

Interactions virus - cellules:

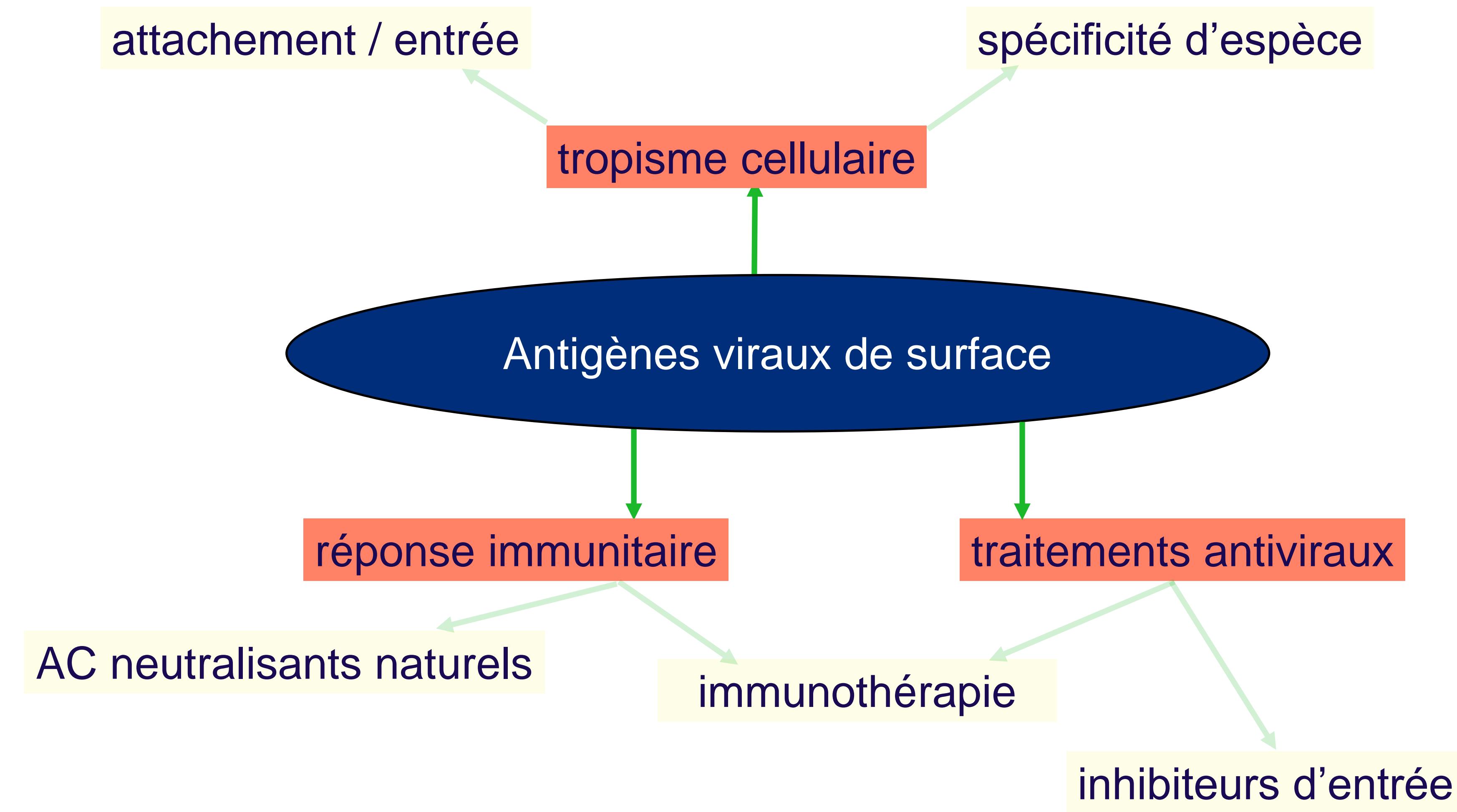
Antigènes viraux, anticorps antiviraux

Dr Céline Bressollette-Bodin

Virologie
UE Microbiologie
M1 BS 2022-2023

Plan du cours

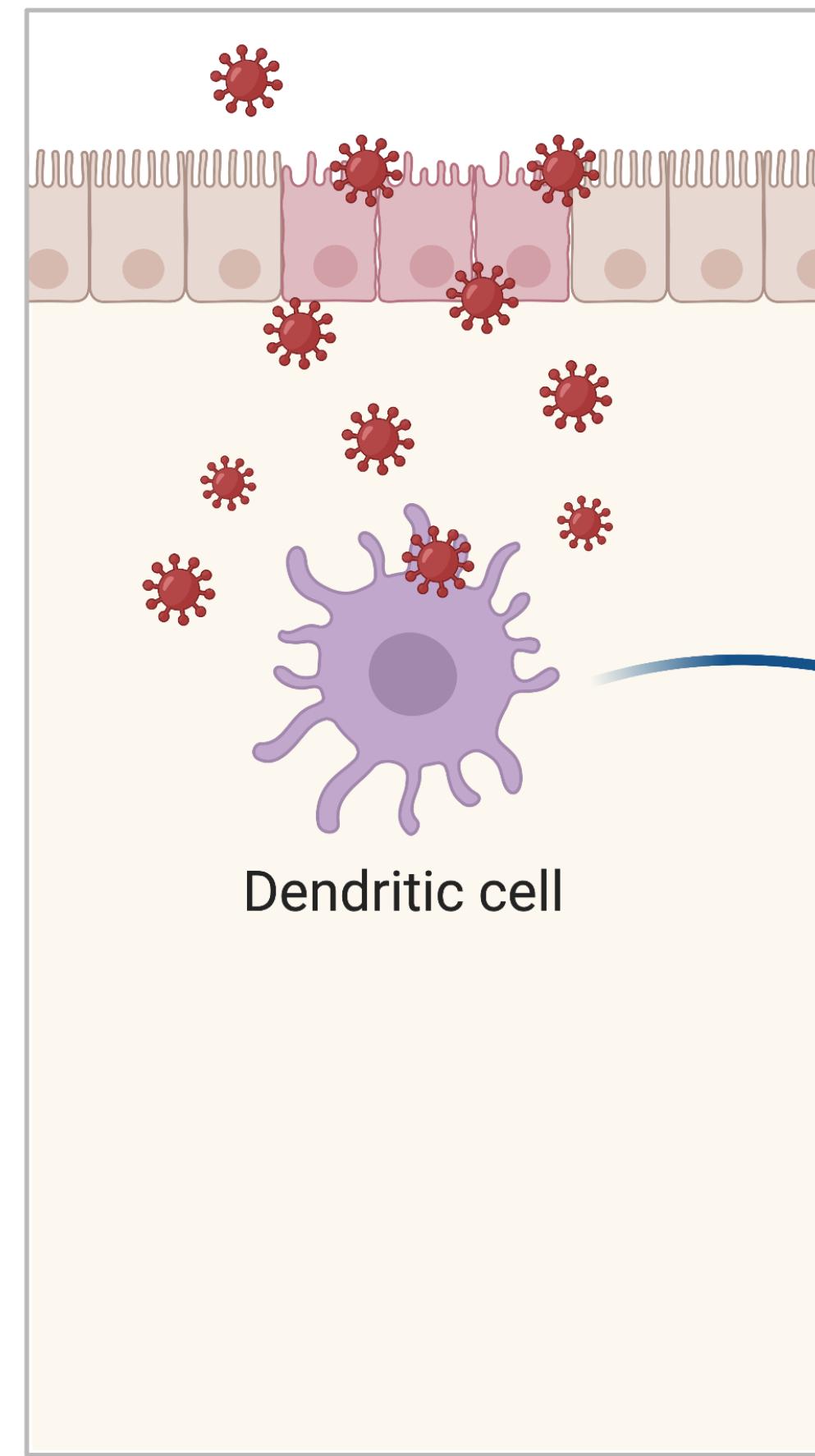
- Rappels: la réponse humorale dans les réponses antivirales
- Les antigènes viraux cibles des anticorps
- Les tests de séroneutralisation, à quoi ça sert?
- Les anticorps pour prévenir et traiter les infections virales
- Échappement viral à la neutralisation



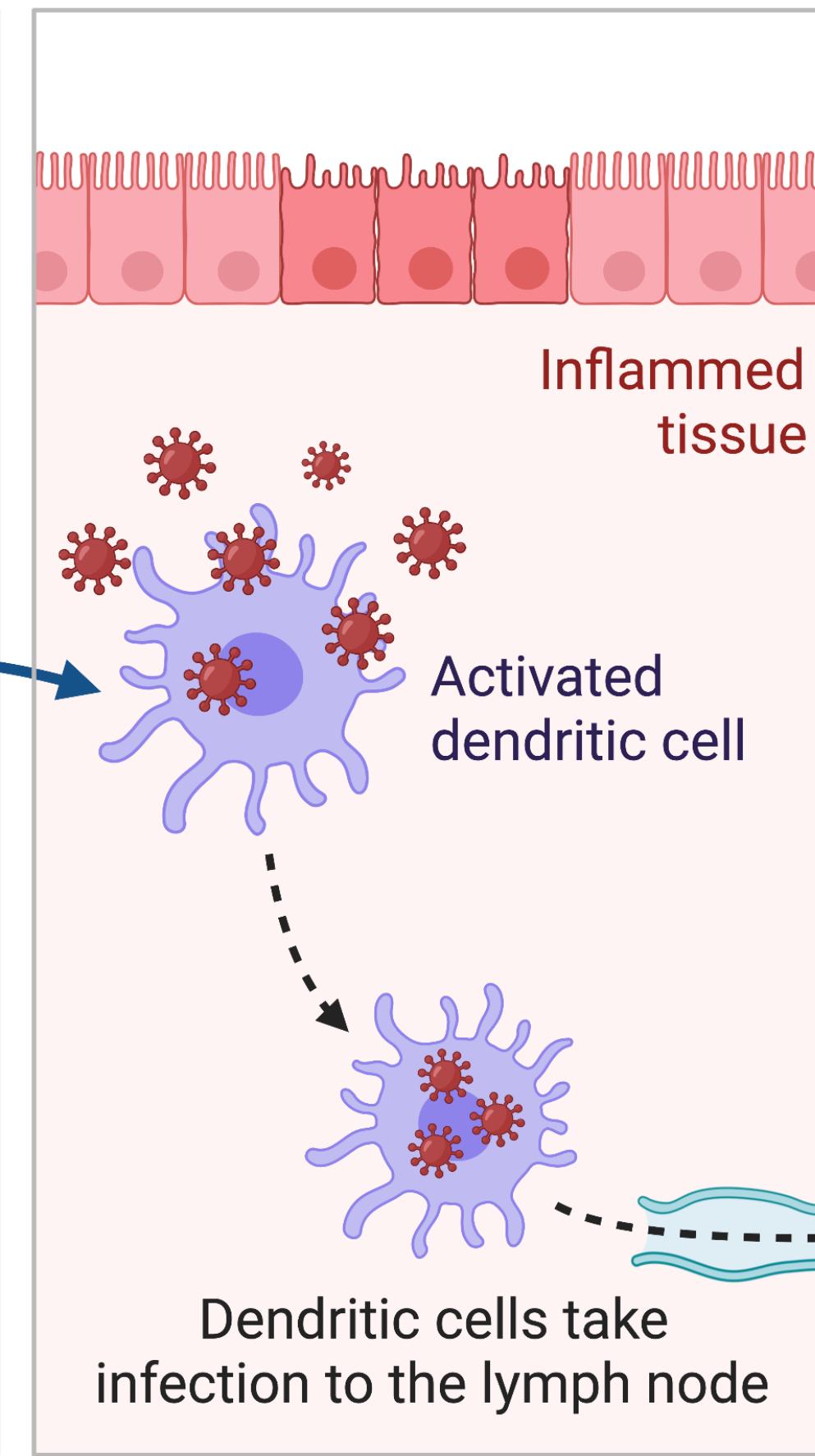
Immunité adaptative anti-virale

Adaptive Immunity

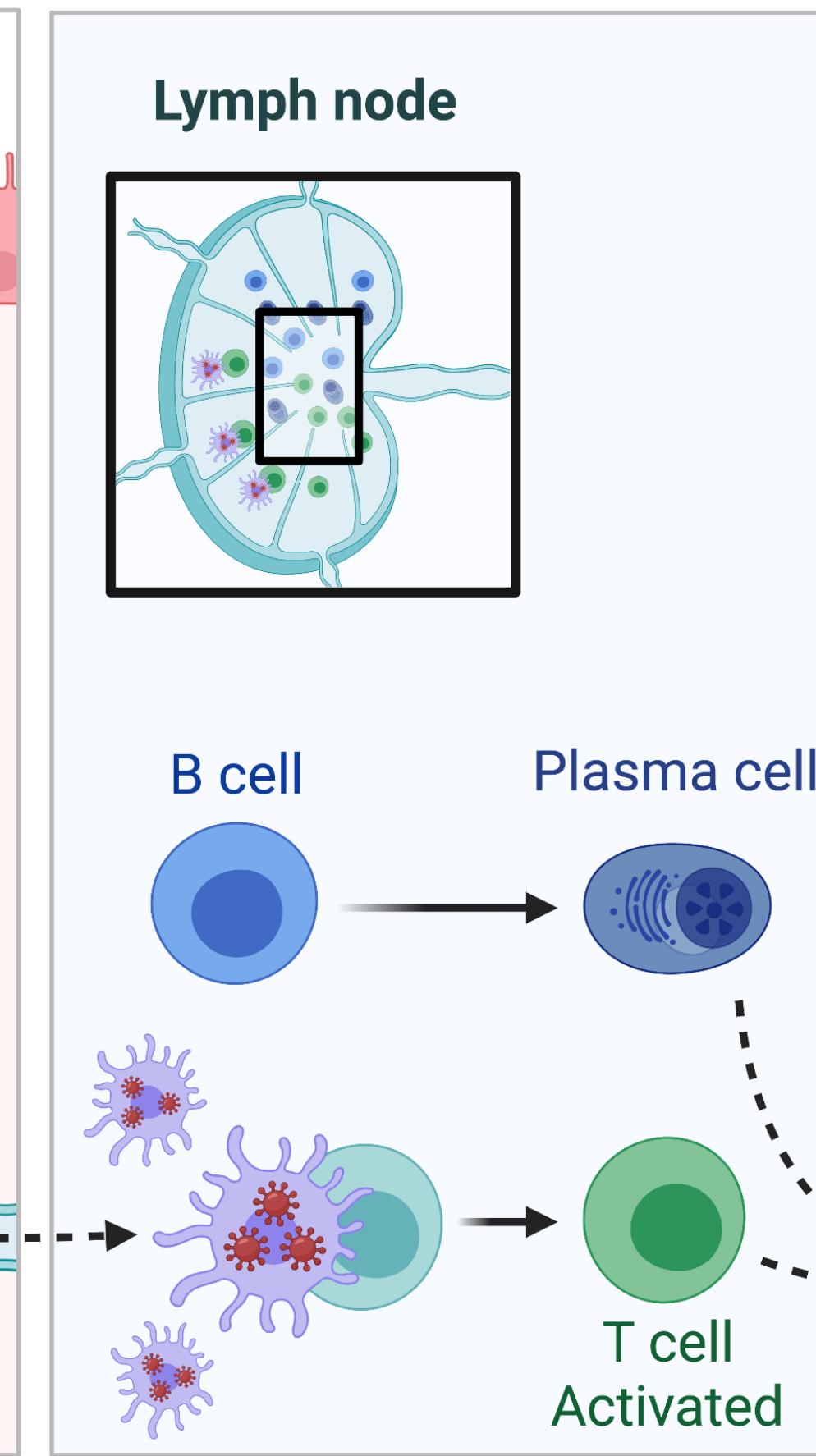
1 Virus infects and replicates within the epithelium



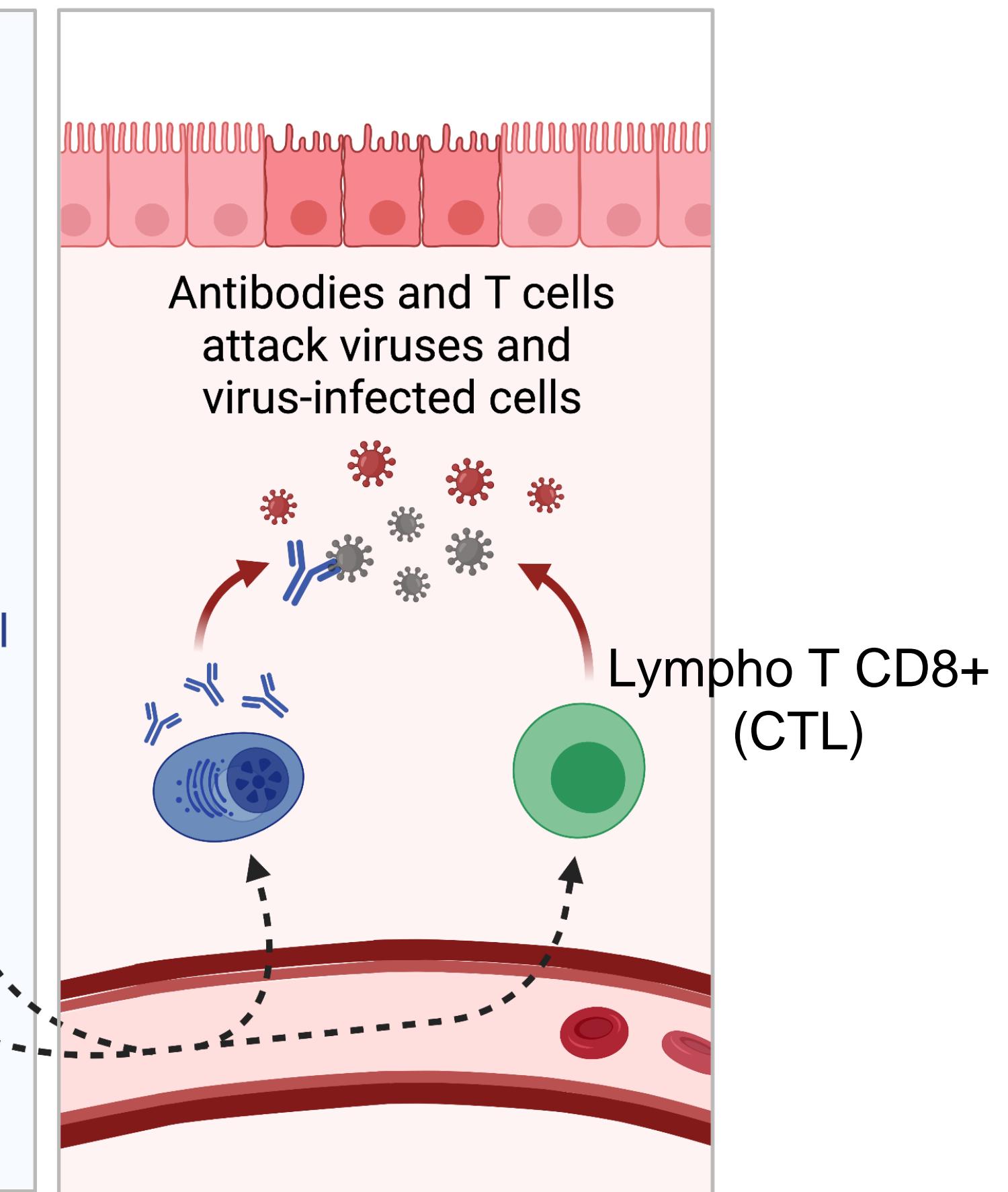
2 Dendritic cell activation



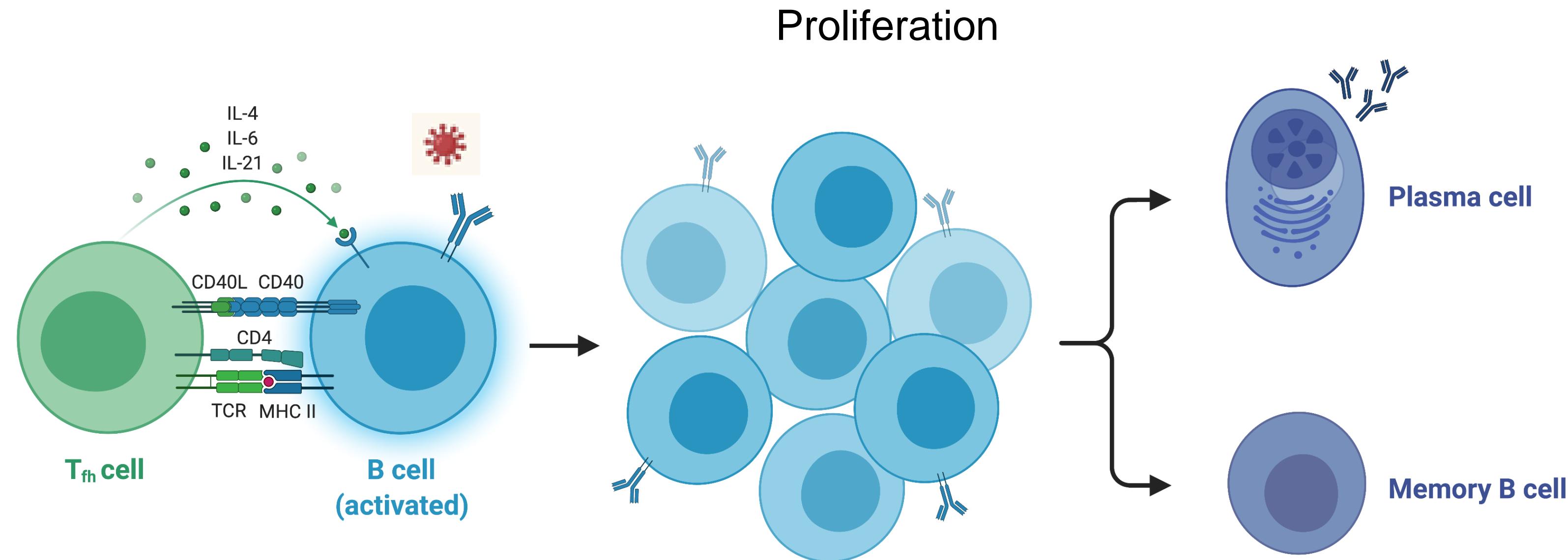
3 T and B cell priming in the lymph node



4 Adaptive immunity



Immunité adaptative anti-virale: rôle de la réponse humorale



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

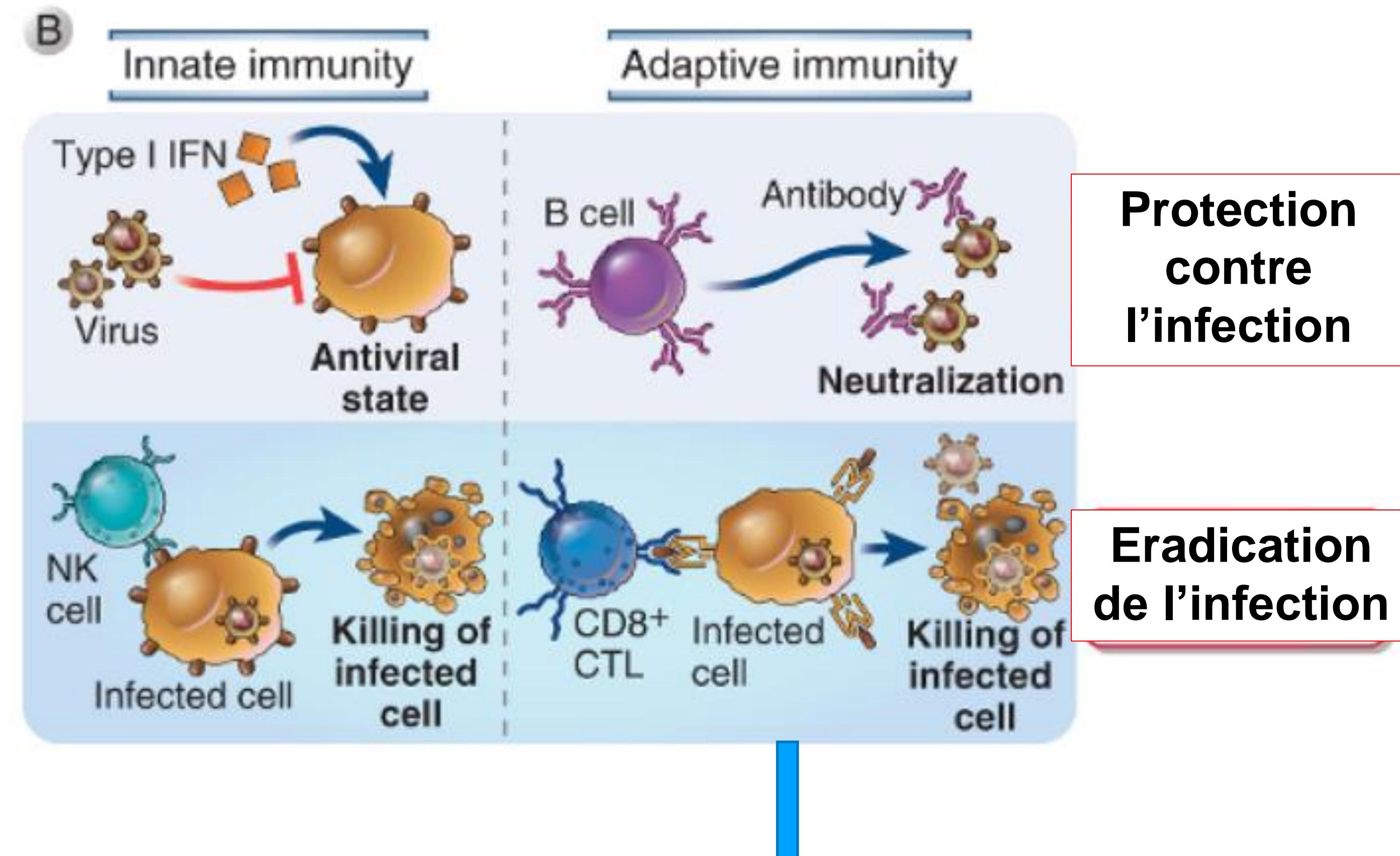
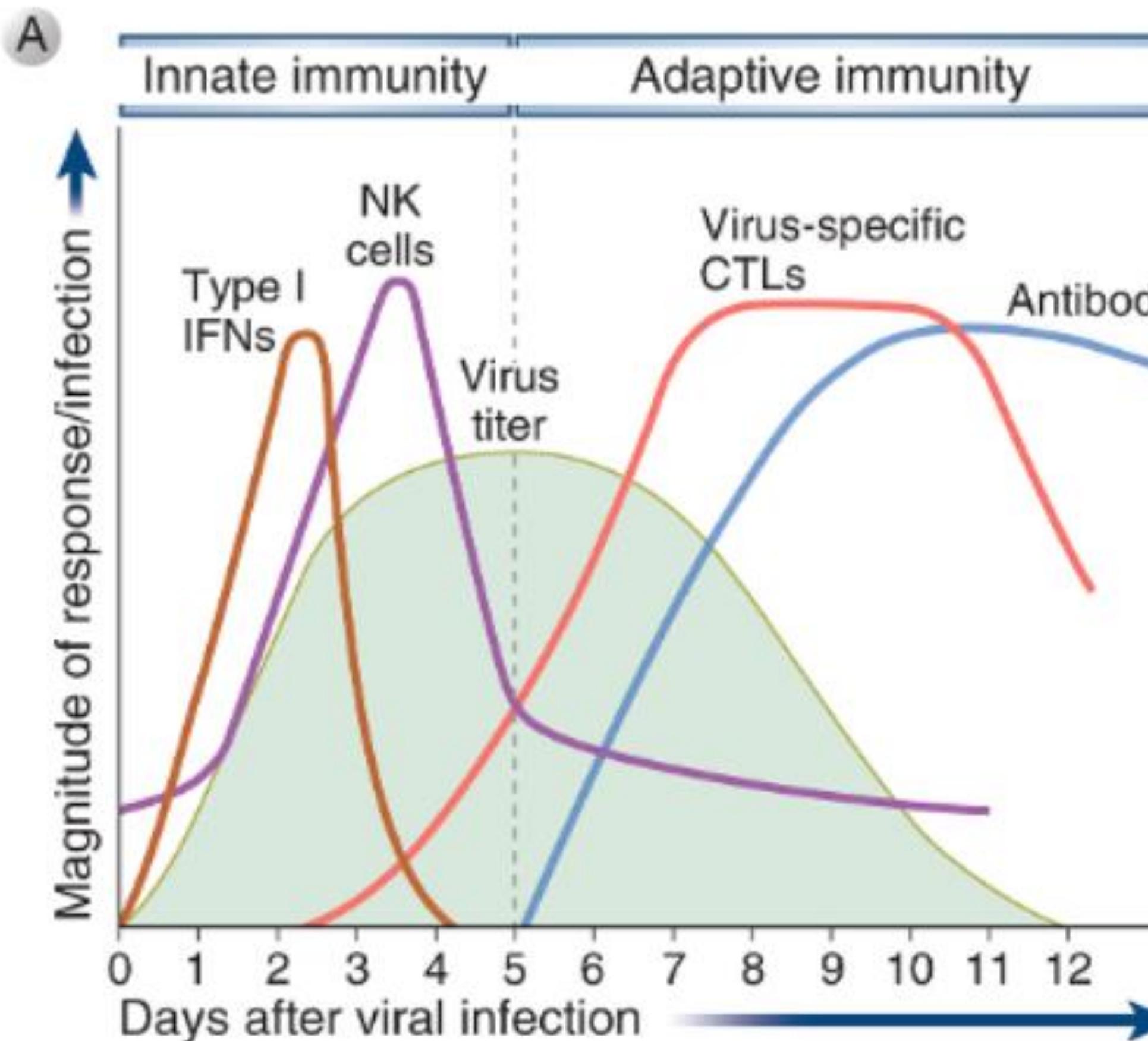
- Neutralisation +++ (IgG, IgA muqueuses)
- Opsonisation (IgG)

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

Rôle des anticorps neutralisants:

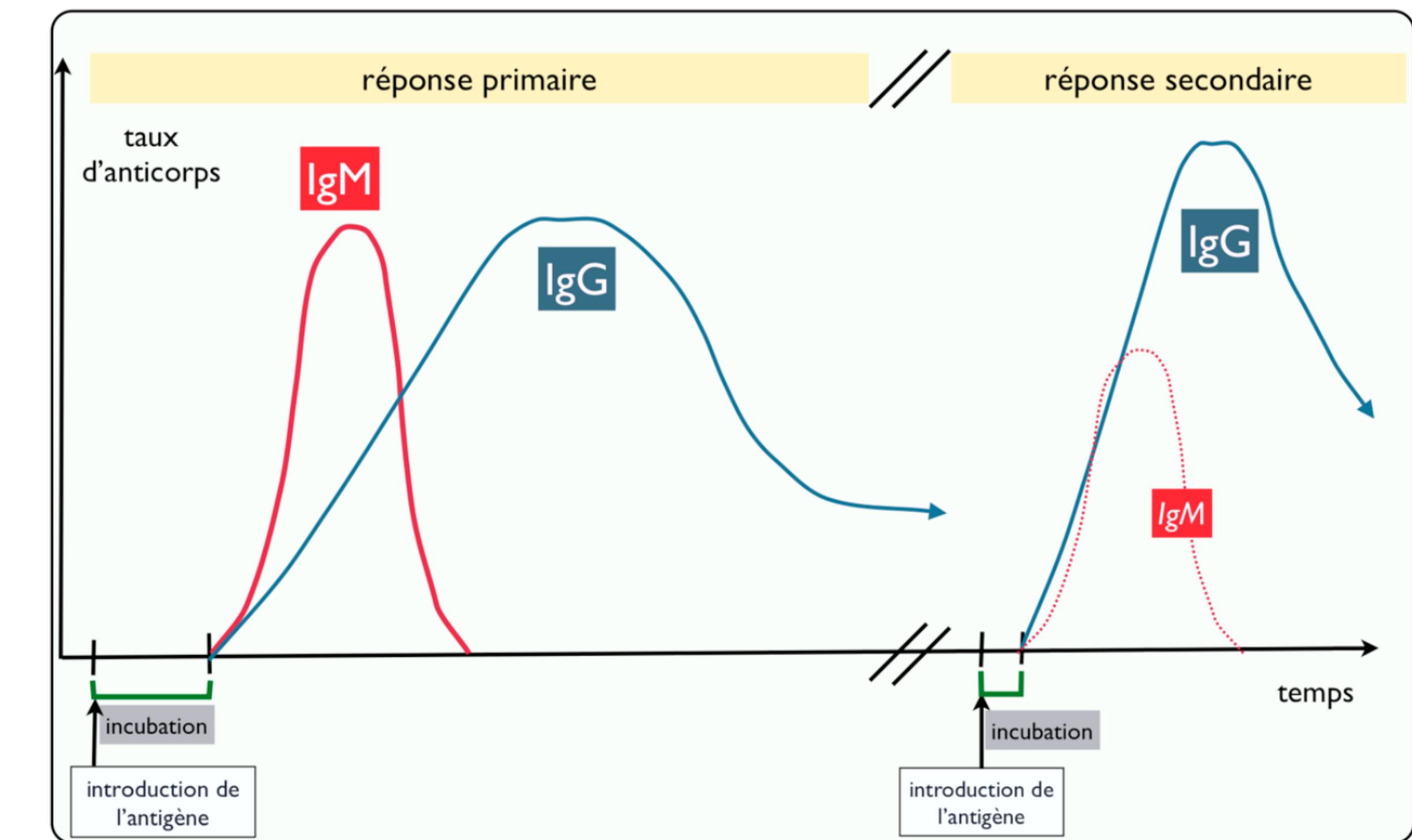
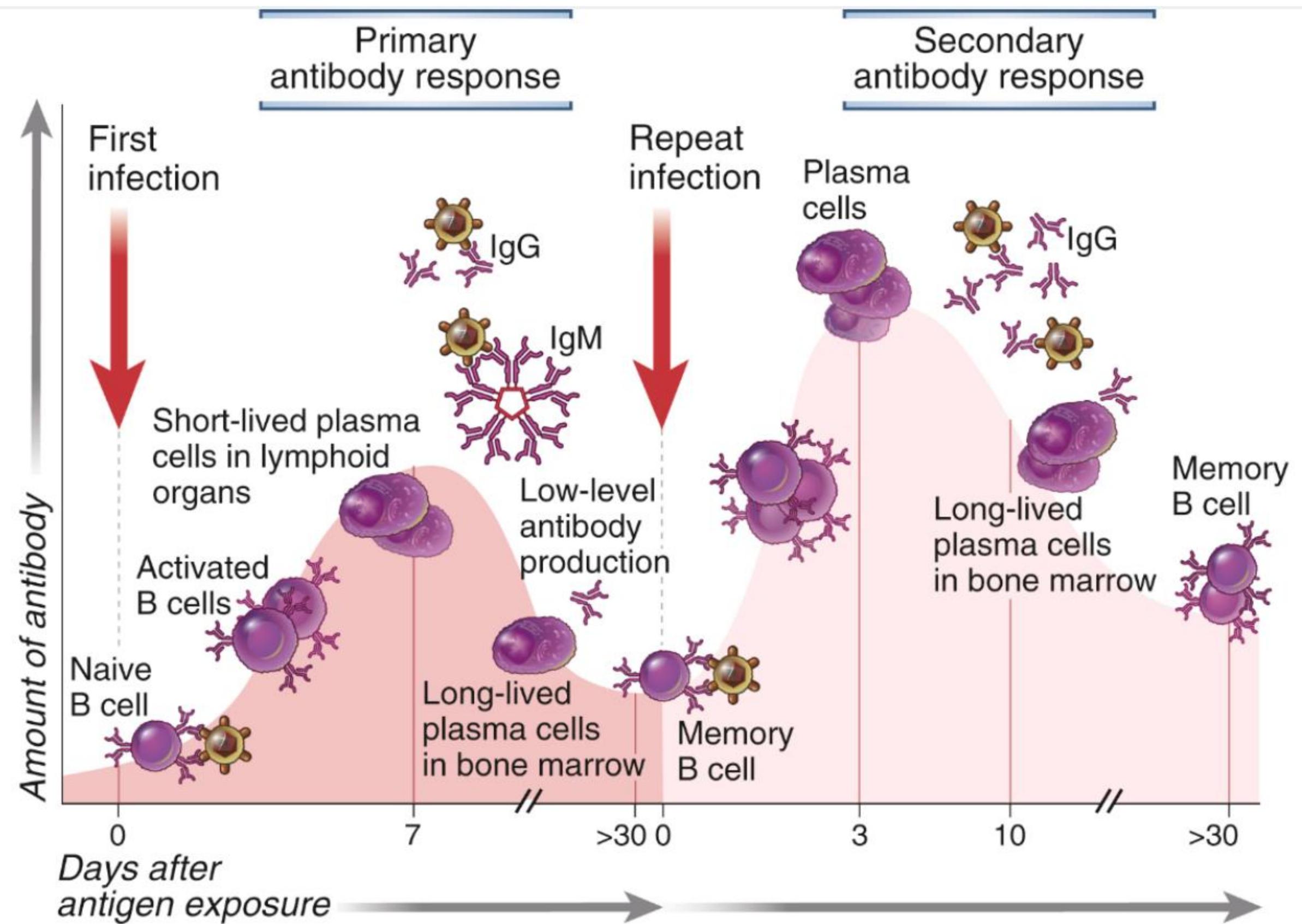
- Prévention de l'infection (post-infection ou post vaccination)
 - Limite la dissémination virale

Dynamique des réponses innée et adaptative contre les virus



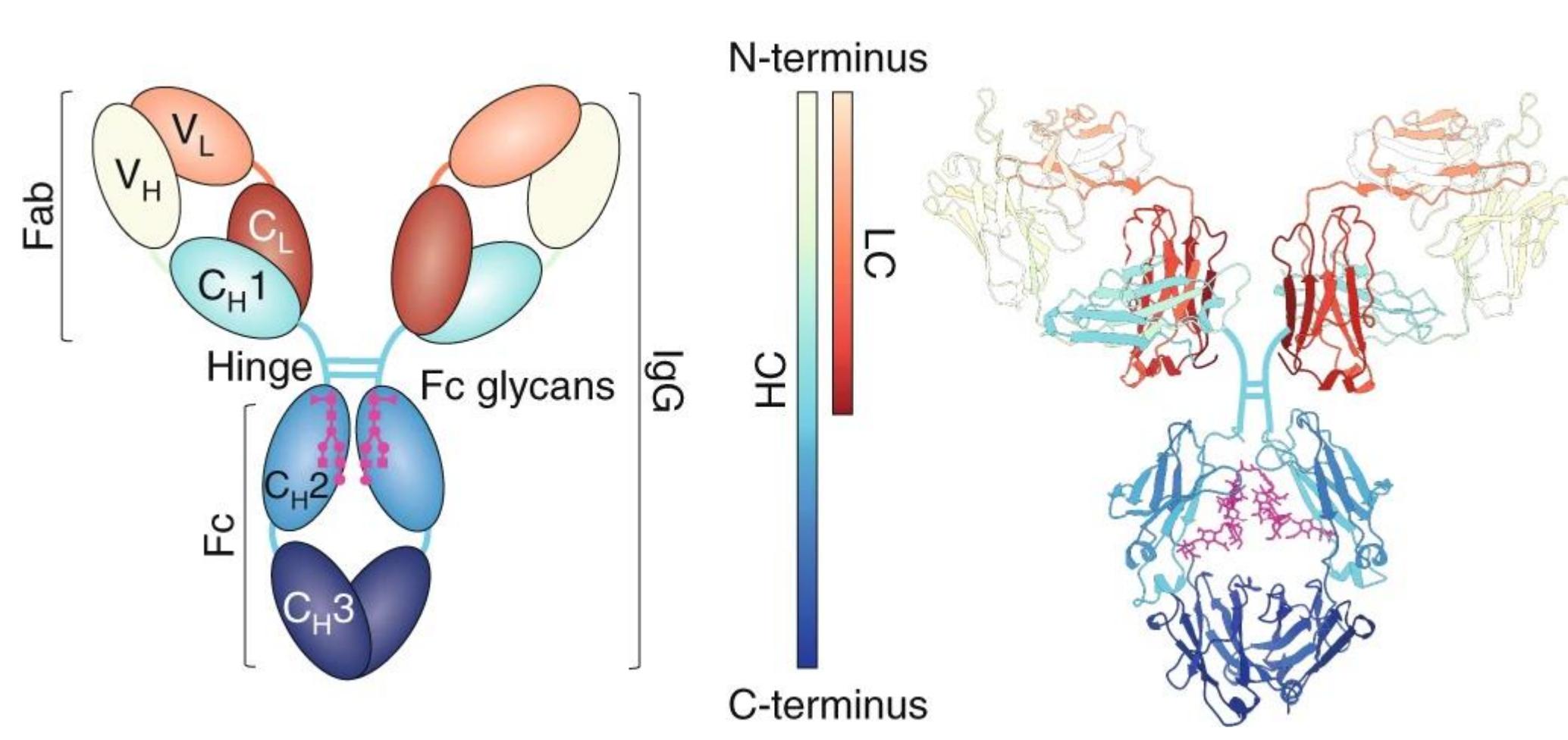
Développement de lymphocytes mémoires
> protection à long terme

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



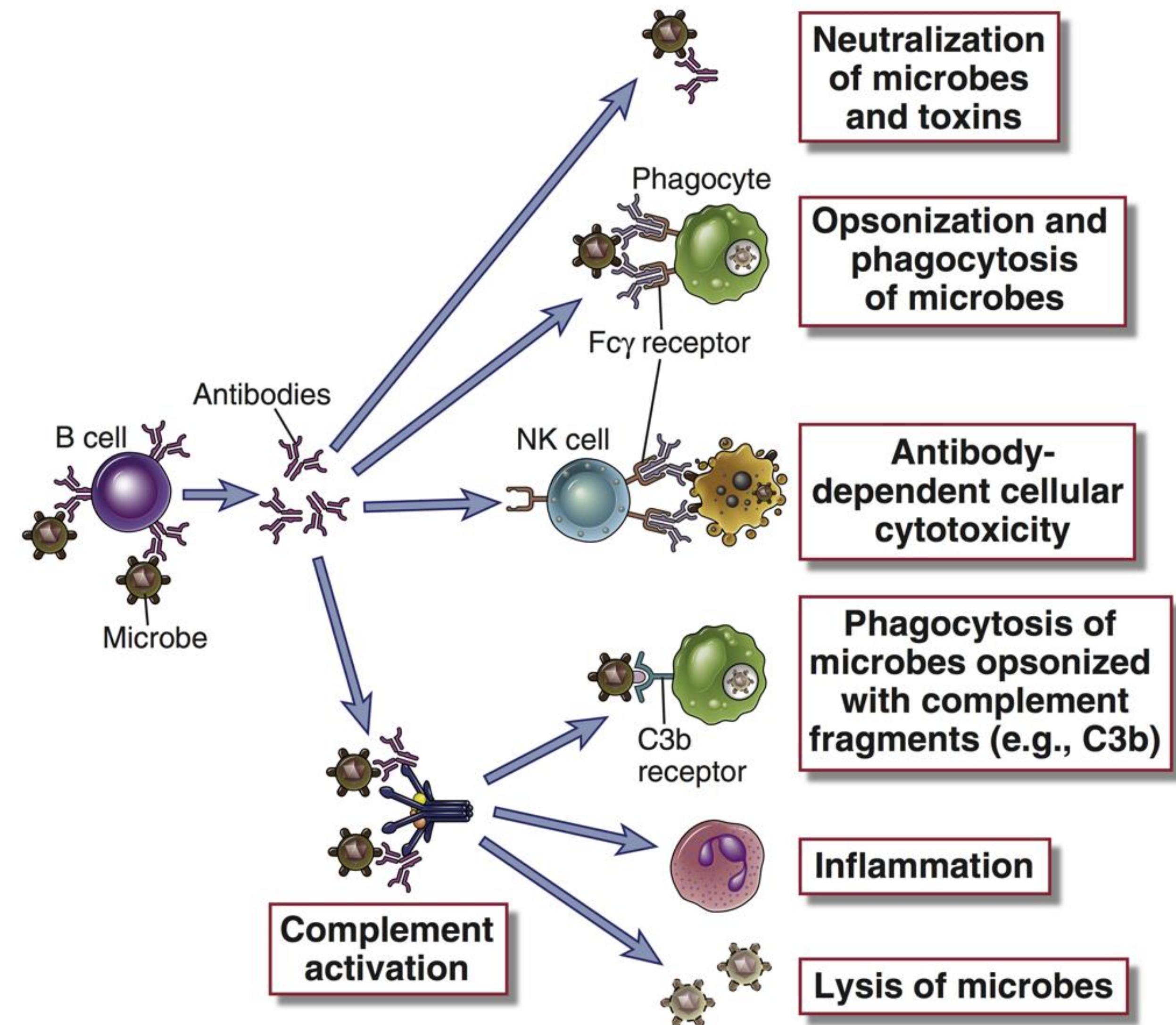
Dosages sérologiques des IgM et IgG spécifiques: intérêt pour le diagnostic des primo-infections virales

rappels: fonctions effectrices des AC



Structure d'un anticorps

Murin CD, *Nat Microbiol.* 2019

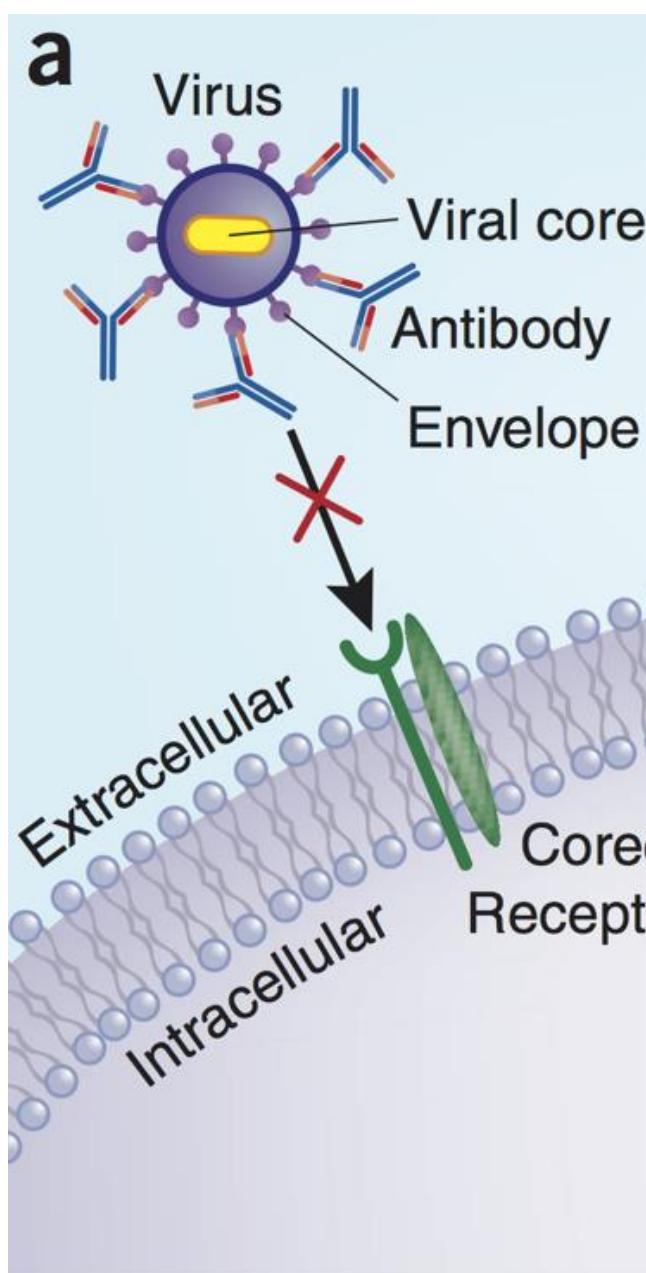


la réponse humorale antivirale

- réponse adaptative humorale > production d'AC spécifiques
 - IgA: Ig sécrétaires > infection localisée aux muqueuses
 - IgG, IgM: ++ infection disséminée par voie lymphatique ou sanguine
 - **réponse AC primaire** = IgM > IgA à la surface des muqueuses / IgG dans le sérum
 - **réponse AC secondaire**
- Ac non-neutralisants
 - dirigés/fragment de virions ou protéines virales relarguées par cellules infectées lysées/apoptotiques
 - pas de neutralisation mais protection / activation du complément, ADCC..
- **AC neutralisants** : blocage de l'interaction Ag viral/ récepteur par encombrement stérique
 - +++ IgA et IgG de forte affinité
 - > **inhibition du pouvoir infectieux** des virus

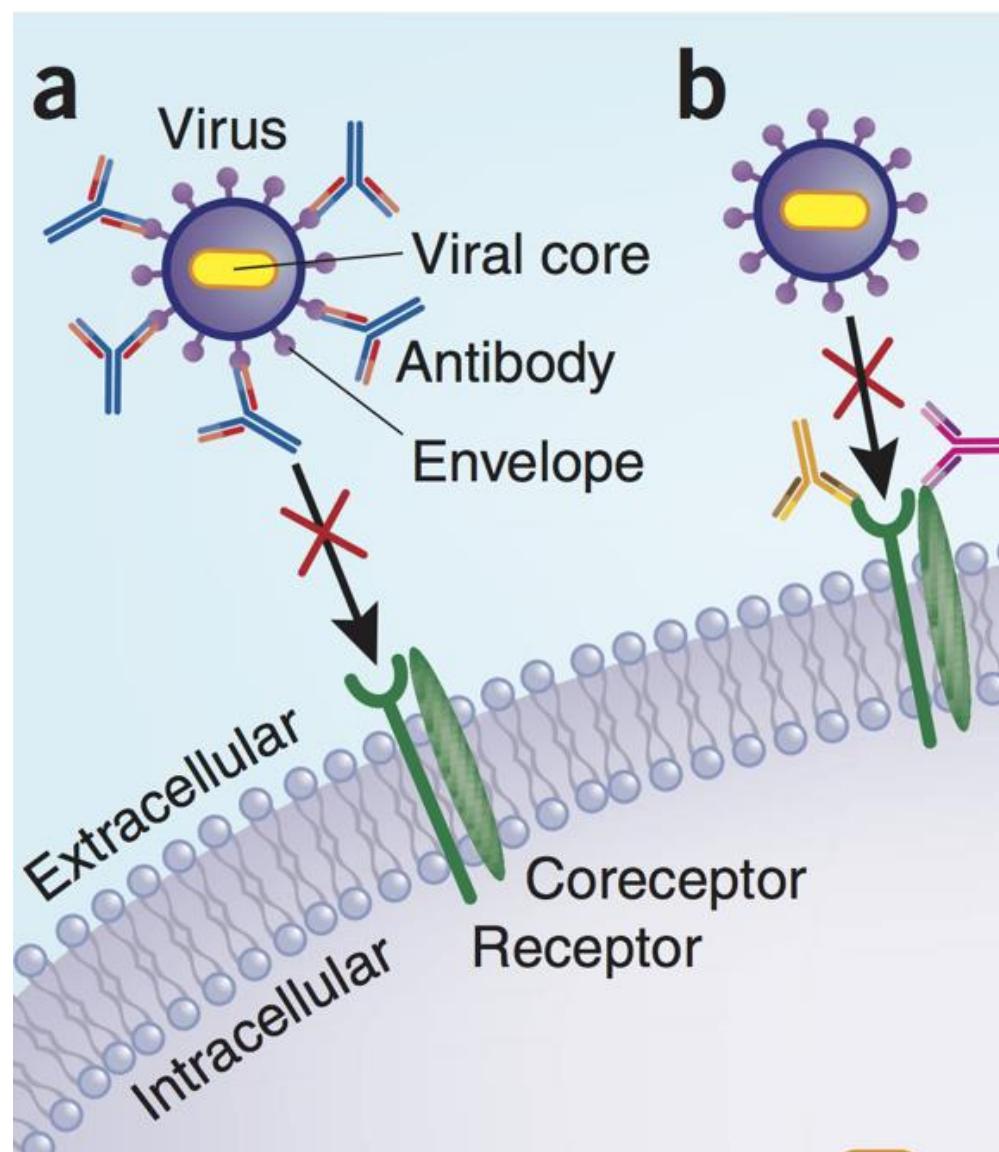
Mécanismes d'action des Ac neutralisants

- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes vitaux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire



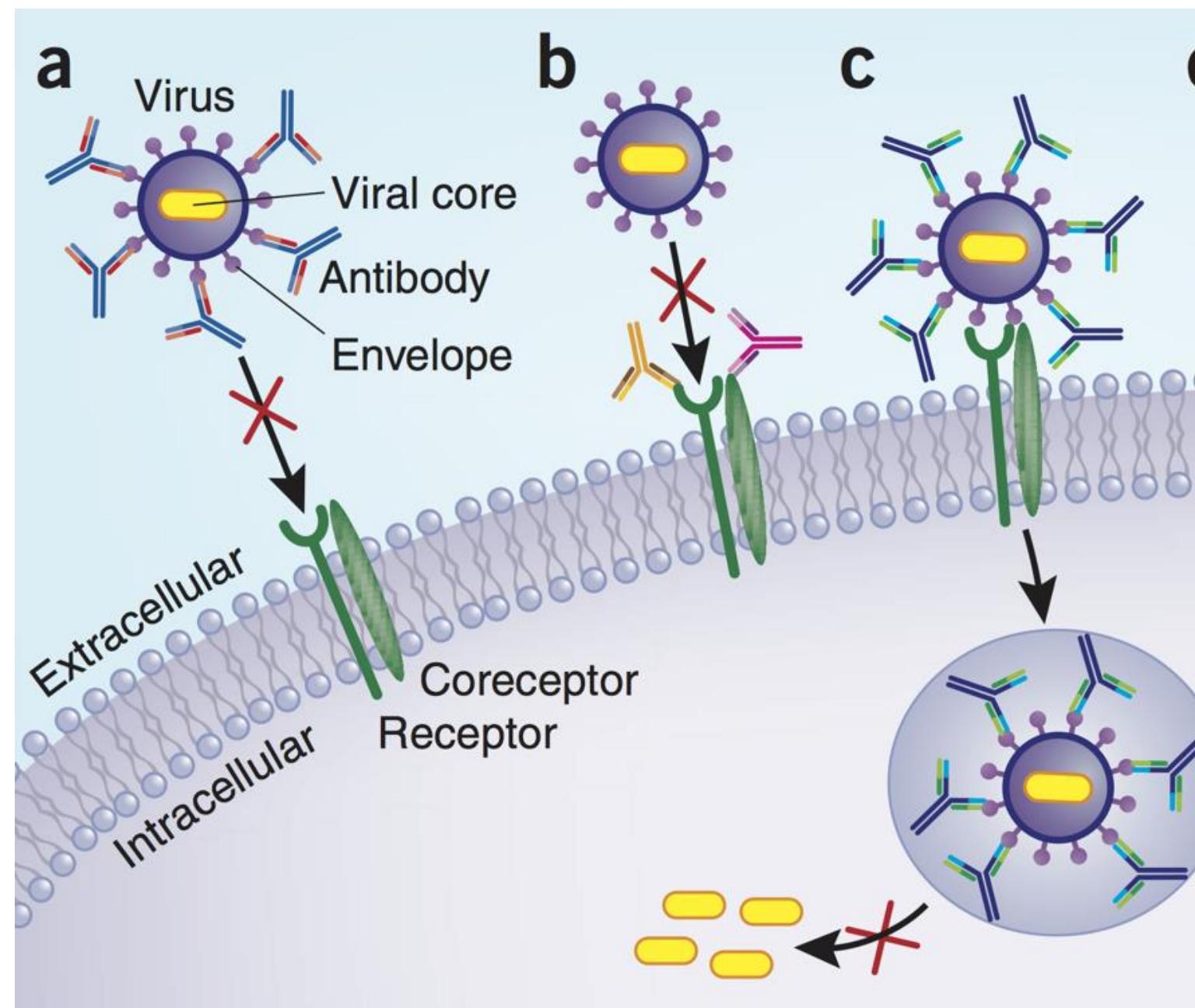
Mécanismes d'action des Ac neutralisants

- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes viraux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire
- blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire



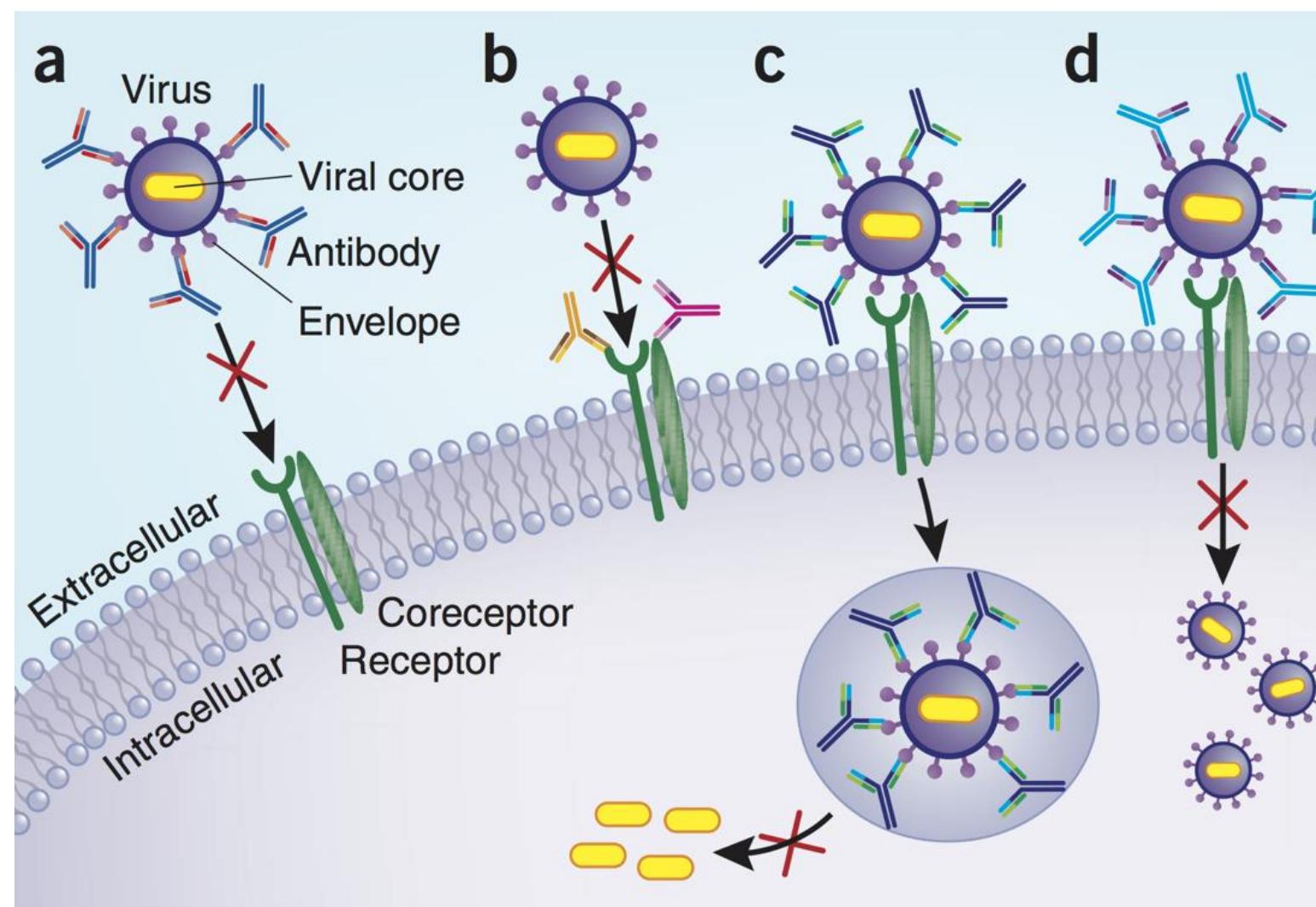
Mécanismes d'action des Ac neutralisants

- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes viraux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire
- blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire
- blocage de la fusion enveloppe virale/membrane de l'endosome après internalisation



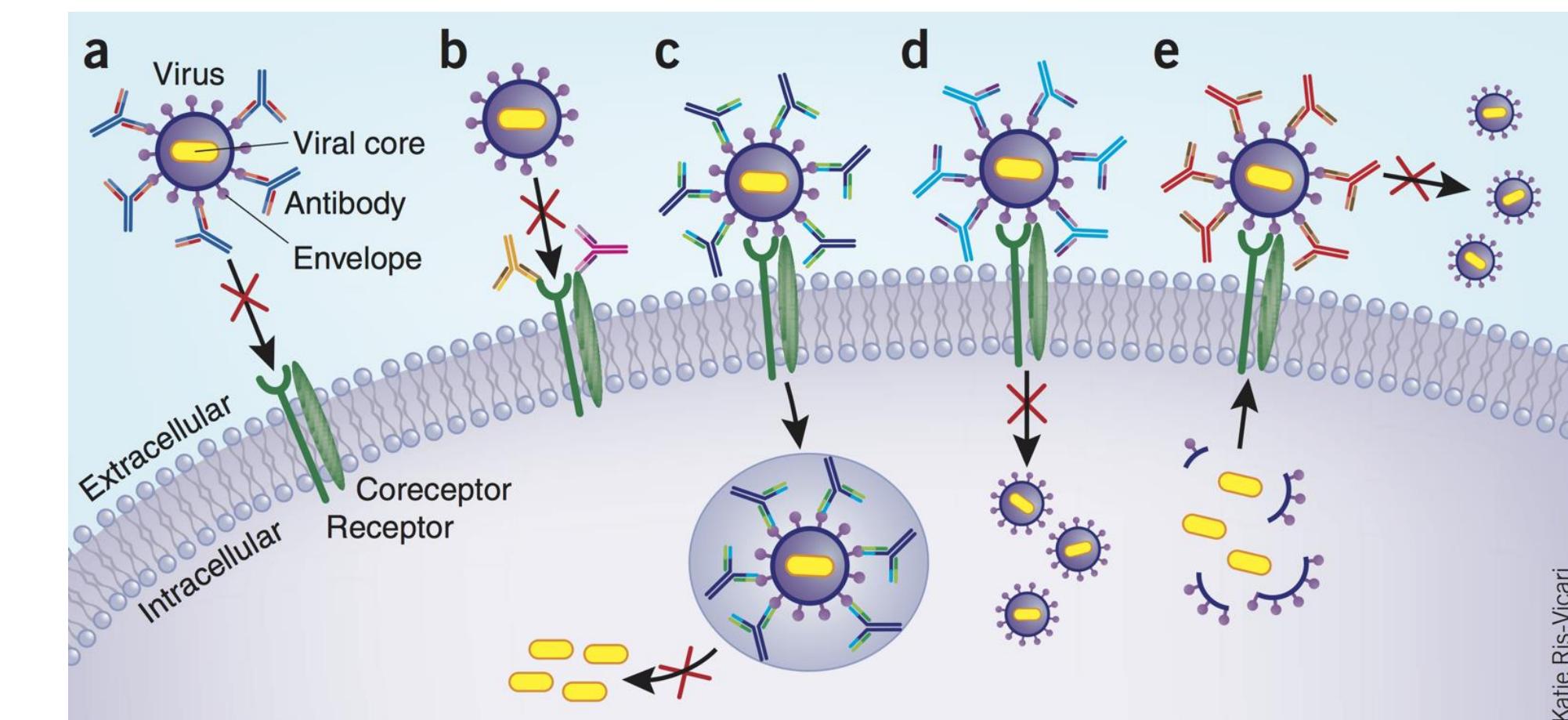
Mécanismes d'action des Ac neutralisants

- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes viraux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire
- blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire
- blocage de la fusion enveloppe virale/membrane de l'endosome après internalisation
- blocage de la fusion à la membrane cellulaire externe par fixation à d'autres antigènes viraux



Mécanismes d'action des Ac neutralisants

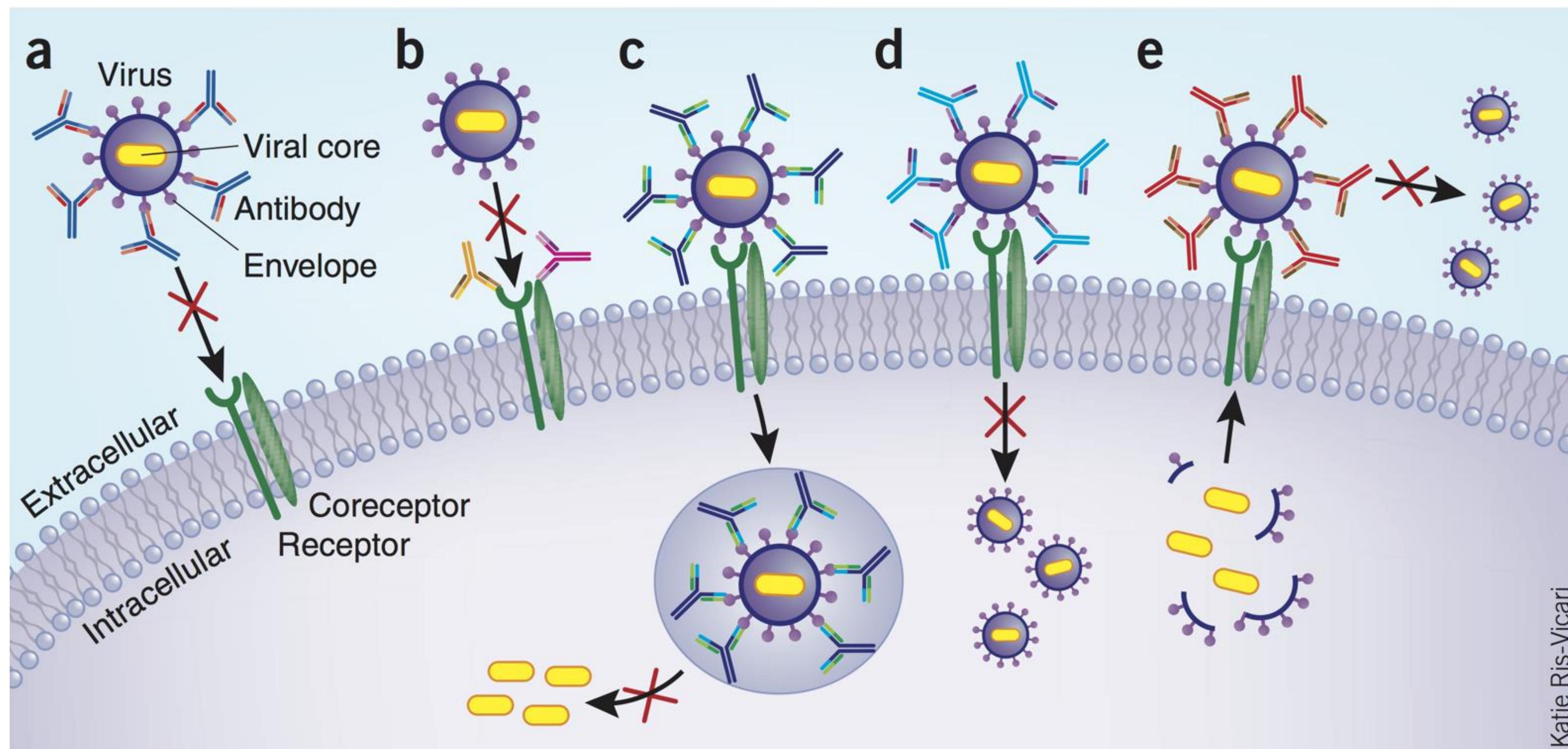
- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes viraux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire
- blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire
- blocage de la fusion à la membrane cellulaire externe par fixation à d'autres antigènes viraux
- blocage de la fusion enveloppe virale/membrane de l'endosome après internalisation
- blocage de la libération des particules virales néoformées après bourgeonnement à la surface cellulaire (ex: AC anti neuraminidase des virus influenza)



Mécanismes d'action des Ac neutralisants

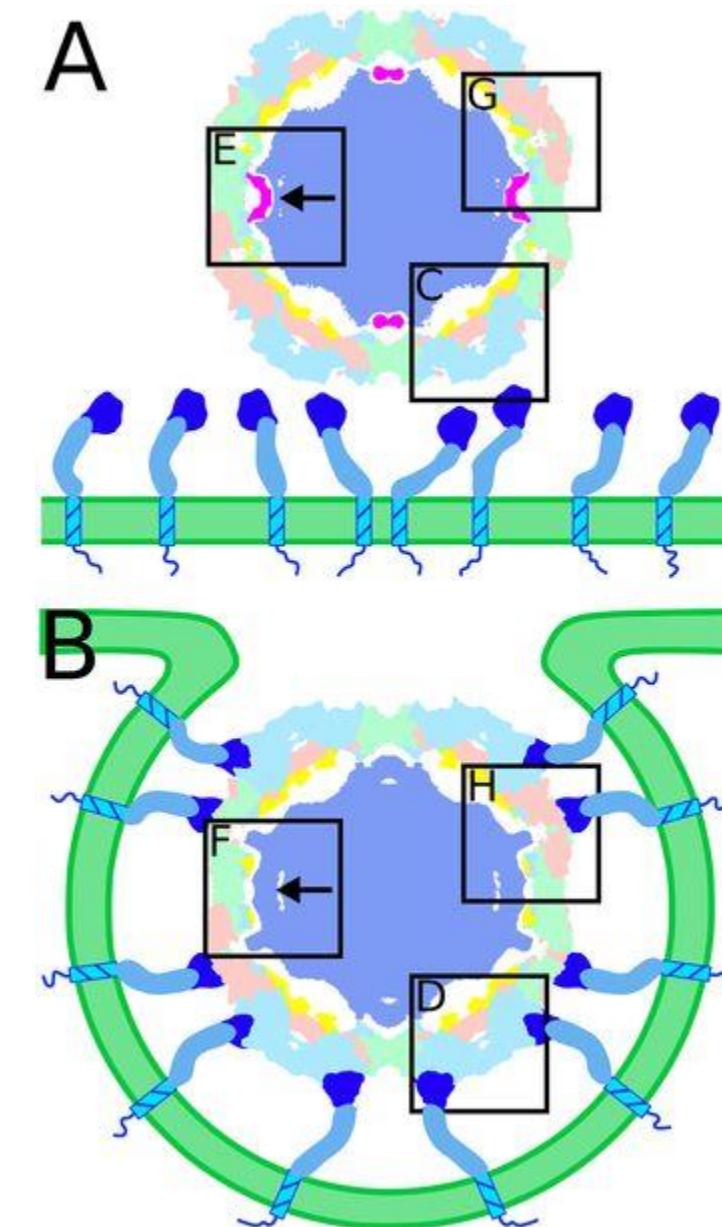
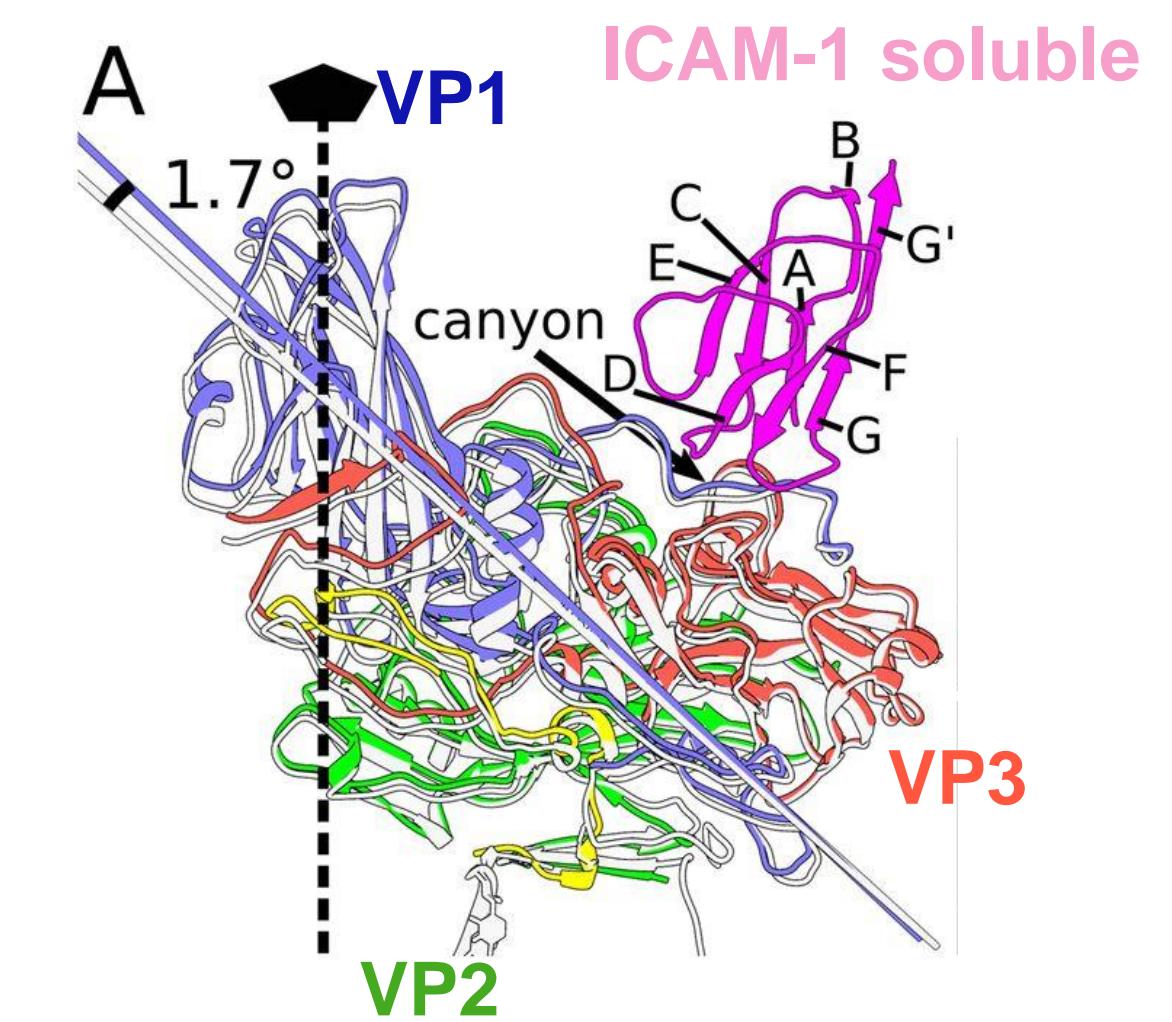
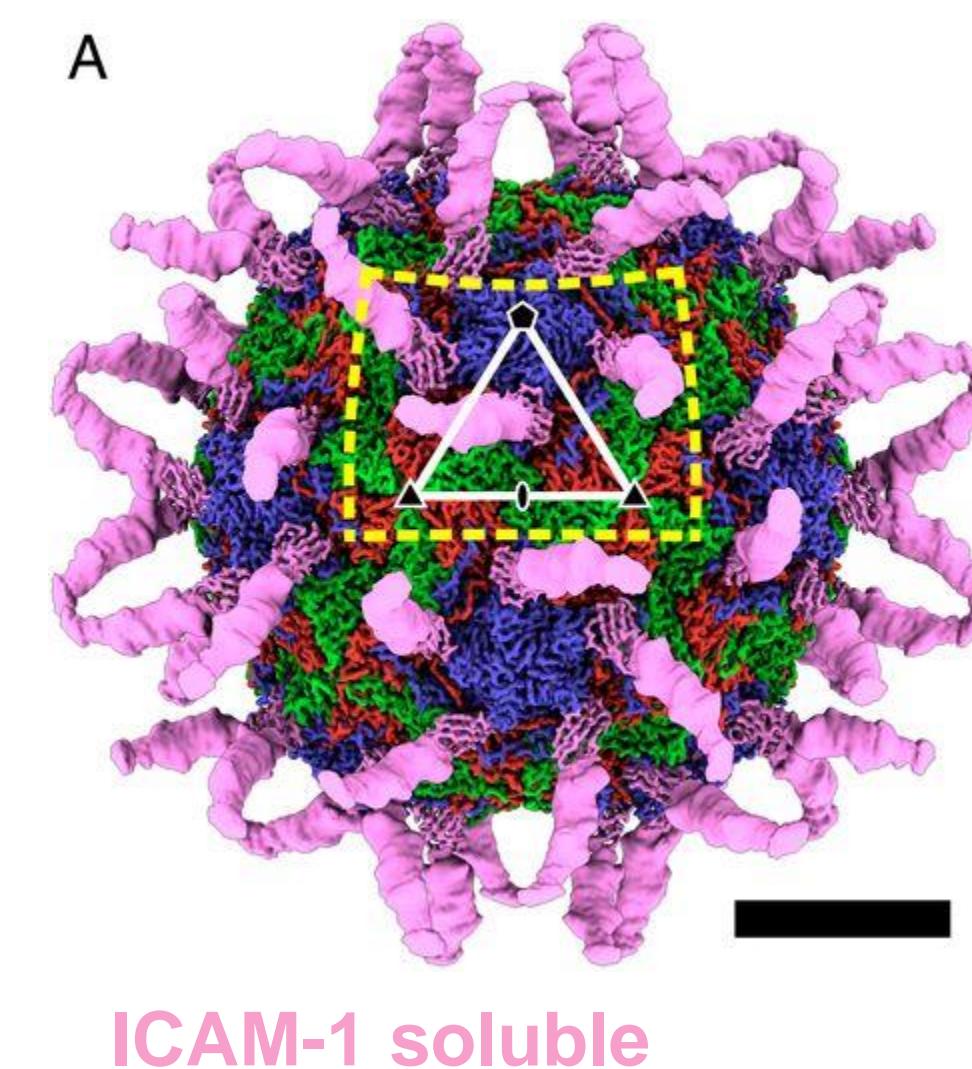
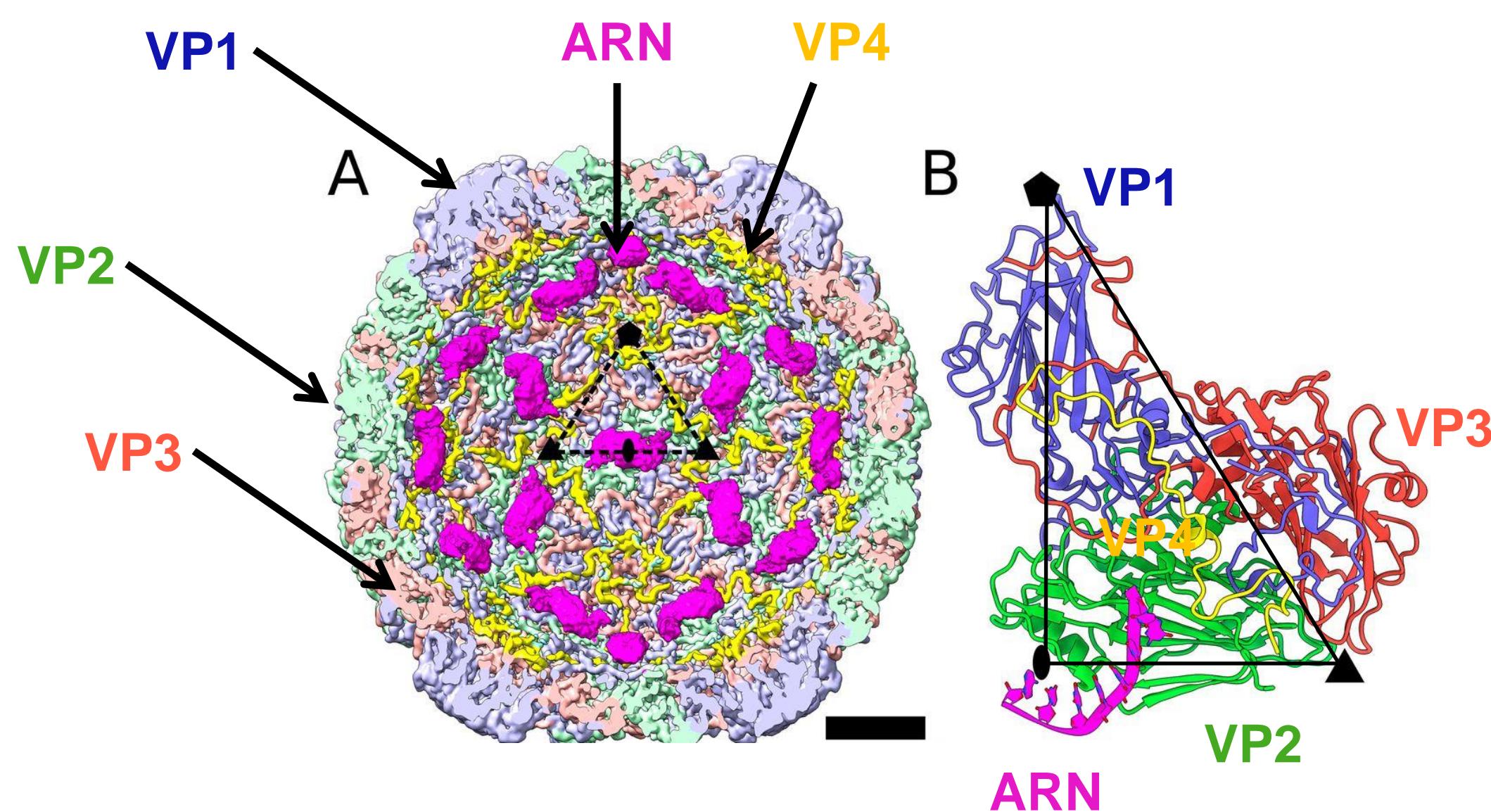
- blocage de l'engagement au Rr cellulaire par fixation des AC aux antigènes viraux qui se lient spécifiquement au récepteur cellulaire
- blocage de l'entrée par fixation au récepteur cellulaire
- blocage de la fusion à la membrane cellulaire externe par fixation à d'autres antigènes viraux
- blocage de la fusion enveloppe virale/membrane de l'endosome après internalisation
- blocage de la libération des particules virales néoformées après bourgeonnement à la surface cellulaire (ex: AC anti neuraminidase des virus influenza)
- aggrégation des particules virales avant attachement à la surface cellulaire

Les anticorps neutralisants: mécanismes d'action



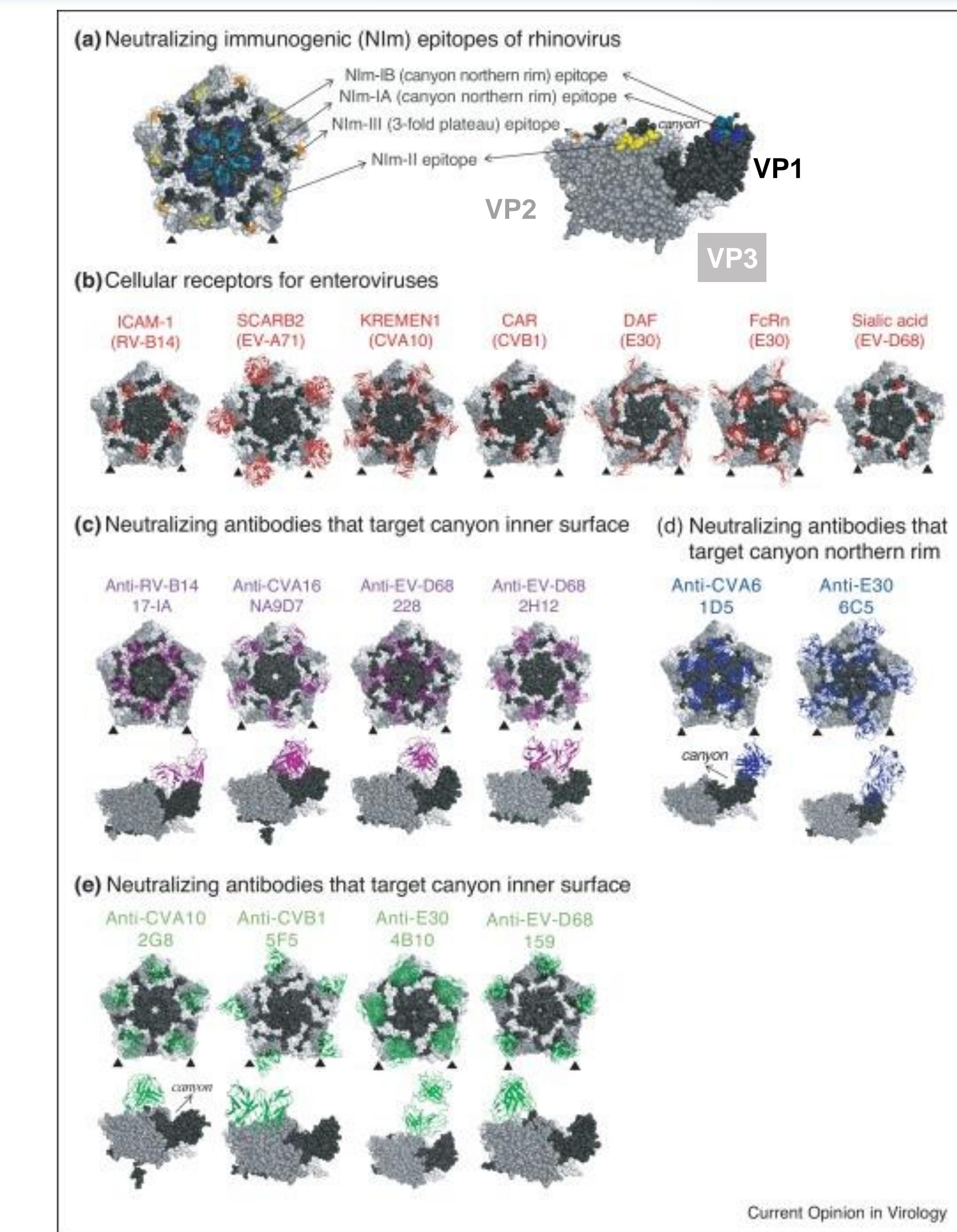
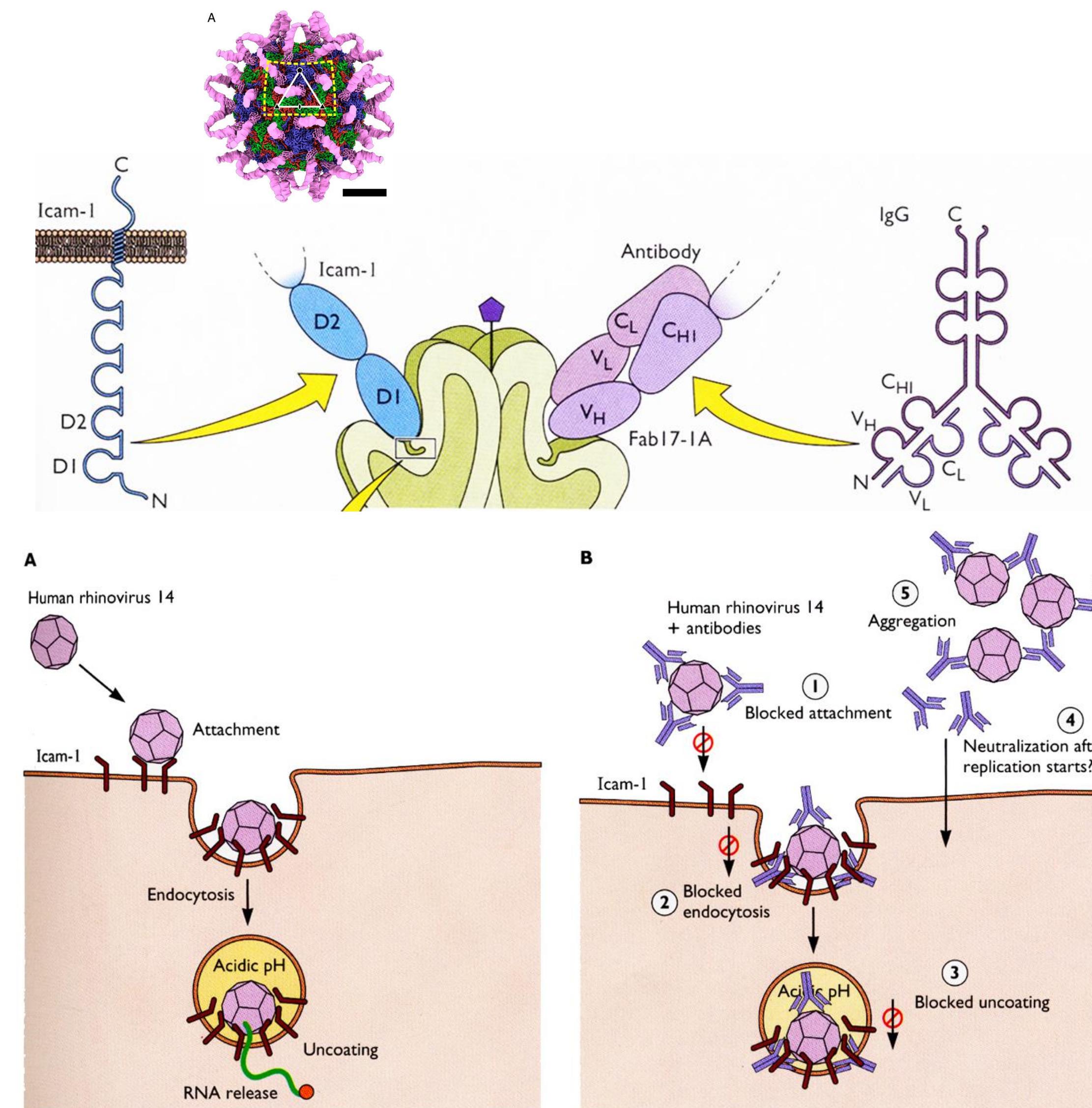
Les anticorps neutralisants: exemple des rhinovirus

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



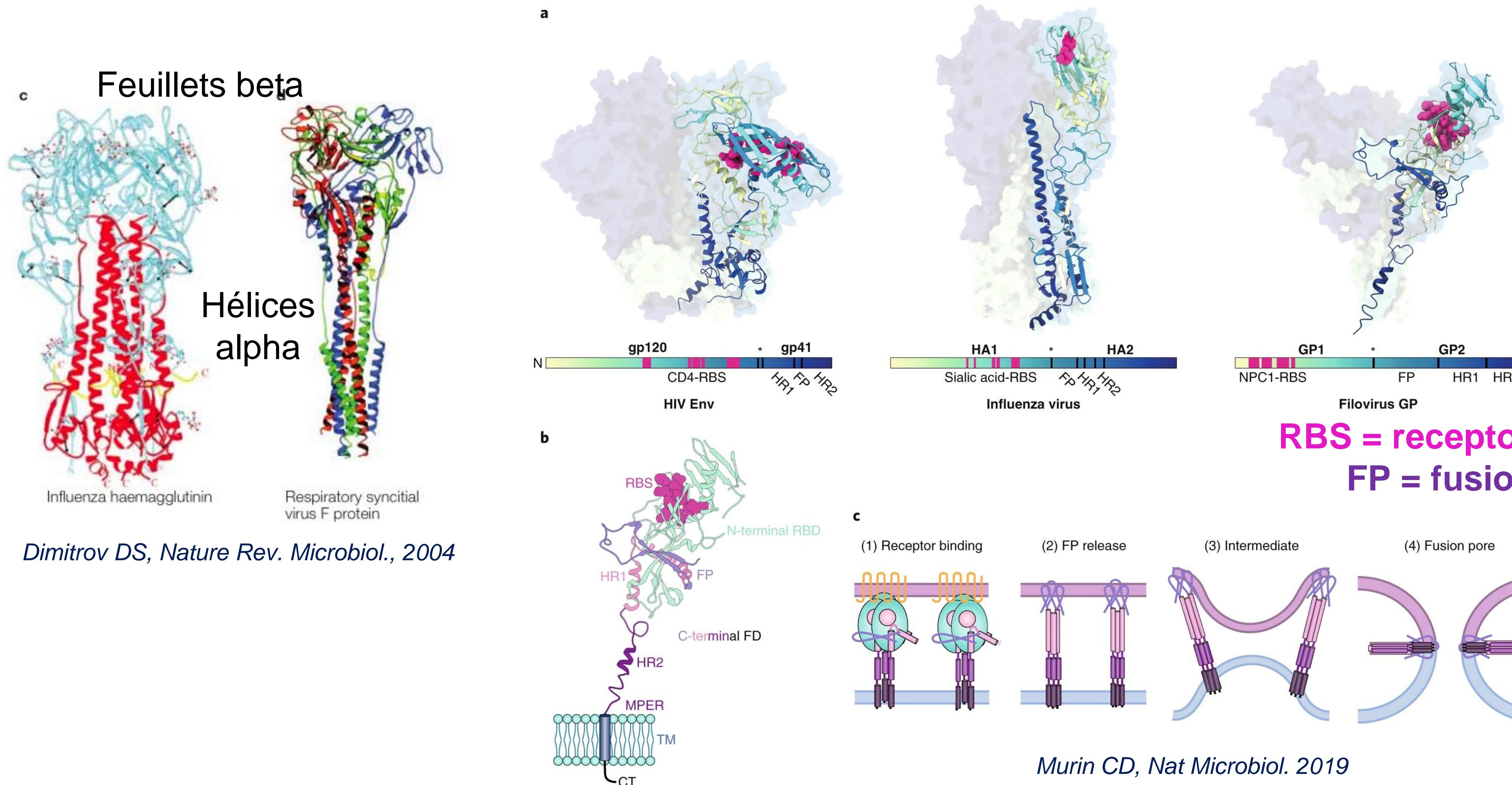
Hrebík D, Proc Natl Acad Sci U S A. 2021

Les anticorps neutralisants: exemple des rhinovirus

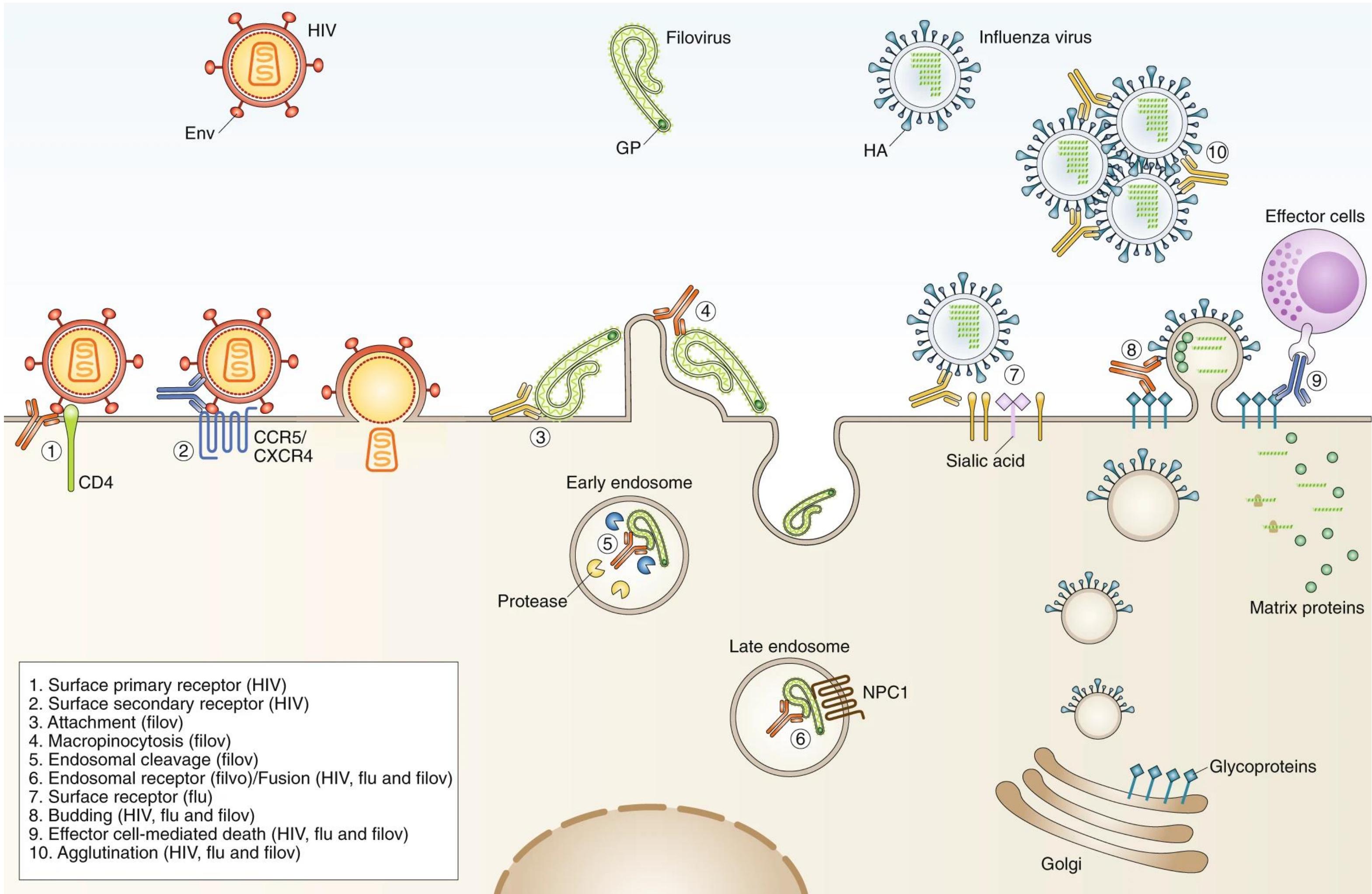


Les anticorps neutralisants: exemple des virus enveloppés

virus enveloppés = glycoprotéines de surface > protéines de fusion

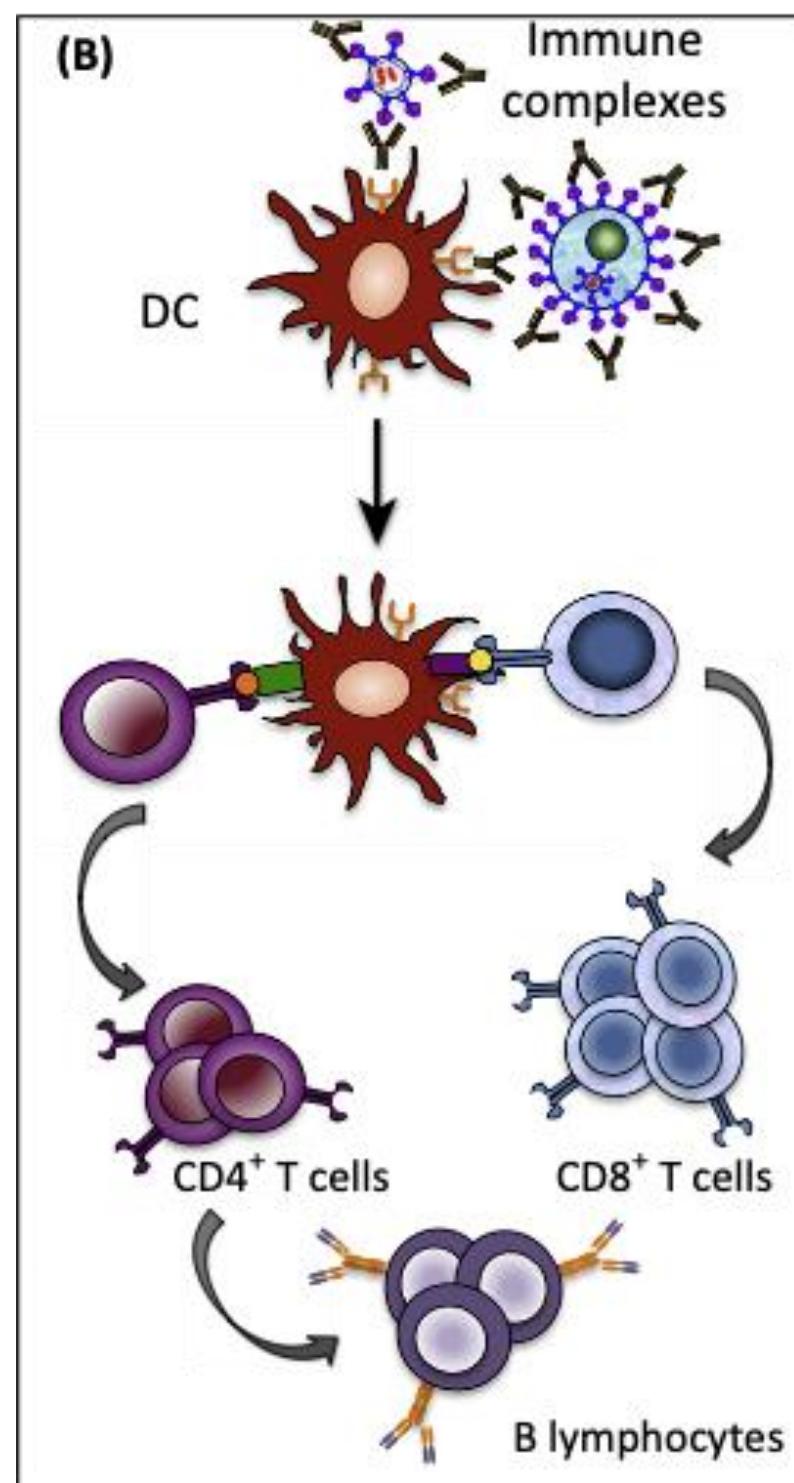
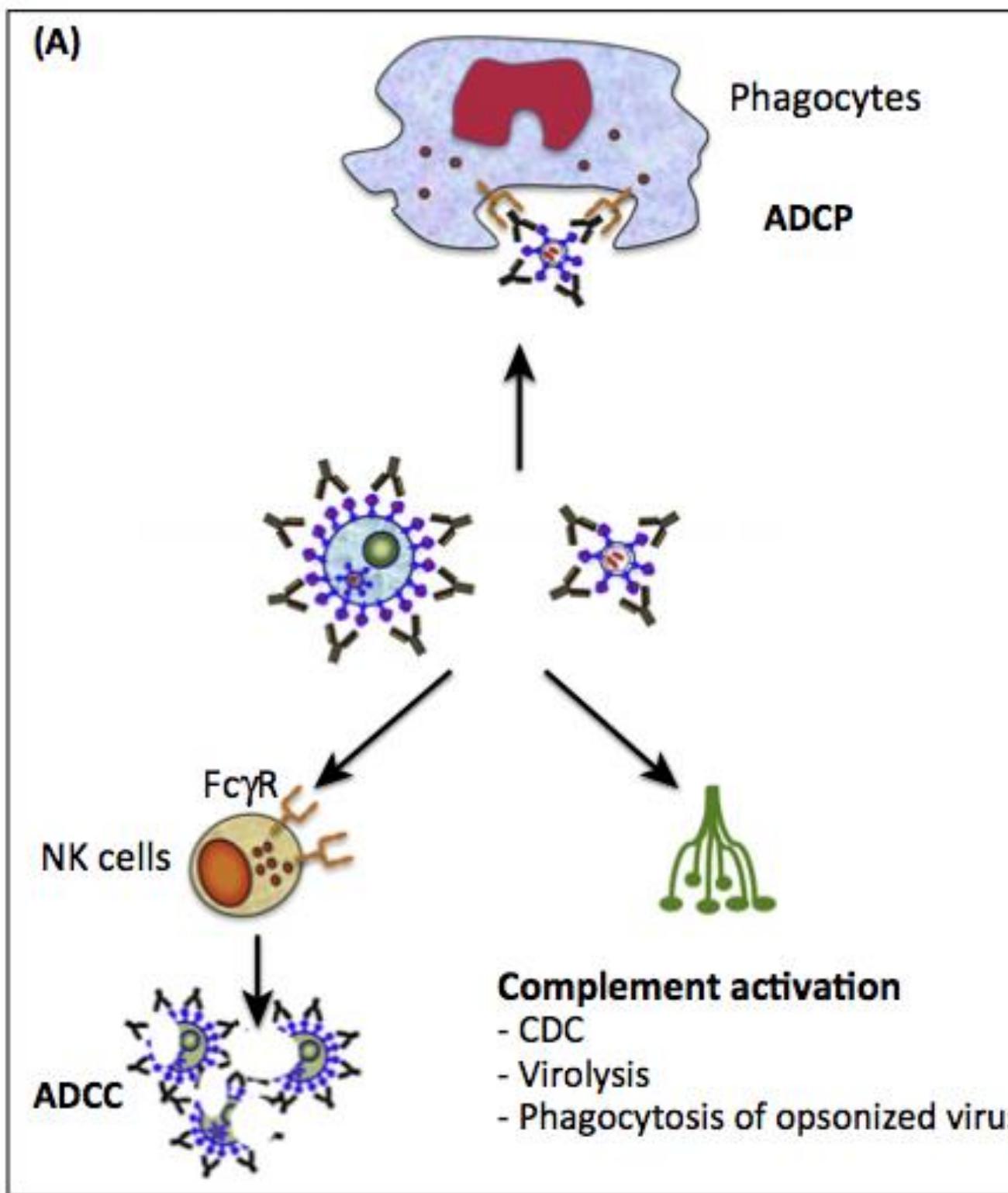


Les anticorps neutralisants: exemple des virus enveloppés



Murin CD, Nat Microbiol. 2019

Autres mécanismes d'action des anticorps antiviraux



Pelegrin et al, Trends in Microbiology 2015

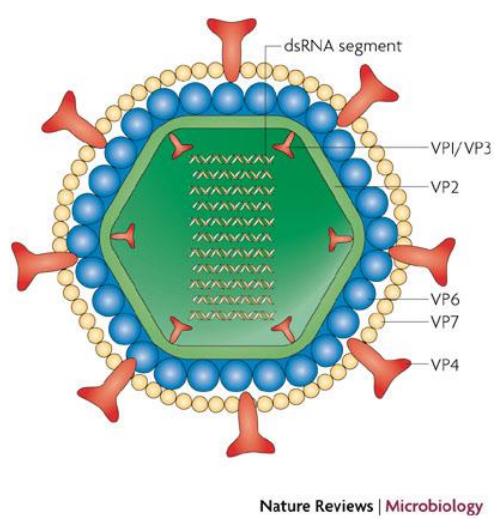
- mécanismes de protection directe médiés par fragment Fc
 - activation directe du complément
 - CDC = complement-dependent cytotoxicity
 - ADCC = antibody-dependent cellular cytotoxicity
 - ADCP = antibody-dependent cellular phagocytosis
 - ADCVI = antibody-dependent, cell-mediated virus inhibition
- formation de complexes immuns virus/Ab ou cellule infectée/Ab > reconnaissance par cellules APC type CD > protection à plus long terme («vaccine like»)

La séroneutralisation

Applications

- Typage des virus: sérotypes viraux définis par AC neutralisants

Typage Rotavirus: AC neutralisants dirigés contre les protéines de l'enveloppe externe = VP4 et VP7

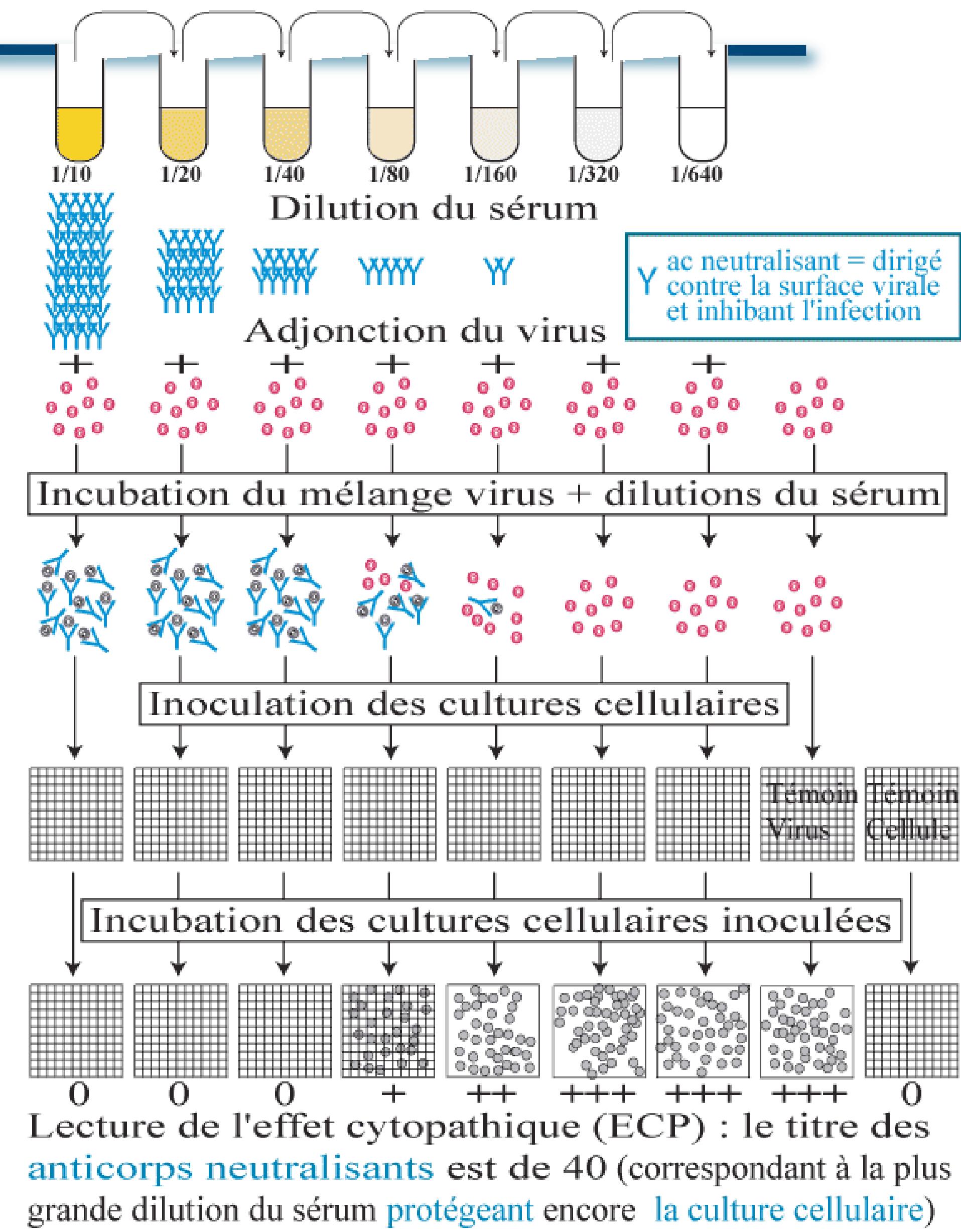


Typage poliovirus: AC neutralisants dirigés contre la protéine de capsid VP1
Utilisation d'antisérum spécifiques PV1, PV2, PV3

- 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

Titrage des anticorps neutralisants dans un sérum



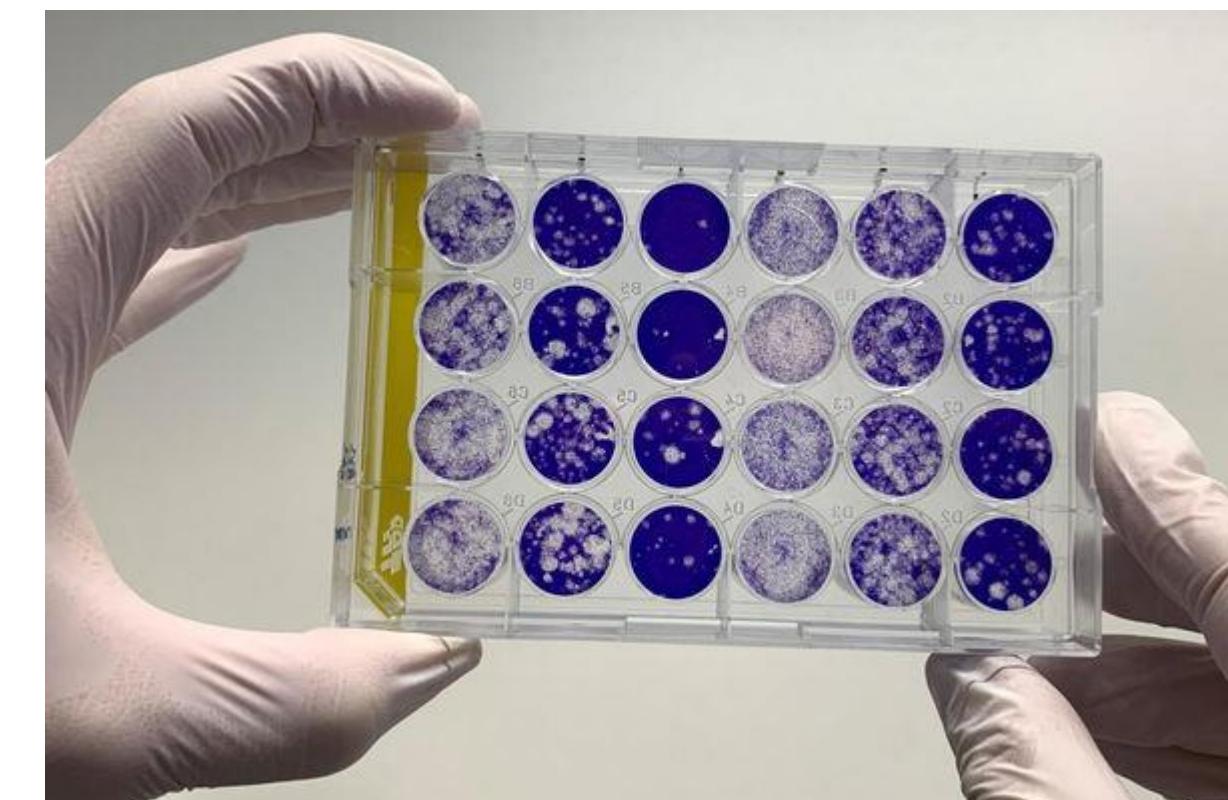
JM Huraux nov 2006

Les tests de séroneutralisation, à quoi ça sert?

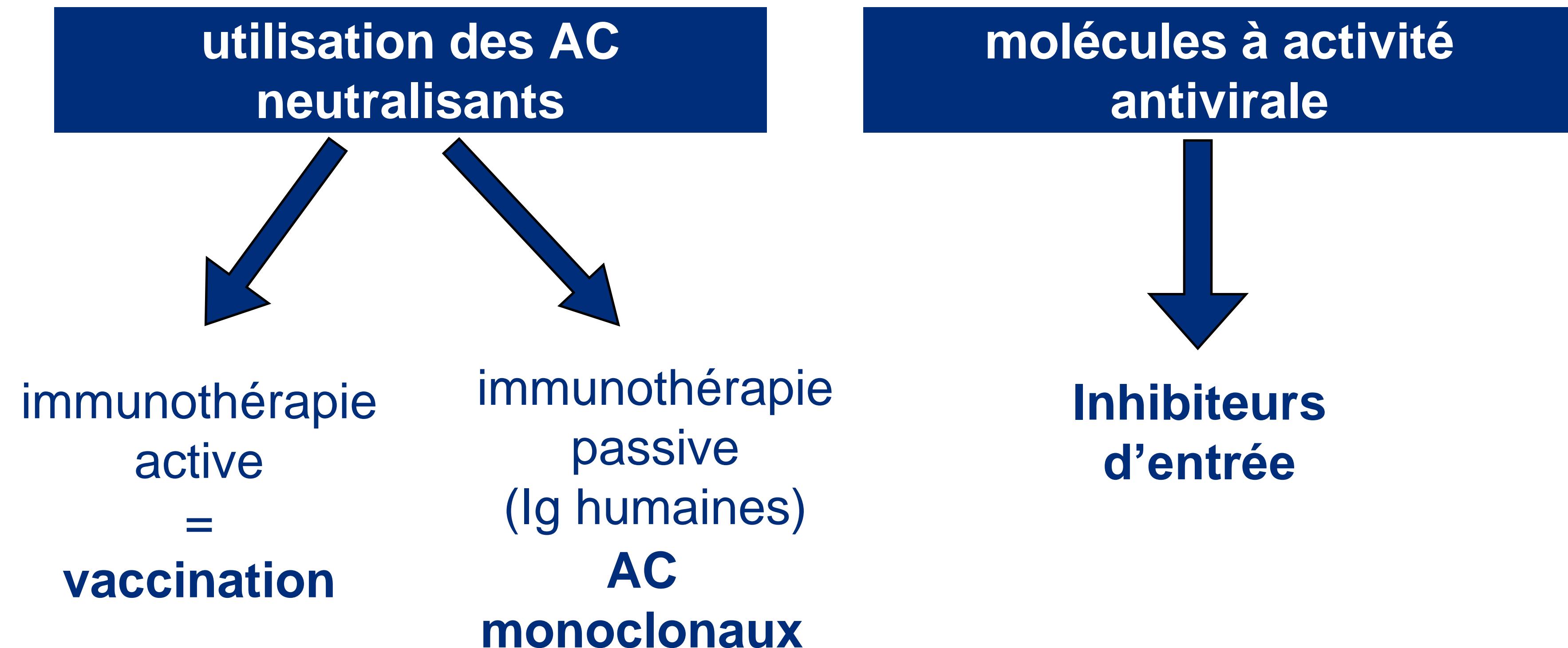
- Titre neutralisant
 - Evaluer la protection contre l'infection (nécessité de définir un seuil de protection)
 - Mesurer efficacité d'une vaccination (nécessité de définir un seuil de protection)
 - Mesurer capacité neutralisante des anticorps contre différents variants d'un même virus

FRNT50:
50% focus reduction neutralisation titer

concentration d'Ac (ou antioviral) nécessaire pour obtenir 50% diminution plage de lyse



Récepteurs cellulaires et ligands viraux: cibles thérapeutiques



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
- sélectionnés/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 IgG > reconnaissance par complément + par Fc γ R

1er mAbs 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

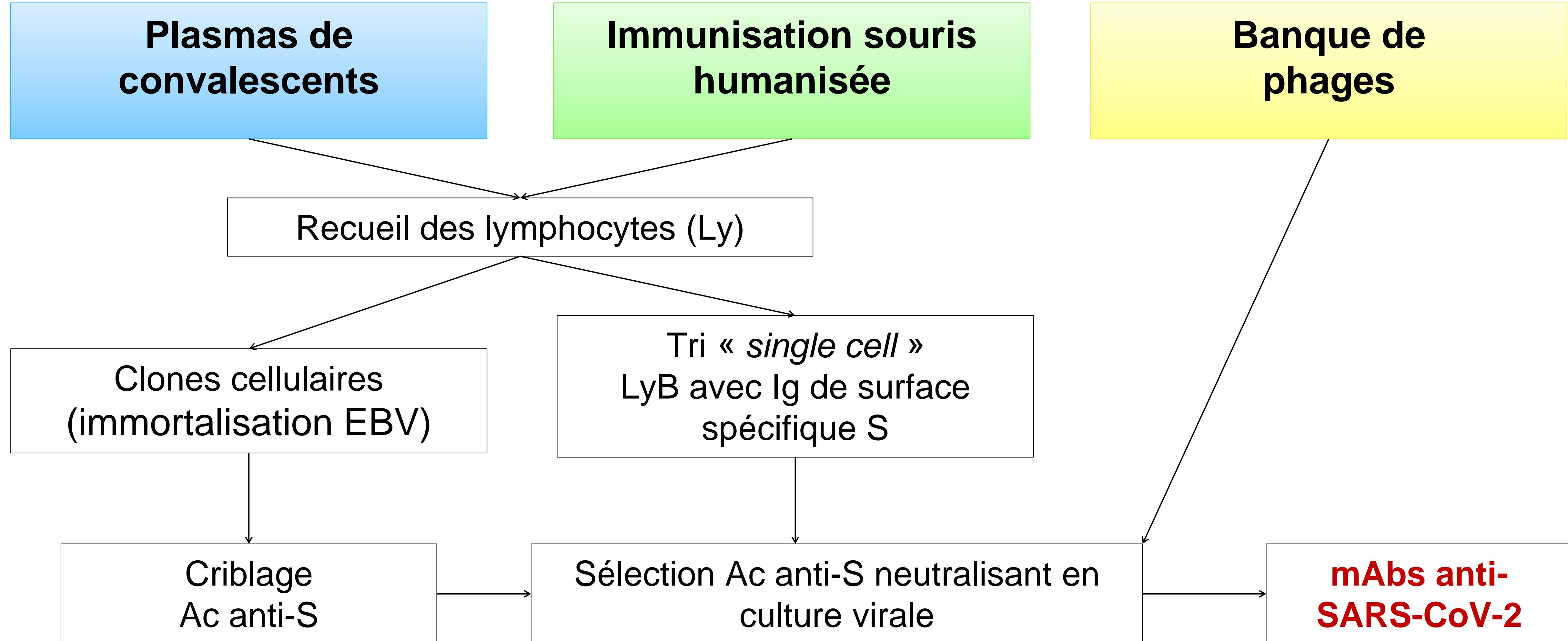
mAbs anti-SARS-CoV-2 = « neutralisant »
Blocage : récepteur cellulaire et fusion membranes



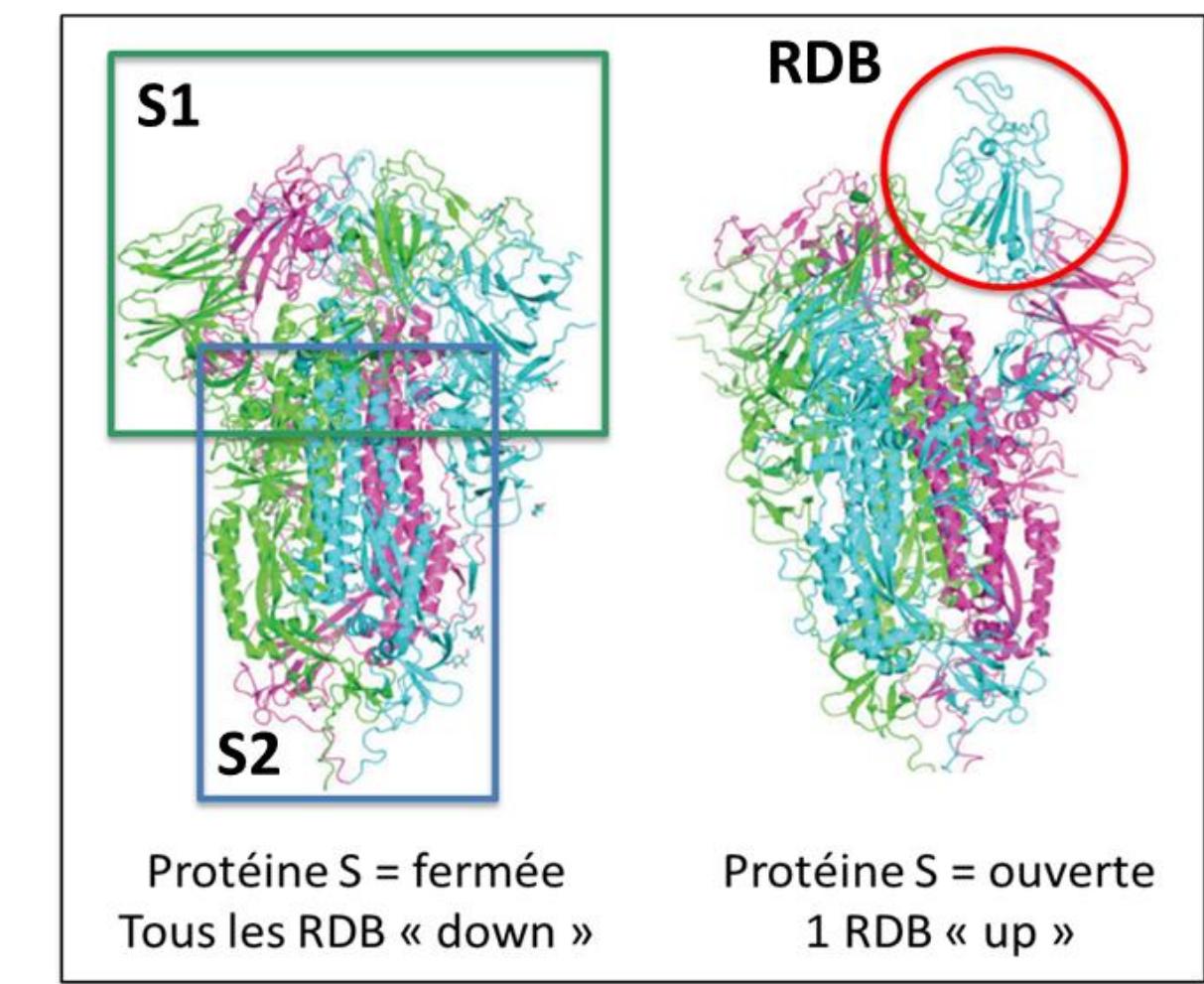
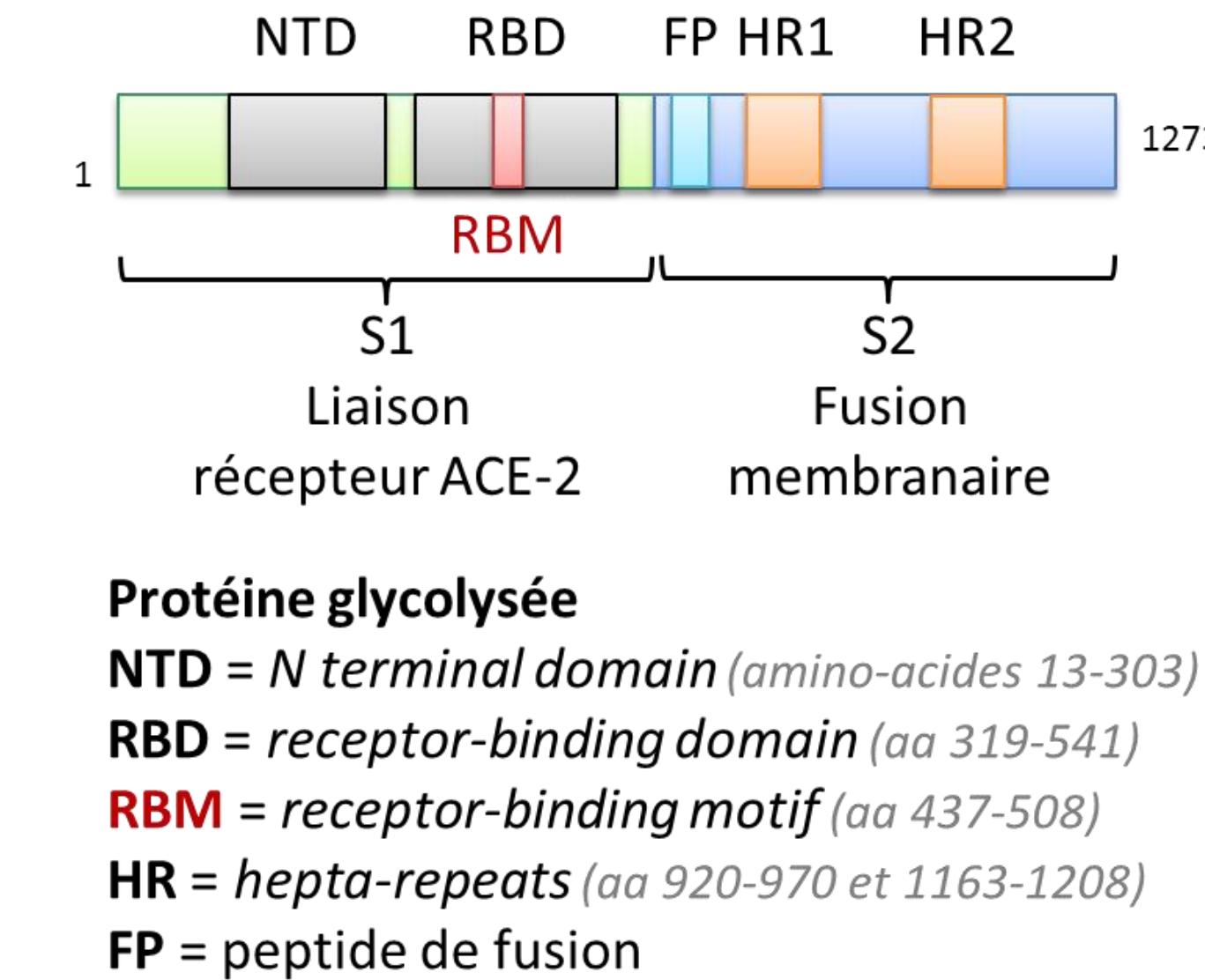
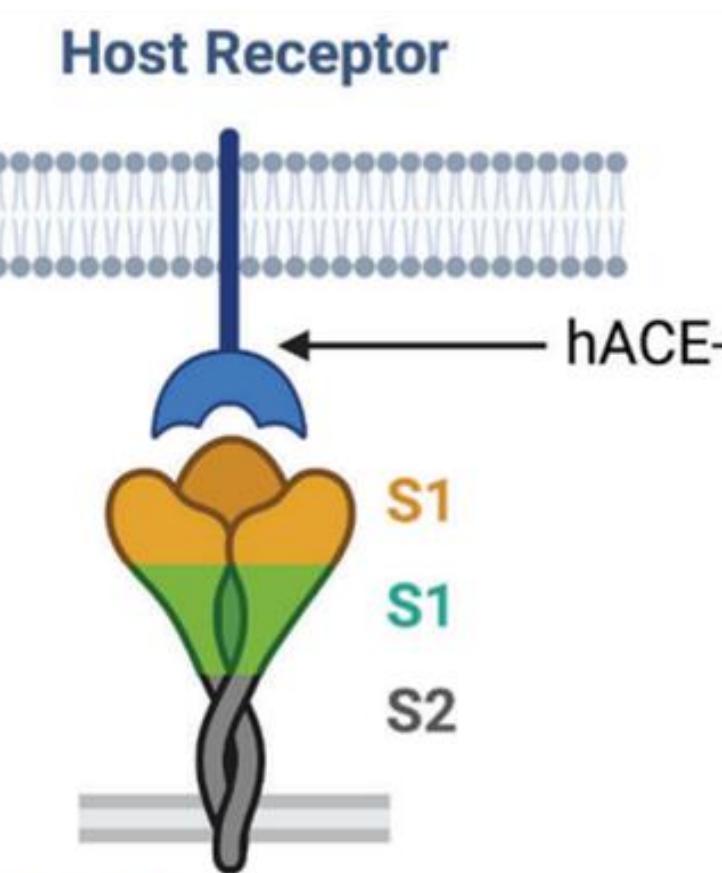
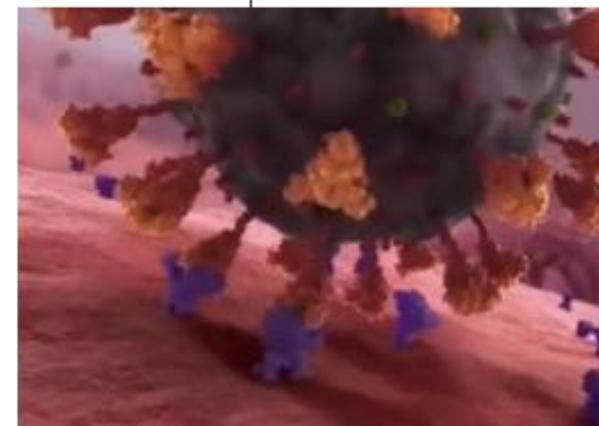
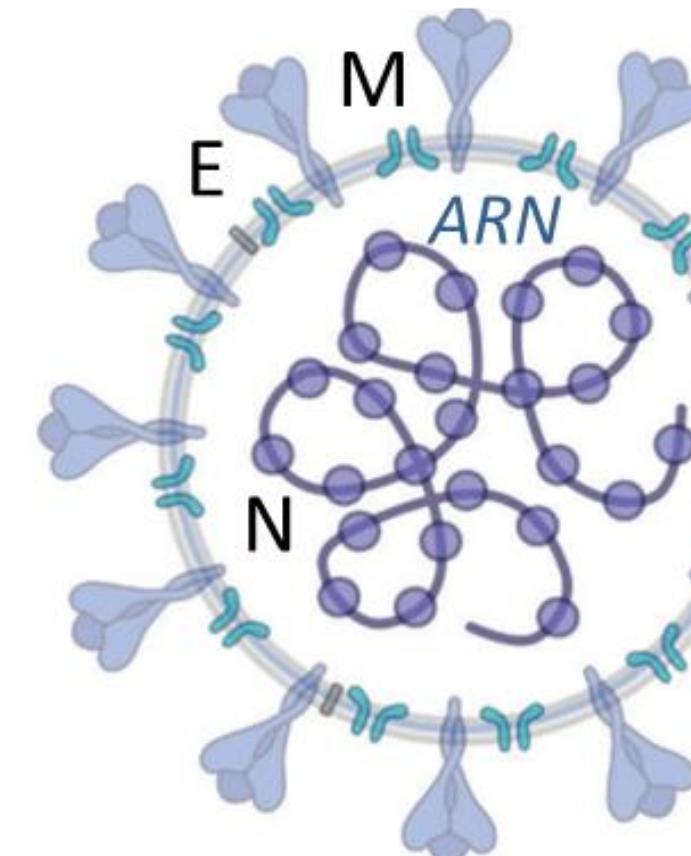
* Approved for use in India

† Emergency use authorization by FDA

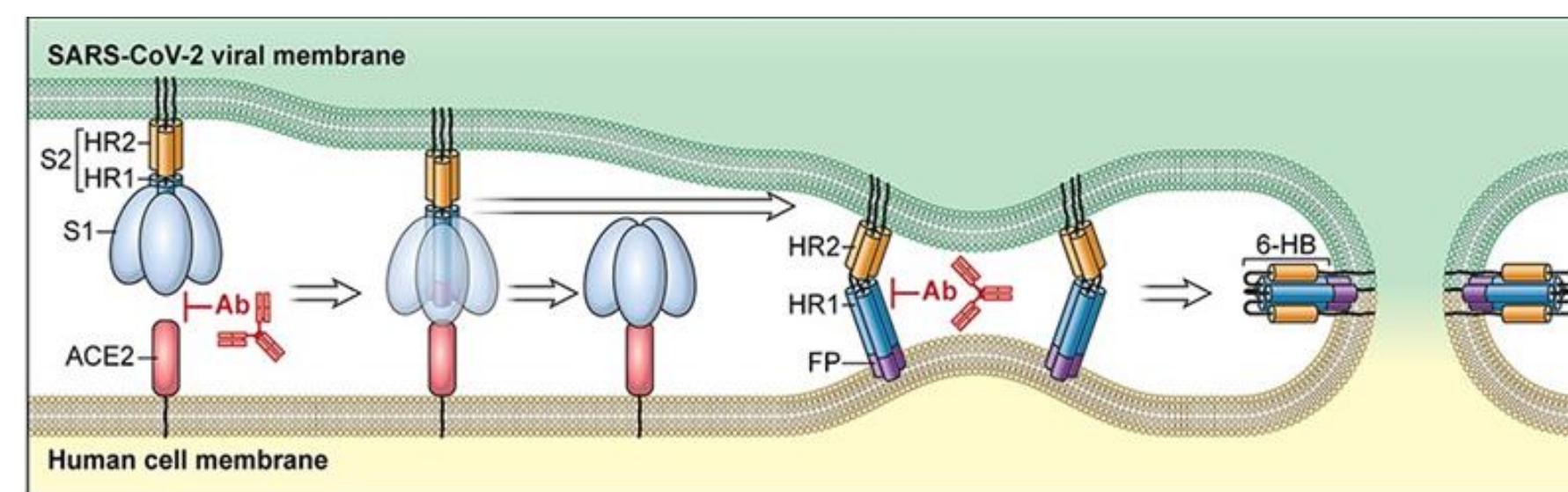
** Conditional approval in South Korea



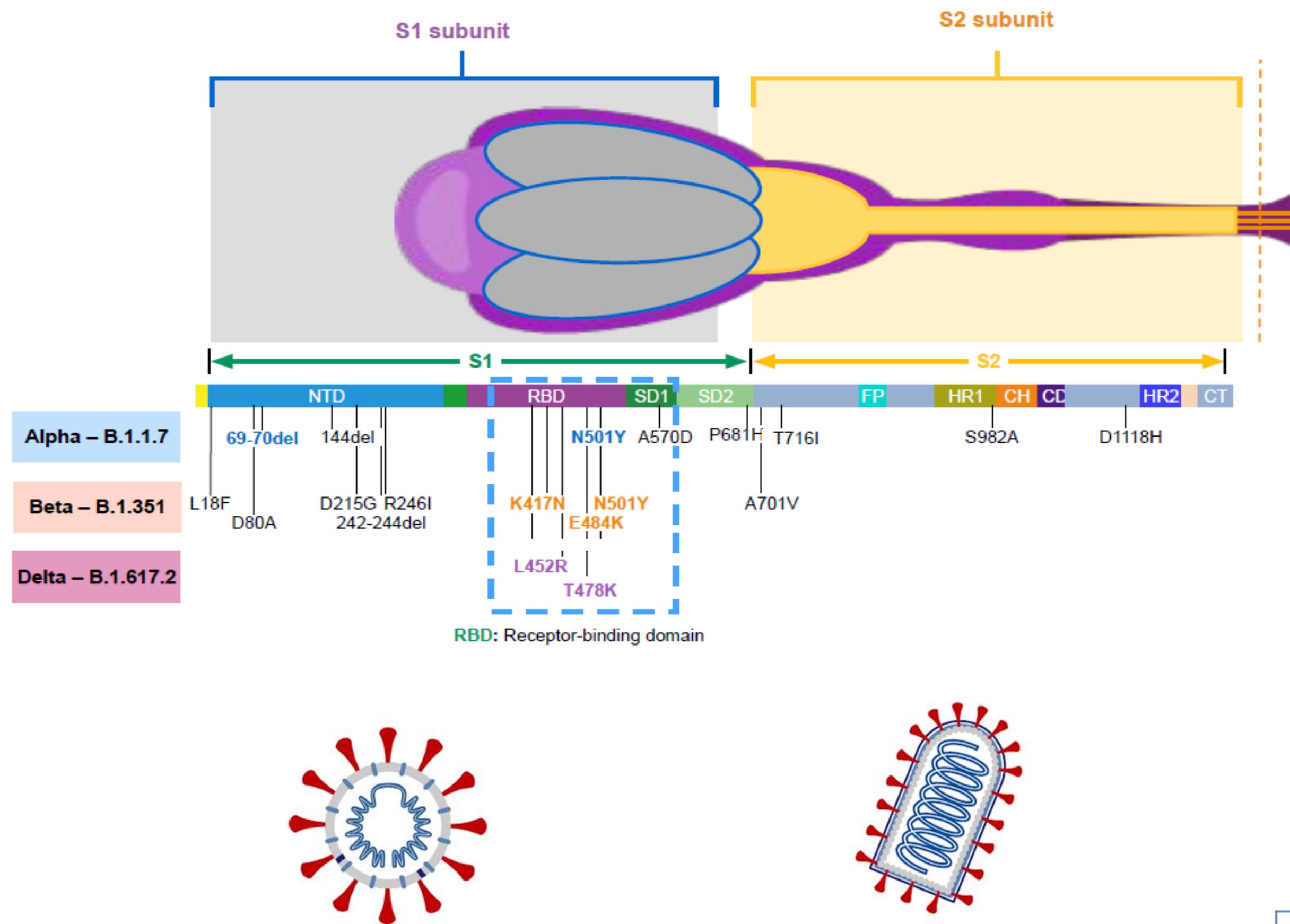
La cible virale des Ac anti-SARS CoV2 = protéine S



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



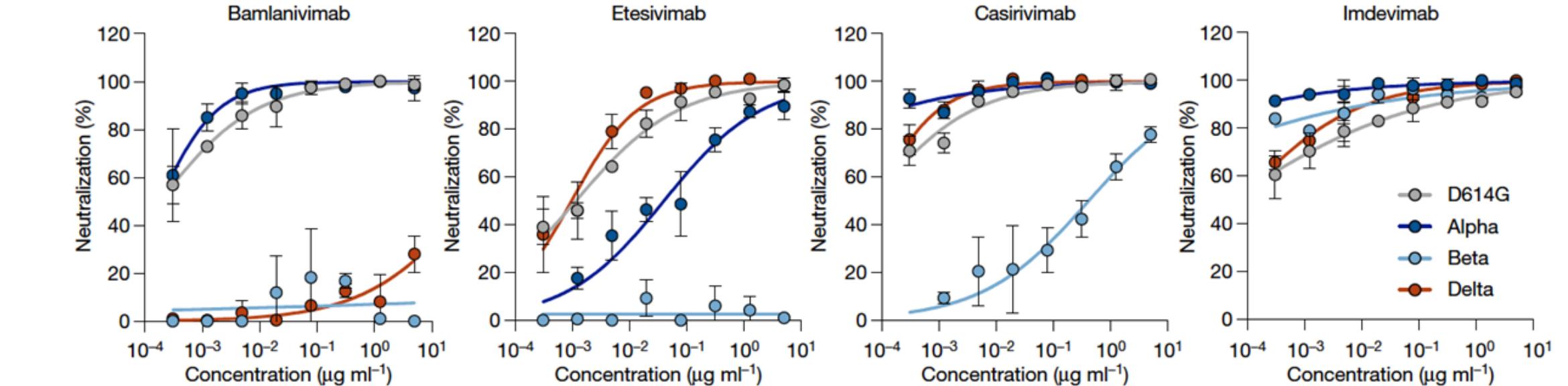
Evolution génétique du SARS CoV-2 et échappement aux anticorps



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

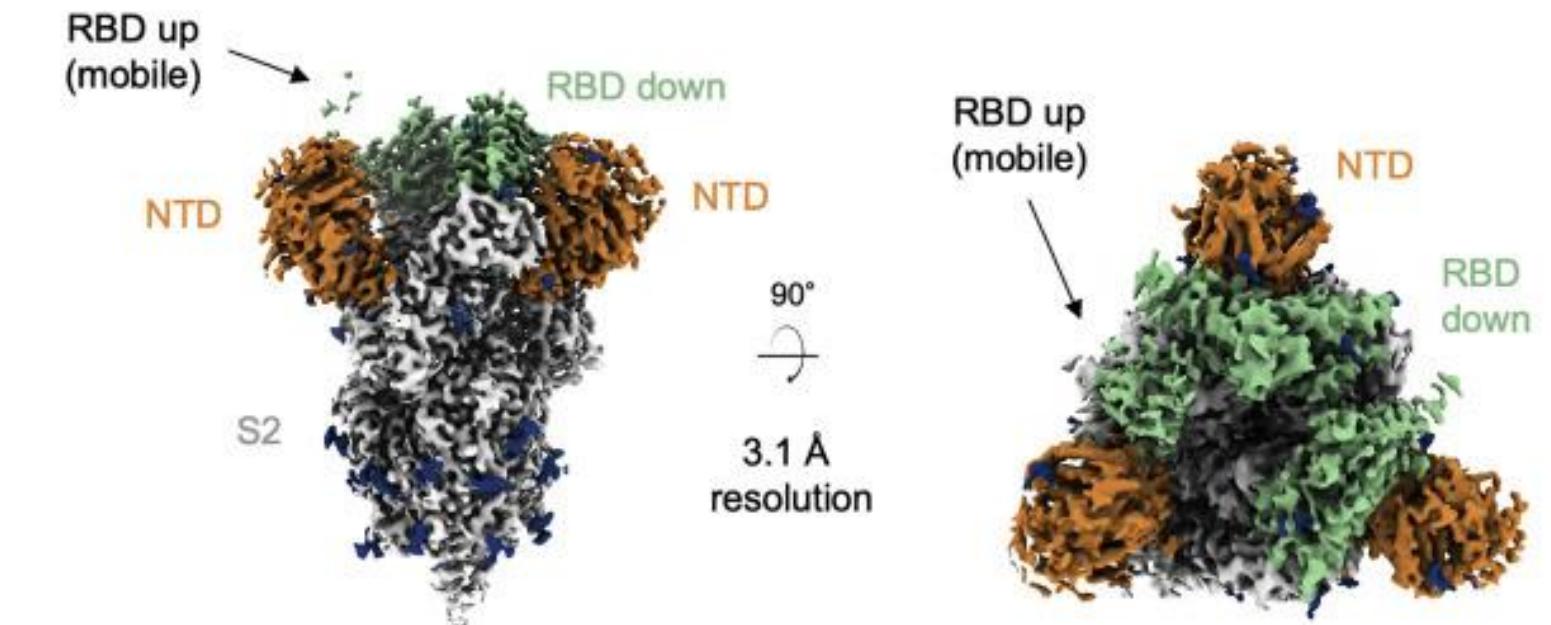
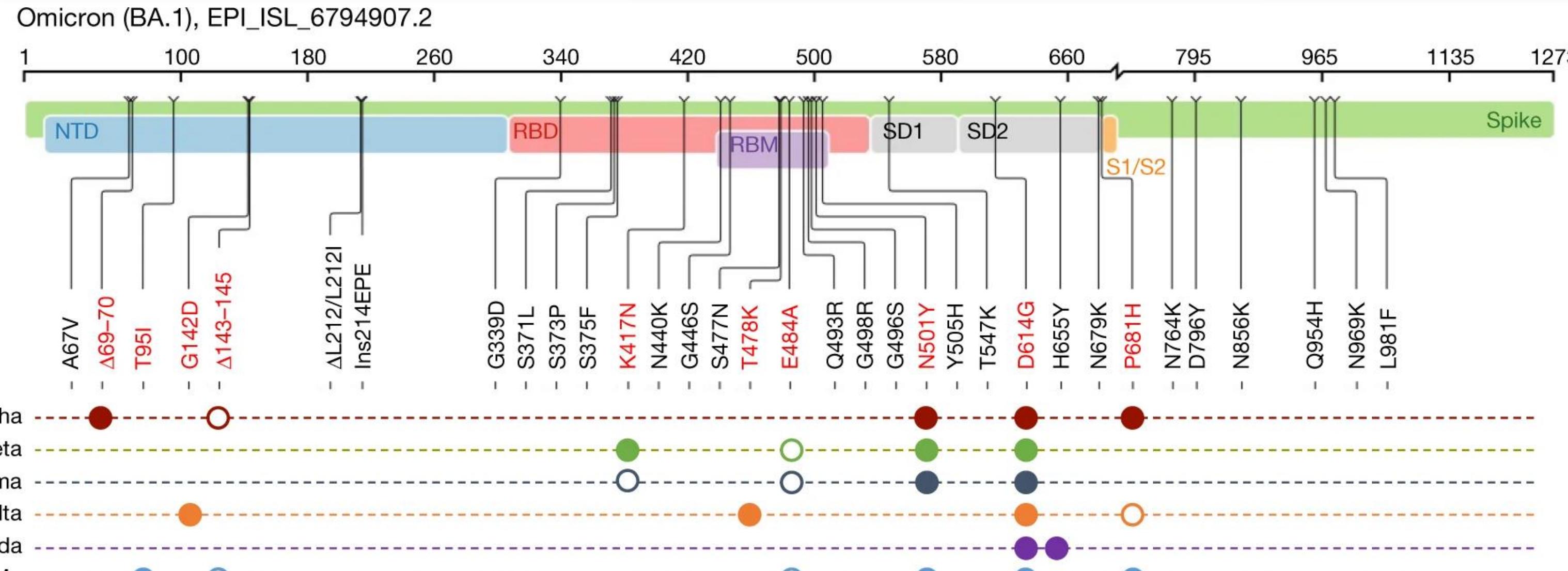
- Pseudovirus exprimant S
- Simple / multiple mutants
- Etude liaison et neutralisation

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

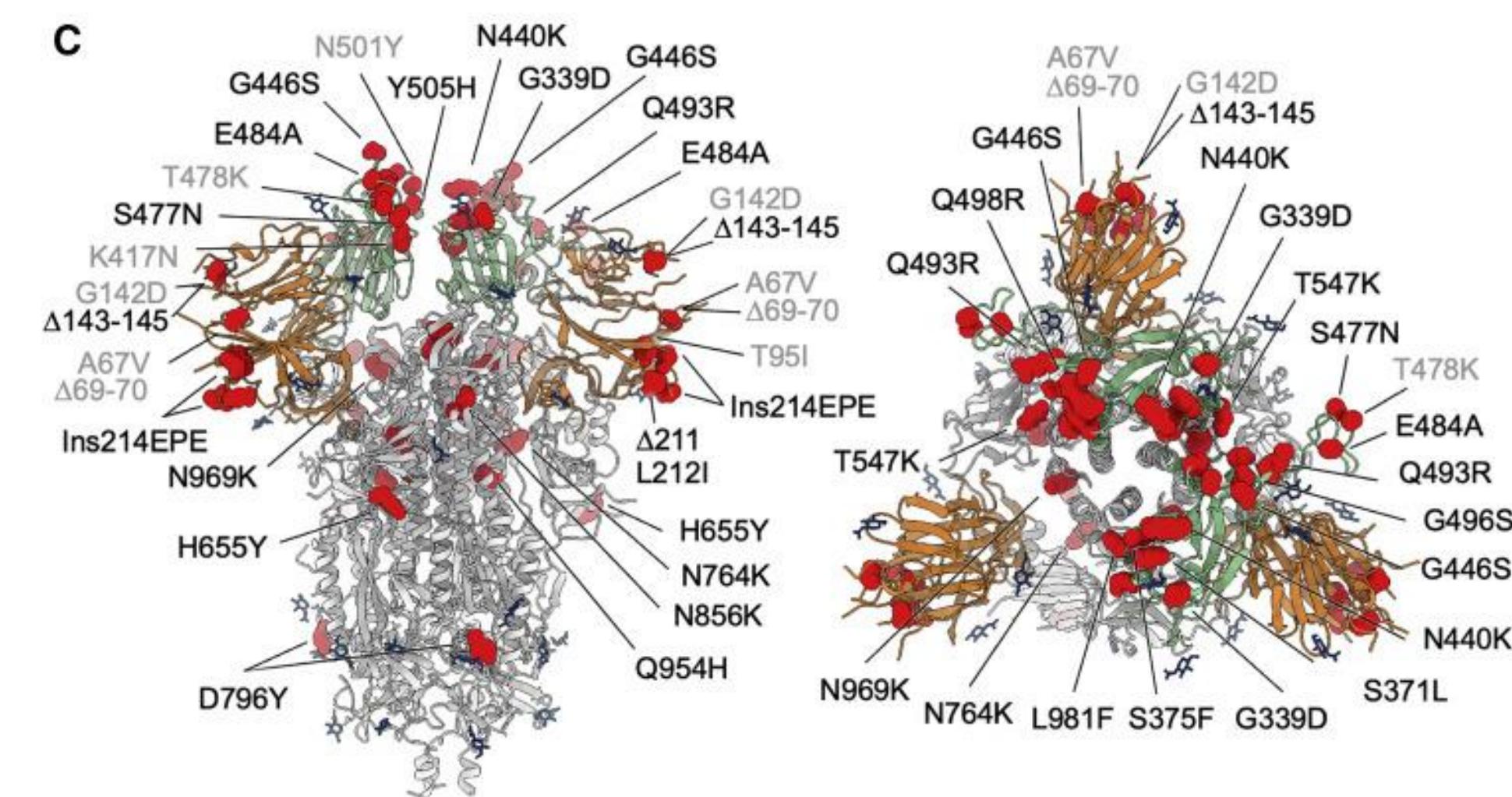


○ - D614G	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
● - Alpha	Sensible	$\uparrow \text{IC}_{50} \text{ de } 200x$	Sensible	Sensible
○ - Beta	Résistant	Résistant	Résistant	Sensible
● - Delta	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible

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

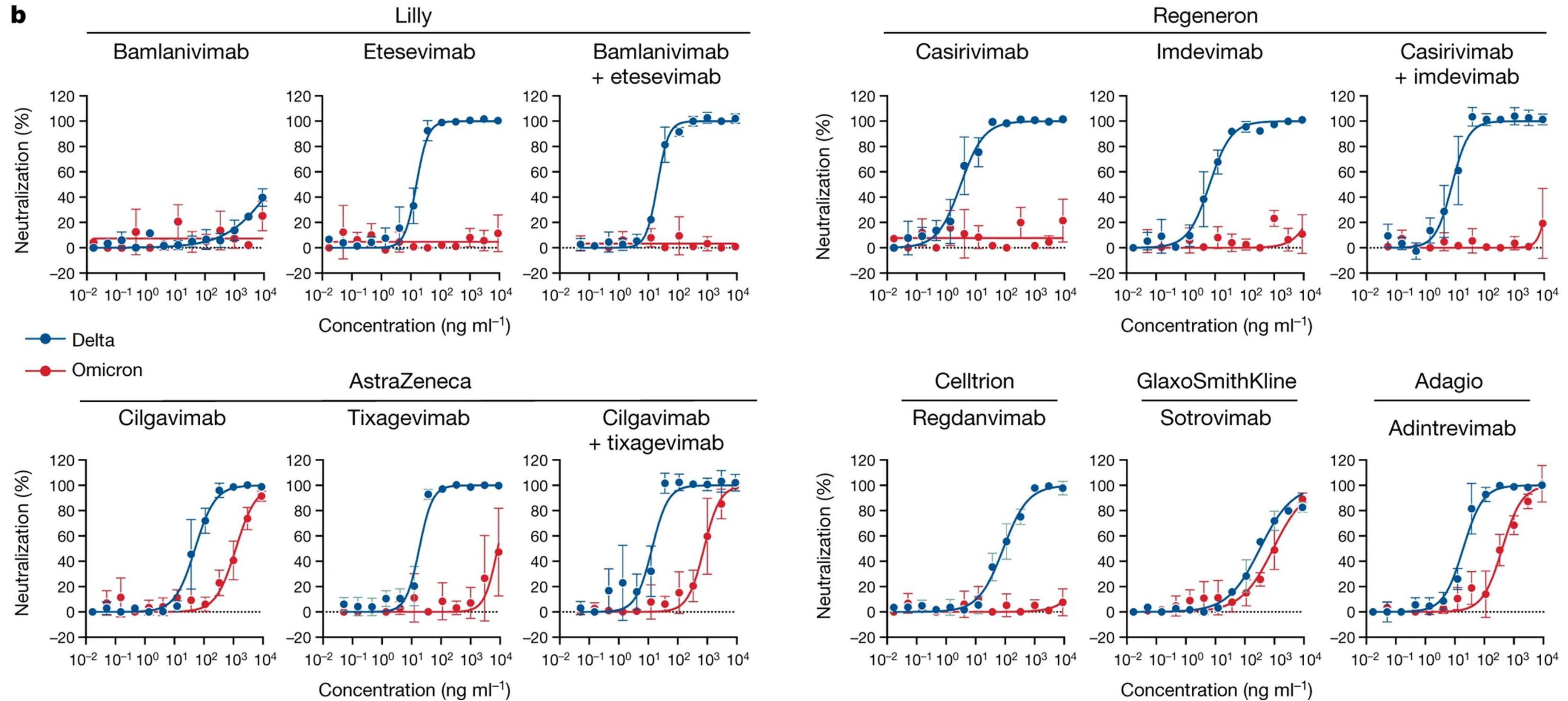


RBD positioning	WA1	D614G	Alpha	Beta	Gamma	Delta	Kappa	Omicron
3 down	0.45	0.05	0.25	0.2	-	0.3	0.55	-
1 up	0.55	0.36	0.75	0.7	1	0.7	0.45	1
2 up	-	0.29	-	0.1	-	-	-	-
3 up		0.20						



C. Bressollette Bodin - master 1 BS - 2023

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



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

Table 1. Efficacy of Monoclonal Antibodies and Antiviral Drugs against SARS-CoV-2 Variants in Vitro.*

Monoclonal Antibody or Antiviral Drug	SARS-CoV-2 Variant					
	SARS-CoV-2/UT-NC002-1T/ Human/2020/Tokyo (A)	SARS-CoV-2/UT-HP127- 1Nf/Human/2021/Tokyo (Alpha/B.1.1.7)	hCoV-19/USA/MD- HP01542/2021 (Beta/B.1.351)	hCoV-19/Japan/ TY7-503/2021 (Gamma/P.1)	hCoV-19/USA/ WI-UW-5250/2021 (Delta/B.1.617.2)	hCoV-19/Japan/ NC928-2N/2021 (Omicron/B.1.1.529)
Neutralization activity of monoclonal antibody — ng/ml†						
LY-CoV016, etesevimab	18.19±9.10	150.38±83.51	>50,000	>50,000	15.37±9.78	>50,000
LY-CoV555, bamlanivimab	4.69±1.43	2.65±1.30	9554.88±926.53	1601.65±896.02	641.73±324.79	>50,000
REGN10987, imdevimab	3.05±0.93	1.87±1.60	2.17±1.30	1.04±0.68	3.95±1.78	>50,000
REGN10933, casirivimab	2.79±1.87	2.74±1.84	757.13±287.91	187.69±128.88	2.89±1.78	14,110.70±1782.13
COV2-2196, tixagevimab	1.92±0.28	1.34±0.67	18.98±1.42	6.56±1.56	4.05±2.60	1299.94±406.58
COV2-2130, cilgavimab	7.70±2.20	3.60±1.62	10.03±3.05	4.00±2.70	12.76±2.93	443.87±167.96
S309, sotrovimab precursor	27.33±3.24	44.91±22.76	100.98±22.27	28.38±1.86	111.43±58.22	373.47±159.49
LY-CoV016 plus LY-CoV555	12.60±1.91	15.26±3.98	>10,000	2545.04±625.72	10.28±3.33	>10,000
REGN10987 plus REGN10933	3.53±0.66	1.55±0.78	5.18±1.45	2.11±0.48	1.91±0.79	>10,000
COV2-2196 plus COV2-2130	3.42±0.92	1.94±0.34	10.30±1.17	1.79±0.87	5.50±2.75	255.86±45.31
Viral susceptibility to drug — μM‡						
GS-441524§ remdesivir	1.04±0.32	0.83±0.19	0.63±0.20	0.91±0.33	1.12±0.20	1.28±0.42
EIDD-1931¶ molnupiravir	0.51±0.14	0.95±0.17	0.60±0.21	0.41±0.13	0.83±0.41	0.43±0.08
PF-00835231 Inhibiteur protéase	18.45±7.35	10.56±5.85	14.20±4.34	9.40±3.28	14.81±5.24	12.71±3.00

* Plus-minus values are means ±SD. The antibodies used in this work were produced in the authors' laboratory and are not identical to the commercially available products. The viral variants of SARS-CoV-2 are listed according to the World Health Organization labels for the Pango lineage.

† The individual monoclonal antibodies were tested at a starting concentration of 50,000 ng per milliliter as a 50% focus reduction neutralization titer. The monoclonal antibody combinations were tested at a starting concentration of 10,000 ng per milliliter for each antibody.

‡ In this category, the value is the 50% inhibitory concentration of the mean micromole value of triplicate reactions.

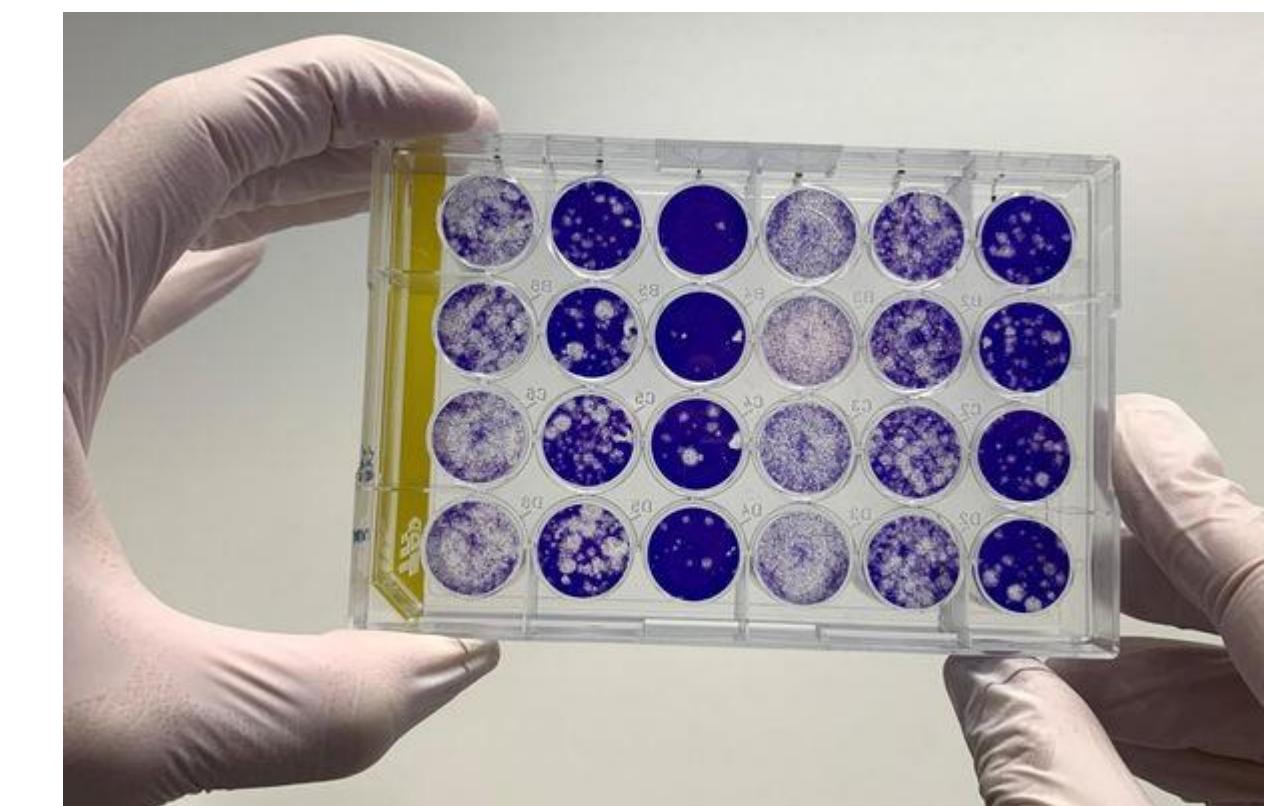
§ GS-441524 is the active form of remdesivir, an RNA-dependent RNA polymerase inhibitor.

¶ EIDD-1931 is the active form of molnupiravir, an RNA-dependent RNA polymerase inhibitor.

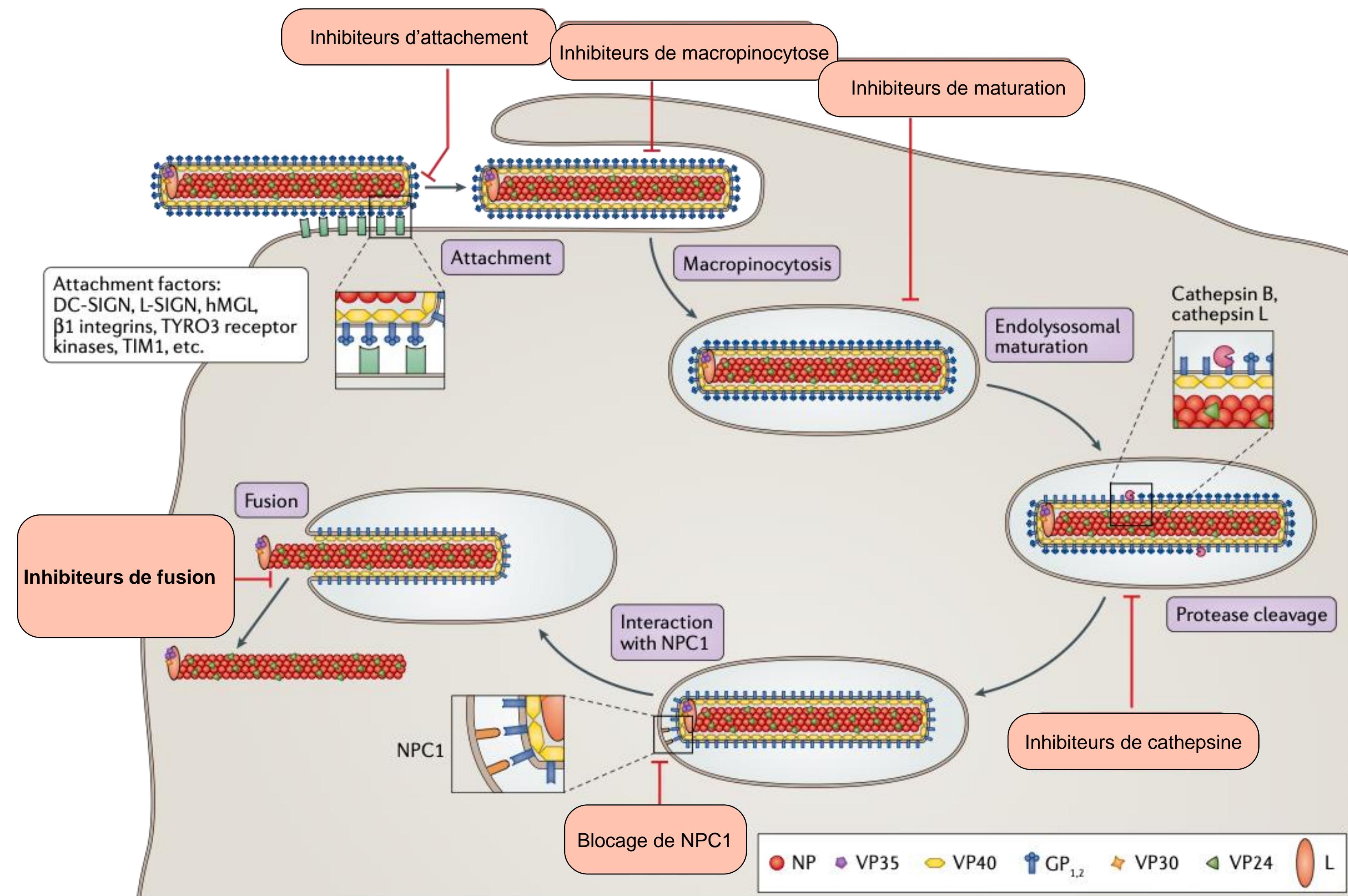
|| PF-00835231 is the active form of PF-07304814, a protease inhibitor.

FRNT50:
50% focus reduction neutralisation titer

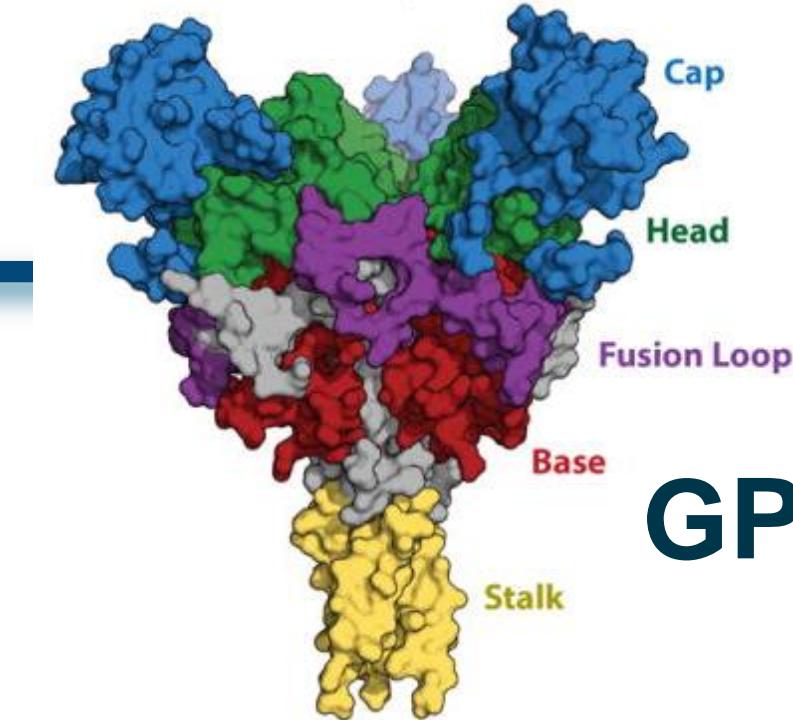
concentration d'Ac (ou antioviral) nécessaire pour obtenir 50% diminution plage de lyse



Ebola Virus _ cibles thérapeutiques/entrée



Ebola Virus _ 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

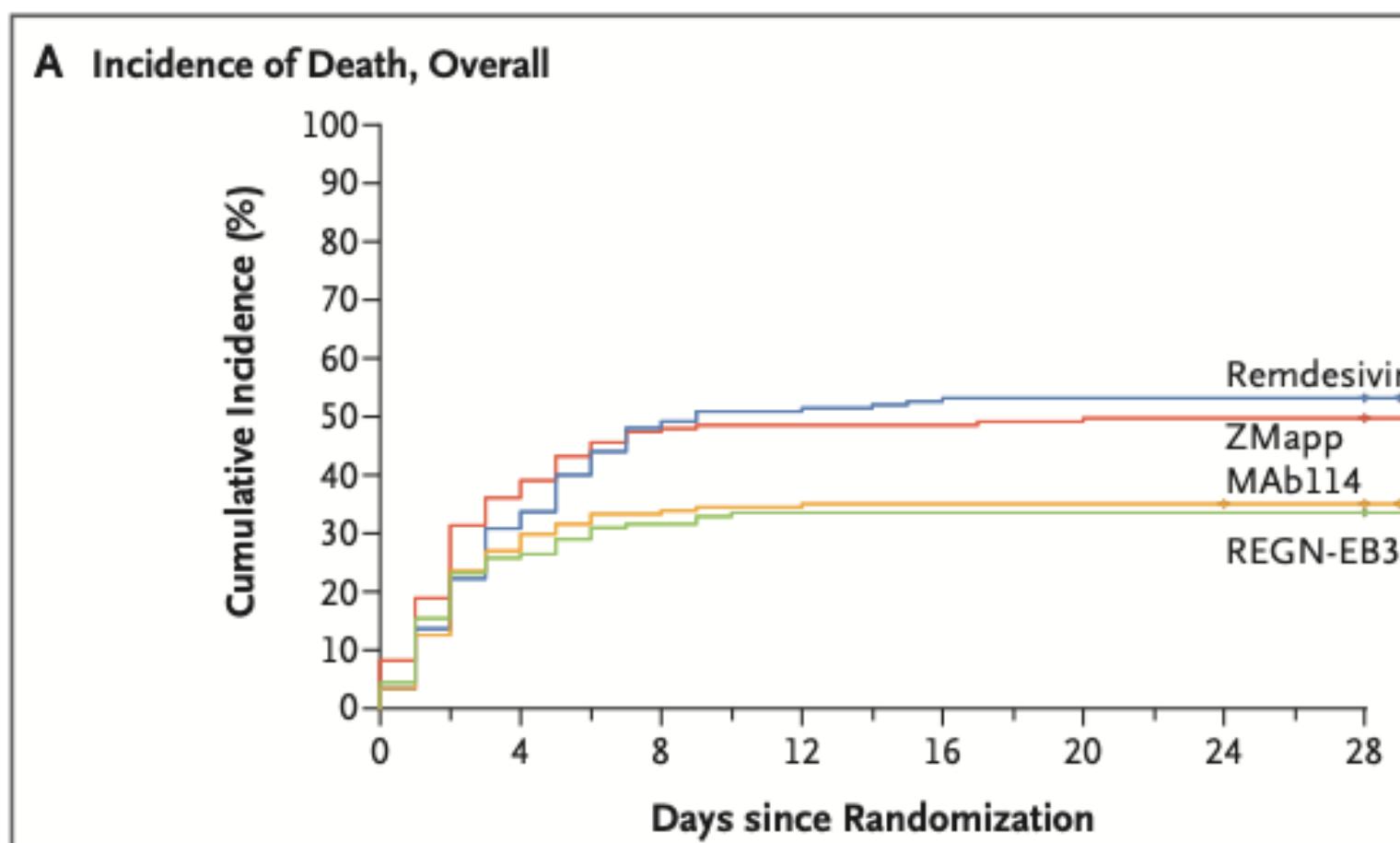
- Dérivé de cellule B mémoire d'un survivant
- Activité neutralisante ++. Se lie à une région conservée de la GP, inhibe l'interaction avec le récepteur NCP-1 dans les endosmose tardifs. Se fixe également à sGP
- Activité ADCC également

■ REGN-E3

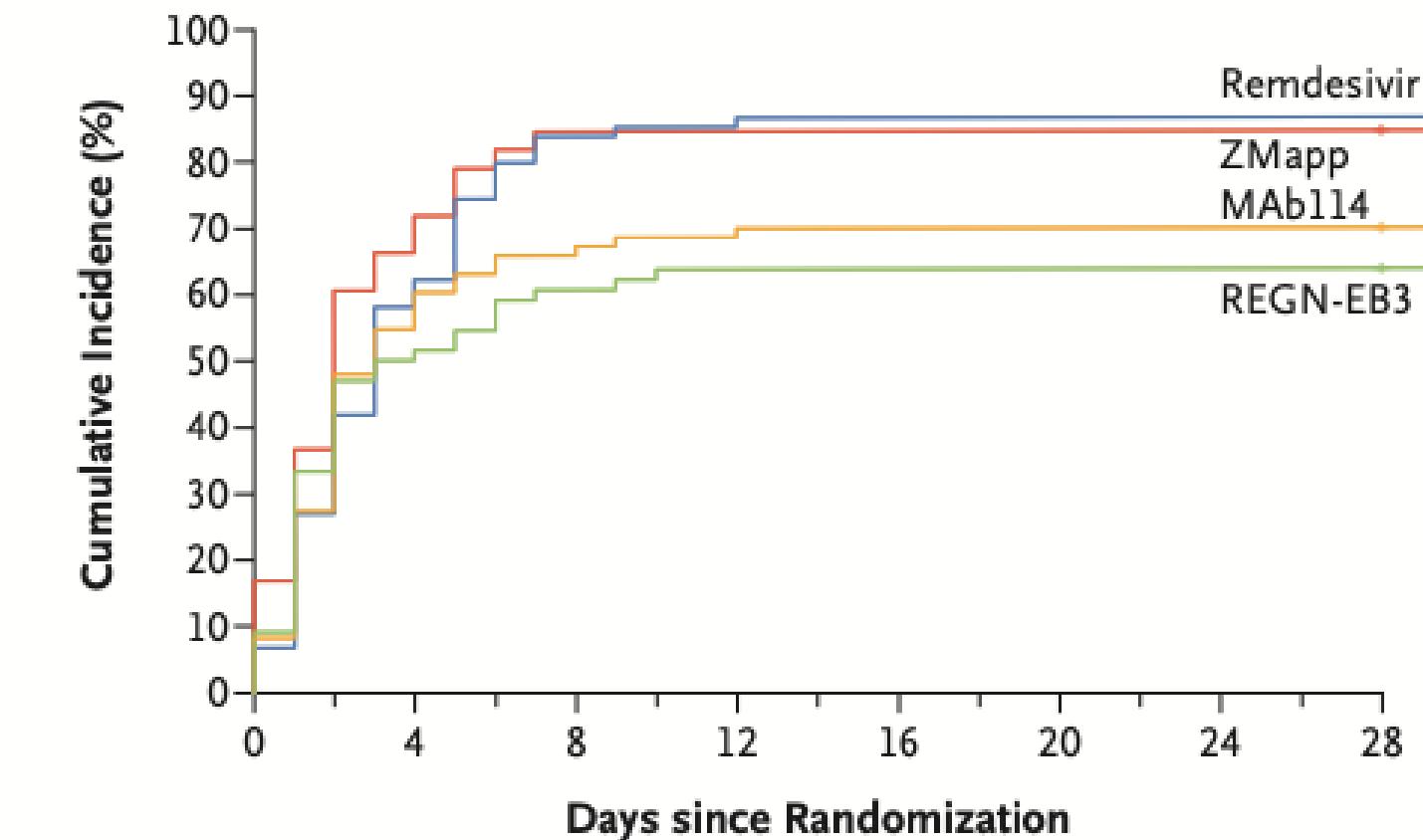
- Cocktail de 3 AcM obtenus par immunisation de souris humanisées
- Les 3 AC se lient à des épitopes différents de la GP > diminue le risque d'échappement
- Plusieurs modes d'action associés: neutralisante + ADCC + ADCP /non neutralisante +ADCC+ADCP+ liaison sGP / neutralisante seule

Ebola Virus _ AcM thérapeutiques

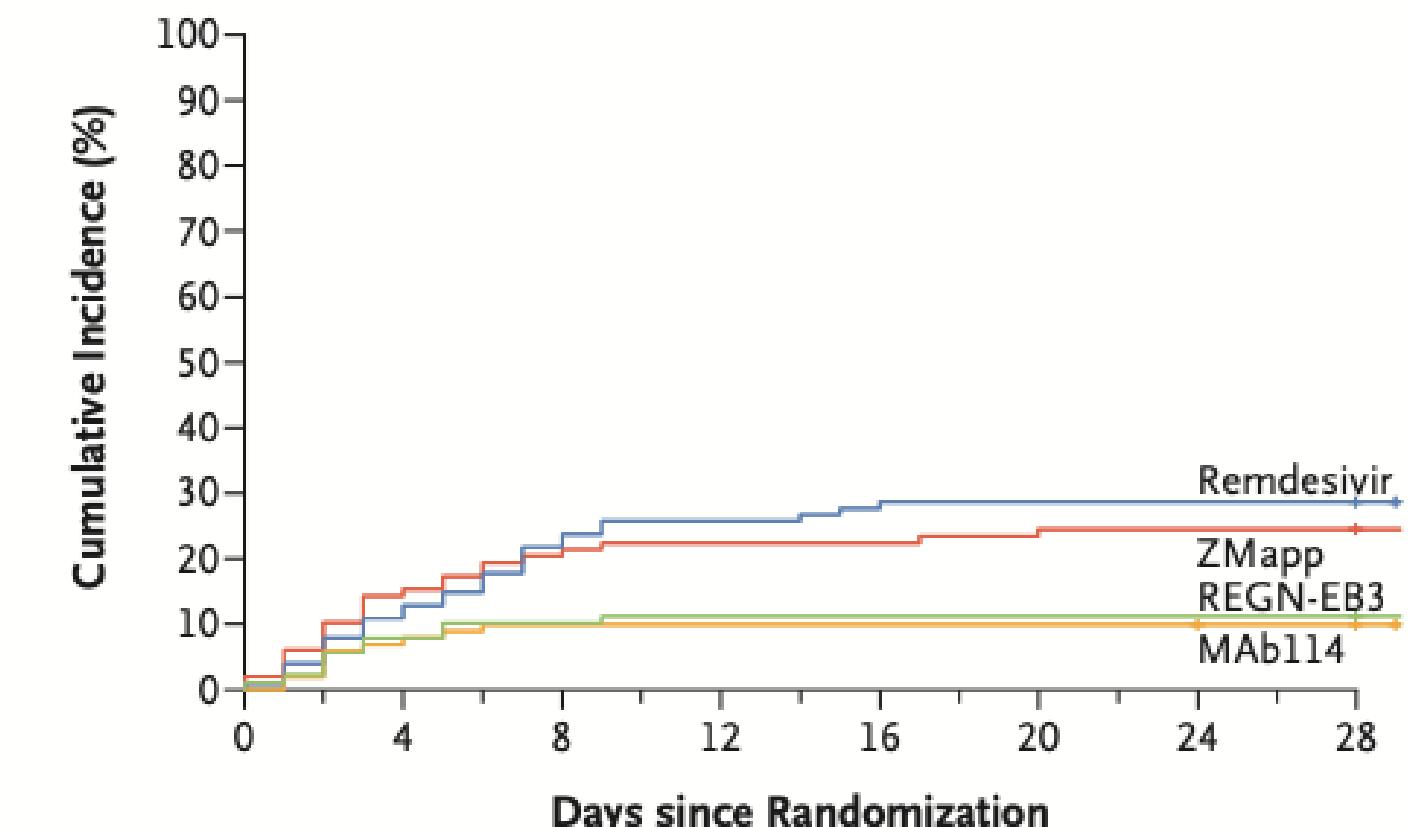
- Efficacité partielle, plus efficace si administré tôt, charge virale faible

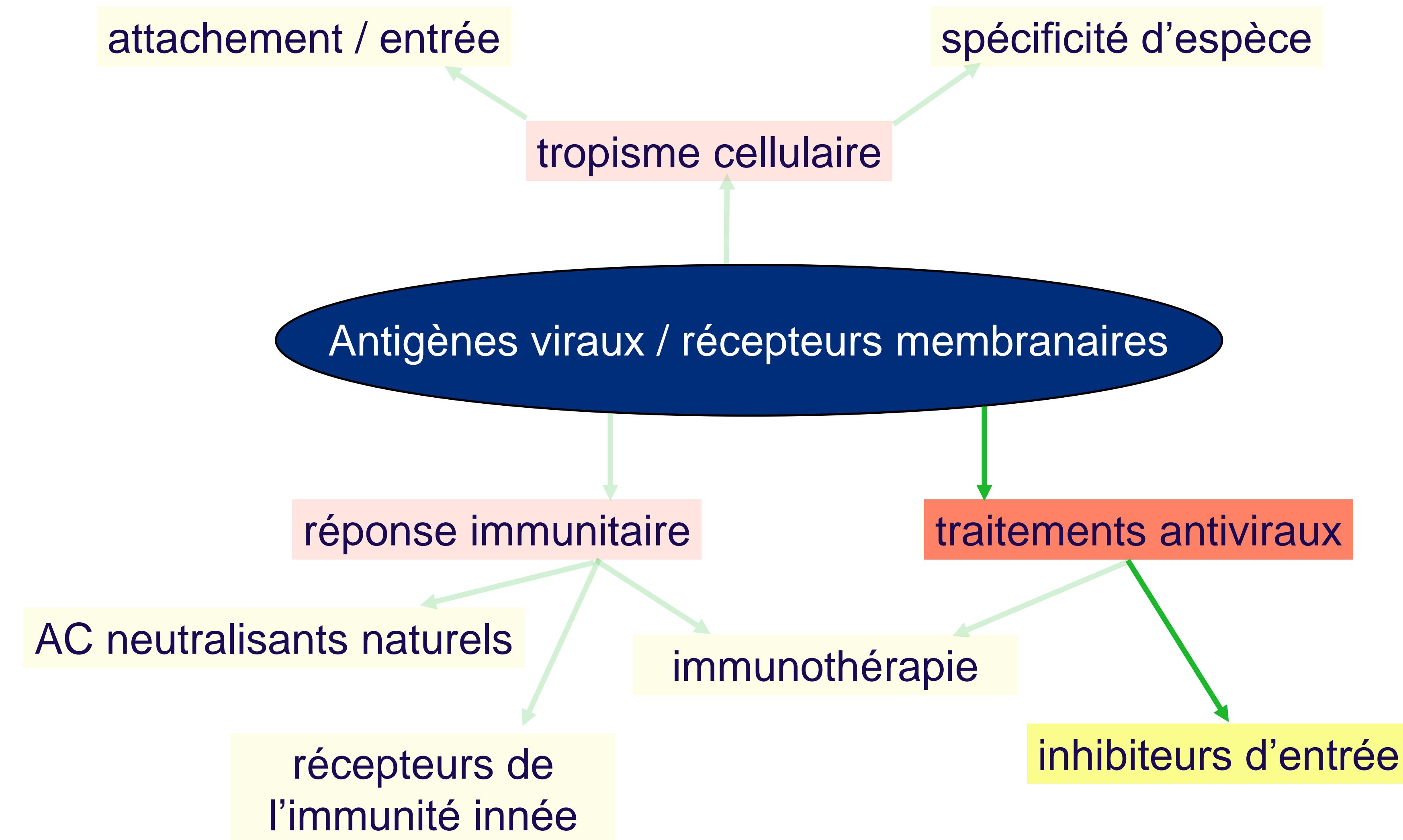


B Incidence of Death, Patients with a High Viral Load

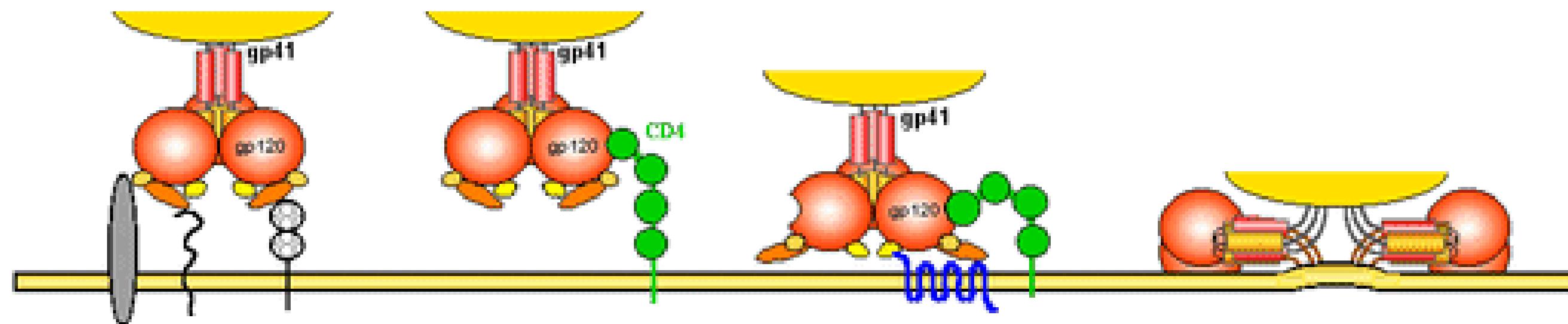


C Incidence of Death, Patients with a Low Viral Load

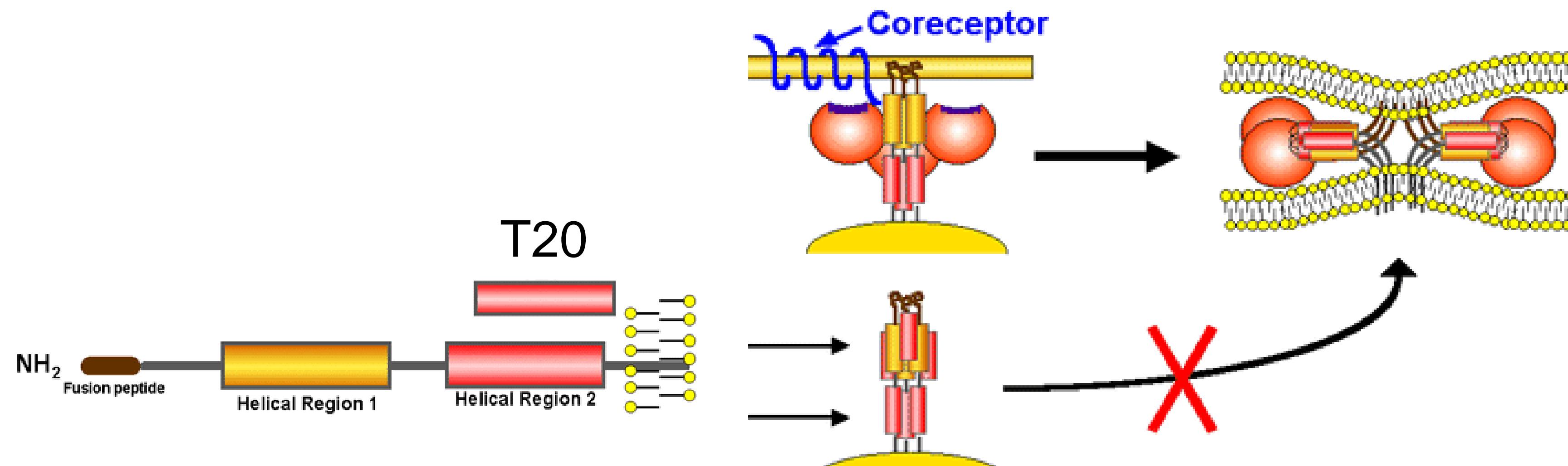




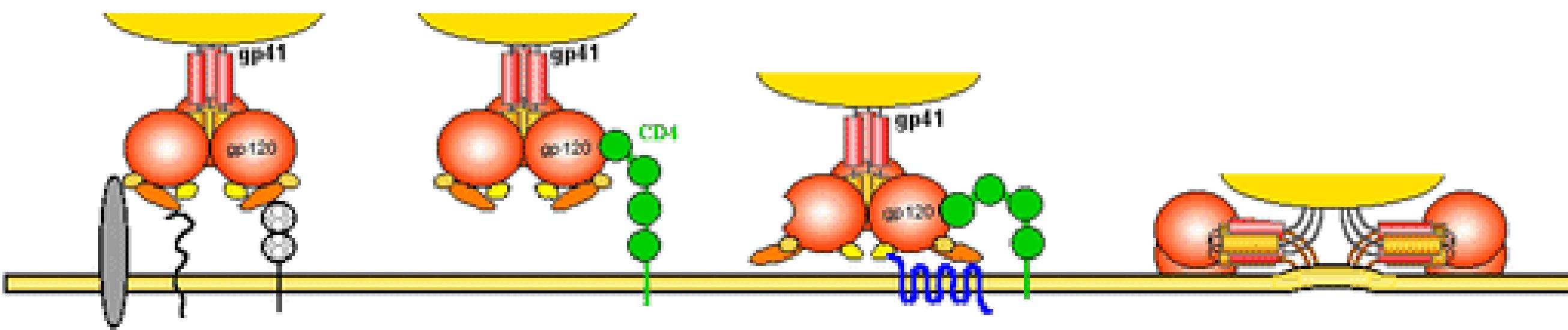
Inhibiteurs d'entrée du VIH: inhibiteurs de fusion



T20 = enfuvirtide: polypeptide dont la séquence correspond à une région de la protéine d'ancrage gp41 (HR2) > empêche le repliement de la gp41 (HR2 sur HR1) indispensable pour la fusion de gp120 avec la membrane cellulaire

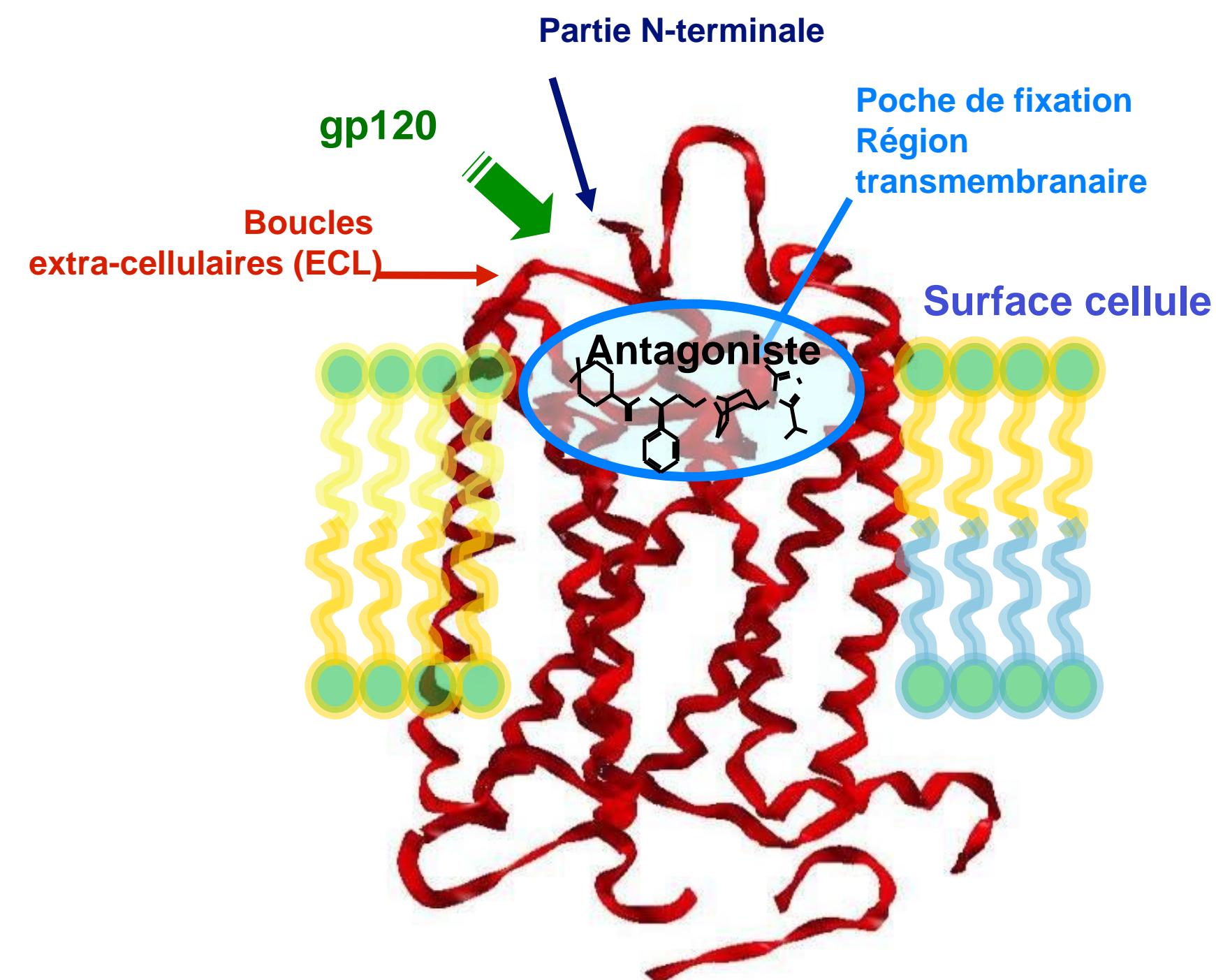


Inhibiteurs d'entrée du VIH: antagonistes du CCR5



Maraviroc: fixation de la molécule dans la région transmembranaire du co-récepteur CCR5 > modification conformationnelle de la partie N-terminale et des boucles extracellulaires du CCR5 gênant la fixation de la gp120

efficace uniquement sur les souches à tropisme CCR5



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** et le **typage viral**
 - induction d'une protection par **vaccination**
 - **protection passive par injection d'Ig** d'origine humaine
 - production d'**AC monoclonaux**