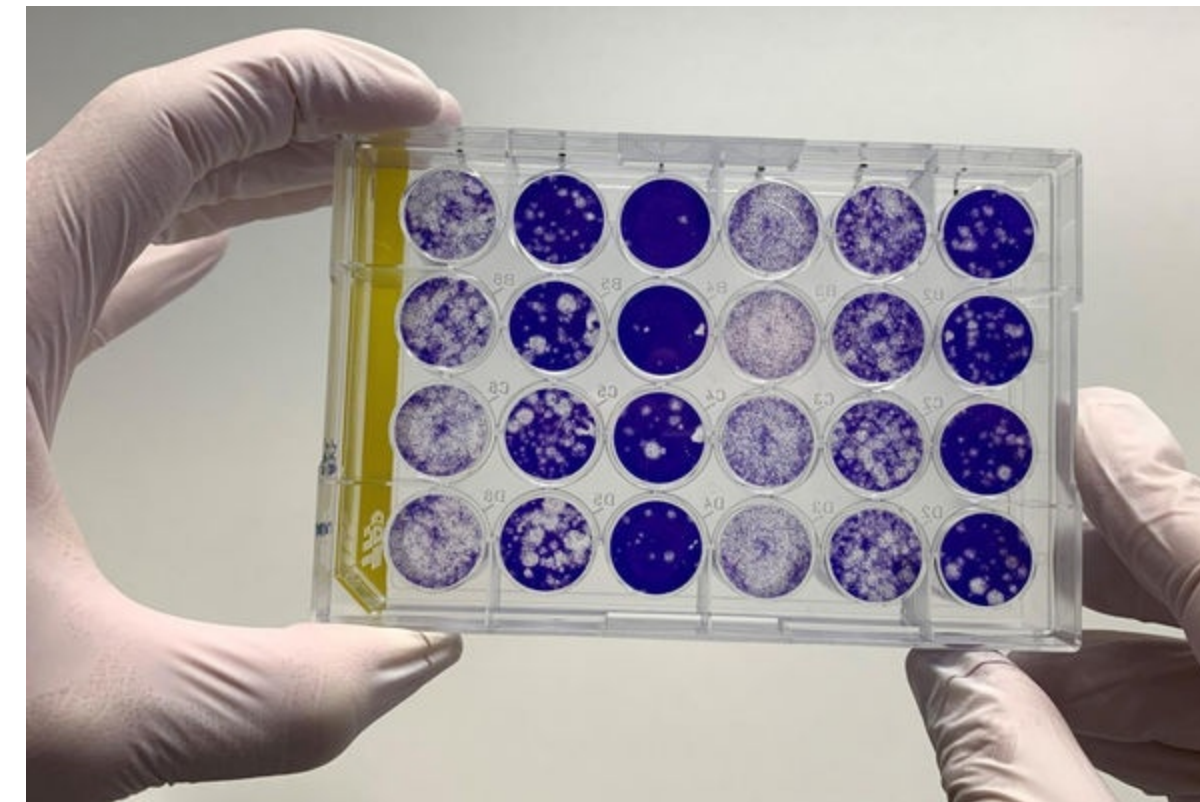


Les tests de séroneutralisation, à quoi ça sert?

- Titre neutralisant
- Evaluer la protection contre l'infection (permet de définir un seuil de protection)
- Mesurer efficacité d'une vaccination (nécessité de définir un seuil de protection)
- Mesurer capacité neutralisante des anticorps contre différents variants d'un même virus

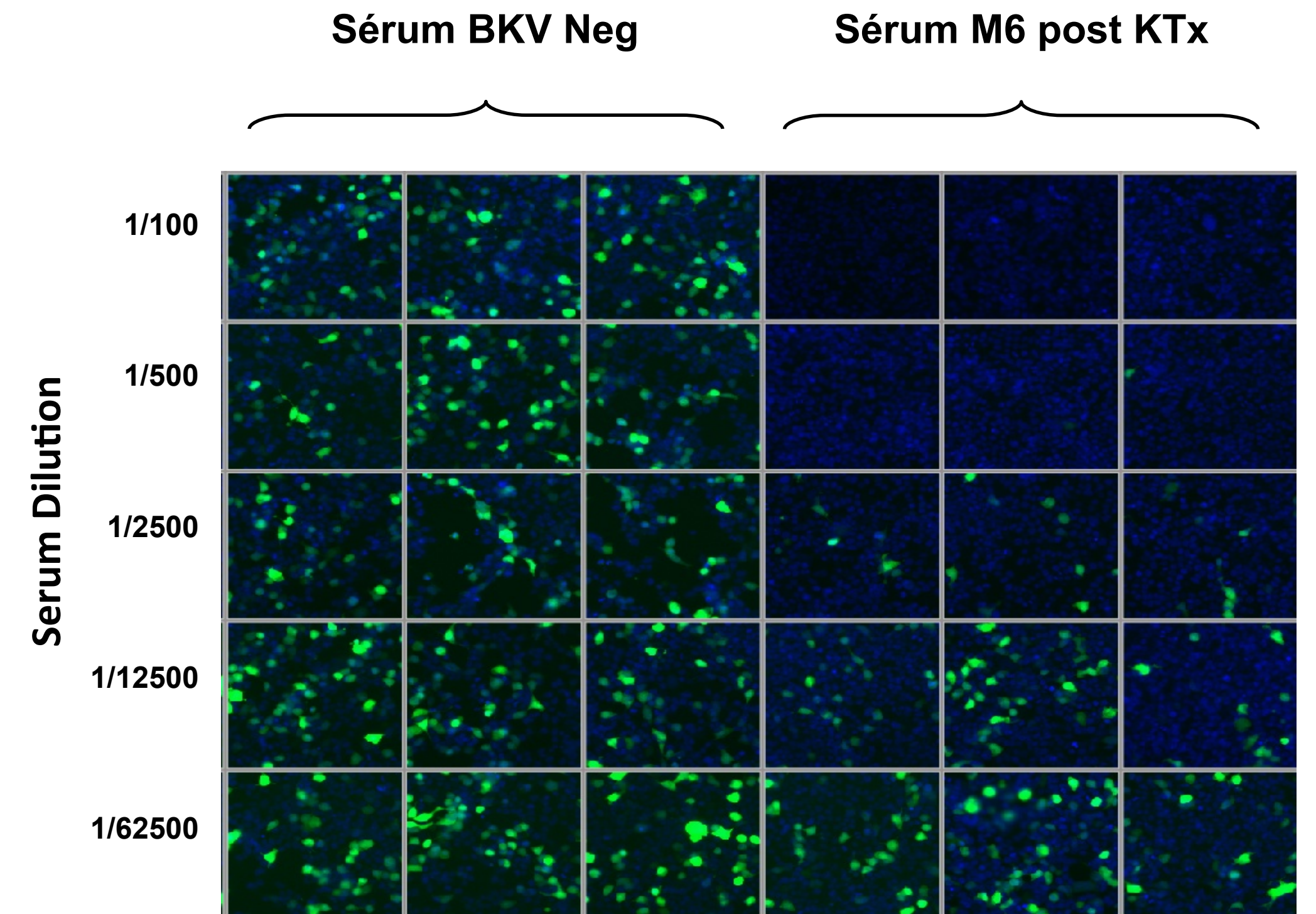
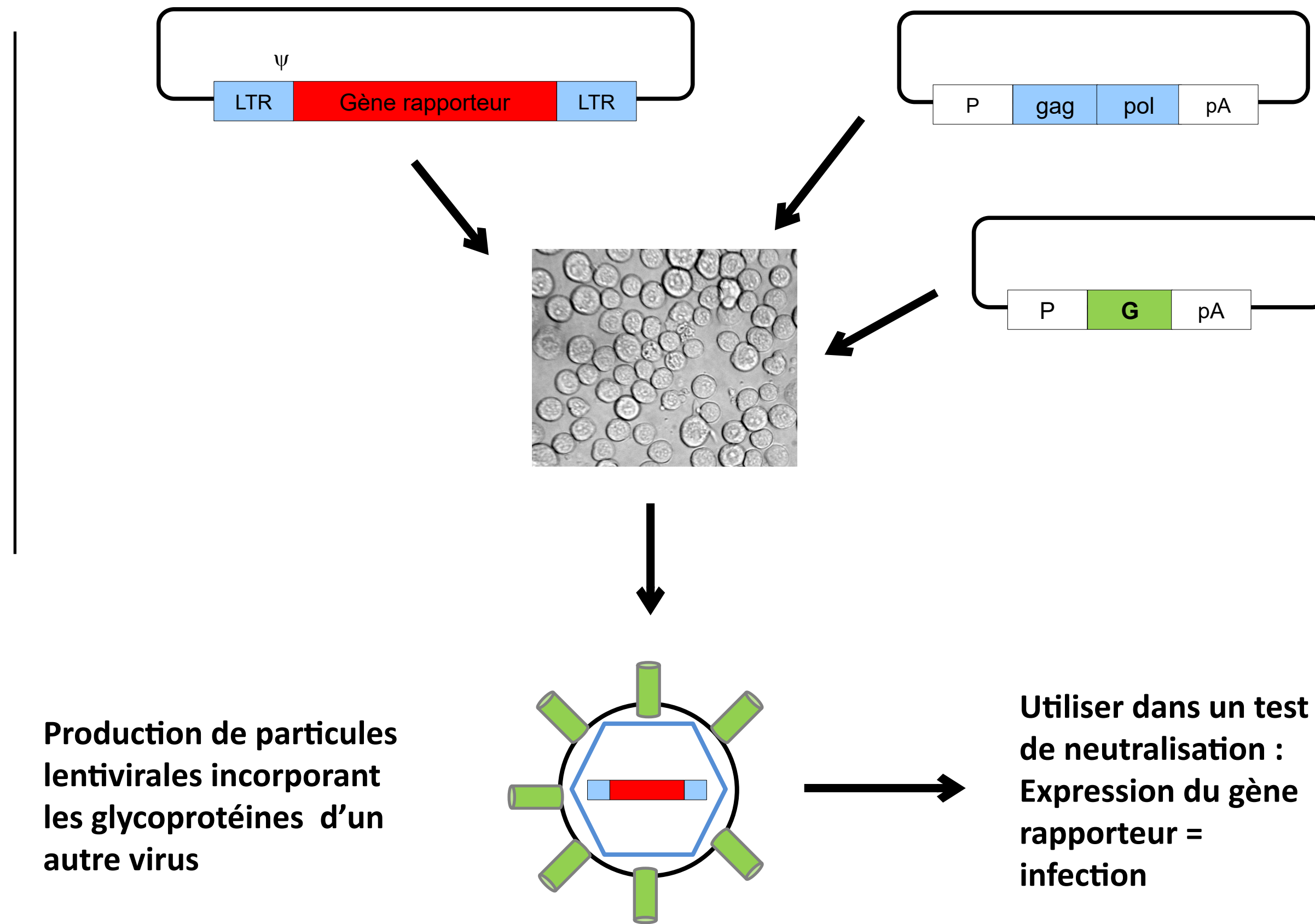
FRNT50:
50% focus reduction neutralisation titer
concentration d'Ac (ou antiviral) nécessaire
pour obtenir 50% diminution plage de lyse

Utilise un virus viable

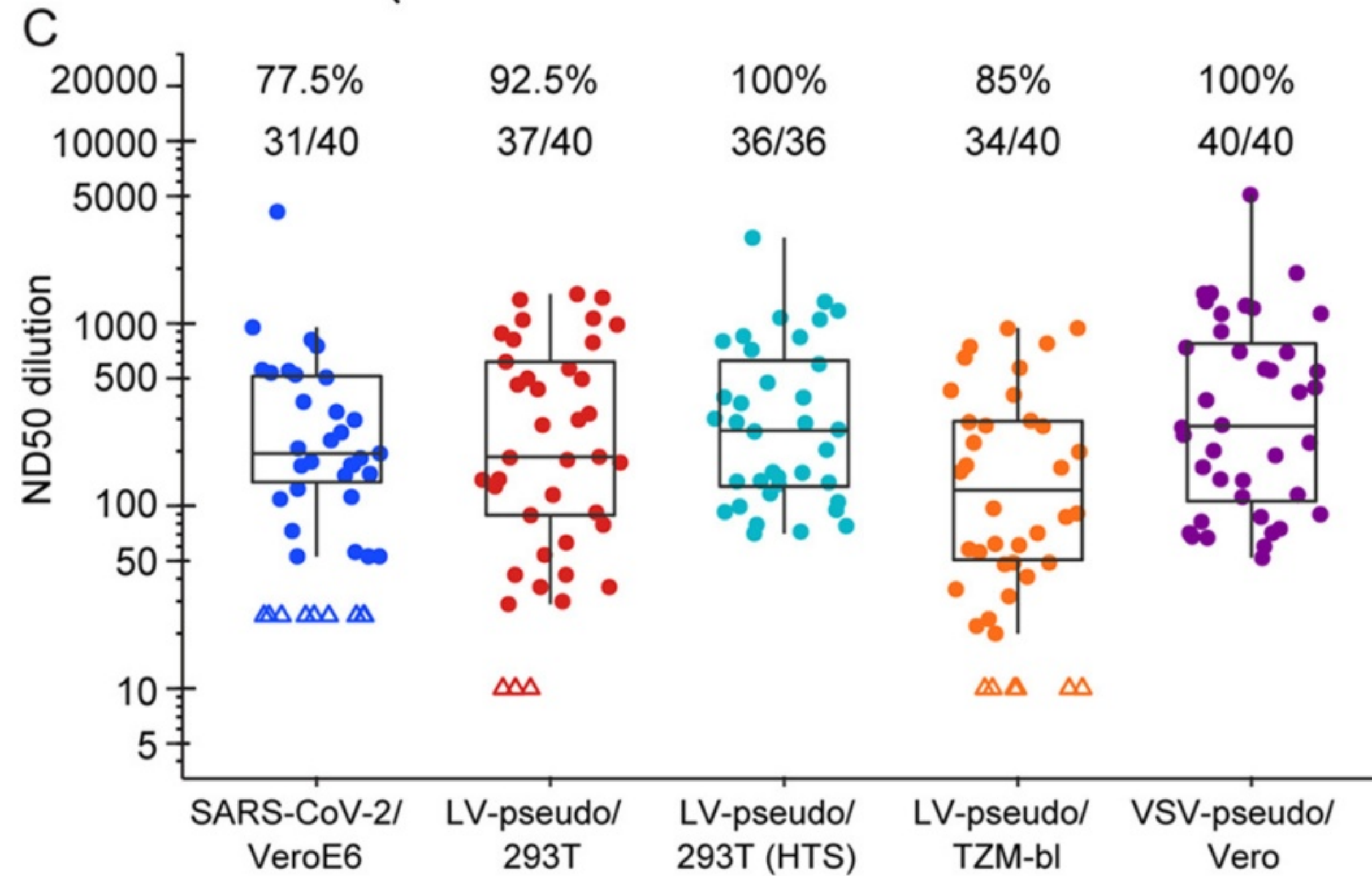


Tests de neutralisation sans virus viable – les pseudotypes

Principe de production d'un pseudotype lentivirale



Validation des tests de neutralisation utilisant des pseudotypes

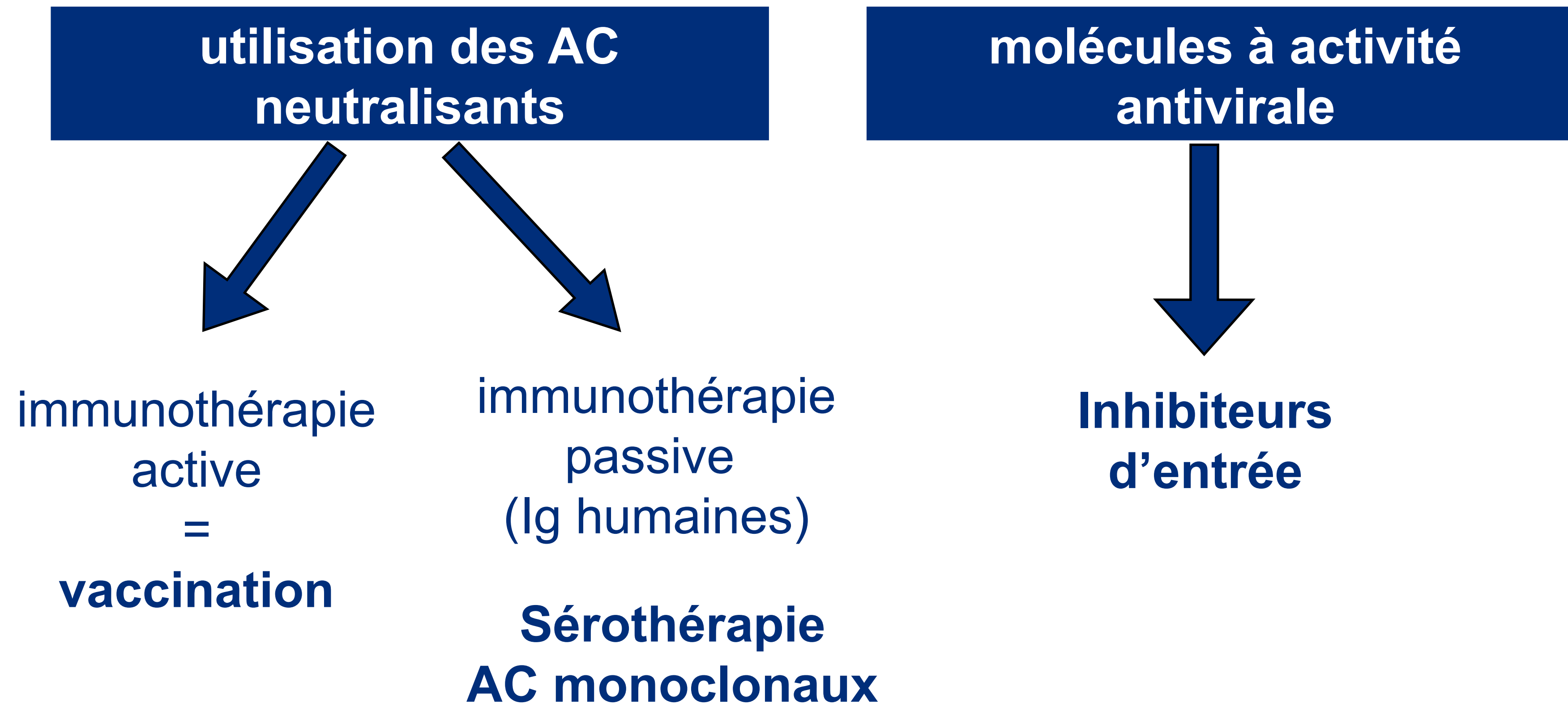


Titres neutralisant équivalents dans 40 plasmas

- pas de différence entre titre obtenu avec virus viable et différents pseudotypes

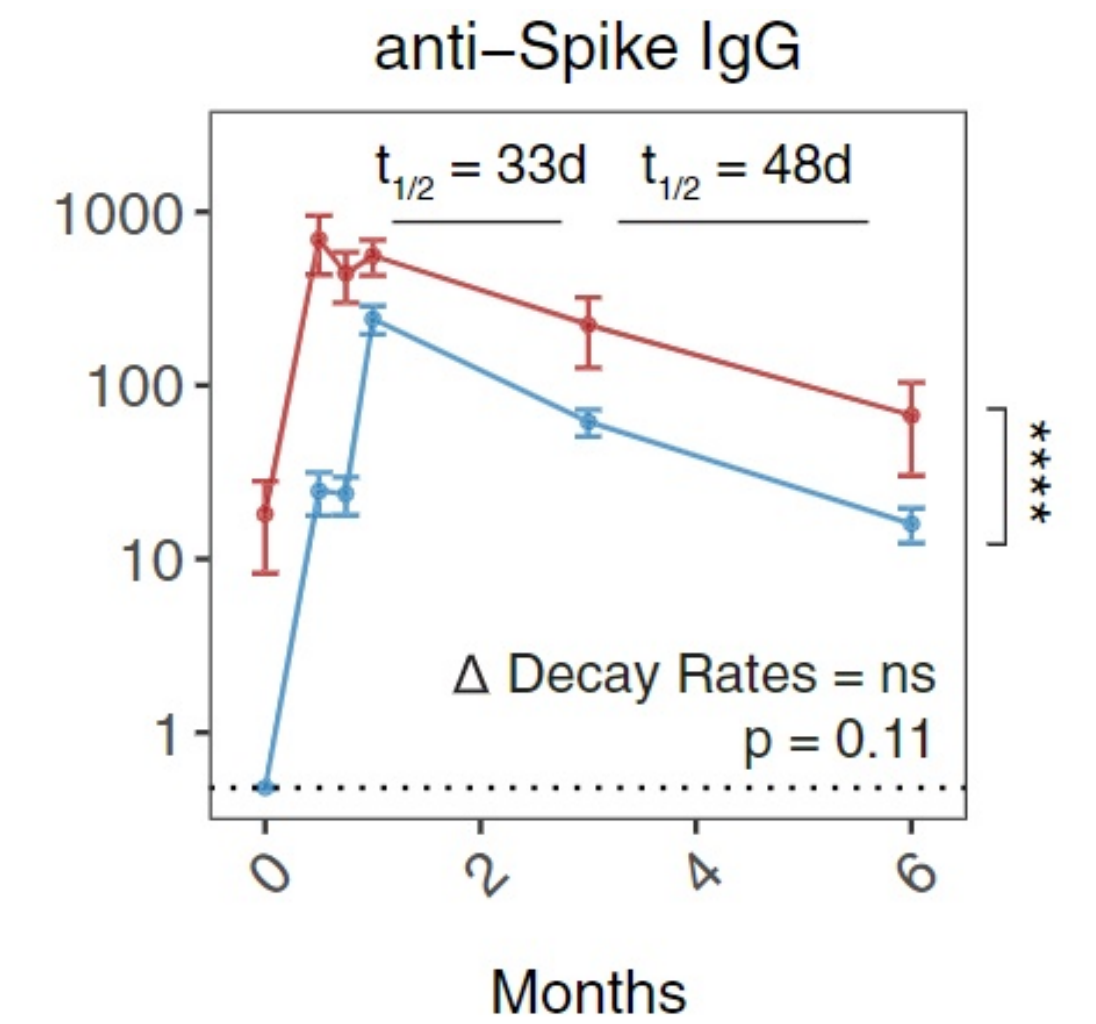
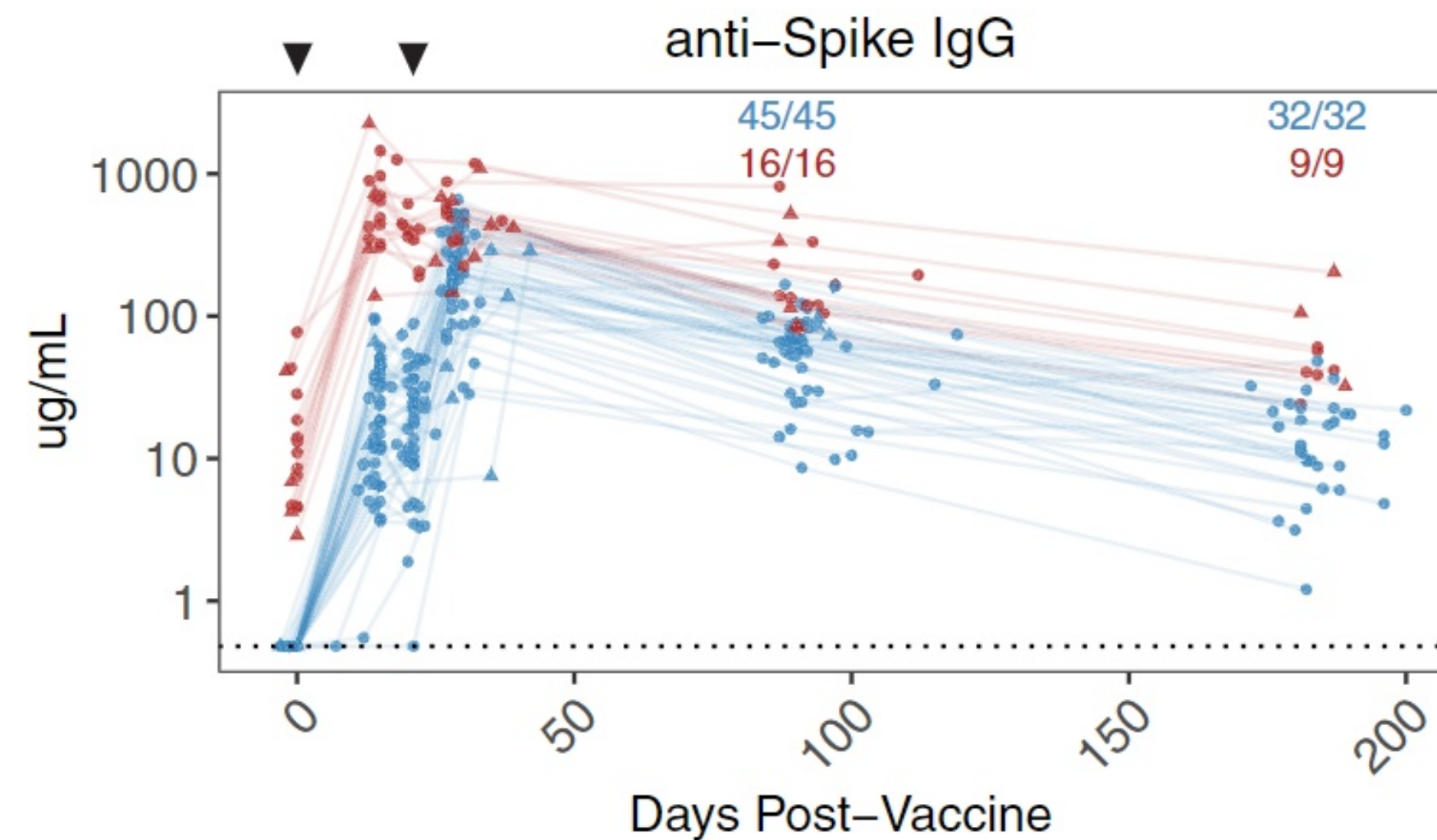
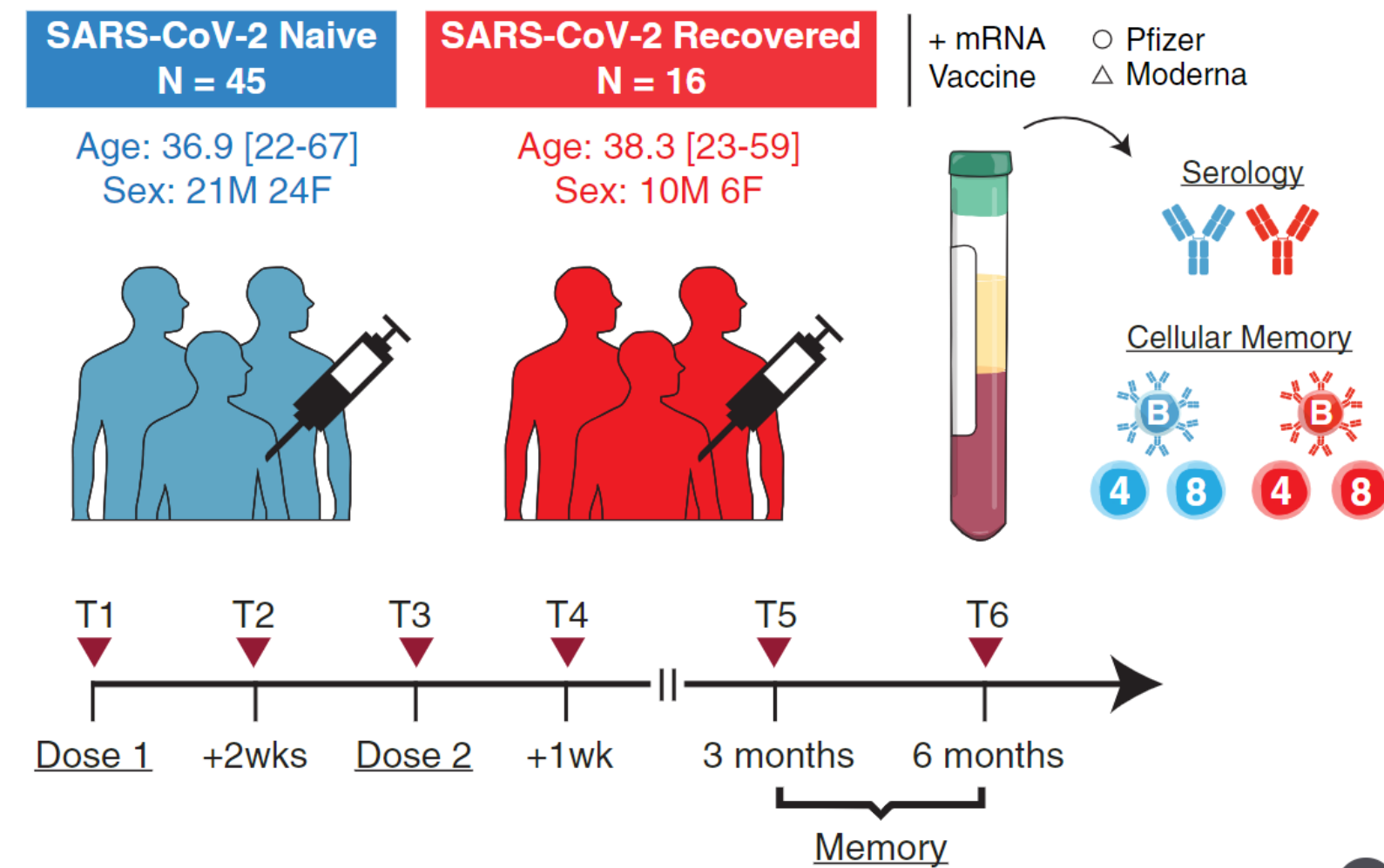
[Sholukh et al. 2021](#) PMID : 34288726

Récepteurs cellulaires et ligands viraux: cibles thérapeutiques



Induction d'anticorps par la vaccination

mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern
[Goel et al. Science 2021](#)



Titre anti-spike ↓ par ~1 log10 six mois post vaccination

- explique le besoin de rappels vaccinaux

Immunothérapie passive: AC neutralisants

- **Immunisation passive**
- protection immédiate
- efficace pour prévenir une infection si utilisé très précocément
- **Immunoglobulines humaines** : neutralisent le virion à l'extérieur de la cellule
- prévention infection par le VHB, le virus de la rage, le VZV...

anticorps monoclonaux

ex: palivizumab (Synagis®) = AC monoclonal humanisé dirigé contre la protéine F de fusion du VRS (coût +++ > réservé aux enfants à haut risque)

Anticorps monoclonaux antiviraux

- traitement par mAb = immunothérapie passive
- capacité à neutraliser les virions via la reconnaissance d'antigènes viraux de surface essentiels pour l'attachement ou l'entrée du virus
- la plupart = isotype IgG1 → complément + FcγR

1er mAb antiviral = Palivizumab (RSV)
+/- échecs (rage, HIV-1, Ebola)

SARS-CoV-2 : développement accéléré !
Fab pour améliorer la reconnaissance
Fc pour améliorer la fonctionnalité
↑ la demi-vie



* Approved for use in India

† Emergency use authorization by FDA

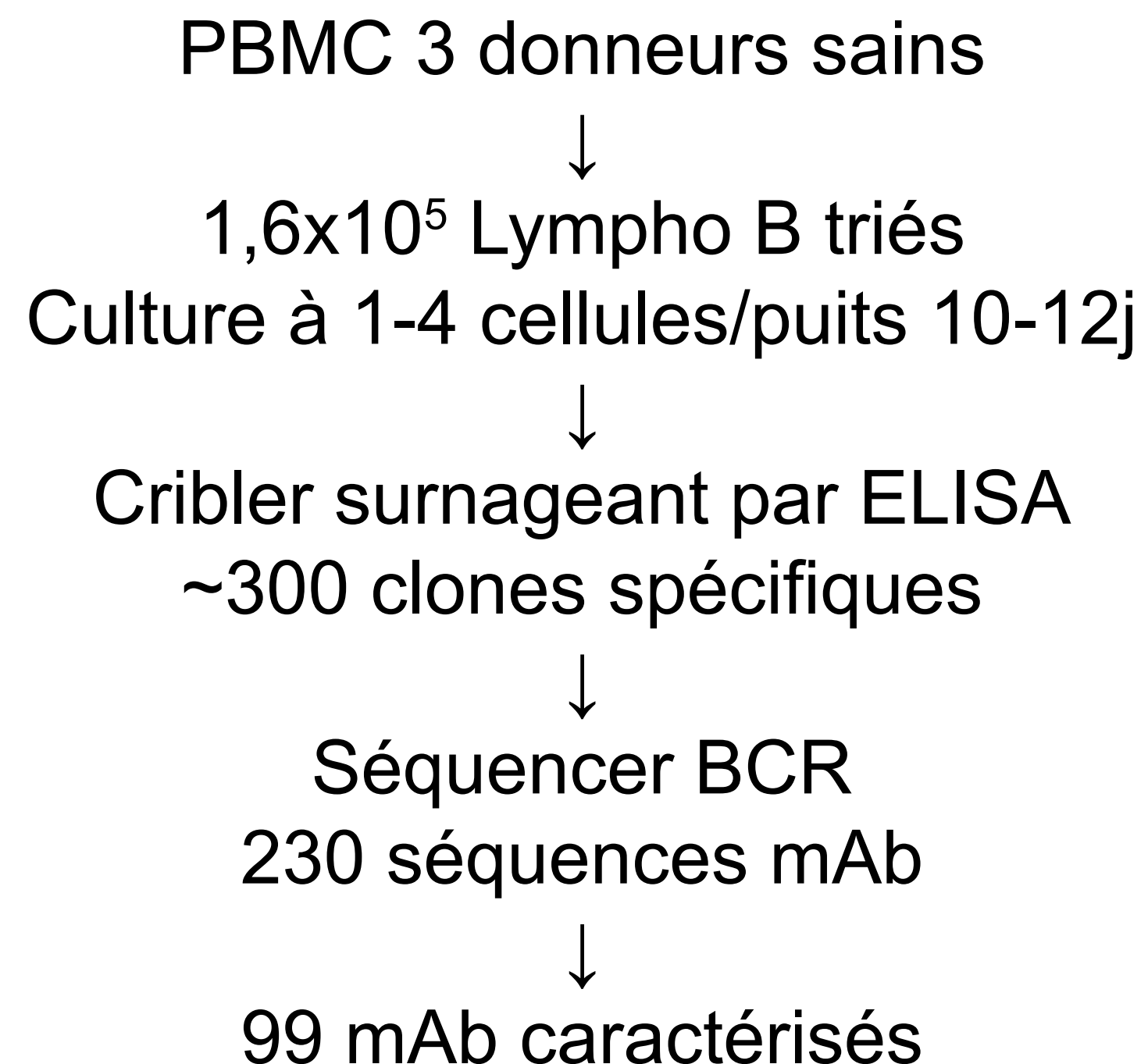
** Conditional approval in South Korea

Stratégies pour l'obtention d'anticorps monoclonaux antiviraux

Virus	Immunisation de souris, puis « humanisation »	Immunisation de souris humanisée	Phage Display	Culture de Lympho B humains, puis criblage	Tri de lympho B spécifiques
VRS	Palivizumab Johnson et al. JID 1997			Nirsevimab Kwakkenbos Nat.Med. 2010 Zhu et al. Sci. Trans. Med. 2017	
Influenza	C179 Okuno et al. J. Virol 1993		CR6261 Ekiert et al. Science 2009	FI6 Corti et al. Science 2011	
VIH-1				PG9, PG16 Walker et al. Science 2009	VRC01 Wu et al. Science 2010
Virus Ebola Zaire	zMAPP cocktail (3 mAb) Qiu et al. Nature 2014	REGN-EB3 Pascal et al. JID 2018		MAB114 (Ansuvimab) Corti et al. Science 2016	
SARS-CoV2		Casirivimab, Imdevimab Hansen et al. Science 2020		Bamlanivimab Jones et al. Sci Trans Med 2021	Cilgavimab, Tixagevimab Zost et al. Nature 2020
Polyomavirus BK				41F17 Lindner et al. Immunity 2019	mAb120 Nguyen et al.LSA 2023

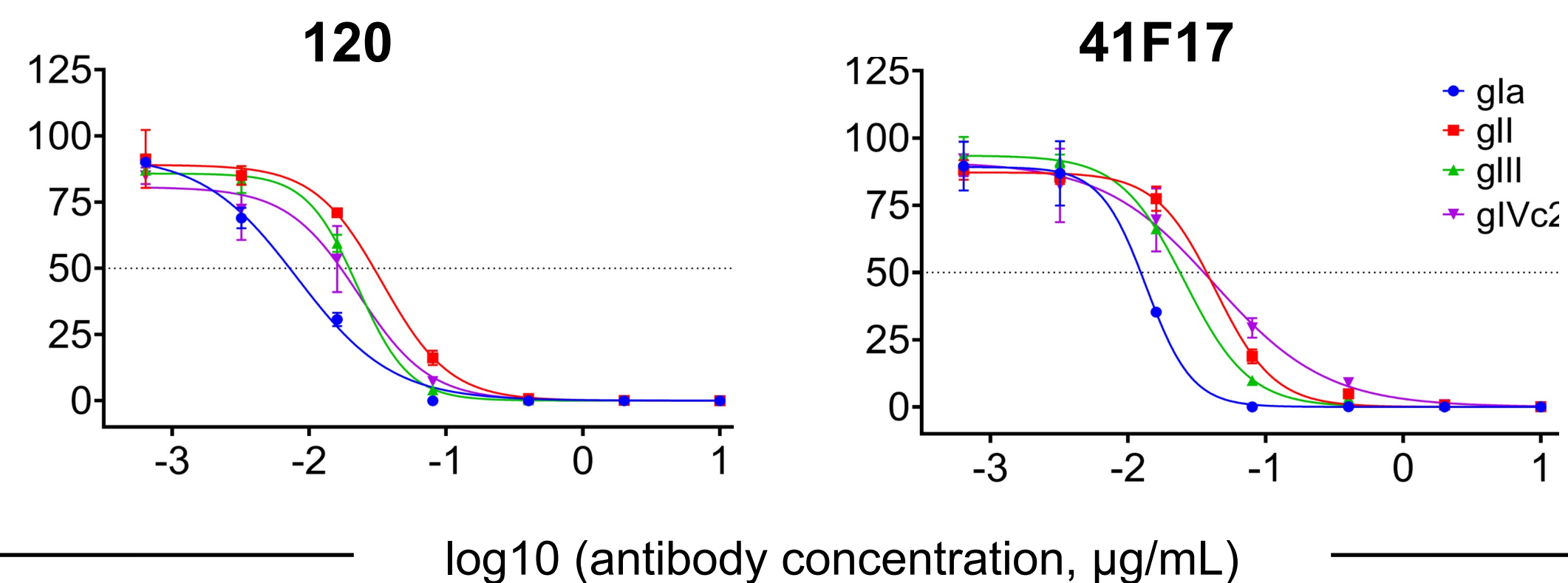
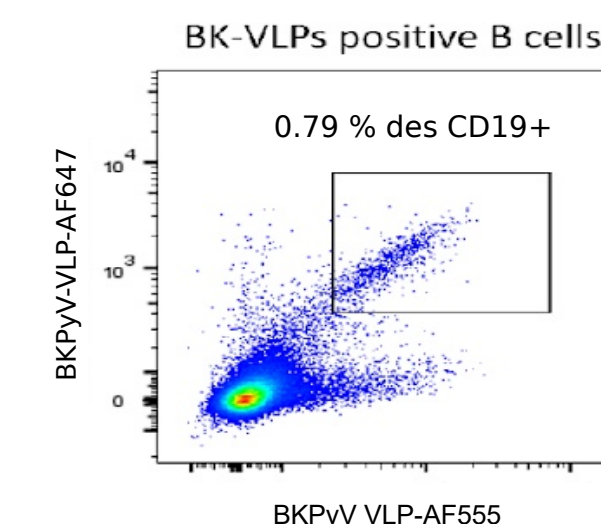
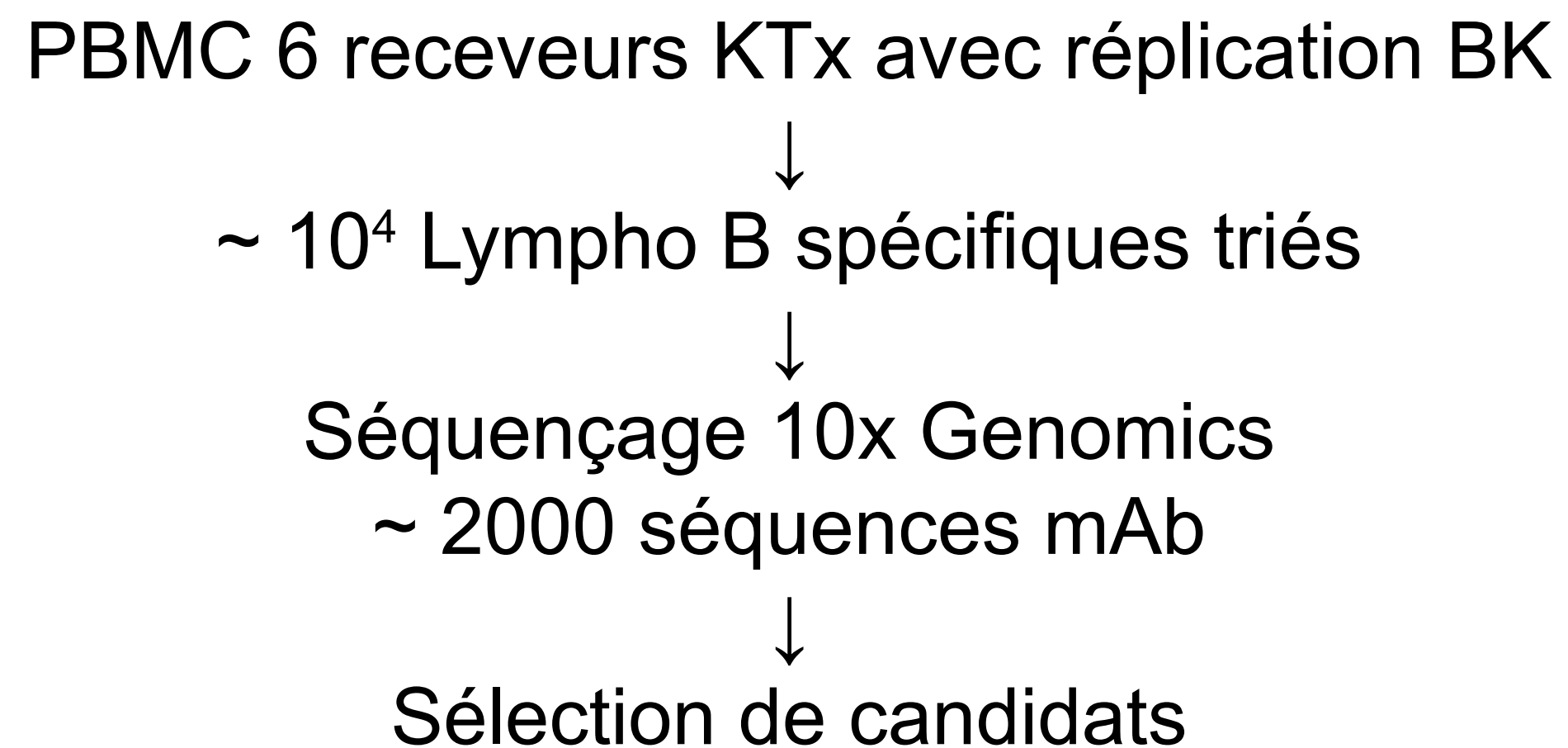
Criblage versus tri de lymphocytes B humains

[Lindner et al. Immunity 2019](#)

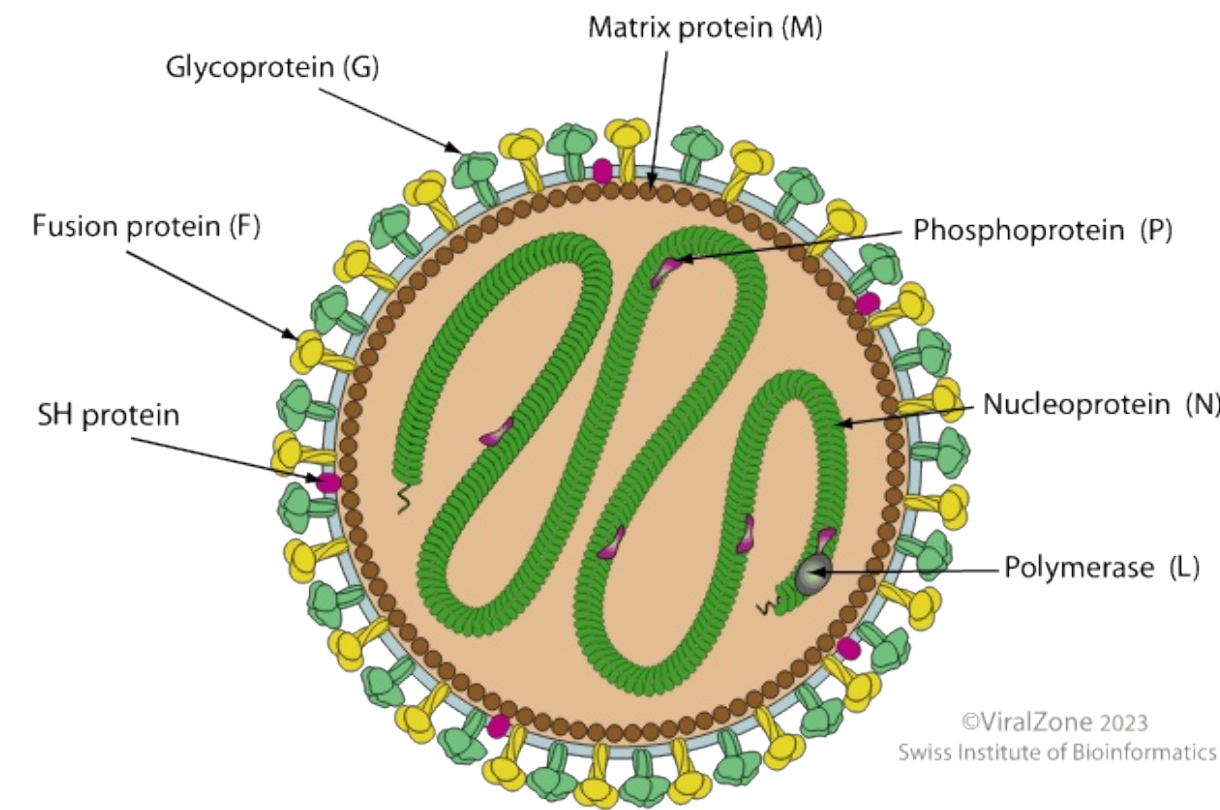


Clone	ELISA binding		Recombinant IgG1 viral neutralization EC ₅₀ (nM)				
	BKV-ST1	BKV-ST4	ST1	ST2	ST3	ST4	JCV
27O24	•	•	0.4	3.5	3.3	0.3	0.4
41F17	•	•	0.3	0.5	2.8	0.1	0.05
35F17	•		0.03				

[Nguyen et al. LSA 2023](#)



VRS / Palivizumab – 1er mAb antiviral prophylactique



Virus Respiratoire Syncytial (VRS)

→ *Orthopneumovirus* ; *Pneumoviridae*

ARN brin (-)

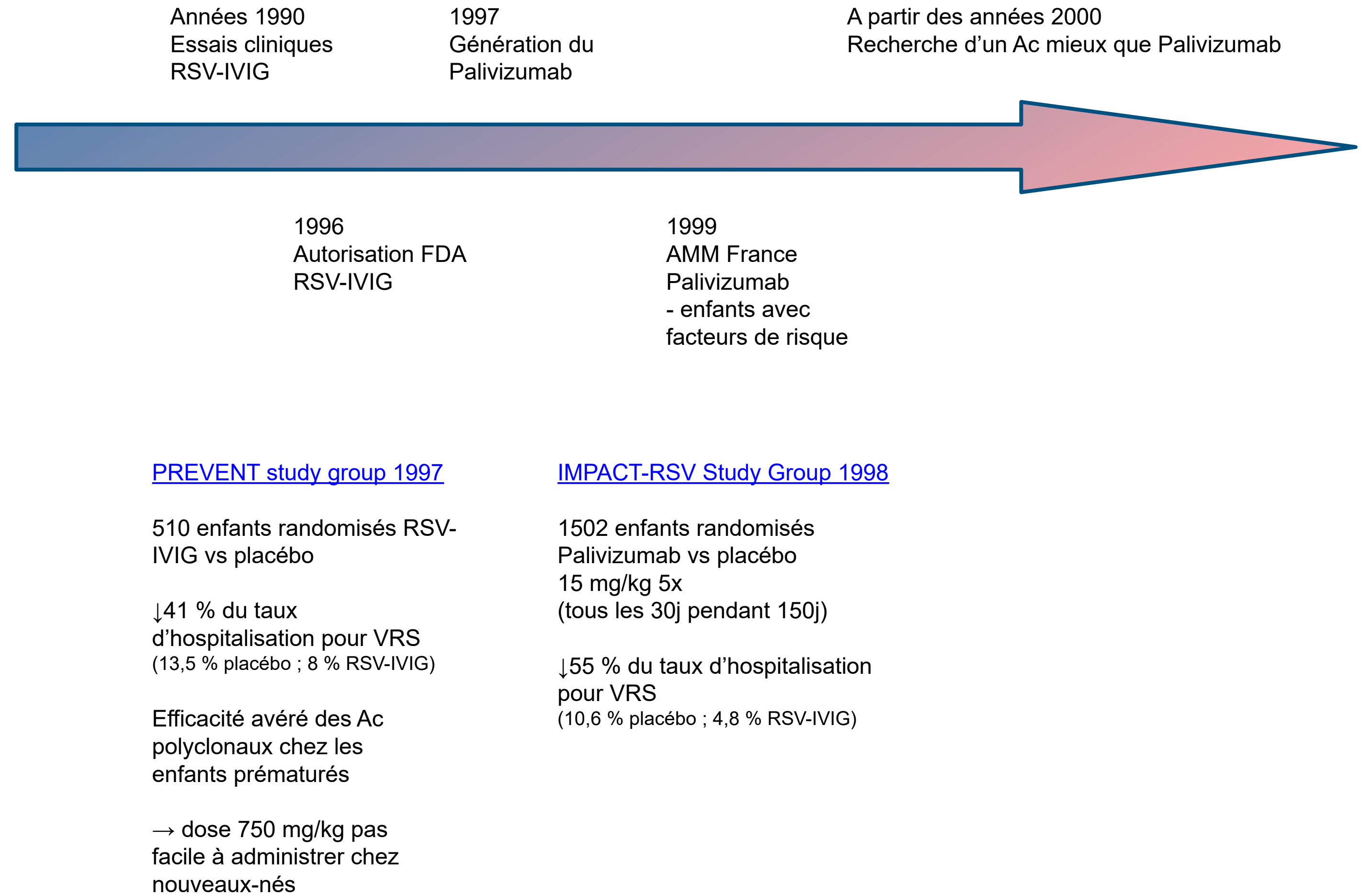
Attachement : G

Fusion : F

Principale cause de bronchiolite + hospitalisations chez les enfants

2ème cause de mortalité infantile (post-néonatale)

Risque majeure chez les enfants prématurés ou avec dysplasie broncho-pulmonaire



VRS / cibles moléculaires des mAb

Protéine G :

Fixation sur récepteurs (Heparan Sulfate ; CX3CR1)

Fortement glycosylée

Forte variabilité

→ pas une bonne cible pour immunoprophylaxie

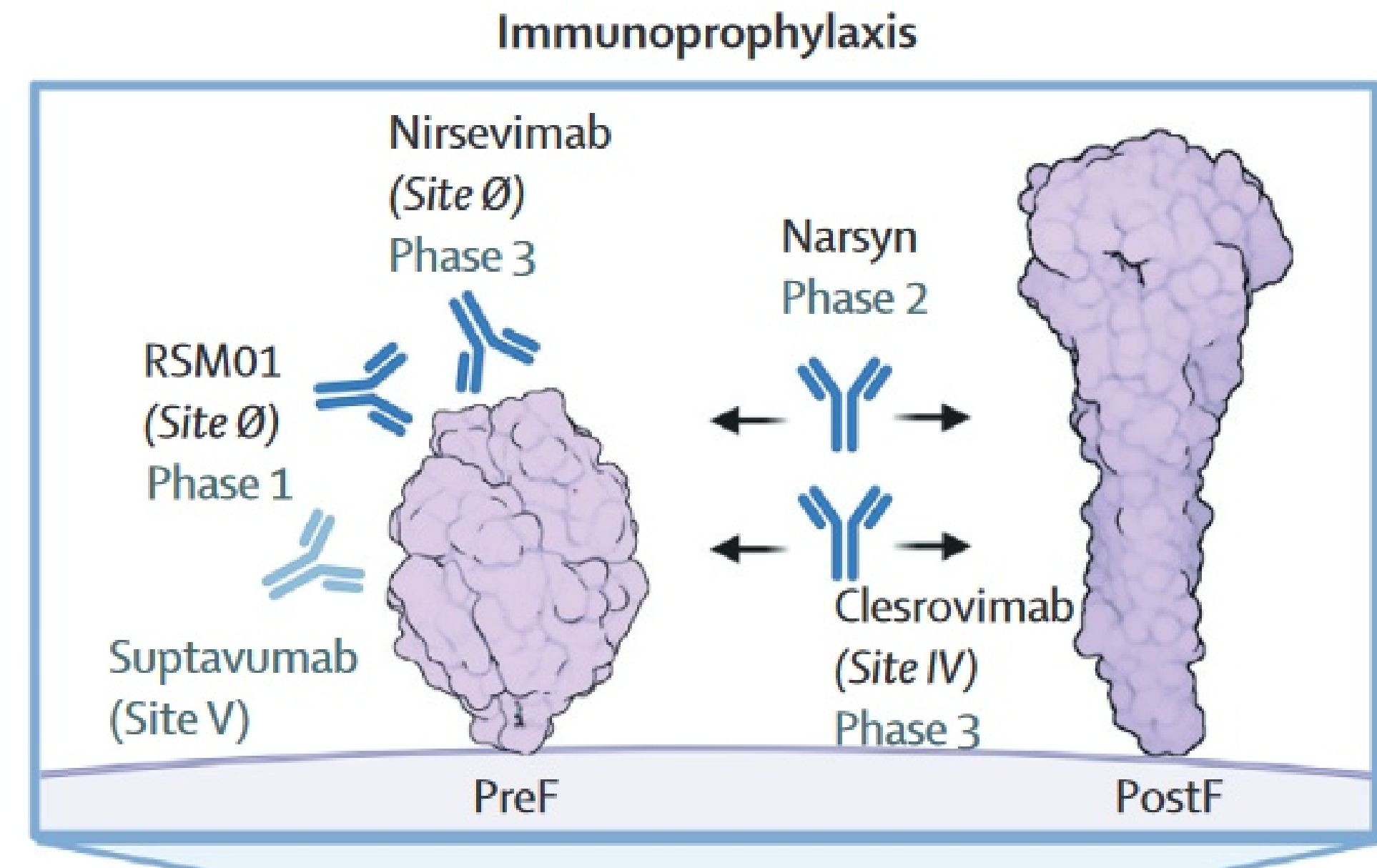
Protéine F :

Fusion membranaire après attachement

Conformations pre- et post-fusion

Séquence conservée

→ cible des mAb et des vaccins



[Mazur et al. 2023](#) PMID :35952703

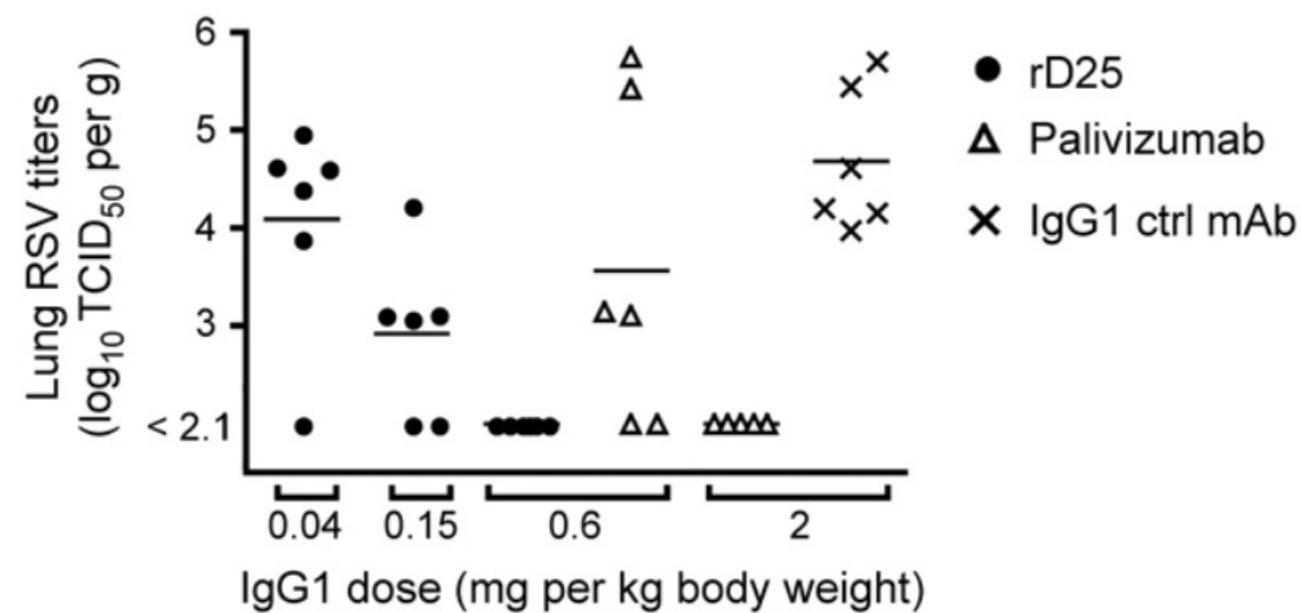
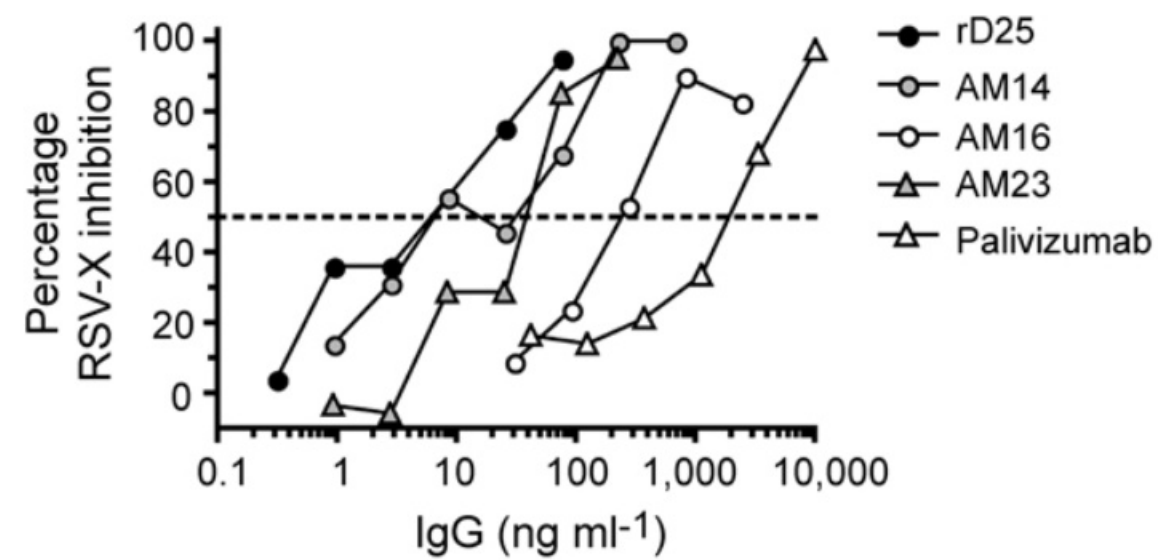
Site Φ – épitope reconnu par Palivizumab

VRS / développement et utilisation de Nirsevimab

1. Identification du mAb D25

[Kwakkenbos Nat.Med. 2010](#)

Cultures de pools de 100 Lympho B mémoires d'un donneur sain adulte (~4x10⁴ LB criblés)



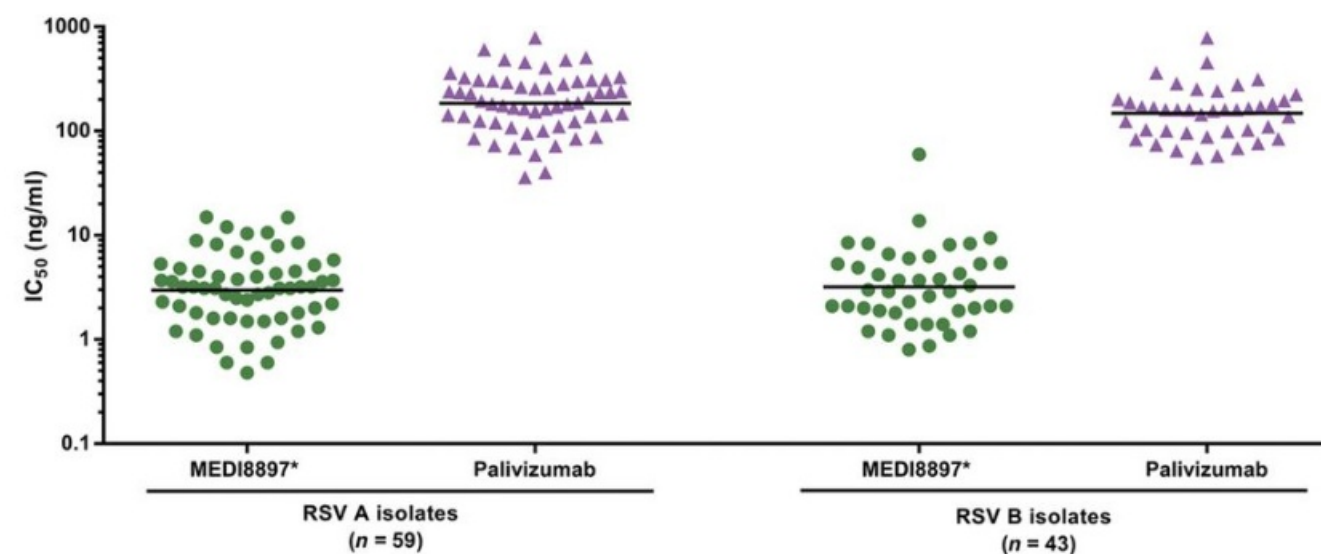
Effet protecteur in vivo : modèle "Cotton rat"

Antibodies were administered i.m. one day before intranasal challenge with RSV X (106 TCID₅₀/animal). Lung virus titers determined 5 days post challenge.

2. Amélioration du mAb D25

[Zhu et al. Sci. Trans. Med. 2017](#)

Cribler 1500 variantes du mAb D25 → Optimiser affinité + activité antivirale "MEDI8897*"



→ Ajouter mutations YTE (M252Y/S254T/T256E) au domaine Fc ↑ demi-vie sérique 2 à 4 fois par rapport l'anticorps d'origine

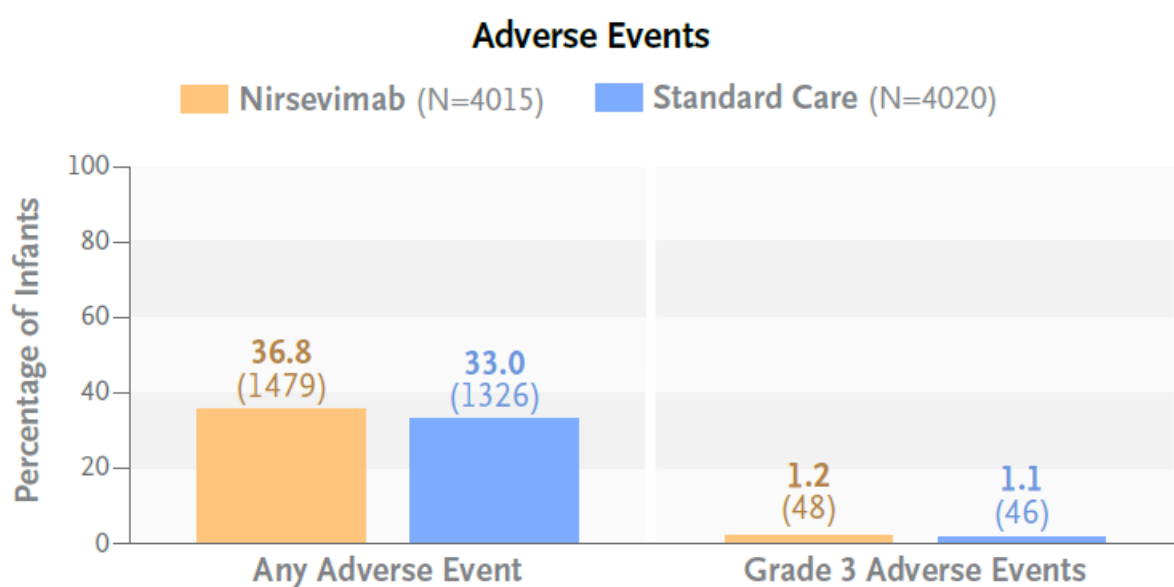
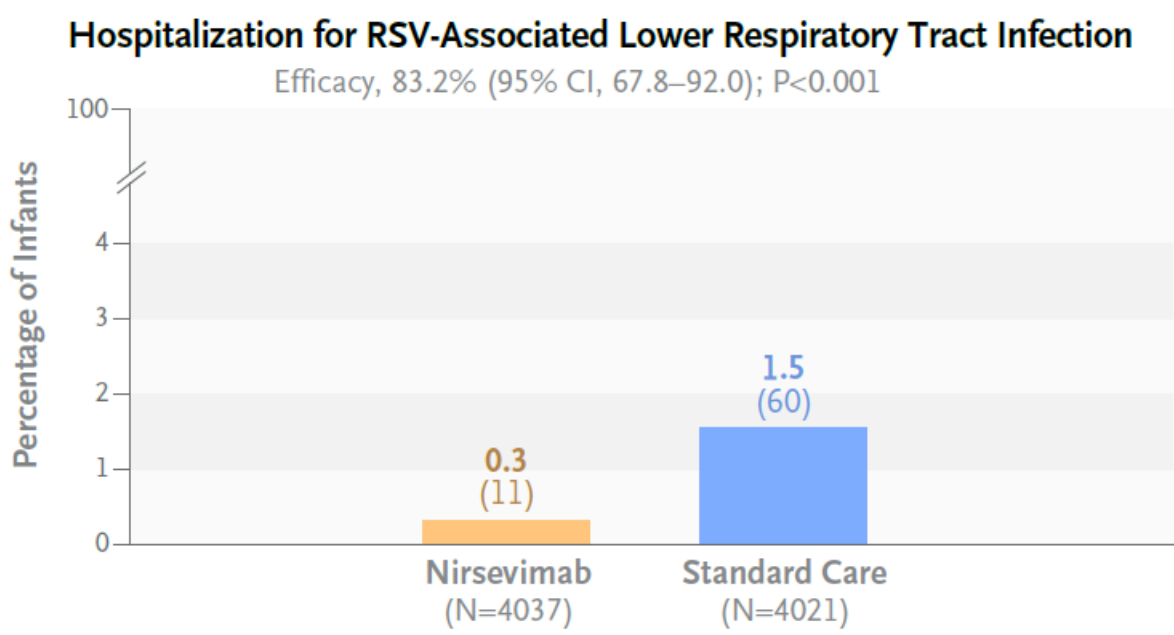
"MEDI8897" = Nirsevimab
Permettrait 1 seule dose

3. Essais cliniques (Phase III HARMONIE trial)

[Drysdale et al. NEJM 2023](#) PMID :38157500

Enfants <12 mois avant première saison VRS (08/08/22 – 28/02/23)
Allemagne/France/Royaume-Uni
Pas éligible ttt Palivizumab

1 seule dose (50 mg ou 100 mg)



VRS / situation actuelle

VRS en France

- touche environ 30 % des nourrissons tous les ans
- 480 000 cas / an !

Saison 2022-23, France hexagonale

- 73 000 passages aux urgences
- 26 000 hospitalisations



Beyfortus® (Nirsevimab)

Autorisé (et recommandé) pour tous les nouveaux-nés en France dès automne 2023

Commande initiale (Sanofi)

145 000 doses 5mg (nouveaux-nés)
55 000 doses 10 mg

+ 50 000 commandées fin Novembre car stocks épuisés !

Coût par dose en France pas divulgué

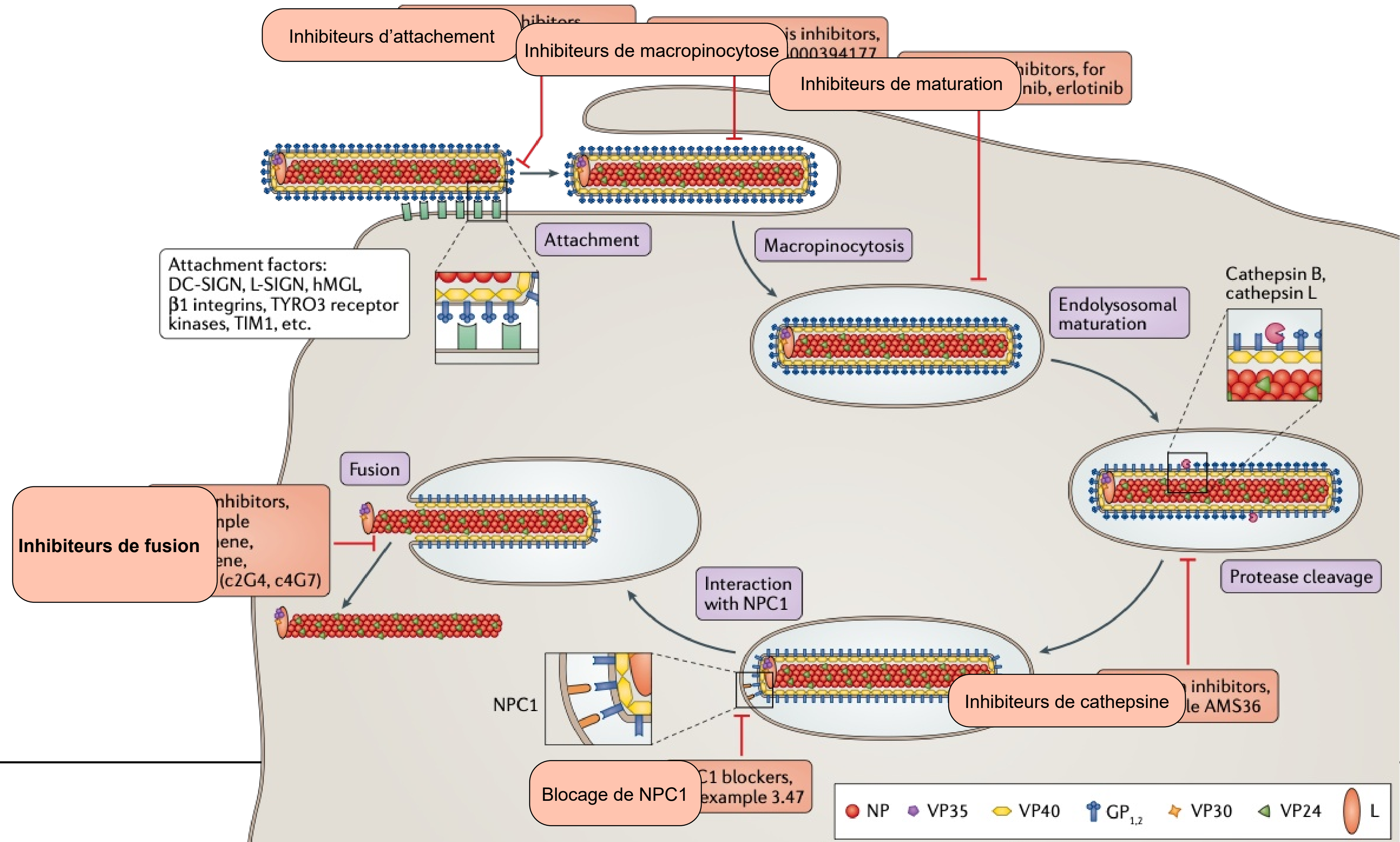
- USA 495 US\$ / dose
.... on peut imaginer ordre de grandeur 10^2 €/dose

$6,78 \times 10^5$ naissances en 2023
→ coût d'environ 100 M€/an couverture globale?

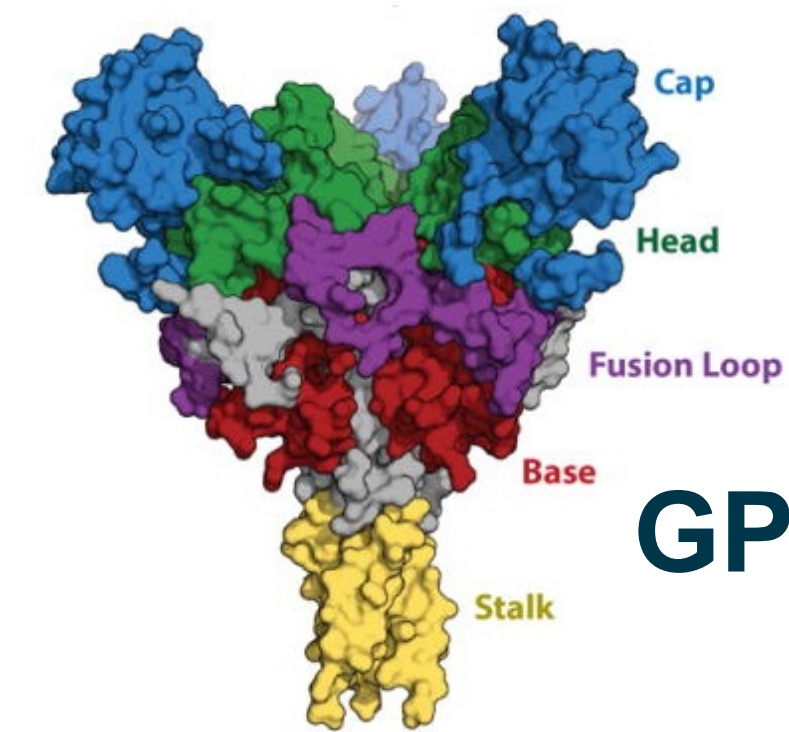
Consulte aux urgences coût estimé 150–200€

Coût hospitalisation env. 1400€/jour (durée moyenne 3-4 jours pour un bronchiolite)

Virus Ebola Zaire (ZEBOV): cibles thérapeutiques/entrée



ZEBOV: AcM thérapeutiques



- **ZMapp**
- Cocktail de 3 AcM dirigés contre la GP
- 2 Ac neutralisants. Blocage du changement conformationnel de GP nécessaire à la fusion
- 1 non neutralisant. Facilitation ADCC?
- **MAb 114**
- Dérivé de cellule B mémoire d'un survivant
- Activité neutralisante ++. Se lie à une région conservée de la GP, inhibe l'interaction avec le récepteur NCP-1 dans les endosomes tardifs. Se fixe également à sGP
- Activité ADCC également
- **REGN-E3**
- Cocktail de 3 AcM obtenus par immunisation de souris humanisées
- Les 3 AC se lient à des épitopes différents de la GP → diminue le risque d'échappement
- Plusieurs modes d'action associés: neutralisante + ADCC + ADCP / non neutralisante + ADCC + ADCP + liaison sGP / neutralisante seule

Ebola Virus _ AcM thérapeutiques

3. Essai clinique pendant l'épidémie DRC 2018-19

[Mulangu et al. NEJM 2023](#) PMID :31774950

Tout patient avec RT-PCR +ve
Randomisé 1:1:1:1 entre différents
thérapeutiques (n=681)
→ pas de groupe placebo !

Zmapp : 50 mg/kg 3 doses

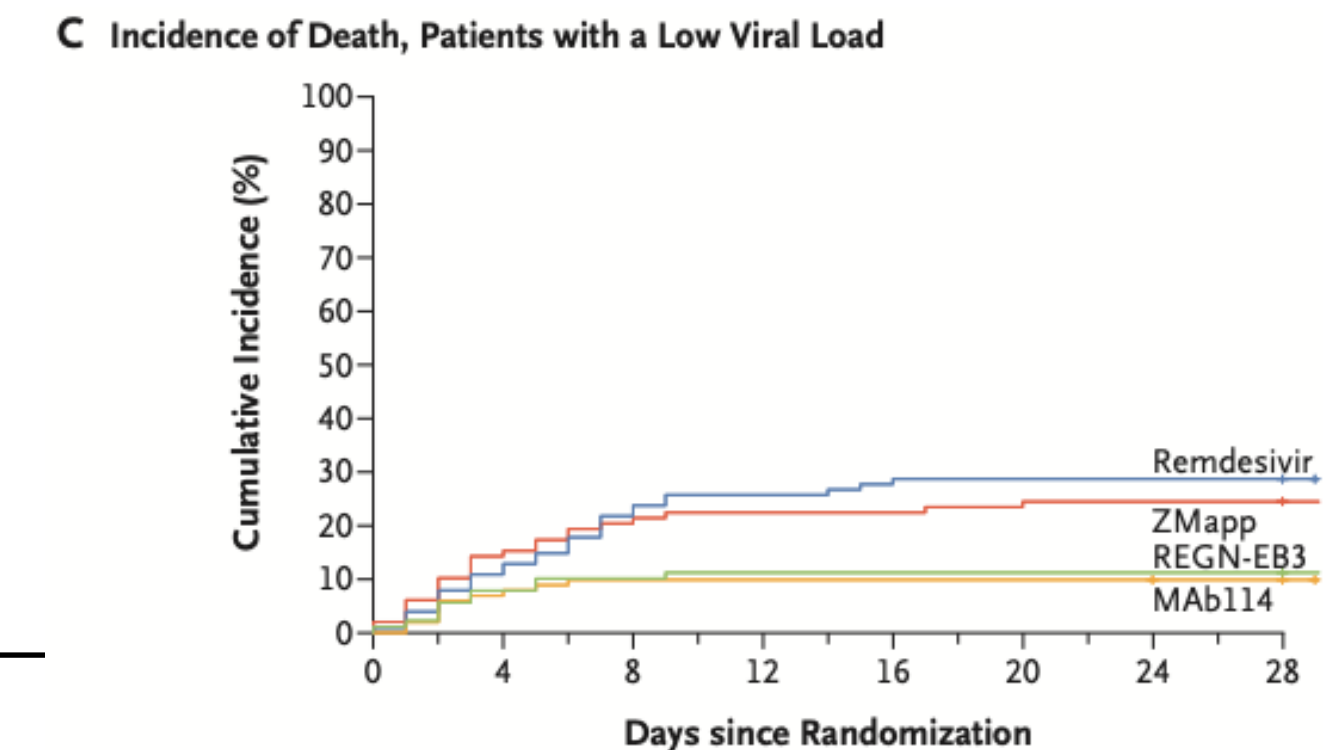
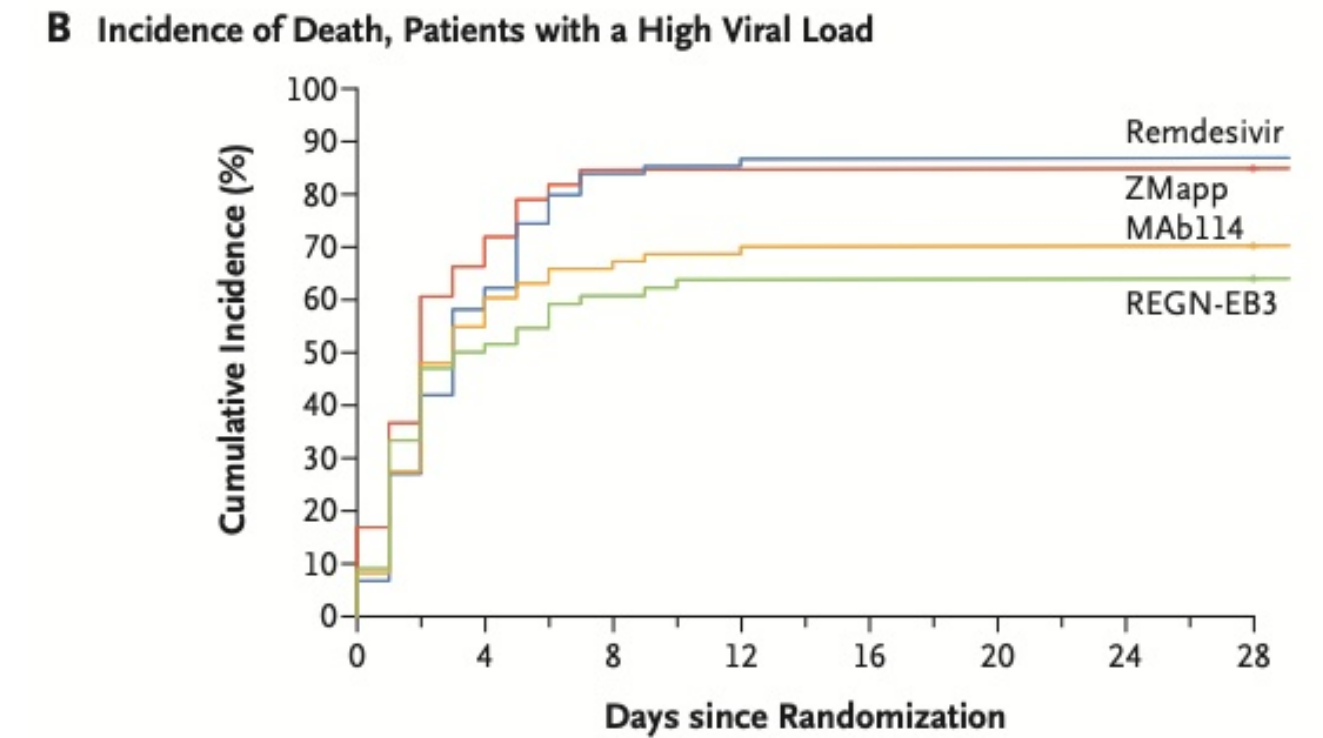
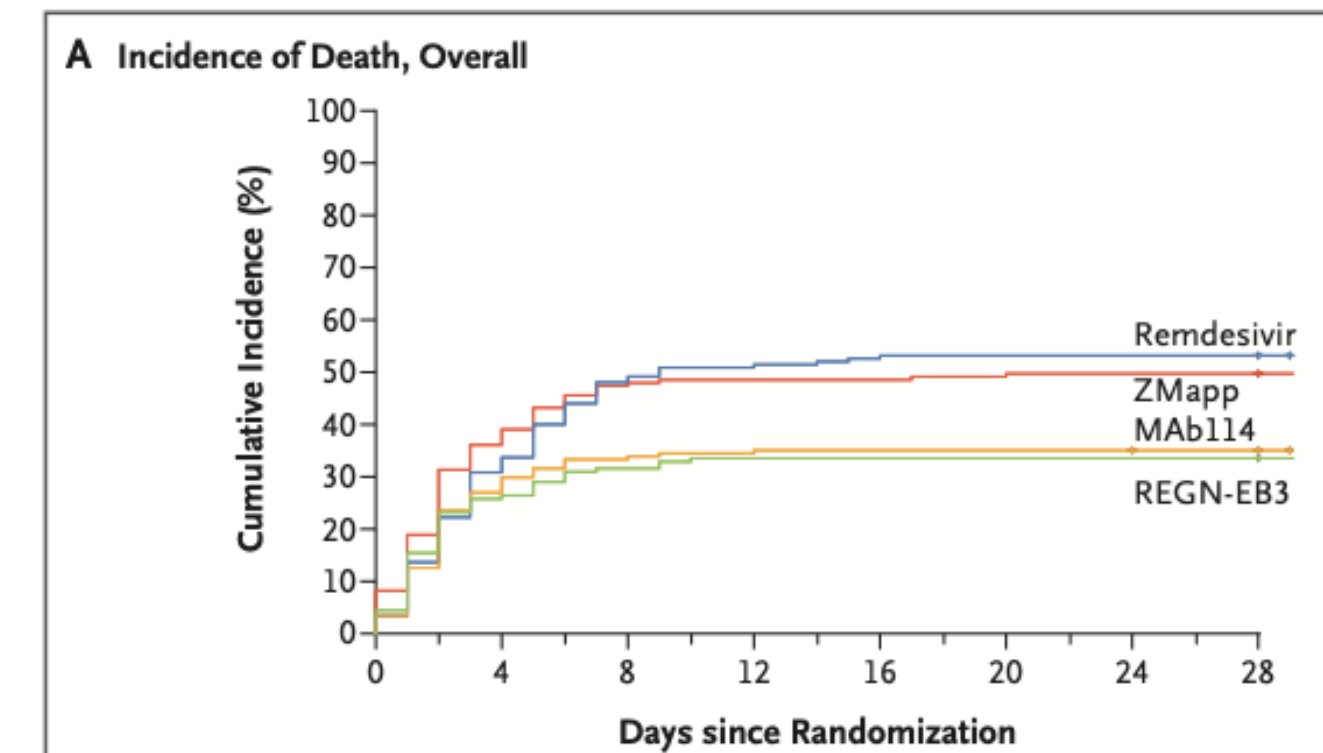
MAb114 : 50 mg/kg 1 dose

REGN-EB3 :150 mg/kg 1 dose

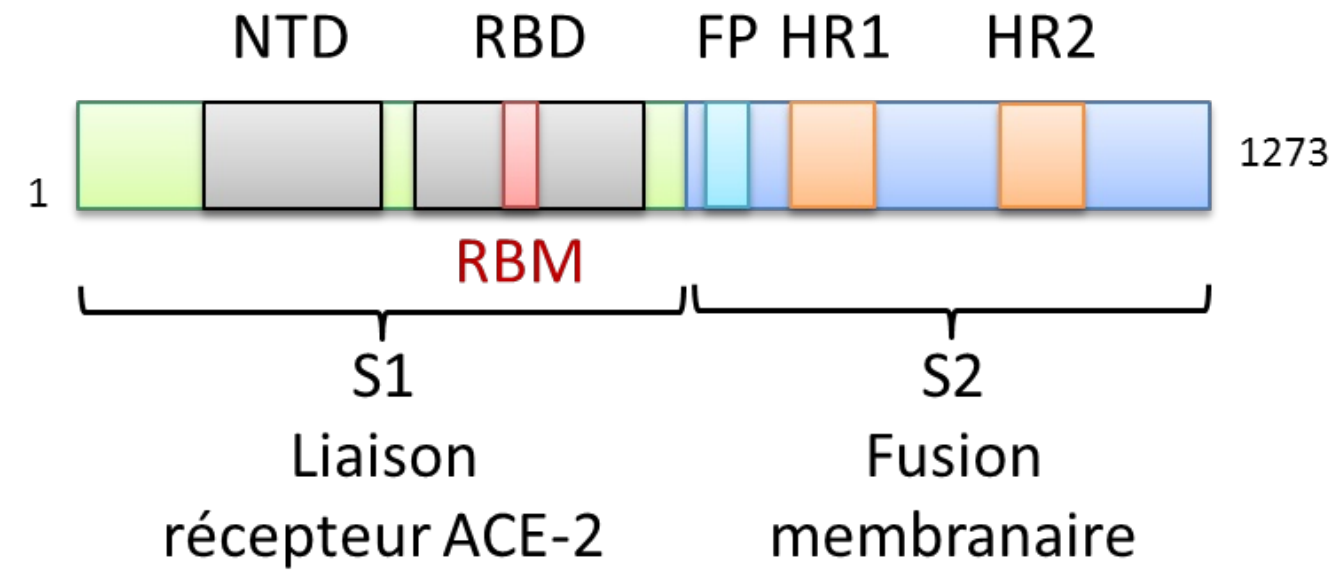
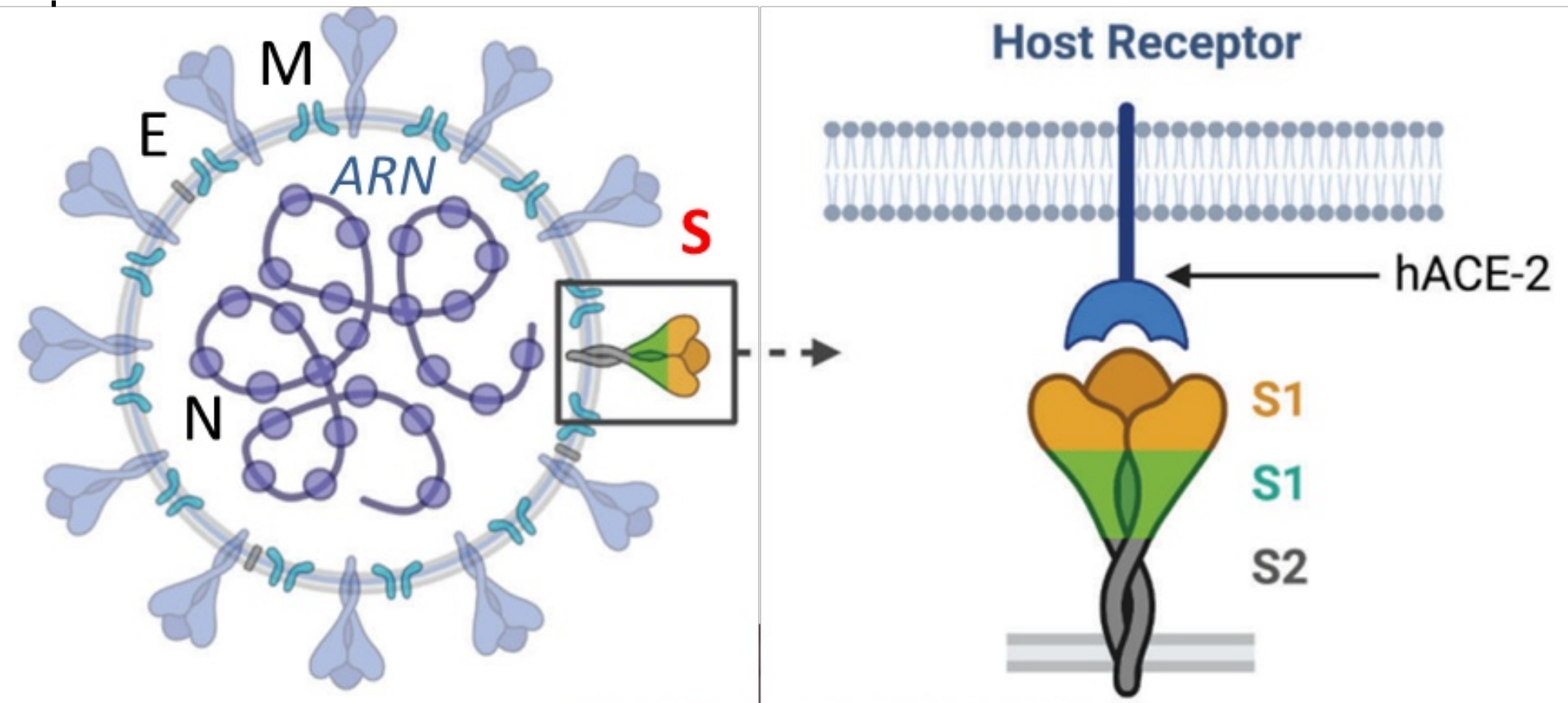
End-point : mortalité à 28j

- Efficacité partielle, plus efficace si administré tôt, charge virale faible

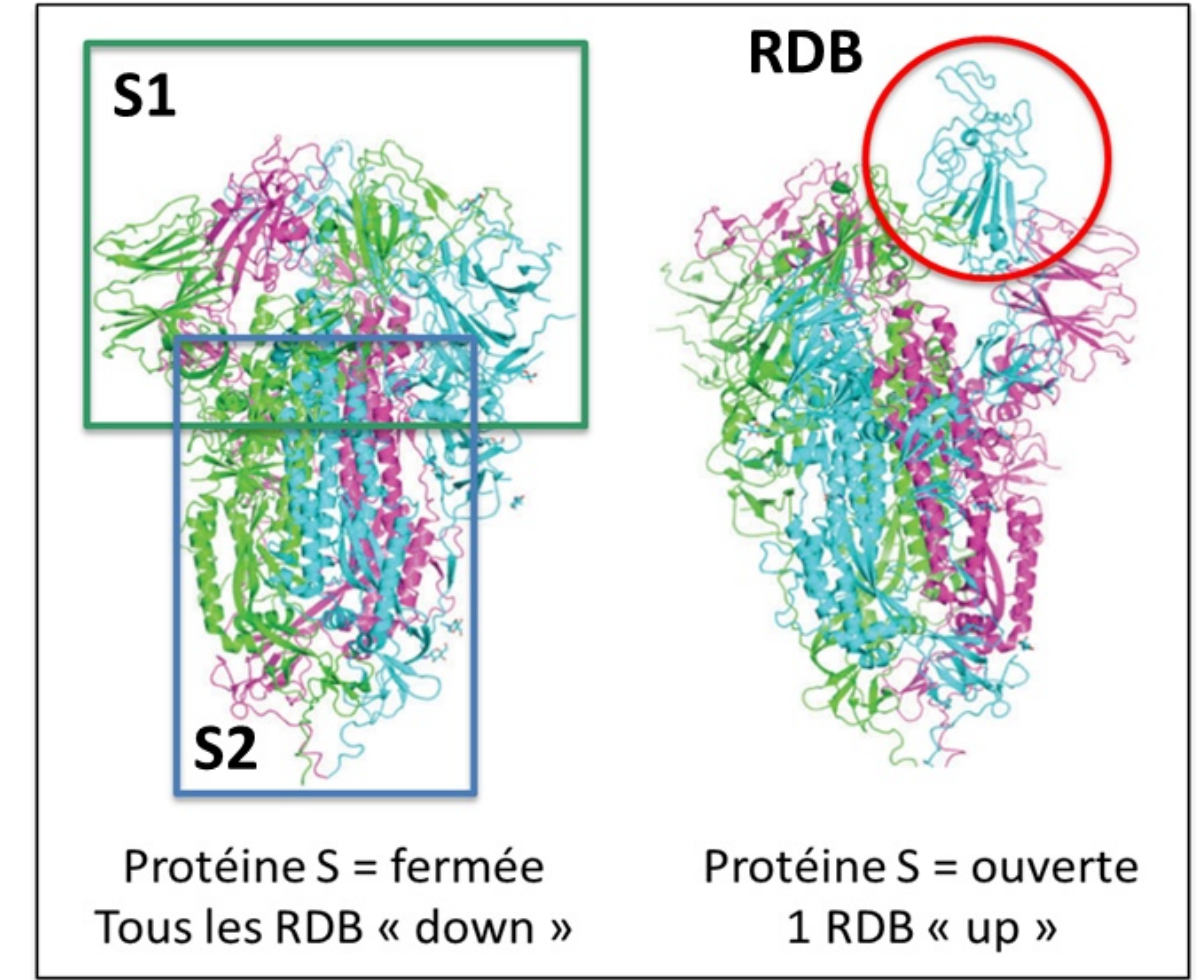
REGN-EB3, MAb114 > ZMApp



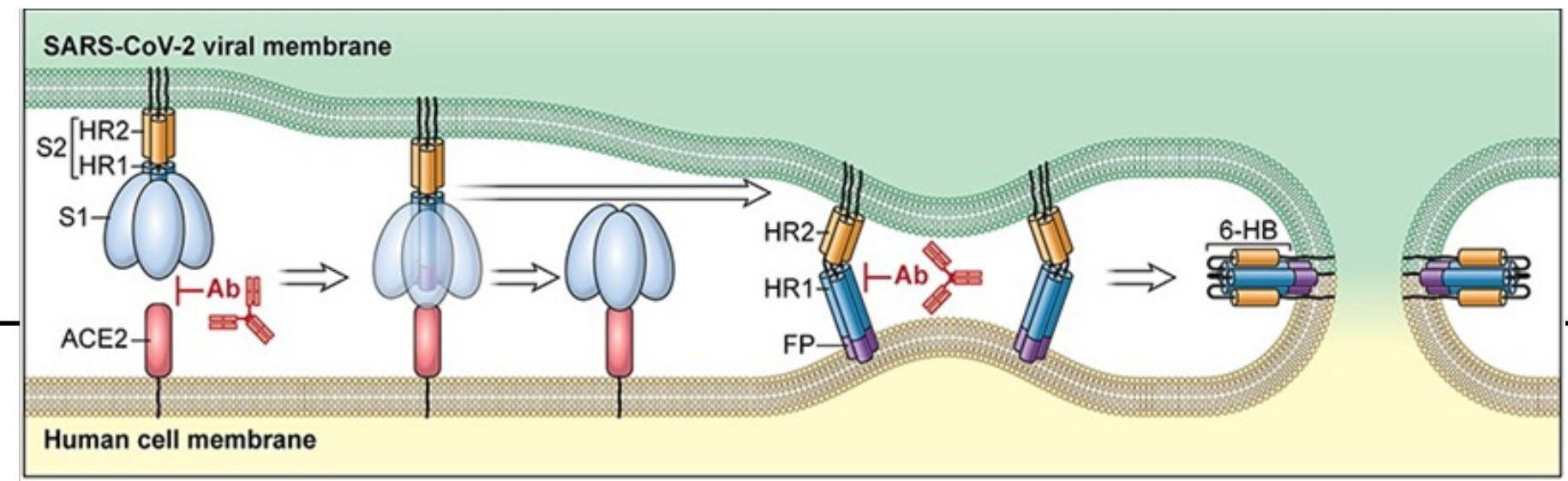
La cible virale des Ac anti-SARS CoV2 = protéine S



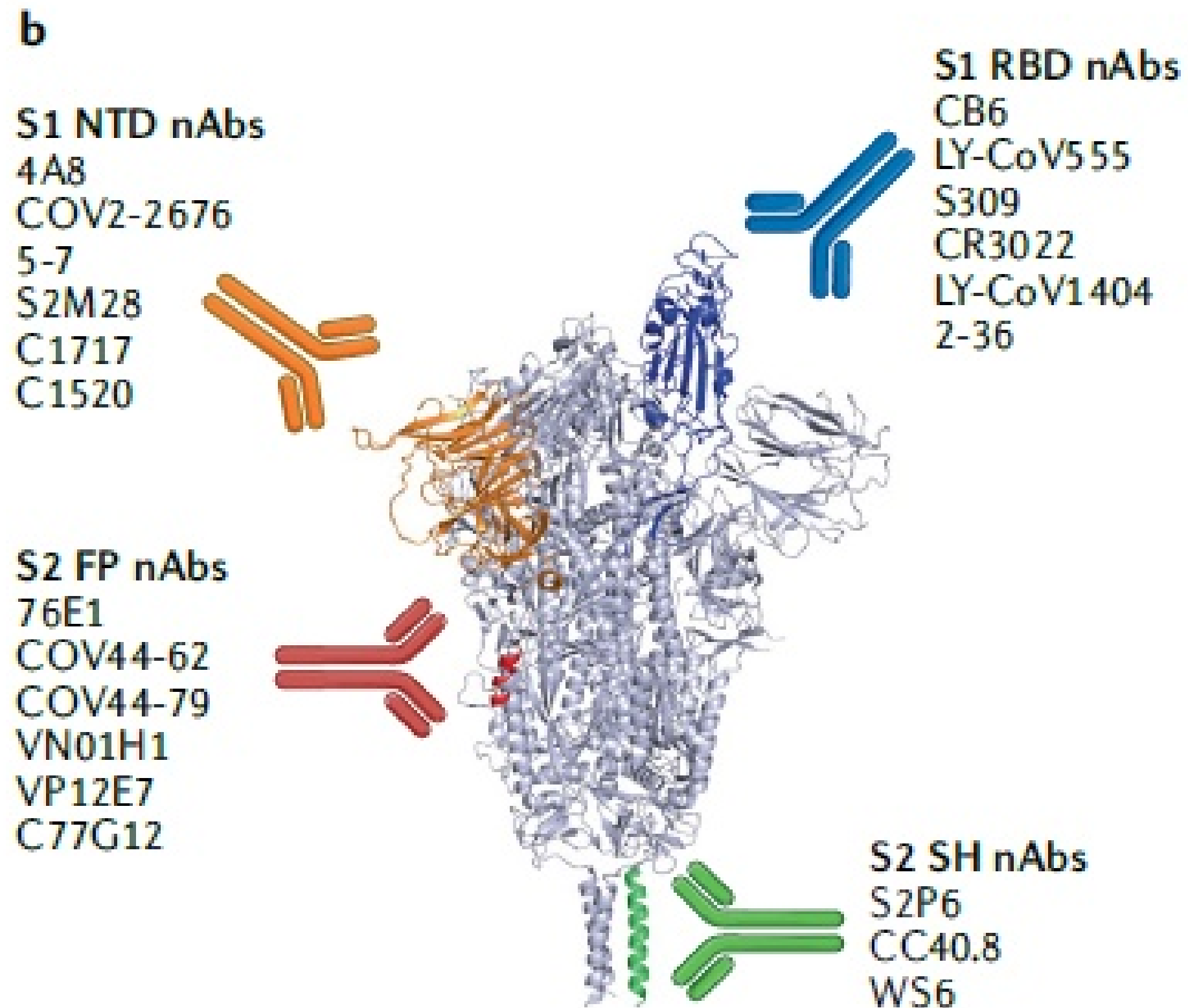
Protéine glycosylée
NTD = N terminal domain (amino-acides 13-303)
RBD = receptor-binding domain (aa 319-541)
RBM = receptor-binding motif (aa 437-508)
HR = hepta-repeats (aa 920-970 et 1163-1208)
FP = peptide de fusion



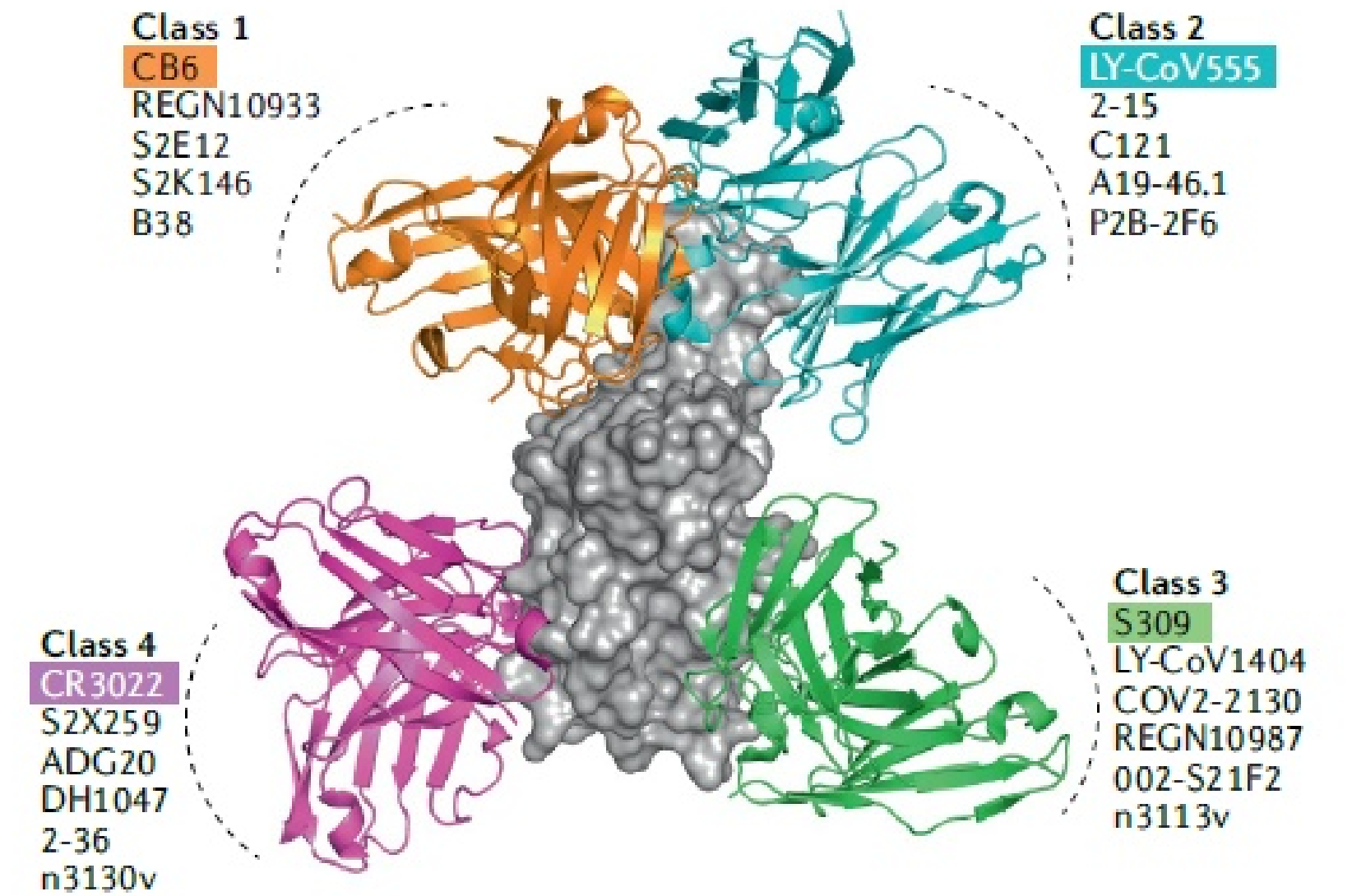
Conformation « up » du RBD nécessaire pour liaison à ACE-2



Epitopes neutralisants sur la glycoprotéine S



4 classes of RBD NAbs defined by Cryo-EM study of spike-Ab complexes ([Barnes et al. Nature 2020](#))
Pam Bjorkman lab, CalTech



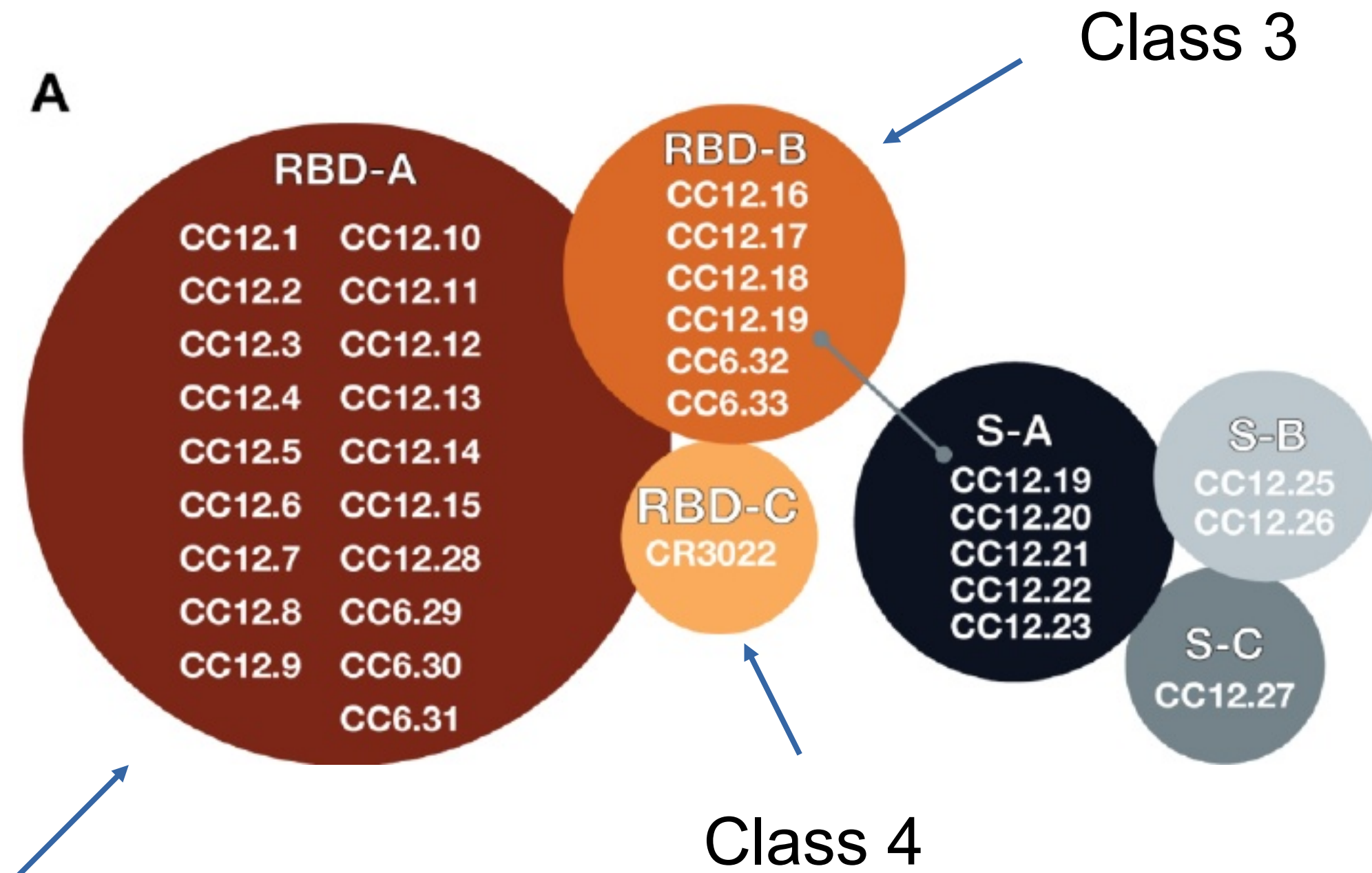
Quatre zones cibles sur la Spike

Image credits :
[Chen et al. Nat. Rev. Immunol. 2022](#)

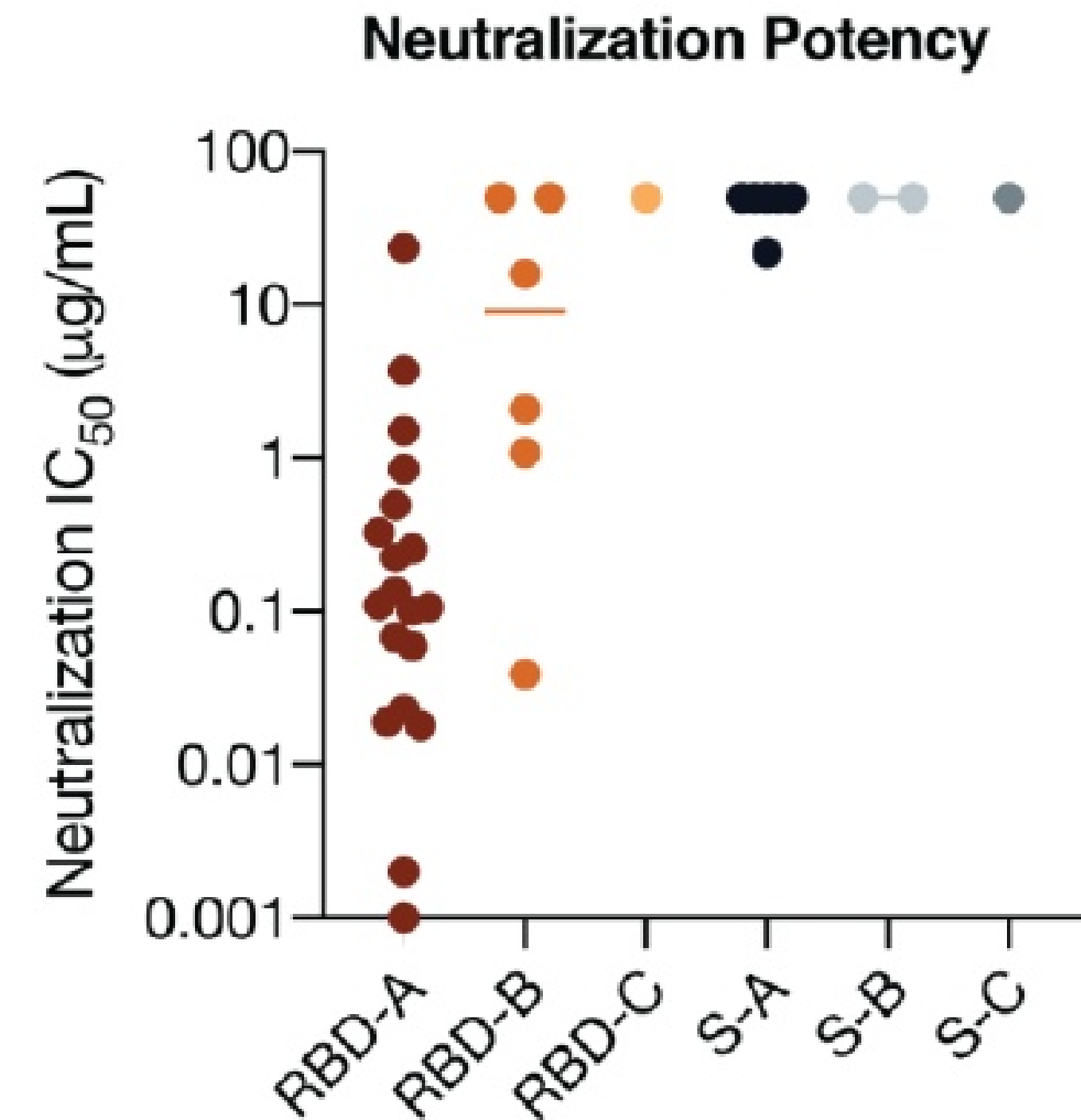
Class	Overlaps ACE2 binding site ?	Conformation RBD
1	Yes	Up
2	Yes	Up / Down
3	No	Up / Down
4	No	Up

Pouvoir neutralisant des mAb visant différentes régions de la Spike

Tri de lympho B par des trimer de Spike trimers – tester neutralisation
[Rogers et al.](#) Science (Burton lab, Scripps, La Jolla)



Compete with ACE2 :
 Class 1 and 2 NAb



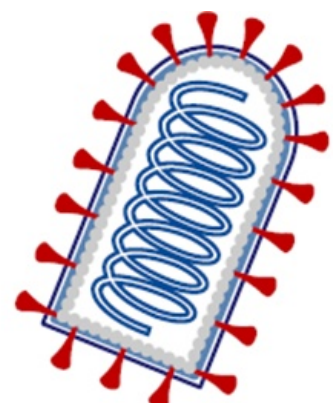
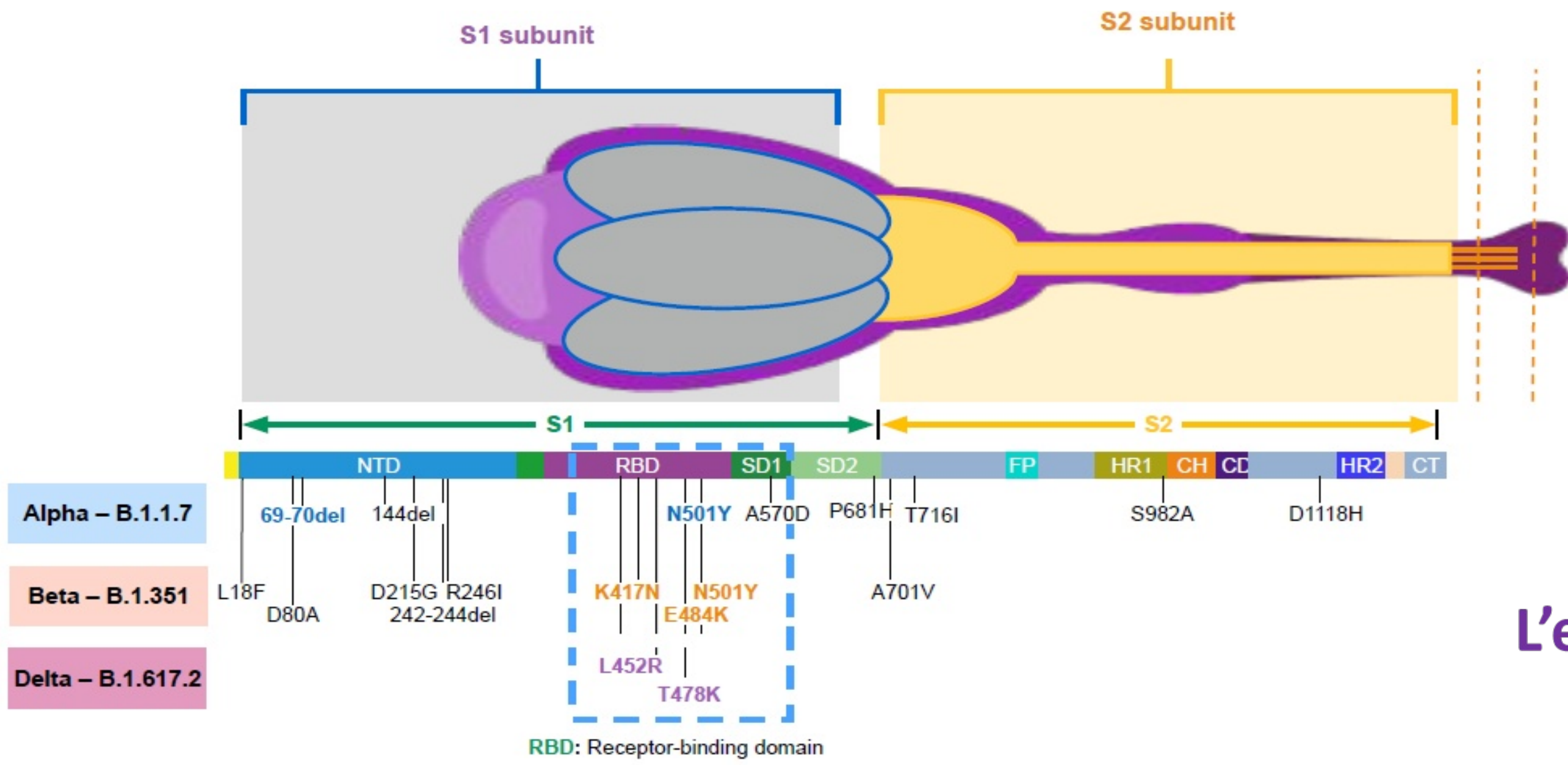
NAb RBD de classe 1 et 2 sont les plus puissants

MAb anti-SARS-CoV2 autorisés en Sept. 2021

Commercial name	Antibody	Class	Company	Efficacité pré-Omicron
Casirivimab	REGN10933	RBD 1	Regeneron	↓ mortalité de 55 % chez les patients séronégatifs hospitalisés (RECOVERY) PMID : 35895508
Imdevimab	REGN10987	RBD 3	Regeneron	
Cilgavimab	COV2-2130	RBD 3	AstraZeneca	↓ 50 % Covid sévère ou décès chez patients ambulatoires (TACKLE) PMID : 35688164
Tixagevimab	COV2-2196	RBD 1	AstraZeneca	
Bamlanivimab	Ly-CoV555	RBD 2	Eli Lilly	↓ 70 % Covid sévère ou décès chez patients ambulatoires avec facteurs de risque. (BLAZE-1) PMID : 34260849
Etesevimab	Ly-CoV016	RBD 1	Eli Lilly	
Sotrovimab	S309	RBD 3	GSK / Vir Biotech	↓ 80 % Covid sévère ou décès chez patients ambulatoires avec facteurs de risque. (COMET-ICE) PMID : 35285853
Regdanvimab	CT-P59	RBD 1	Celltrion	

Data in : [Kumar et al. PloS Pathogens 2021](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008201)

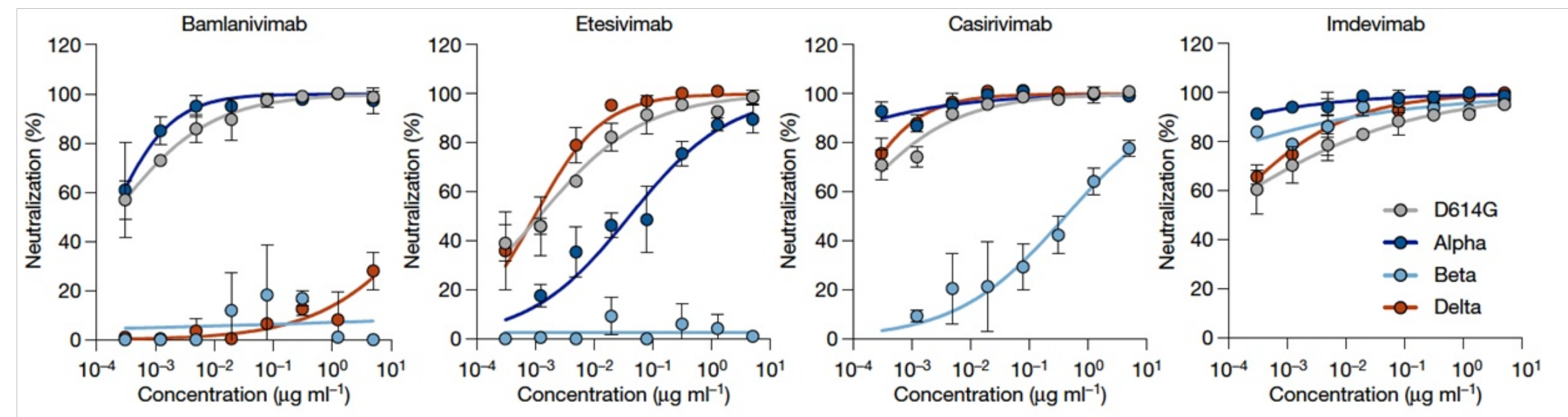
Evolution génétique du SARS CoV-2 et échappement aux anticorps



- Virus entier SARS-CoV-2
 - Laboratoire de sécurité P3
 - Etude liaison et neutralisation

- Pseudovirus exprimant S
 - Simple / multiple mutants
 - Etude liaison et neutralisation

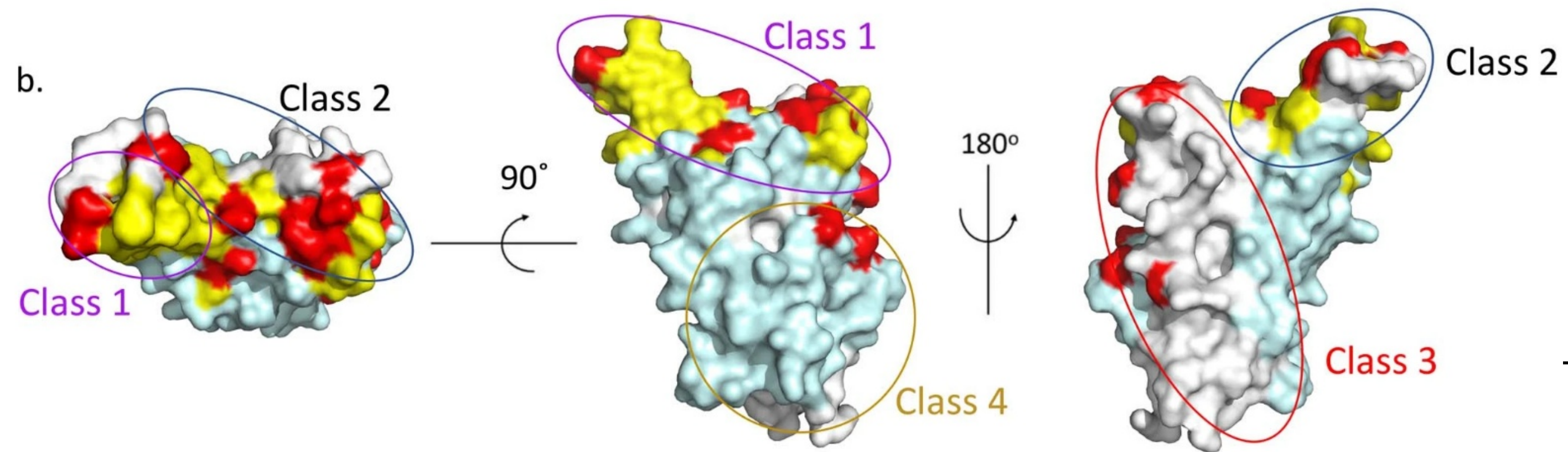
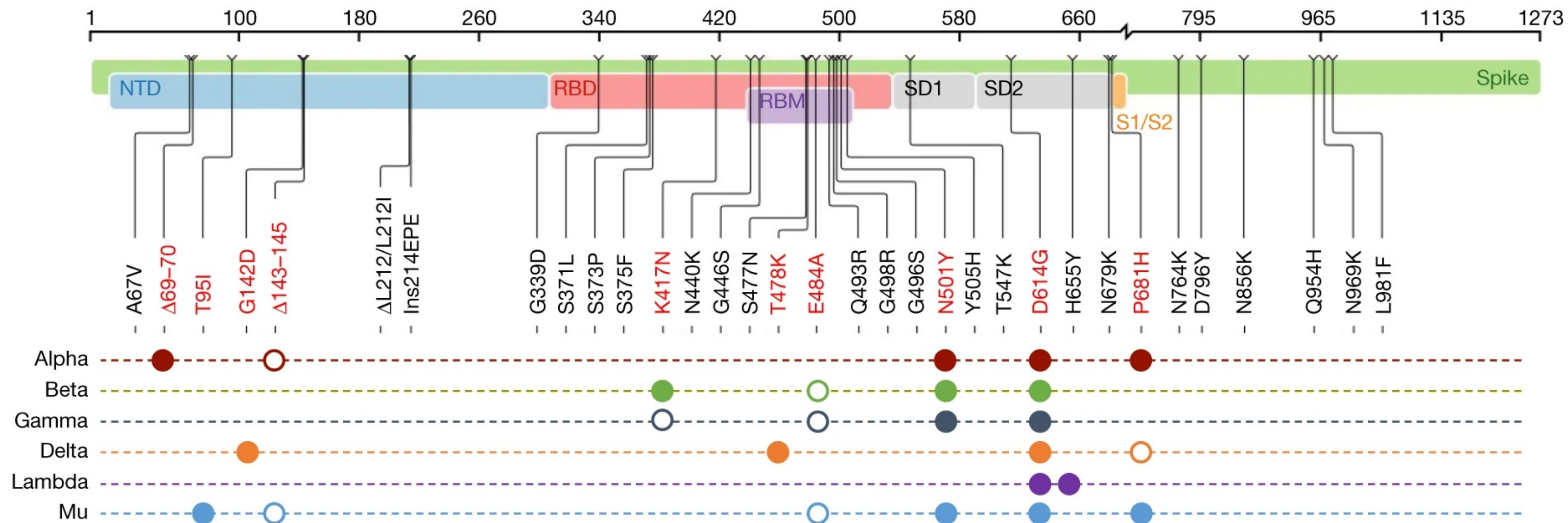
L'efficacité des mAbs anti-SARS-CoV-2 sur les VOC ...



○ D614G	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
● Alpha	Sensible	↑ IC ₅₀ de 200x	Sensible	Sensible
○ Beta	Résistant	Résistant	Résistant	Sensible
● Delta	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible

Variant Omicron du SARS CoV-2 : pourquoi il échappe à la réponse AC?

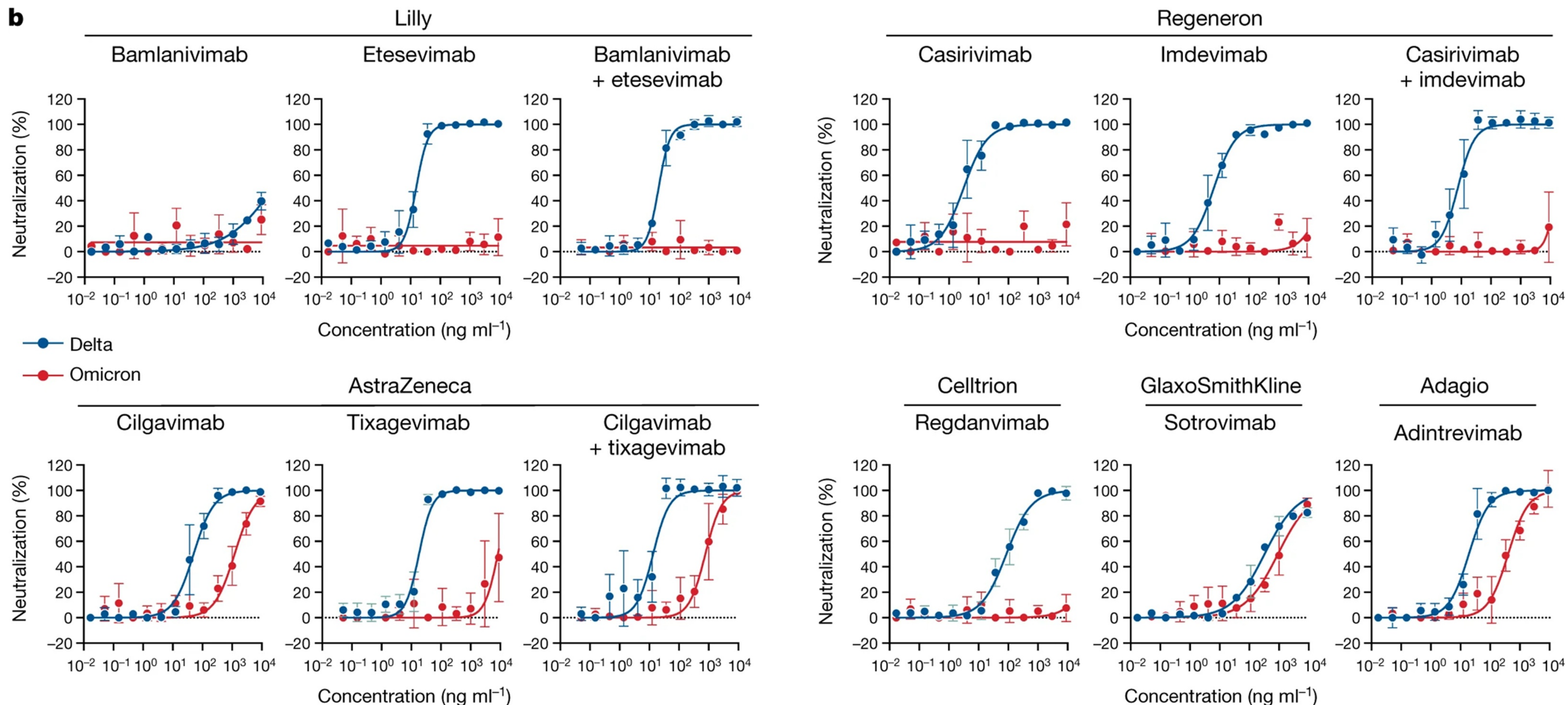
Omicron (BA.1), EPI_ISL_6794907.2



Data from
[Planas et al. Nature 2022](#)
PMID: 35016199

- ACE2 Binding site
- Mutated in Omicron

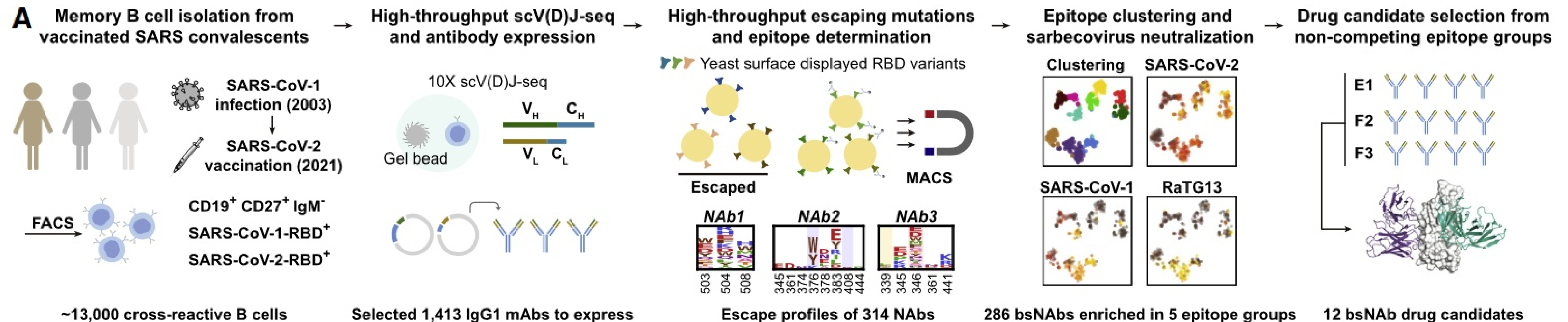
Variant Omicron du SARS CoV-2 : échappement aux anticorps monoclonaux



Quelle est la particularité de Sotrovimab ?

S309 (Sotrovimab) isolé à partir de lympho B mémoires d'un patient infecté par le SARS-CoV-1 en 2003 ([Pinto et al Nature 2020](#)) : réactivité croisée avec SARS-CoV2

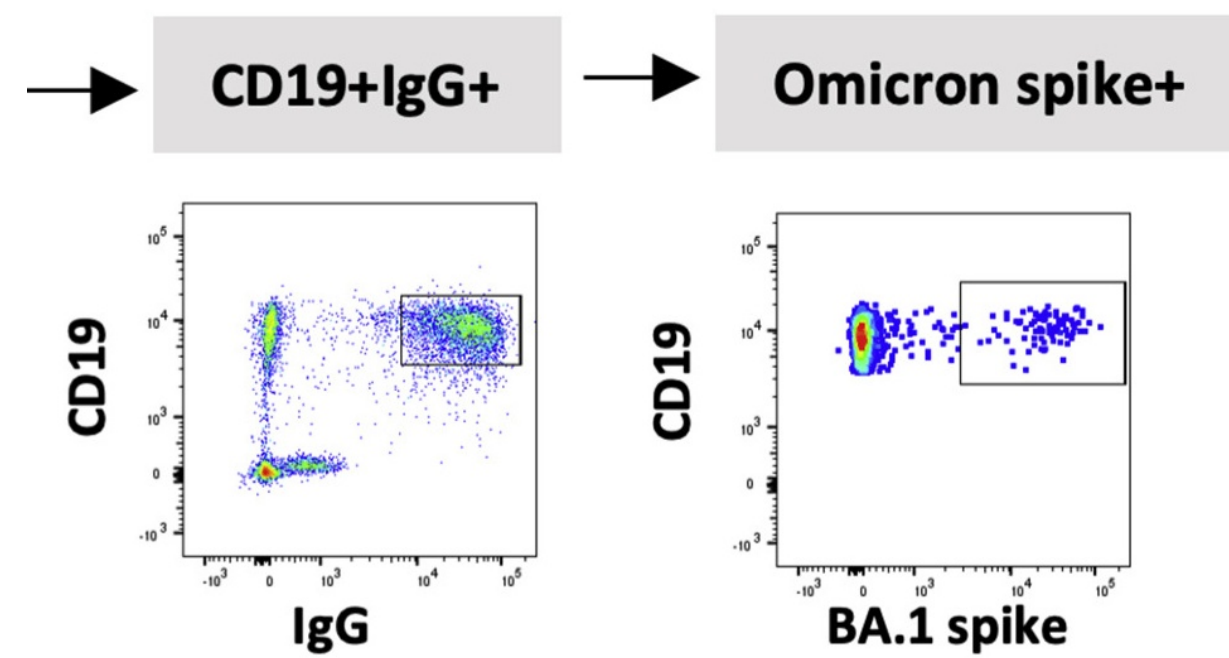
SA55 isolé à partir de lympho B mémoires d'un patient infecté par le SARS-CoV-1 en 2003, puis vacciné contre le SARS-CoV-2 ([Cao et al. Cell Reports 2022](#))



E7 isolé à partir de lympho B mémoires d'un patient SARS-CoV-1 en 2003, vacciné contre le SARS-CoV-2 ([Chia et al. Science Advances 2023](#) - équipe différente avec la même idée !)

Anticorps neutralisant SARS-CoV2 post-Omicron

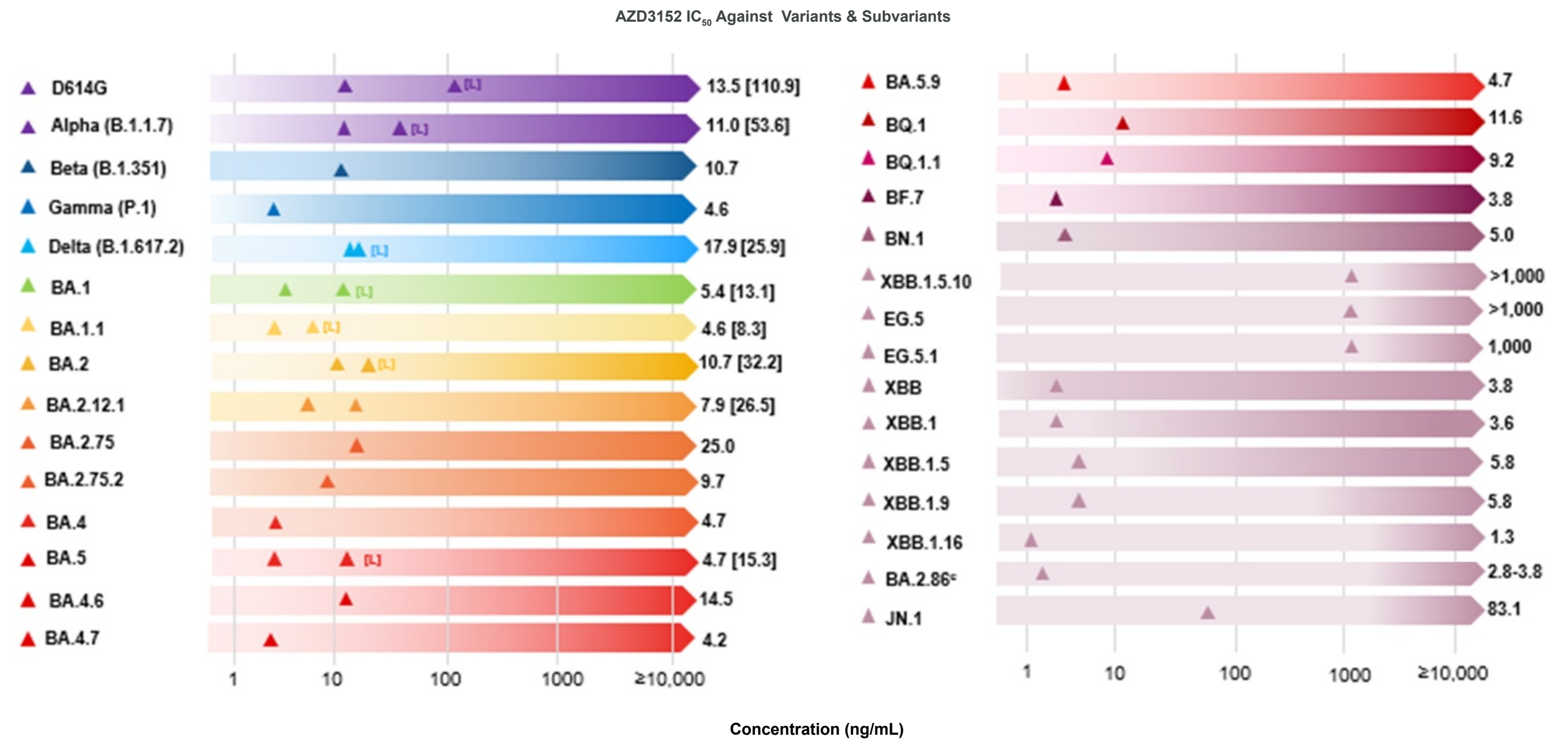
AZD2152 (aniticorps Omi-42) isolé à partir de lympho B mémoires d'un donneur vacciné contre SARS-CoV-2, puis infecté par Omicron, fin 2021 ([Nutralai et al Cell 2022](#))



Panel de 545 mAb

- 28 neutraliseurs forts
- Om-42 / AZD2152

AZD3152 demonstrates potent neutralizing activity against all historic, and several emerging SARS-CoV-2 variants in vitro, including BA.2.86, but exhibits reduced activity against variants with a F456L mutation. The degree of F456L-induced escape from AZD3152 is variant-dependent^{1-4,a}



Points importants

- les anticorps dirigés contre les protéines virales de surface peuvent inhiber l'entrée du virus dans les cellules cibles
- production **d'anticorps neutralisants protecteurs** au cours de l'infection
- **échappement** possible des virus à l'action des AC par variabilité génétique
- utilisation pour le **diagnostic sérologique**
- induction d'une protection par **vaccination**
- **protection passive par injection d'Ig** d'origine humaine
- production d'**AC monoclonaux**