

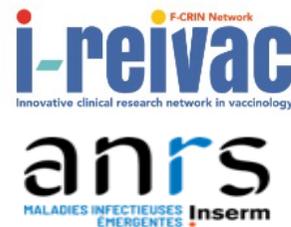
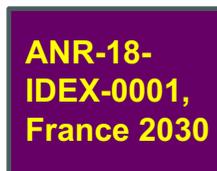


Hôpital Européen Georges Pompidou    Hôpital Necker  
AP-HP. Paris



## Adjuvants et vecteurs en vaccinologie

Pr Eric TARTOUR



# Adjuvants (Adjuvare = aider)

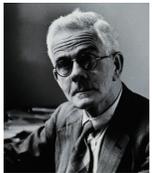
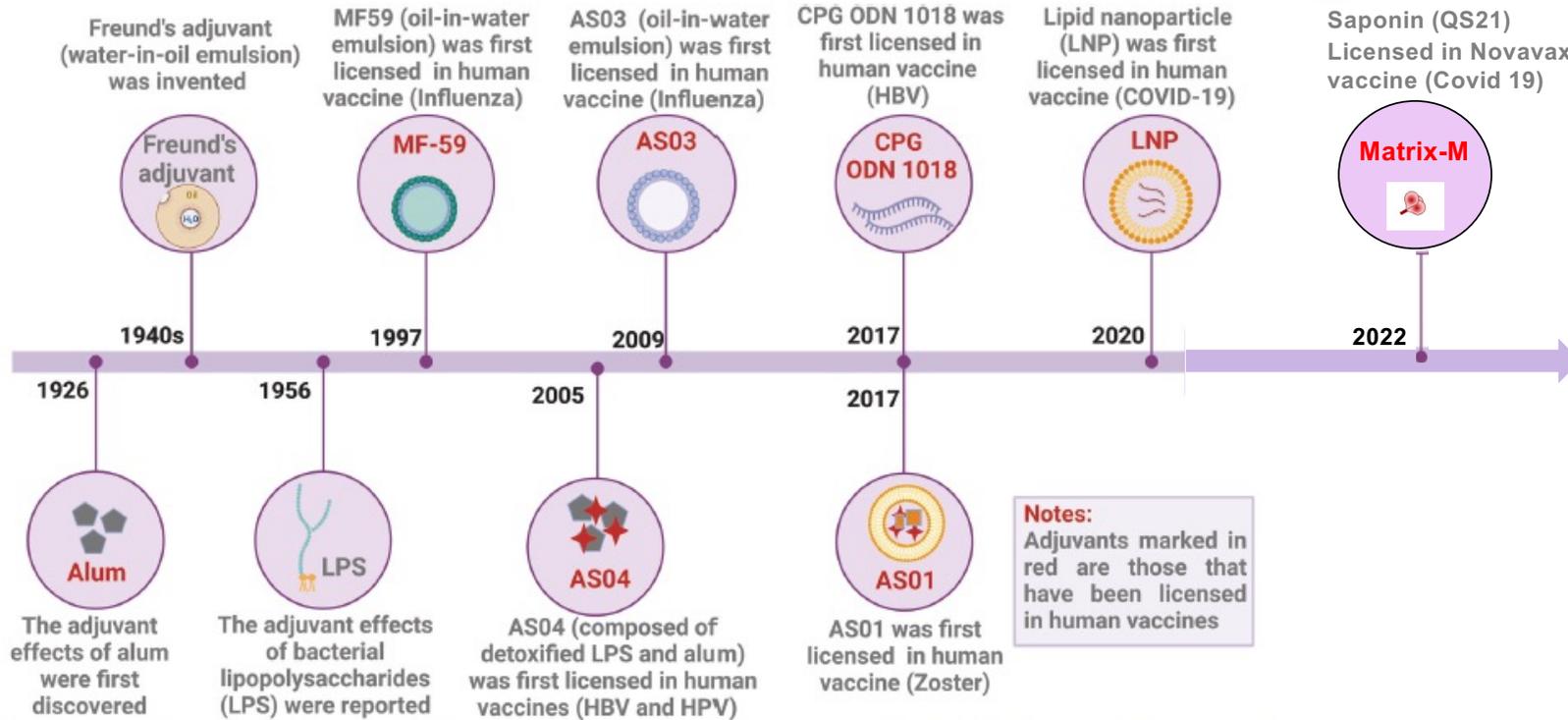
## Définition:

« A substance added to vaccine to improve the immune response. »

## Intérêt en vaccinologie:

- Augmenter l'immunogénicité du vaccin
- Réduction doses vaccins
- Maintien de la réponse immunitaire dans le temps (mémoire)
- Diminution du nombre et de la fréquence des rappels
- Elargir la réponse immunitaire: induction d'une immunité croisée (ex: vaccin grippe)

# Historique des adjuvants



Alexander Glenny

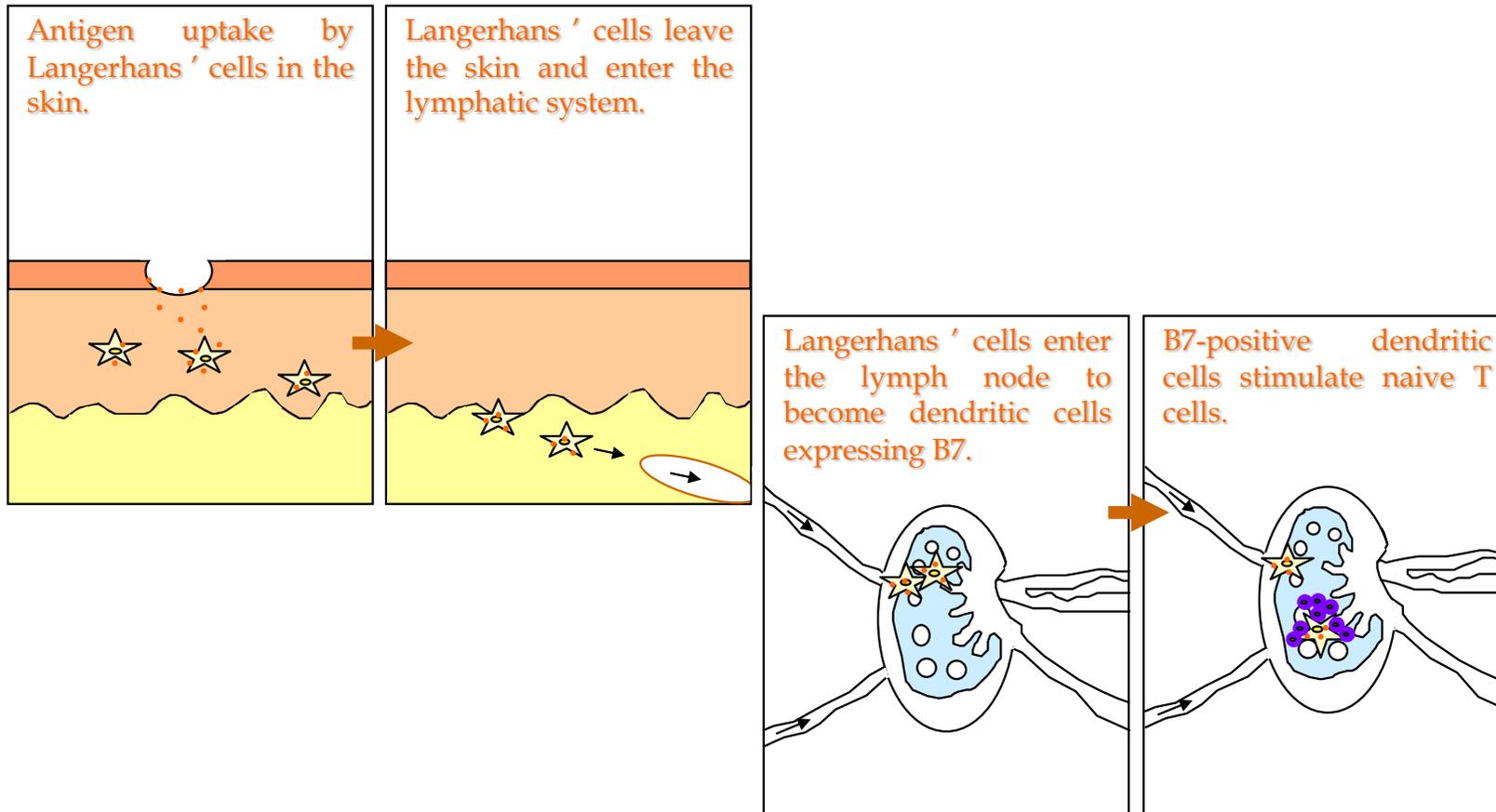


Gaston Ramon

Une inflammation sur le site d'injection de la toxine diphtérique augmente la réponse immunitaire

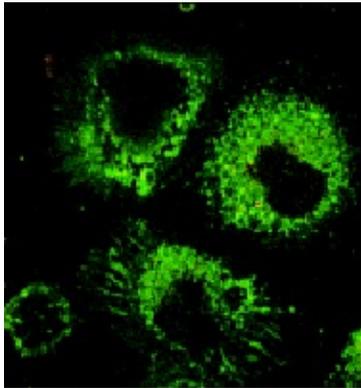
2021 Alhydroxyquim-II (Hydroxide d'aluminium + agoniste TLR7-8)  
Covax 19 (Spikogen) : vaccin protéique + adjuvant en Iran et vaccin inactivés + adjuvant (Covaxin) en Inde

**Langerhans' cells can take up antigen in the skin and migrate to lymphoid organs where they present it to T cells.**



## DC Immature

Internalisation de l'antigène  
en périphérie



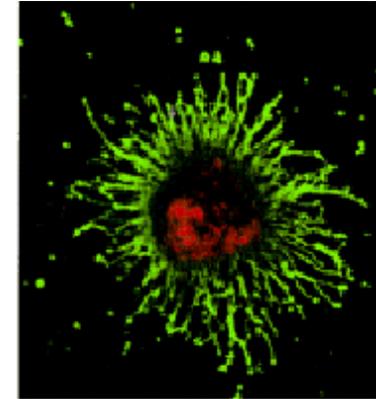
### Signaux de maturation

- Anti-CD40, cytokines
- activation TLR (LPS, CpG...)



## DC mature

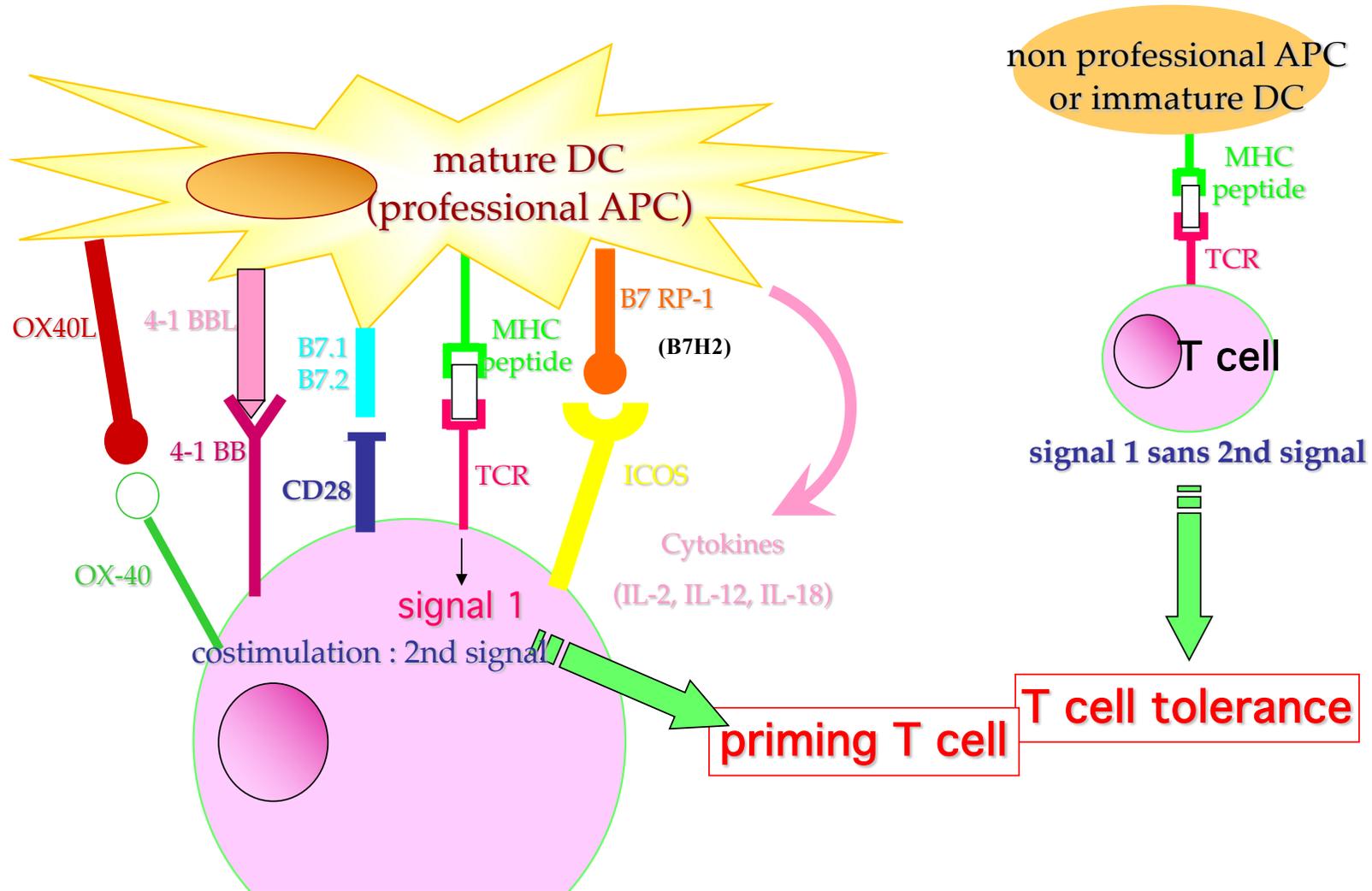
Présentation de l'antigène aux LT



- Macropinocytose
- Lectin de type C
- Récepteurs Fc $\gamma$
- Récepteurs corps apoptotiques ou cellules nécrotiques (CD36 et  $\alpha$ v $\beta$ 3 ou  $\alpha$ v $\beta$ 5)

- Expression CMH II à la membrane
- Expression molécules de costimulation (CD80, CD86, CD40)
- Immunoproteasome
- Production IL-12
- Expression CCR7
- ↘ Récepteurs d'internalisation ( $\alpha$ v $\beta$ 5, Fc $\gamma$ R)

# Deux signaux sont nécessaires pour l'activation optimale des lymphocytes T



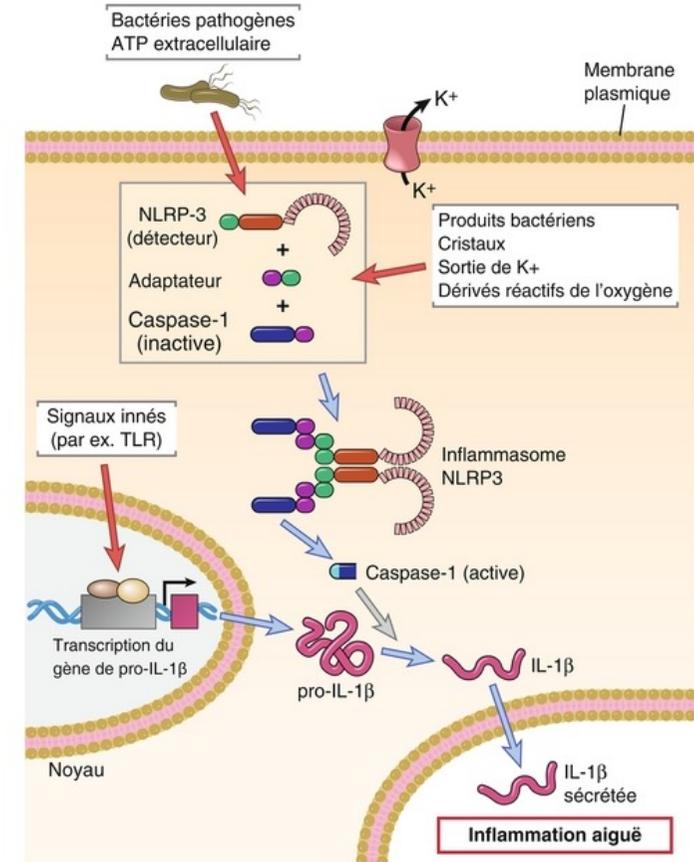
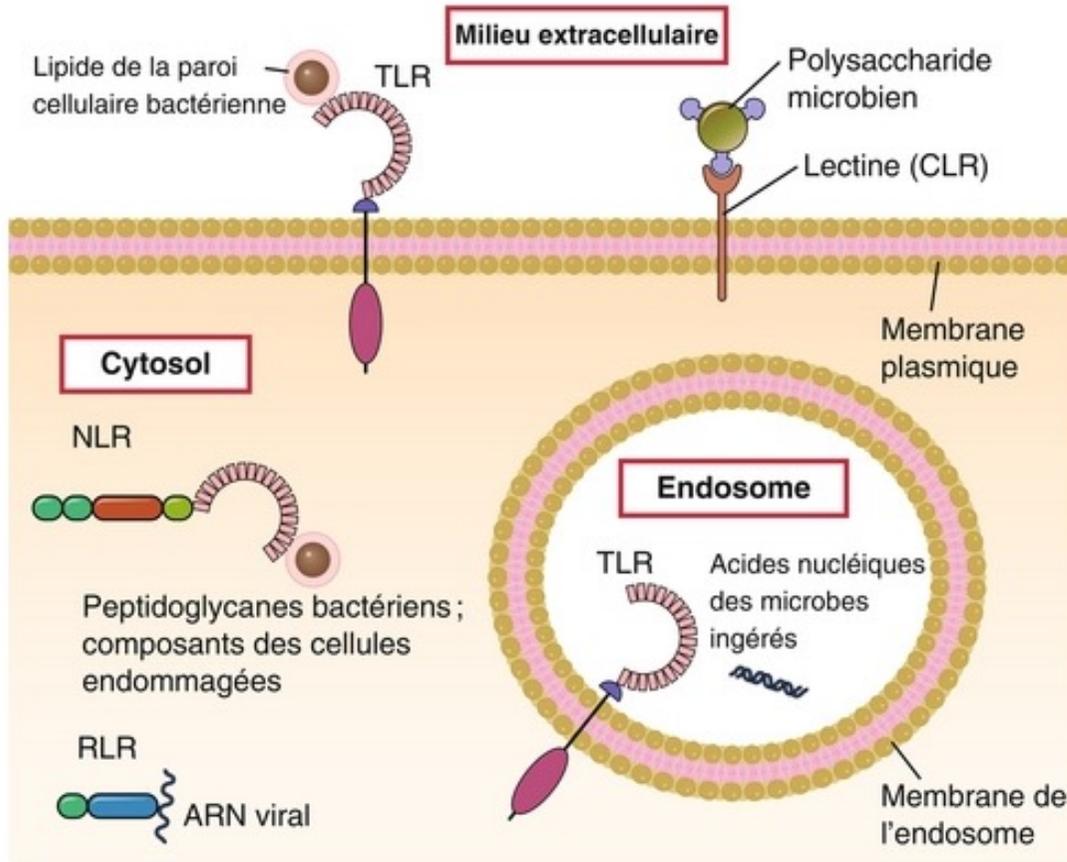
# Adjuvants et récepteurs de l'immunité innée : TLR, RLR, CLR, NLR, Inflammasome

- **PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns)**

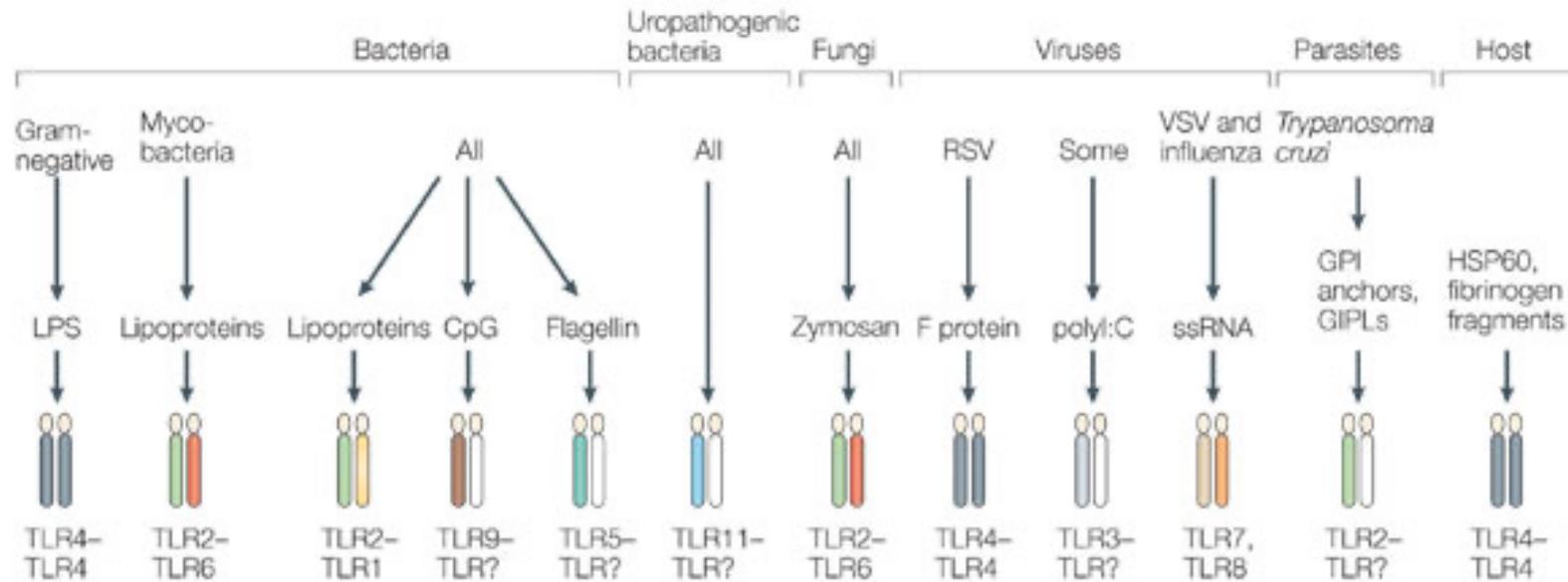
Motifs moléculaires conservés retrouvés chez de nombreux pathogènes (ex. : lipopolysaccharides bactériens, ARN viral double brin).

- **DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns)**

Molécules libérées par des cellules endommagées ou stressées (ex. : ATP extracellulaire, acide urique, protéines nucléaires).



## Toll-like receptors recognize a range of pathogen-derived products



Nature Reviews | Immunology

- Ligands TLR = adjuvants de vaccination

# Major signaling pathways of adjuvants with immunostimulatory properties

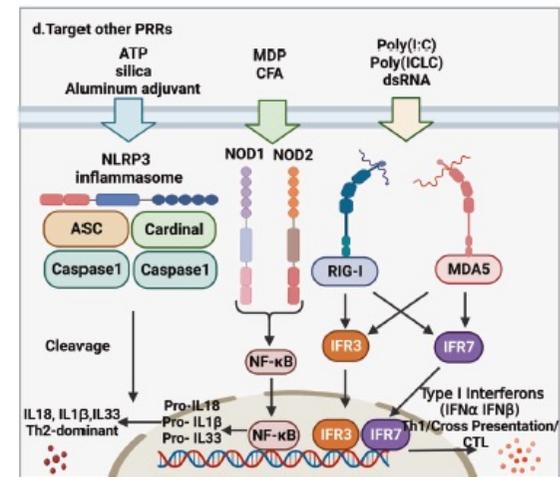
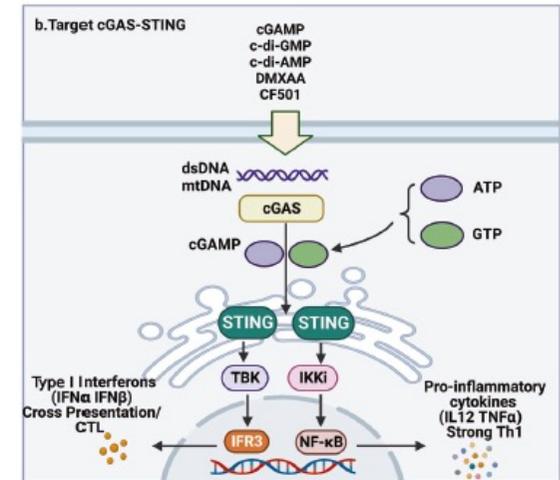
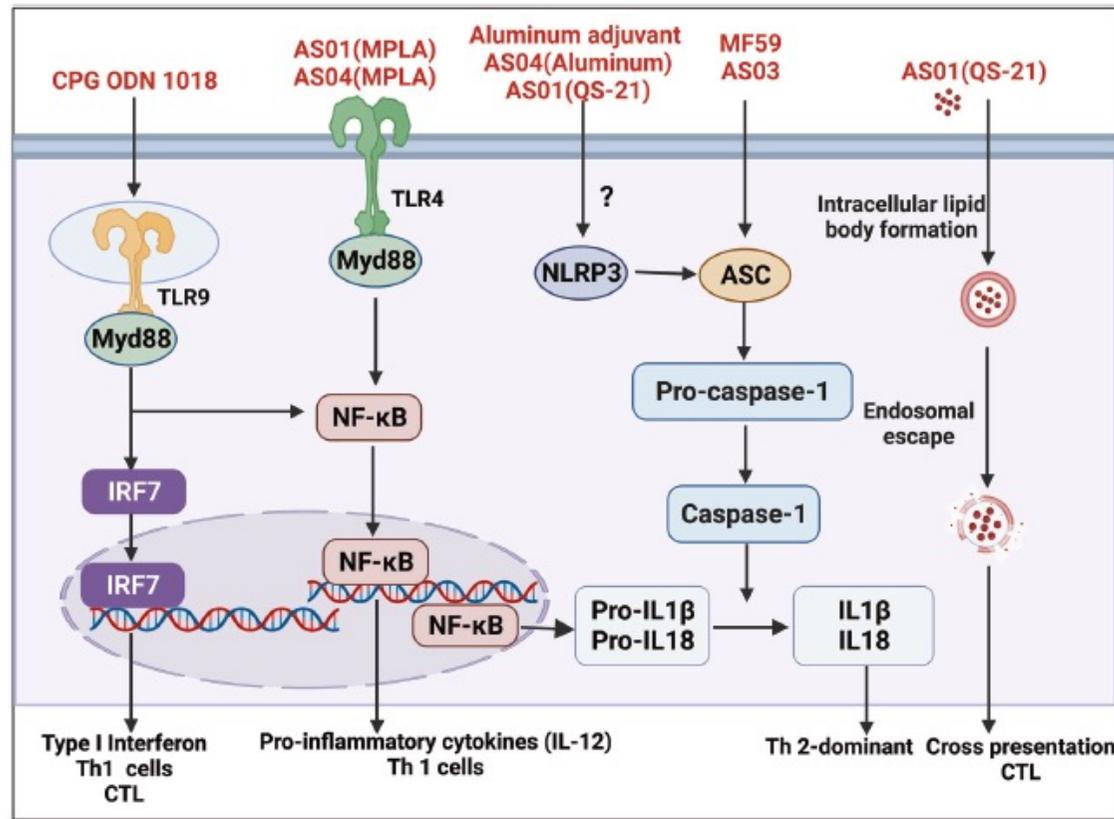
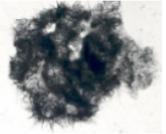


Fig. 6 Simplified diagram of the major signaling pathways of classical adjuvants. This figure was created with BioRender (<https://biorender.com/>)

# Adjuvant mechanisms based on depot effect or antigen delivery to dendritic cells

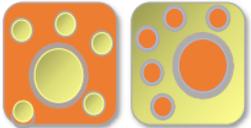
Aluminium salts



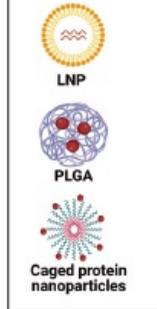
Liposome/ISCOMs



Emulsions

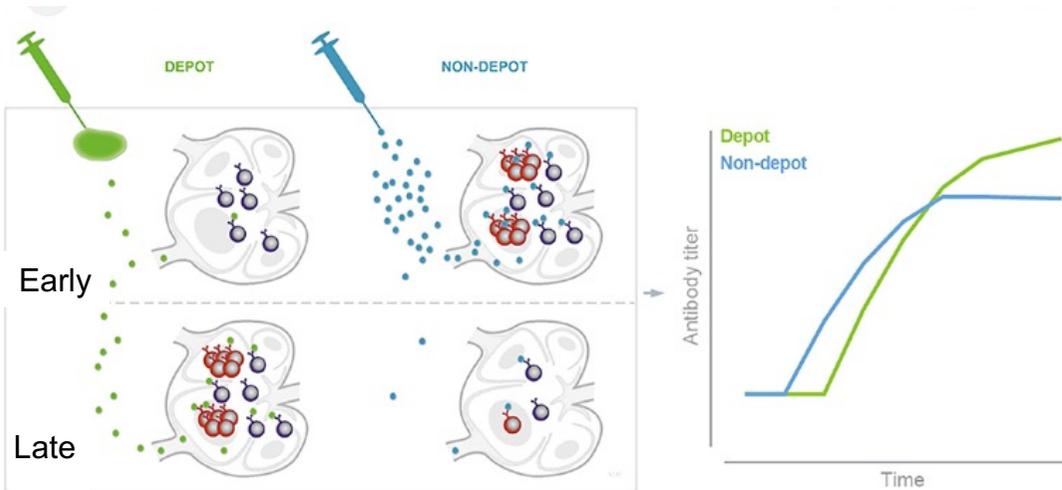


Delivery systems

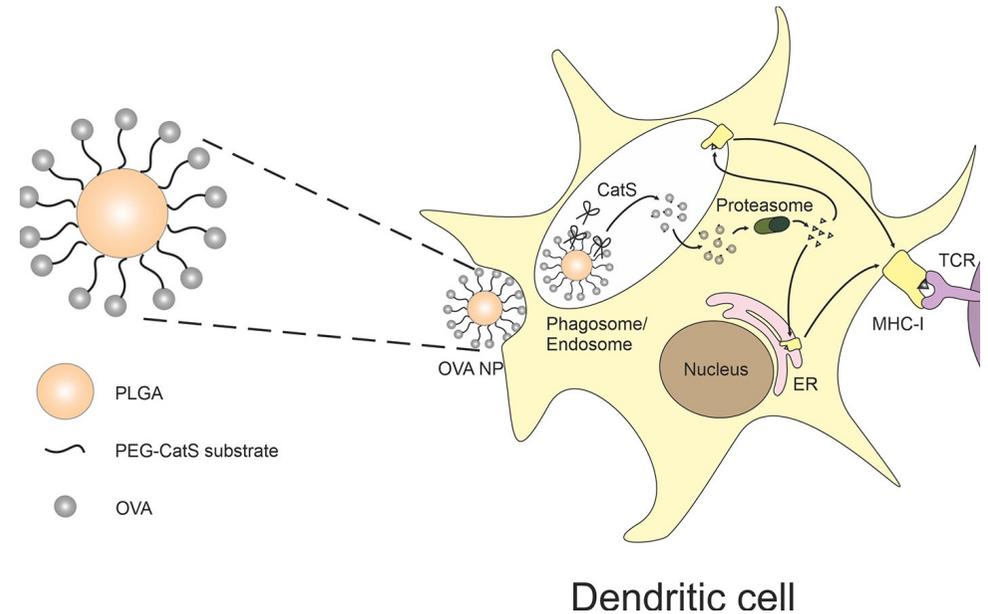


Delivery properties include : . the depot effect

. the promotion of the internalization in antigen presenting cells

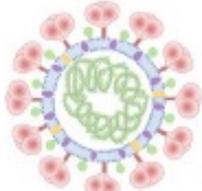


Pedersen Front Immunol 2000



Stahl M Nanomed : nanotechnol biol Med 2022

# Seules certaines plateformes vaccinales nécessitent un adjuvant



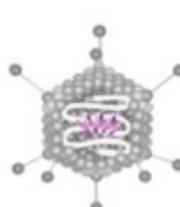
Vaccin vivant atténué



ADN



ARNm



Replicatif



Non Replicatif

Vecteur viral



Pseudo particules virales



Vaccin inactivé

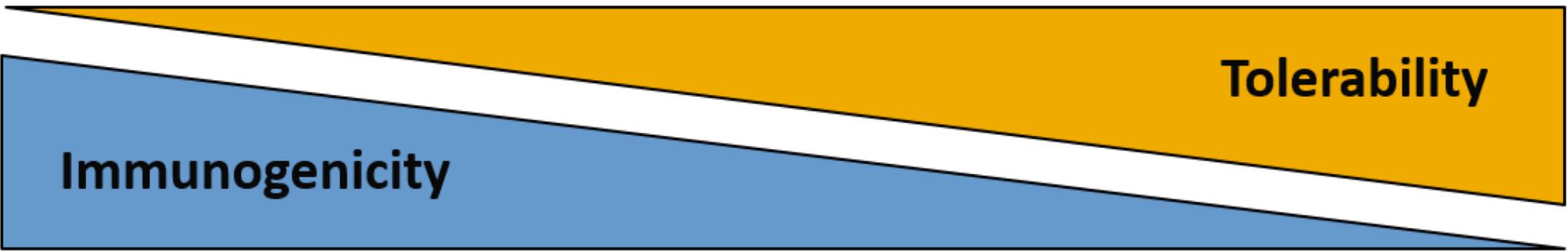


Proteine

Réponse Ac  
 LT-CD4  
 LT-CD8

Réponse Ac  
 LT-CD4

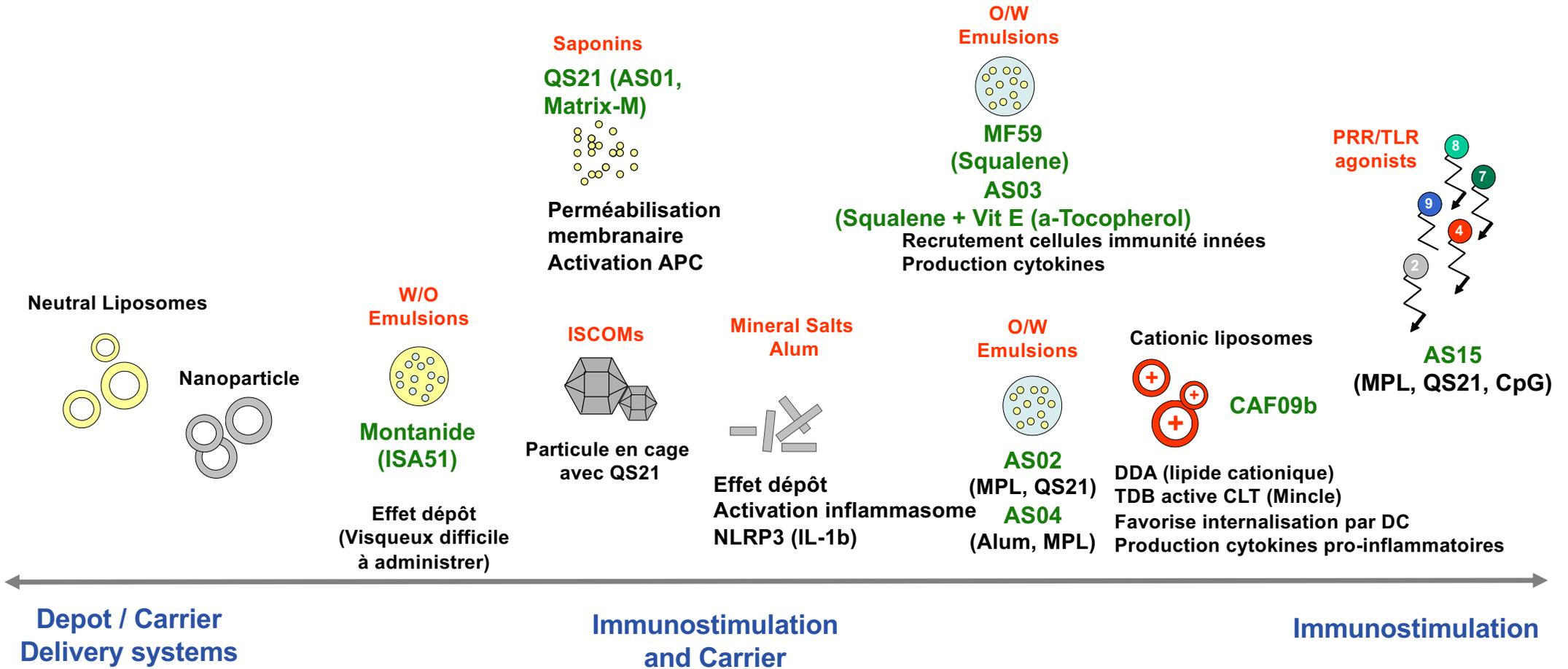
Adjuvant



Immunogenicity

Tolerability

# Classification des adjuvants en fonction de leurs activités fonctionnelles

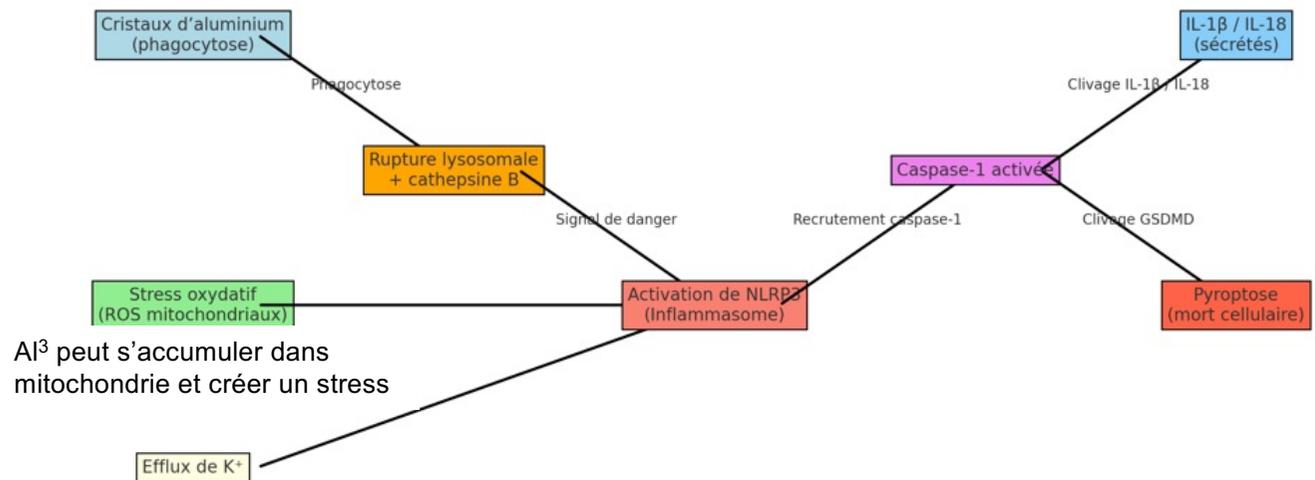


# Sels d'Aluminium

- Sels d'aluminium augmente réponse humorale contre toxoid diphtérique (Glenny 1926) et chez l'homme (1932) avec commercialisation début année 1940
- Adsorption de l'antigène sur des gels d'hydroxide ( $\text{Al}(\text{OH})_3$  chargé (+) ou de phosphate d'aluminium  $\text{AlPO}_4$  chargé (-). Choix du gel en fonction charge de l'antigène à pH neutre
- Facile à produire mais non biodégradable
- Effet sur réponse humorale mais pas sur la réponse cellulaire (LT-CD8)

## Mécanisme d'action :

- . Effet dépôt et libération lente antigène
- . Activation Inflammasome (NLRP3)

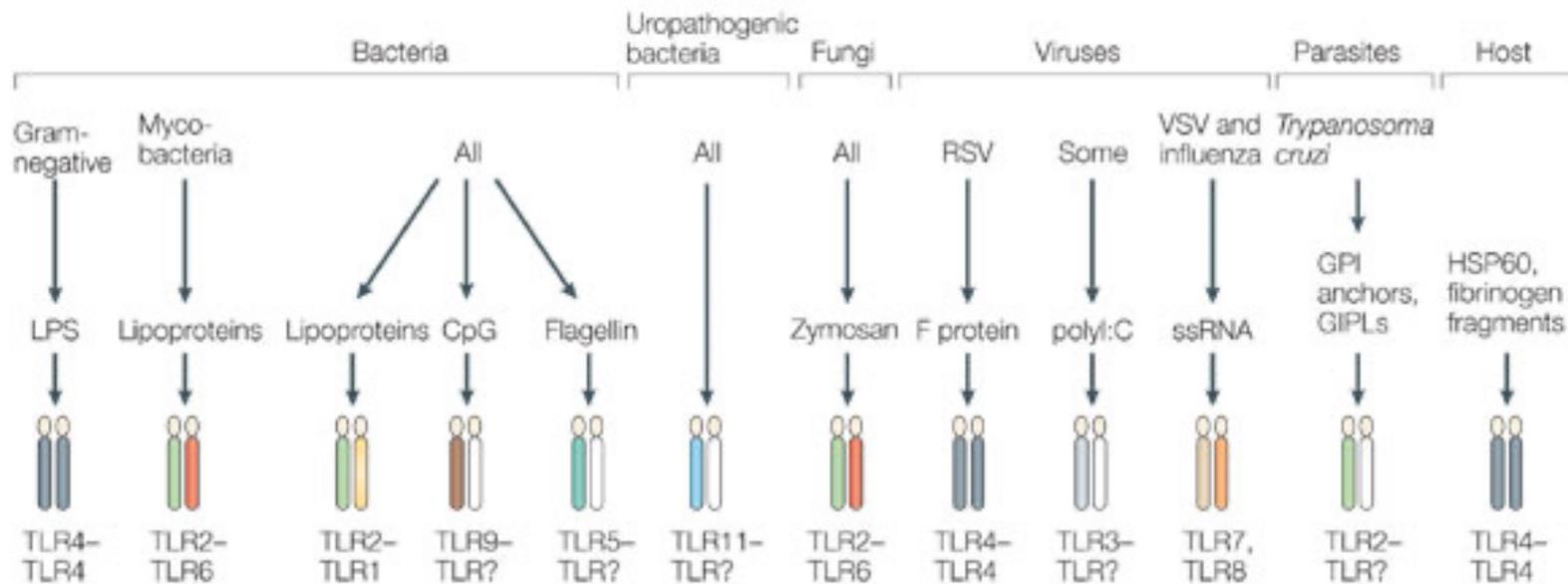


Cellules stressées par Aluminium libèrent ATP qui active P2X7R qui entraîne efflux  $\text{K}^+$  et activation NLRP3

## Exemples de vaccins à base de sels d'aluminium

Nom commercial	Type de sel d'aluminium	Année de commercialisation	Indications
Hexyon®	Hydroxyde d'aluminium	2013	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite, Hib, hépatite B
Infanrix Hexa®	Hydroxyde d'aluminium	2000	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite, Hib, hépatite B
Pentavac®	Hydroxyde d'aluminium	1997	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite, Hib
Infanrix Quinta®	Hydroxyde d'aluminium	2003	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite, Hib
Tetravac-acellulaire®	Hydroxyde d'aluminium	1994	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite
Infanrix Tetra®	Hydroxyde d'aluminium	2002	Diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite
Repevax®	Hydroxyde d'aluminium	2005	Rappel : diphtérie, tétanos, coqueluche, poliomyélite
Prevenar 13®	Phosphate d'aluminium	2010	Infections à Streptococcus pneumoniae
Synflorix®	Phosphate d'aluminium	2009	Infections à Streptococcus pneumoniae
Gardasil®	Sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium amorphe	2006	Papillomavirus humain (HPV)
Cervarix®	Hydroxyde d'aluminium + AS04	2007	Papillomavirus humain (HPV) 16 et 18
Engerix - B	Hydroxide d'aluminium	1986	Hépatite B
Recombivax HB	Sulfate d'aluminium (forme contenant de l'hydroxyde)	1981	Hépatite B
Twinrix	Hydroxyde d'aluminium + Phosphate d'aluminium	1996	Hépatite A et B

## Toll-like receptors recognize a range of pathogen-derived products



Nature Reviews | Immunology

- Ligands TLR = adjuvants de vaccination

**TLR7 agonist** (imiquimod and resiquimod) **TLR9 agonist** (CpG ODNs; IC31)

**TLR4 agonist** (lipid A moiety of LPS ex : MPL, GLA, RC529, Ribi 529...)

**TLR3** : Poly:IC

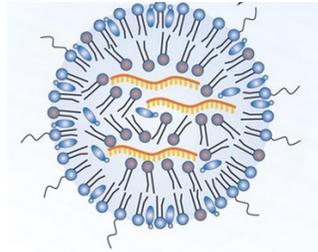
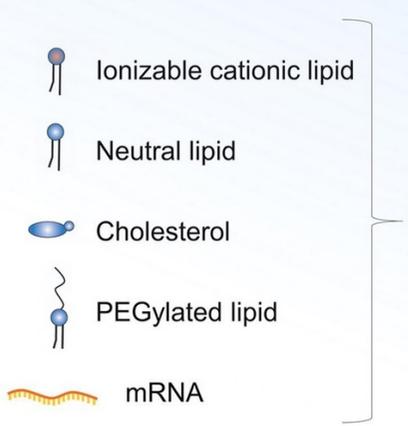
**AS01** : TLR4 L (MPL) + Saponine (QS21) + Liposome (Shingrix)

**AS04** : TLR4 L (MPL) + Alum : HPV vaccine (Cervarix)

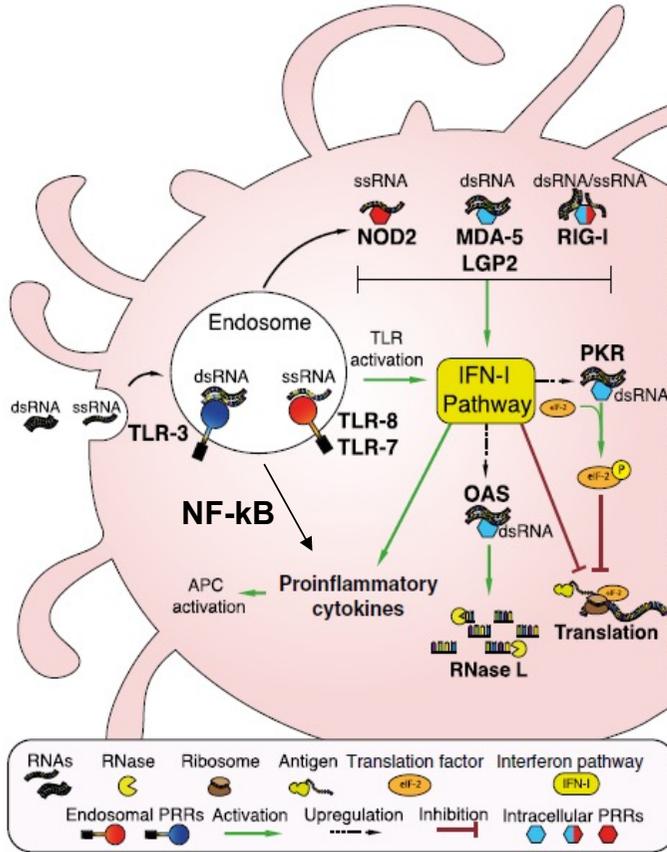
## Autres adjuvants récents inclus dans des vaccins commercialisés

Adjuvant	Vaccins	Indication	Autorisé en Europe	Autorisé aux USA
MF59	Fluad (Seqirus)	Grippe (≥65 ans)	✓ Oui	✓ Oui
AS01	Shingrix (GSK)	Zona (herpès zoster)	✓ Oui	✓ Oui
AS01	Mosquirix (RTS,S) (GSK)	Paludisme (enfants)	✓ Oui	✗ Non
AS01	Arexvy (GSK)	VRS (≥60 ans)	✓ Oui (depuis 2023)	✓ Oui
AS03	VidPrevtyn Beta (Sanofi-GSK)	COVID-19	✓ Oui	✗ Non
AS04	Cervarix (GSK)	HPV (16 et 18)	✓ Oui	✓ Oui
AS04	Fendrix (GSK)	Hépatite B (patients à risque)	✓ Oui	✗ Non
CpG 1018	Heplisav-B (Dynavax)	Hépatite B (adultes)	✗ Non	✓ Oui
Matrix-M	Nuvaxovid (Novavax)	COVID-19	✓ Oui	✓ Oui

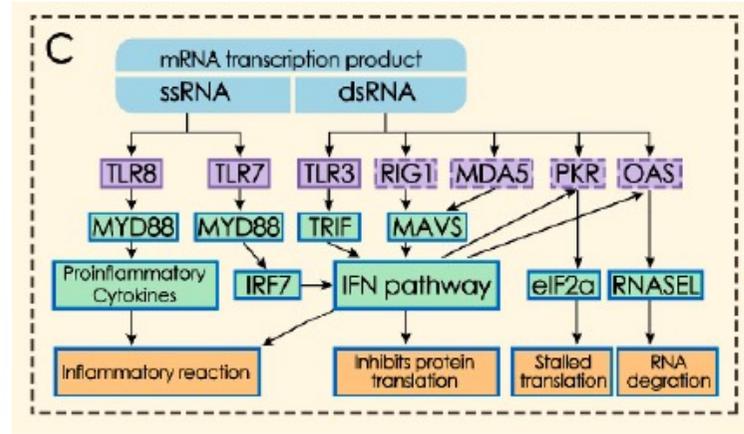
# Détection ARNm et activation immunité innée



**Nanoparticule lipidique**  
(10 à 100 nm)

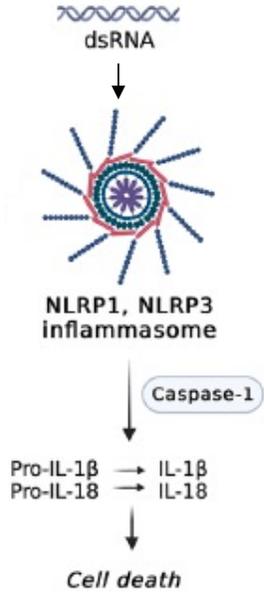


**Linares-Fernandez S Trends Mol Med 2020**



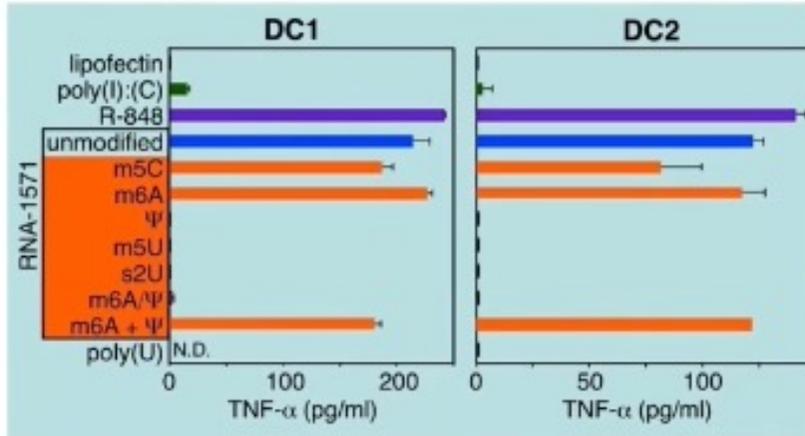
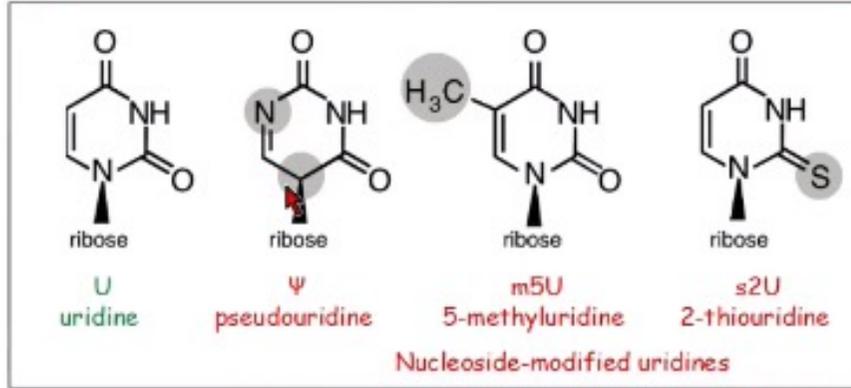
\*MVAS : mitochondrial anti-viral signaling

**Xu S Int J Mol Sci 2020**

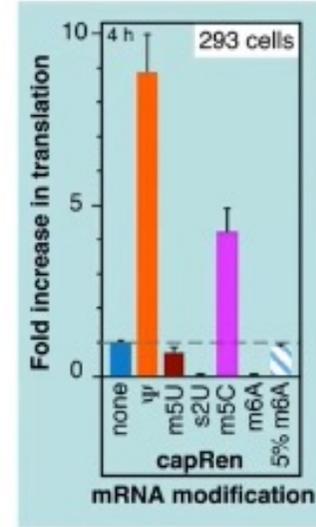


**Sharma P Adv Drug Deliv Rev 2024**

**Modified uridine-containing mRNA is non-immunogenic,  
 $\psi$ -mRNA translates the best**



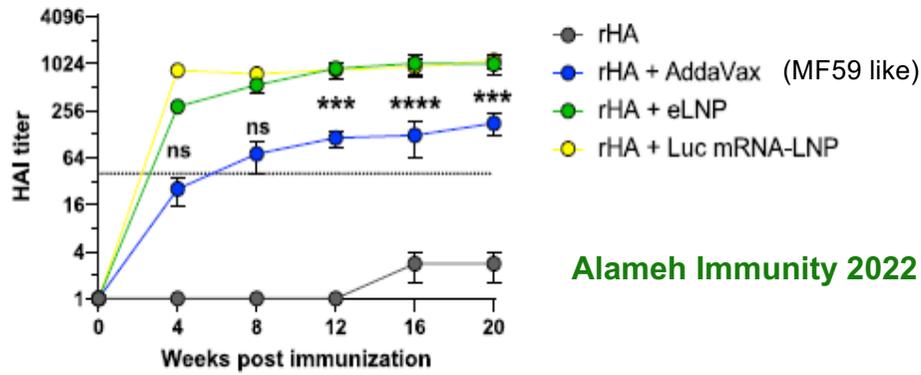
**Kariko K Immunity 2005**



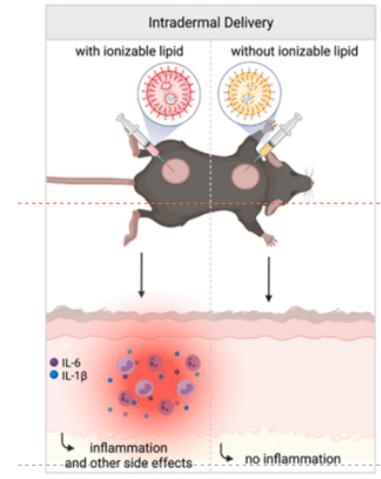
**Kariko K Mol Ther 2008**

They also found that incorporation of pseudouridine into the mRNA resulted in up to 103 higher expression of protein compared with unmodified mRNA. This was a result of bypassing another pathogen sensor, protein kinase R (PKR). Upon activation, PKR phosphorylates eukaryotic translation initiation factor 2A (eIF-2a), which suppresses translation. The incorporation of pseudouridine into synthetic mRNA reduced PKR activation compared with unmodified RNA, and this improved expression of the transfected mRNA and production of the mRNA-encoded protein

# Les nanoparticules lipidiques ont un effet immunostimulant

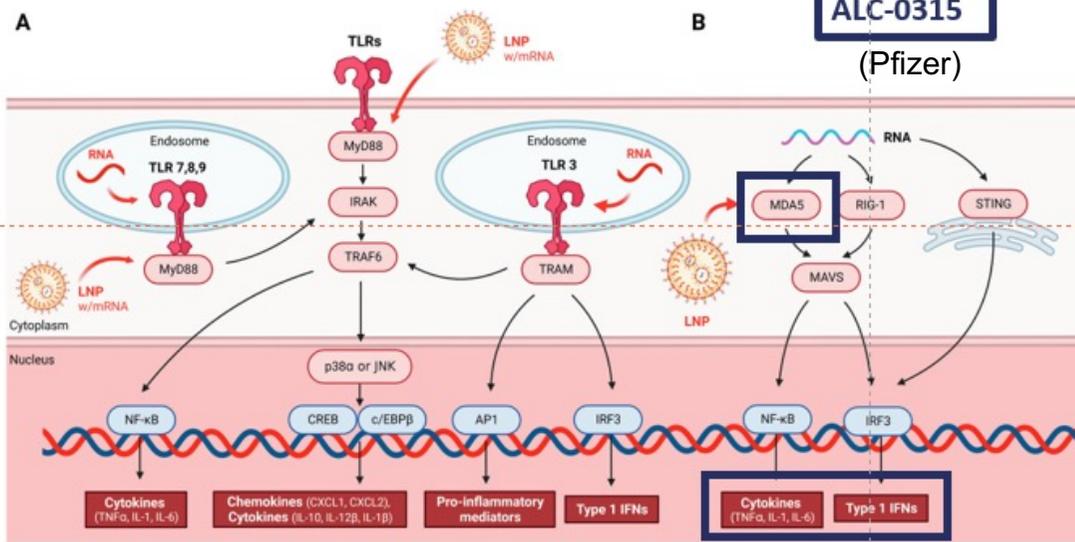


Alameh Immunity 2022

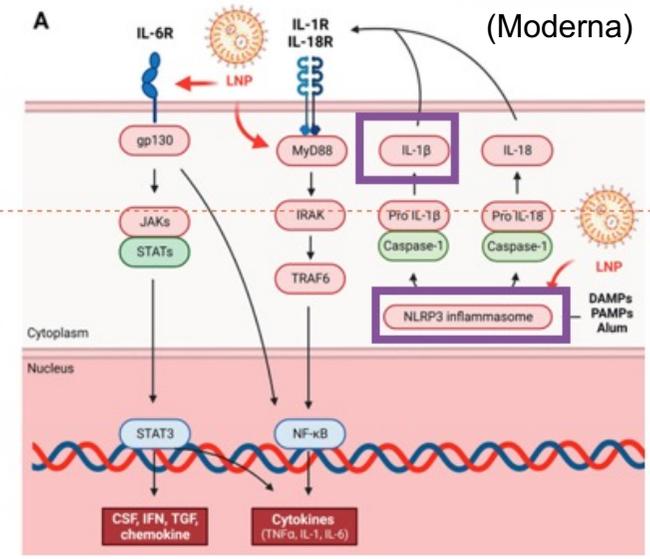


Ndeupen S iScience 2021

SM-102



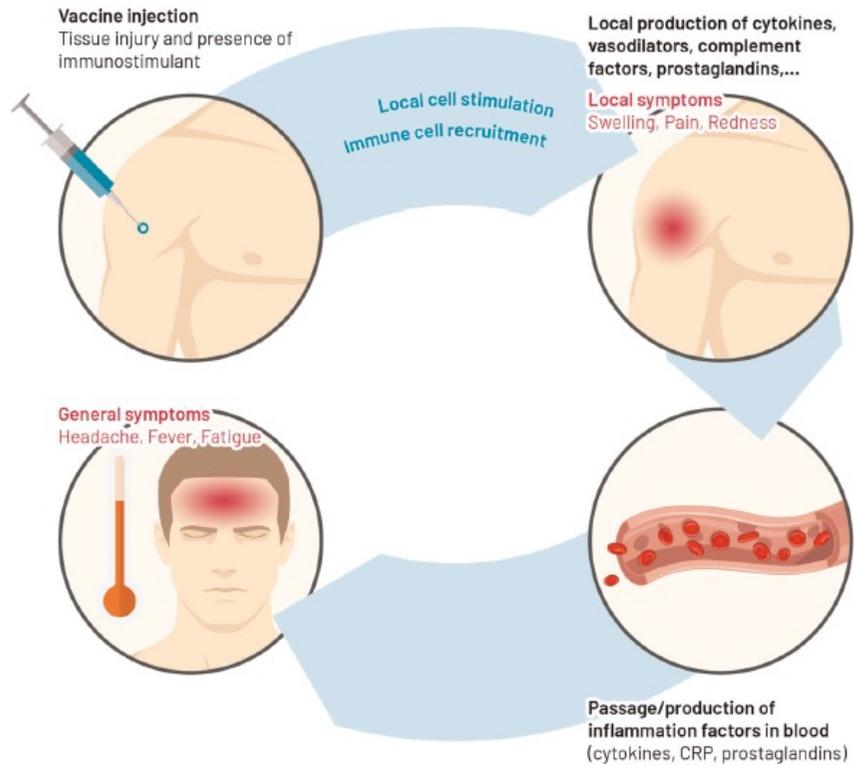
ALC-0315 (Pfizer)



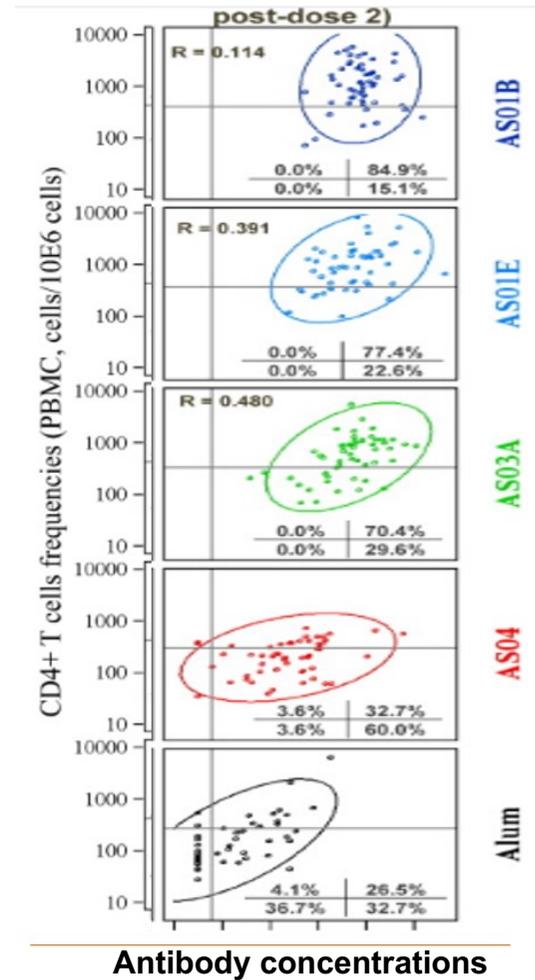
(Moderna)

Lee Y Exp Mol Med 2023

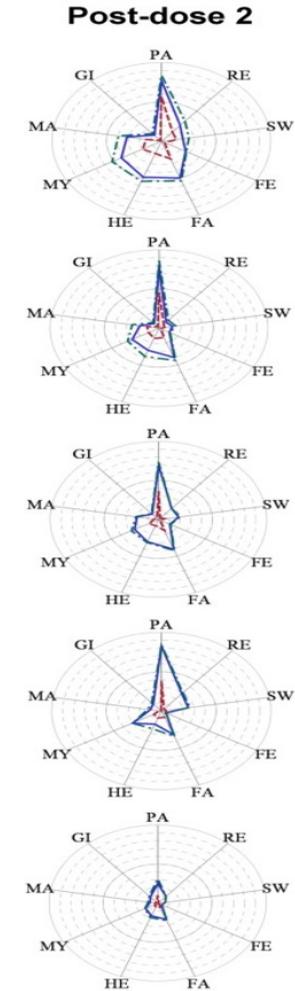
# Adjuvant et réactogénicité



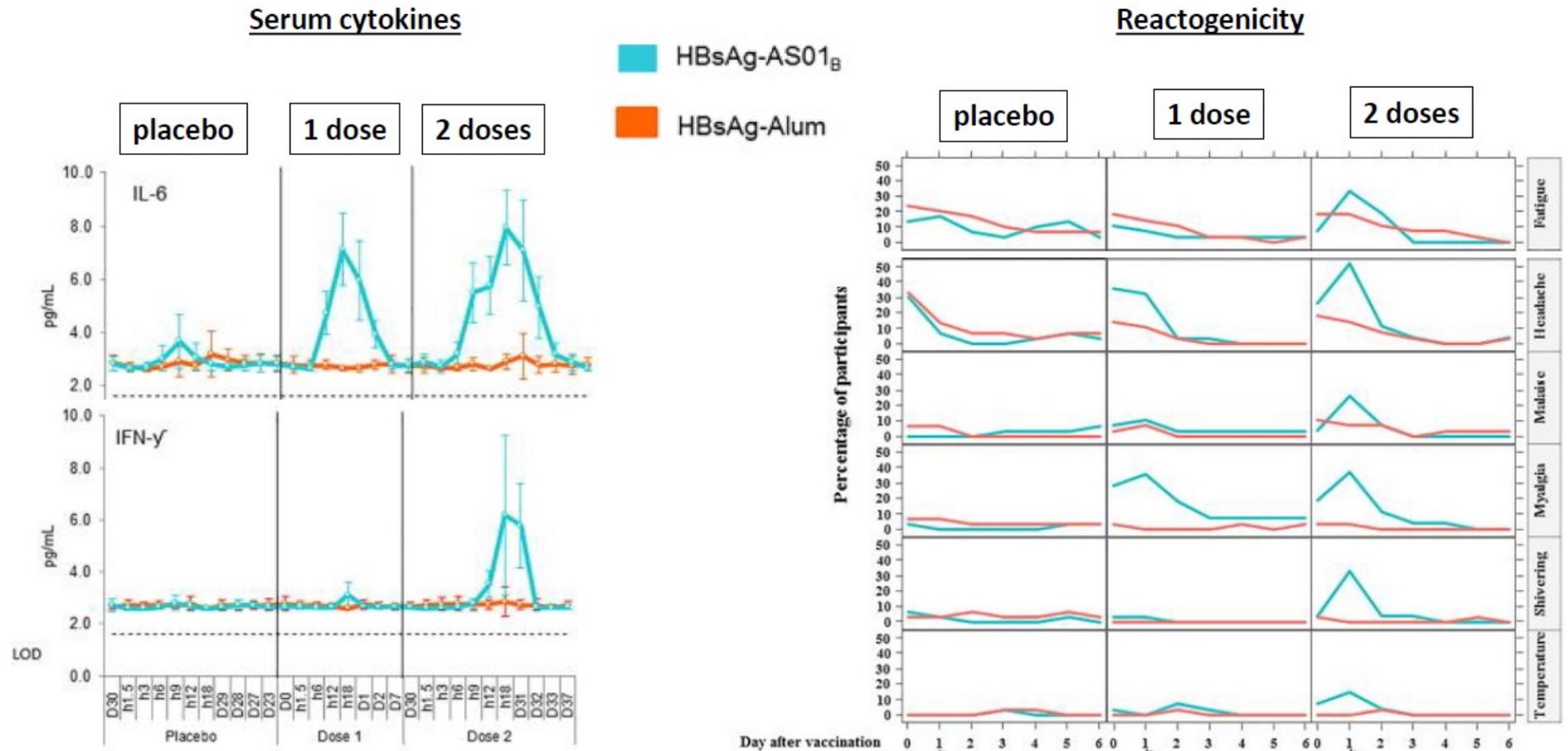
Hervé C NPJ Vaccine 2019



Leroux-Roels et al Clin Immunol 2016

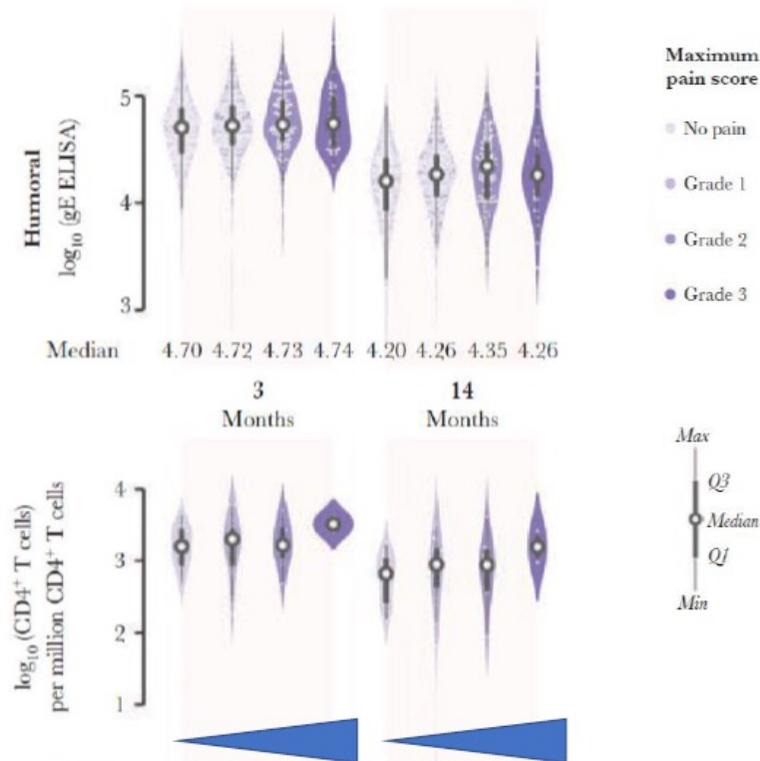


# Relationships between inflammatory parameters and reactogenicity



# Relationships between inflammatory parameters and reactogenicity

Phase 3 immunogenicity data (Zoster vaccine, VZV gE+AS01)



But good immune response could occur without reactogenicity

## Potentielle toxicité des sels d'aluminium et adjuvant AS03

### Sels aluminium

- Inflammation locale 48-72h post injection
- Dépôt sels d'aluminium dans macrophages : « Tatouage vaccinal » (Lesions histologiques compatibles avec Myofascite à macrophage.)
- 2013 : HSCP : Haut conseil de santé publique : Pas de conséquence clinique à ces myofascites à macrophage
- Etude cas-témoin : Pas de lien entre vaccin anti-HPV (Gardasil) ou anti-HBV qui contiennent des sels d'aluminium et SEP
- Quantité totale de sels d'aluminium associés aux vaccins de la 1ere année de vie (Hep B, D-T-P-C-Hib, meningo, pneumo...) qui contiennent de l'alum est très inférieures aux doses maximales autorisées (1mg/kg poids corporel/j) (Mitkus RJ et al Vaccine 2011)

### AS03

- Augmentation du risque de narcolepsie après vaccination avec Pandemrix (vaccin AS03-adjuganté en Europe et au Québec). Tous les cas de narcolepsie était fortement lié à l'allèle HLA DQB1\*06:02 expliquant une augmentation du risque en Scandinavie ou la prévalence d'HLA-DQB1\*06:02 est relativement élevé (Miller J BMJ 2013; Baeker C Lancet Infect Dis 2014, Feltelius N J Intern Med 2015)(Dauvilliers Y Brain 2013)(Vaarala O Plos One 2014 20 (Sarkanen TO Sleep Med Rev 2018)(Monplaisir J Plos One 2014)
- Une large étude multinationale n'a pas détecté d'association entre narcolepsie et les vaccins AS03 autres que Pandemrix comme Arepanrix (Harris T Euro Surveil 2014)
- Risque peut être lié à la combinaison entre la préparation de certaines protéines virales et l'adjuvant AS03

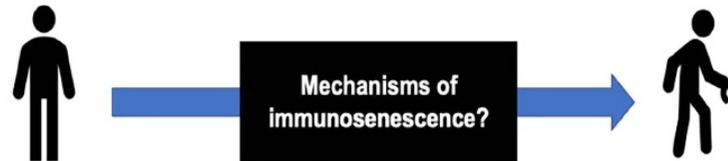
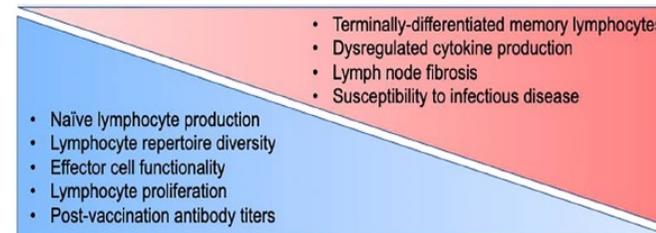
# Decrease Vaccine response in the Elderly

Table 1. Past and present vaccines for older subjects considering their clinical efficiency.

Vaccines	Younger Individuals	Older Individuals
Influenza	70-90%	40-60%
Herpes Zoster Zostavax	NIL	+/-
Shingrix	NIL	++
SARS-CoV-2 (after 3rd dose)	+	+
Pneumococcus Polysaccharide	+/-	-
Conjugated	+	+
Yellow fever	+	+
Hepatitis B virus	+	+
Japanese encephalitis virus	+	+

-: almost not efficient in older individuals; +/-: efficient vaccine, but not for everybody; +: efficient in most individuals (young or elderly); ++: very efficient in almost all older subjects.

Weinberger B Clin Inf Dis 2008



Crooke SN Immunity & Ageing 2019

**Zostavax** : Virus vivant atténué : Efficacité modeste : 51% sur récurrence zona et 61 % sur score de gravité

## « Nouveau » vaccin contre le zona

**Vaccin sous-unitaire adjuvanté - HZ/su**

**Shingrix**

Population cible : sujets de 50 ans et plus

Protéine recombinante  
Glycoprotéine E (gE)  
du VZV

Réponse immunitaire  
spécifique

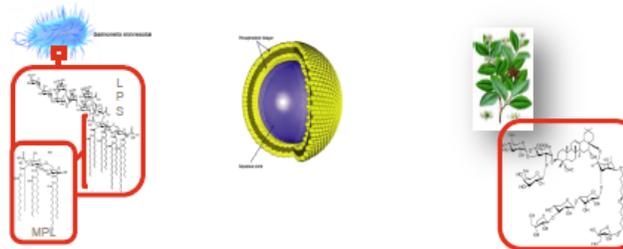


- Glycoprotéine la plus abondante du VZV
- Cible des réponses humorale et cellulaire
- Importante pour l'entrée du virus dans les cellules, la réplication virale et la propagation de cellule à cellule

Système Adjuvant  
AS01<sub>B</sub>

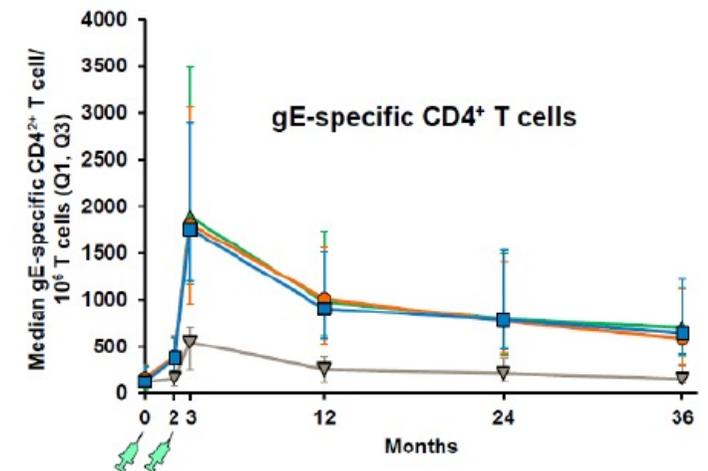
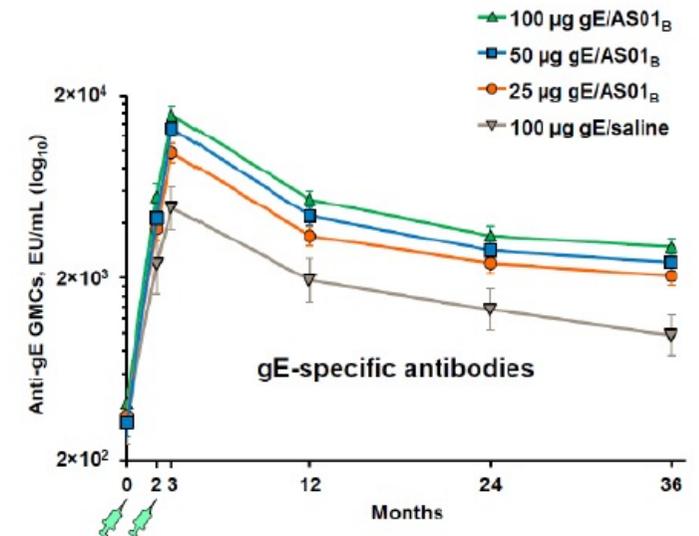
Améliore la réponse  
immunitaire de l'antigène

MPL + Liposome + Saponine QS21



- induit une forte réponse cellulaire (T CD4+ )
- induit une forte réponse humorale

40



Chlibek R et al Vaccine 2014

# The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

MAY 28, 2015

VOL. 372 NO. 22

## Efficacy of an Adjuvanted Herpes Zoster Subunit Vaccine in Older Adults

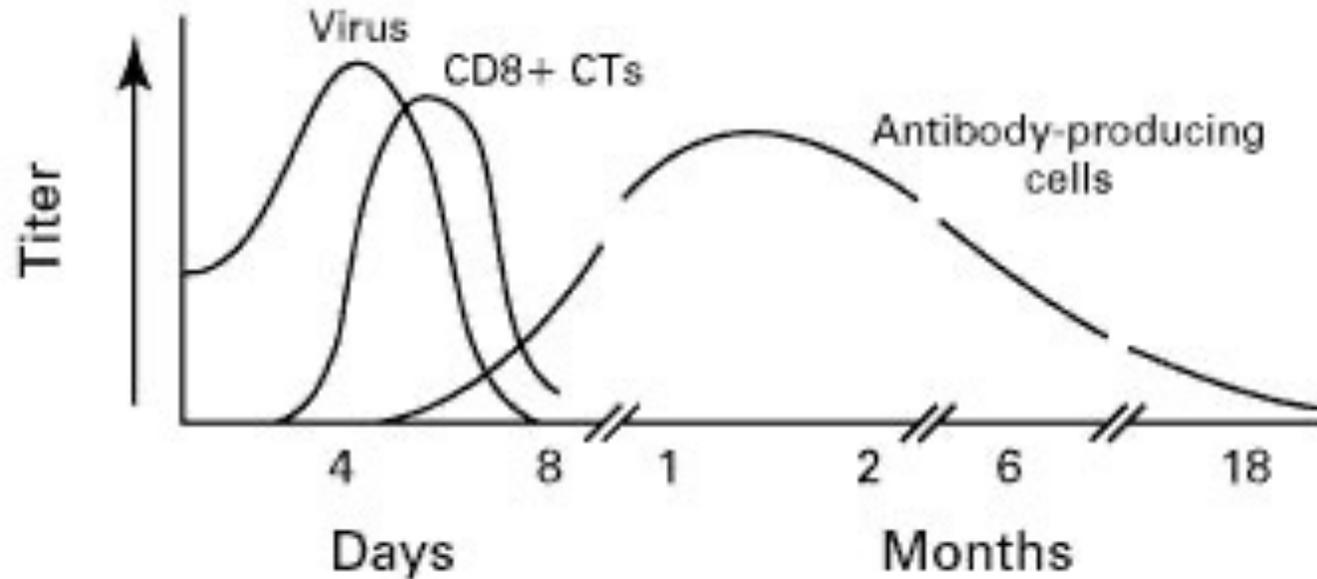
**Table 2. Vaccine Efficacy against the First or Only Episode of Herpes Zoster Infection.\***

Cohort and Age Group	HZ/su Group				Placebo Group				Vaccine Efficacy† % (95% CI)
	No. of Participants	No. of Confirmed Cases	Cumulative Follow-up Period‡ person-yr	Rate of Herpes Zoster no./1000 person-yr	No. of Participants	No. of Confirmed Cases	Cumulative Follow-up Period‡ person-yr	Rate of Herpes Zoster no./1000 person-yr	
<b>Modified vaccinated cohort</b>									
All participants in cohort	7344	6	23,297.0	0.3	7415	210	23,170.5	9.1	97.2 (93.7–99.0)
50–59 yr	3492	3	11,161.3	0.3	3525	87	11,134.7	7.8	96.6 (89.6–99.3)
60–69 yr	2141	2	7,007.9	0.3	2166	75	6,952.7	10.8	97.4 (90.1–99.7)
70 yr or older	1711	1	5,127.9	0.2	1724	48	5,083.0	9.4	97.9 (87.9–100.0)
<b>Total vaccinated cohort</b>									
All participants in cohort	7698	9	25,584.5	0.4	7713	235	25,359.9	9.3	96.2 (92.7–98.3)
50–59 yr	3645	3	12,244.9	0.2	3644	95	12,162.5	7.8	96.9 (90.6–99.4)
60–69 yr	2244	5	7,674.1	0.7	2246	83	7,581.8	10.9	94.1 (85.6–98.1)
70 yr or older	1809	1	5,665.5	0.2	1823	57	5,615.6	10.2	98.3 (89.9–100.0)



**Vaccin recommandé chez sujet > 50 ans**

## Role of CD8<sup>+</sup>T cells in the control of intranasal infection with Influenza virus



Pas d'adjuvants commercialisés permettant d'induire de façon reproductible des LT-CD8

Seuls les vaccins ARNm et les plateformes reposant sur les pathogènes vivants atténués peuvent induire des LT-CD8

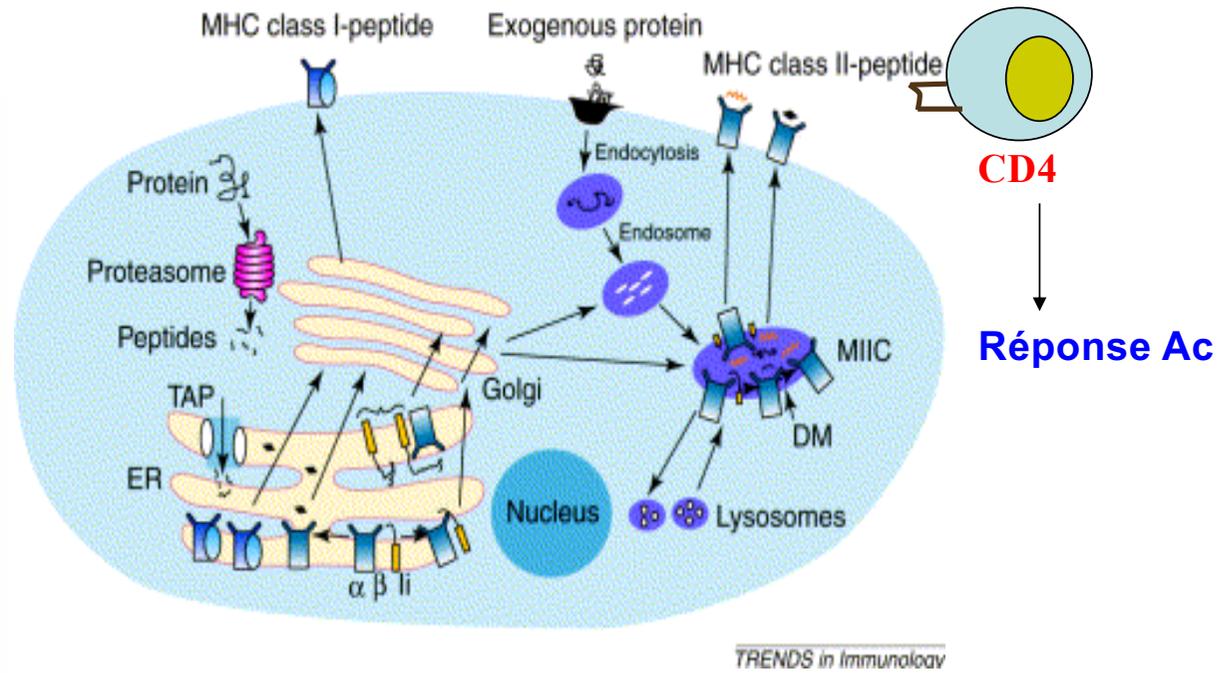
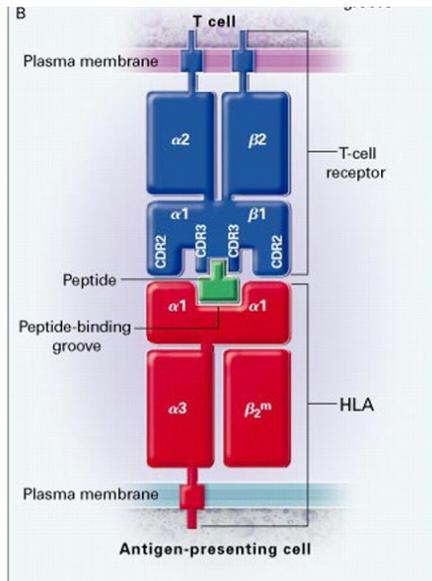
Ada G New Engl J. Med 2001

# Vaccins inactivés ou sous unités protéiques n'induisent pas de réponses cellulaires LT-CD8.

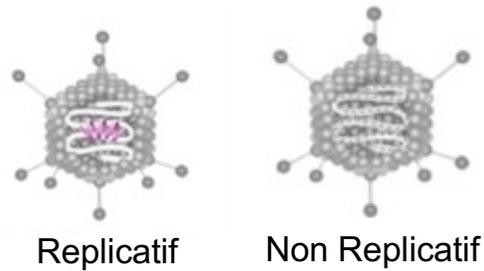


(a) MHC class I antigen processing

(b) MHC class II antigen processing

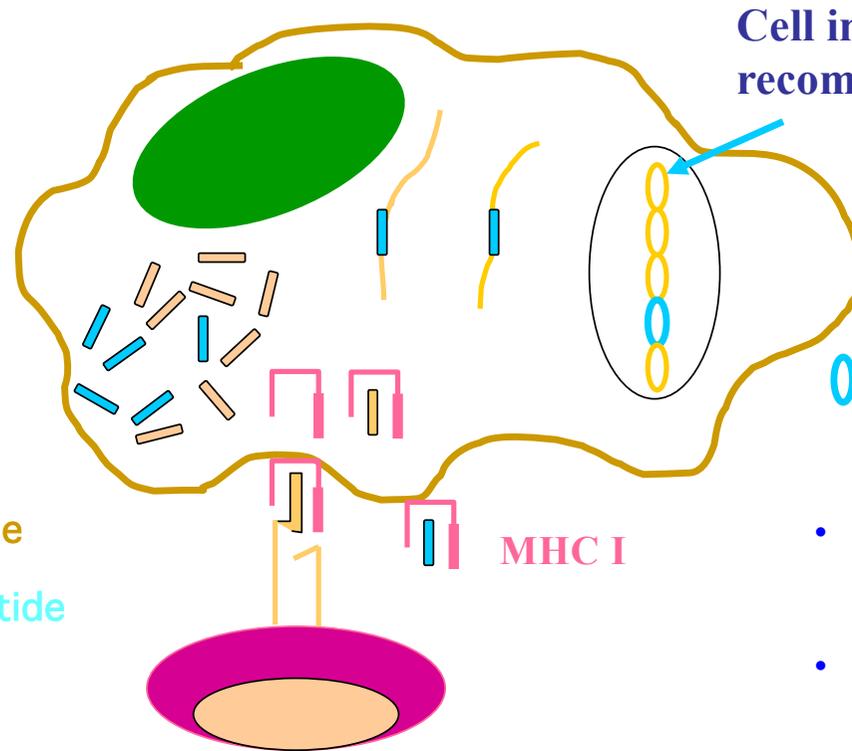


# Viruses have the ability to deliver exogenous antigens in the cytosol of the cells



Vecteur viral

viral peptide  
tumor peptide



Cell infection with recombinant virus

transgène

- Presentation of peptides derived from transgene in MHC-I and induction CD8<sup>+</sup>T cells
- But Immunogenicity of the viral vectors preclude repetitive immunization

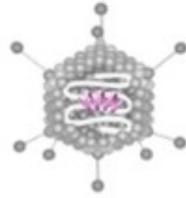
CD8 Cytotoxic T cells



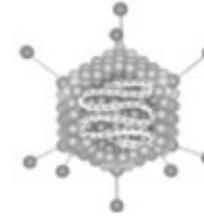
Prime-Boost strategy

## Recombinant viruses as delivery vectors

### Virus recombinant replicatif



### Virus recombinant Non replicatif



<b>Infectieux</b>	Oui	Oui
<b>Nécessité adjuvant</b>	Non	Non
<b>1 injection suffisante</b>	Oui	Variable
<b>Facilité production</b>	Oui (sauf virus ARN)	Oui
<b>Déjà commercialisé</b>	<p>Oui <b>1 Ervebo</b> (rVSV-ZEBOV-GP) (MSD) : Vecteur VSV + GP <b>d'Ebola</b> (Zaire) (dose unique =+ pour endémie) . Approuvé : US/ Europe</p> <p><b>2 Dengvaxia</b> (virus fièvre jaune recombinant avec ADNc codant protéines <b>dengue</b>), Approuvé mais usage restreint avec sérologie préalable (Sanofi)</p> <p><b>3 Qdenga</b> (Souche recombinant atténué Denv-2 utilisé comme squelette pour exprimer les antigènes des 4 sérotypes de la <b>dengue</b> (Denv-1, 2, 3, 4). Approuvé en Europe. Pas US</p> <p><b>4 Imojev</b> = Virus fièvre jaune recombinant avec ADNc protéine prM et E souche SA14-14-2 (Sanofi)</p> <p><b>Encéphalite japonaise</b>. Non approuvé Europe/US mais Afrique</p>	<p><b>1 Zabdeno</b> (ADV26.ZEBOV) + <b>MVABea</b> (MVA + GP Filovirus (<b>Ebola</b>, Marburg, Soudan..)). 2 doses à 8 semaines. Approuvé en Europé. Pas US (Jansen)</p> <p><b>2 Vaxzeveria</b> (ADV Chimpanze ChAdOx1 + Spike)(Astra) (<b>Vaccin Covid</b> Astra): Approuvé Europe, Afrique, Pas US</p> <p><b>3 Jcovden (ADV26 + Spike)</b> (<b>Vaccin Covid</b> (AZ,Janssen). Approuvé Europe et US</p> <p>Phase 3 ADV chimpanzé (cAD3 Marburg )</p>
<b>Immunodéprimés</b>	CI	Oui
<b>Grossesse</b>		

# PERSPECTIVES : ADJUVANTS EN COURS DE DEVELOPPEMENT

Adjuvant name	Formulation type	Description	Clinical development stage	Disease name/vaccine	References
AS01	Liposomes, dispersed lipid vesicles containing TLR4 ligand (MPLA) and saponin QS-21	Augments the antibody titer, Th1 type of immune response, and CD8+ T-cell-mediated immunity	Phase III	Malaria, (RTSS) and for approval for herpes zoster vaccine (HZ/su)	(158)
ALF	Liposomes containing saturated phospholipids, cholesterol, and monophosphoryl lipid A (MPLA)	Imparts adequate humoral and cellular immune response	Phase I	Malaria (FMP013, FMP014), HIV-1 (gp140)	(82)
Topical cream with TLR7 ligand	A topical cream of TLR7 ligand (imiqualmod) applied in conjunction with intradermal immunization	Promotes the innate immunity	Phase III	Influenza	(159)
BGVac system	Bacterial polysaccharide/bacterial DNA	Augments the immune response against HPV via both B-cell (humoral) and T-cell (cellular) immune signal stimulation	Phase II	Human papilloma virus	(160)
Saponin complexes (ISCOM, Matrix-M)	Lipid, purified saponins, and cholesterol cage-like nanocomplexes	Augments the antibody titer, and Th1 and Th2 type of immune response including CD8+ T-cell-mediated immunity	Phase I	Influenza	(161)
GLA-SE Glucopyranosyl Lipid A (GLA)	Oil-in-water nano-emulsion (SE) with synthetic TLR4 ligand	Multifunctional immunomodulatory activity including the production of inflammatory cytokines, chemokines, DC maturation, and antigen-presenting functions	Phase II	Tuberculosis, RSV, and Leishmania	(162)
IC31	Cationic peptide complexed with TLR9 ligand (oligonucleotide)	Modulates a robust H4-specific IFN- $\gamma$ response	Phase I	Tuberculosis	(163)
Water-in-oil emulsions (ISA51)	Oil dispersed nano-emulsion (mainly squalene) stabilized with non-ionic surfactant	Augments antibody production and significant Tc cell activity	Phase II	Included in licensed seasonal influenza	(164)
VAX2012Q, VAX125	TLR5 ligand protein (flagellin) linked to antigen	Augments the antibody titer including Th1/Th2 type of immunity	Phase II	Influenza	(165)
Poly I:C (Ampligen, rintatollmod) PIKA	Double-stranded RNA polymer analogue and TLR3 ligand	Augments the antibody titer and Th1 type of immune response including CD8+ T-cell-mediated immunity	Phase II	Influenza and rabies	(166)
VCL-HB01 (Vaxfectin)	Cationic liposome (prophylactic and therapeutic, and DNA based)	Augments T cells and antibodies	Phase II	Genital herpes	(167)
AS02	Oil-in-water nano-emulsion with TLR4 ligand (MPLA) and saponin, QS-21	Augments the antibody titer and Th1 type of immune response	Phase II (withdrawn)	Malaria and HIV	(168)
Matrix-M	Protein-based nanoparticle vaccine technology	High neutralizing antibody titer and also induces a robust T-cell immune response	Phase II	COVID-19	(169)

## Take Home Message

- Les vaccins protéiques et inactivés nécessitent en général l'addition d'adjuvants
- Différents mécanismes d'action expliquent l'activité des adjuvants : Effet dépôt, stimulation immunité innée (maturation des cellules dendritiques, induction IFN de type I et cytokines pro-inflammatoires, stimulation inflammasome), augmentation présentation de l'antigène
- La majorité des adjuvants commercialisés augmentent la réponse humorale, mais pas la réponse LT-CD8 ou la réponse muqueuse. Les vecteurs viraux replicatifs ou non induisent des LT-CD8
- Les effets secondaires des adjuvants peuvent être liés à l'intensité de la réponse immunitaire induite ou à la combinaison entre l'adjuvant et la protéine antigénique