

L'immunobiologie des adjuvants aluminiques : comment fonctionnent-ils réellement ?

Christopher Exley¹, Peter Siesjö², et Håkan Eriksson³

¹ Centre Birchall, Laboratoires Lennard-Jones, Université Keele, Staffordshire ST5 5BG, Royaume-Uni

² Département des Sciences Cliniques, Groupe d'immunothérapie Glioma, Laboratoire Rausing, Division de Neurochirurgie, BMC D14, Université Lund, SE-221 84 Lund, Suède

³ Département des sciences biomédicales de laboratoire, Santé et Société, Université Malmö, SE-20506 Malmö, Suède

Les adjuvants aluminiques potentialisent la réponse immunitaire, assurant ainsi la force et l'efficacité d'antigènes que l'on ne trouve généralement qu'en quantité limitée. C'est peut-être l'importance cruciale qu'ils ont pris dans les programmes de vaccination de masse qui a suscité ces dernières années un intérêt intense pour la compréhension de leur mode de fonctionnement et de leur sûreté. Les progrès dans ces domaines sont cependant dans une impasse, par l'absence de connaissances disponibles qui touchent à la chimie bioinorganique des adjuvants aluminiques, et, en conséquence, par les mauvaises applications et interprétations de modèles expérimentaux sur leur mode d'action. L'objectif est donc ici d'identifier les nombreuses manières dont la chimie de l'aluminium contribue au vaste arsenal versatile de ses adjuvants, pour que les recherches ultérieures puissent être guidées vers une compréhension plus complète de leur rôle dans la vaccination humaine.

Contexte

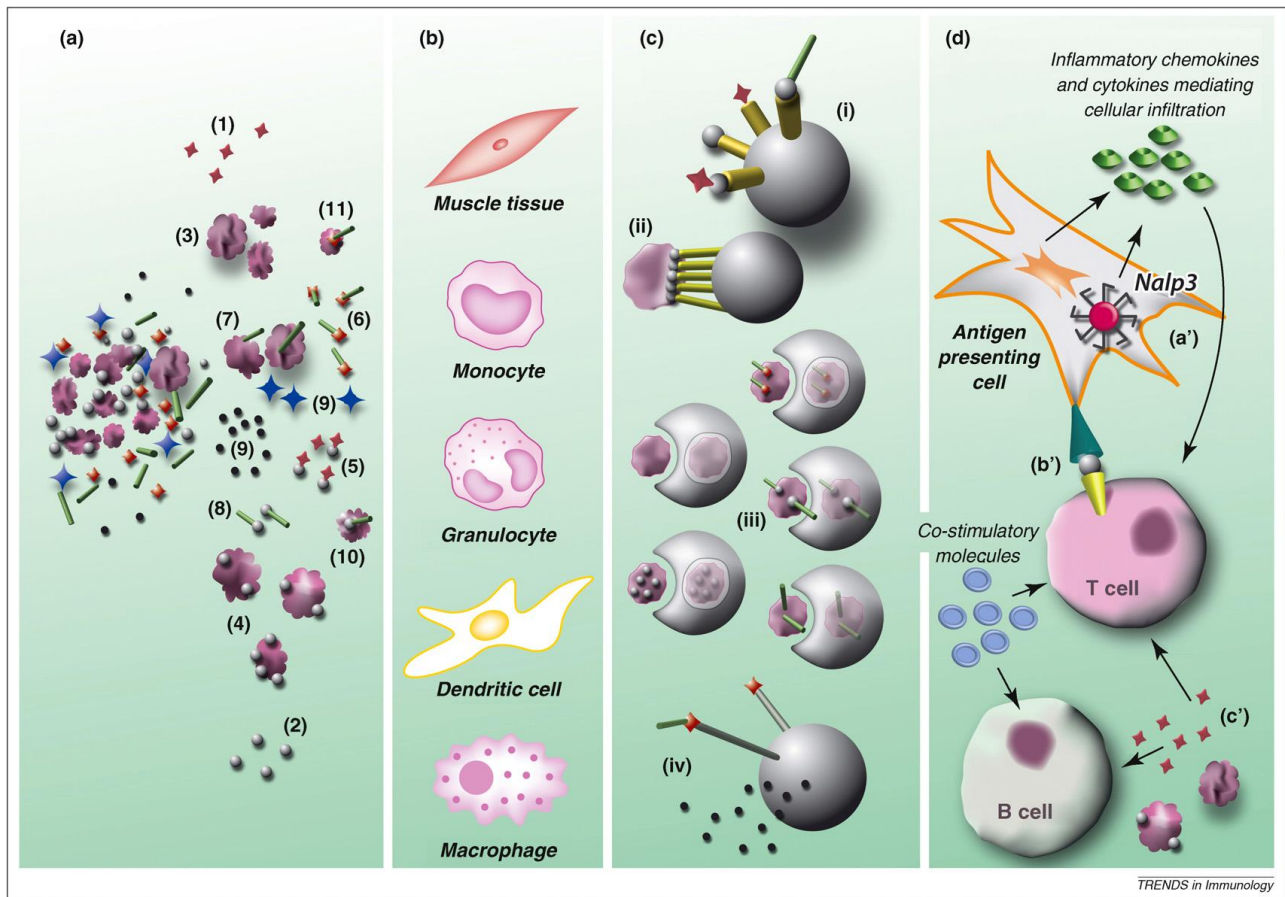
Une récente avalanche d'articles passionnants et intelligents publiés par des chercheurs a tenté, enfin, d'expliquer le *modus operandi* des adjuvants aluminiques (Al_{ADJ}) [1-7]. Malheureusement, la vague de comptes-rendus qui a découlé de ces nouvelles recherches n'a abouti à aucun consensus sur l'étiologie des actions biologiques des Al_{ADJ} [8-10]. En examinant minutieusement les publications récentes, on devine en effet qu'une mise en application par trop libre du rasoir d'Occam, aussi bien de la part des scientifiques que des journalistes, se ressent un peu partout dans leurs conclusions selon lesquelles le « petit secret » des immunologistes [11] aurait été découvert. En fait, plutôt que d'expliquer comment les Al_{ADJ} fonctionnent, les recherches récentes ont ouvert une boîte de Pandore sur les actions potentielles et putatives des sels d'aluminium dans le contexte de leur utilisation en tant qu'adjuvants. Elles ont identifié beaucoup de voies biochimiques comme cibles potentielles des réactions dans lesquelles l'aluminium est mis en cause, et ont cherché à le prendre en compte dans les réponses immunitaires aux vaccins qui contiennent des Al_{ADJ}. Les nouvelles données ne vont pas toutes dans le même sens, en partie parce que l'on a reconnu à l'aluminium une réactivité biologique, et aussi à cause de la diversité des systèmes d'expérimentations et des préparations d'Al_{ADJ} utilisées dans les études antérieures et actuelles. On a eu tendance à considérer tous les sels et toutes les préparations d'aluminium comme étant « équivalentes d'un point de vue biochimique » quant à la manière dont la physiologie réagit en leur présence. A ce jour, la majorité des essais pour élucider le mécanisme d'action des Al_{ADJ} partait de la perspective des immunologistes et il leur manquait, peut-être, une compréhension de la présence biologique de l'aluminium. La prise en compte de la chimie bioinorganique des Al_{ADJ} à la lumière de leur immunologie devrait aider à confirmer les nouvelles données sur leur mode d'action et apporter les éclaircissements nécessaires quant à la manière dont ils fonctionnent en tant qu'adjuvants autorisés cliniquement dans les vaccinations humaines.

Le vaccin et le site de l'injection

La constitution d'un vaccin composé pour l'essentiel d'antigène et d' Al_{ADJ} est considérablement différente de celle du milieu physiologique dans lequel il est dilué sur le site de l'injection. La préparation vaccinale est faite essentiellement d'agglomérats à l'échelle du micromètre, constitués de particules primaires de sel d'aluminium de taille nano auxquelles l'antigène est associé par adsorption et capture [12]. L'avidité avec laquelle l'adjuvant se lie à l'antigène dépend de plusieurs facteurs, entre autres la formule du sel d'aluminium (généralement de l'oxyhydroxyde ou de l'hydroxyphosphate), les propriétés physico-chimiques de l'antigène (y compris sa charge générale et son poids moléculaire), le mode de préparation du complexe antigène-adjuvant (par exemple, la proportion d'adjuvant par rapport à l'antigène), et le pH de la solution finale. Ce dernier est généralement à peu près neutre (pH 7.0 ± 0.5), et, parallèlement à l'état extrêmement super saturé du sel d'aluminium, cela garantit que la concentration d'aluminium soluble dans la préparation vaccinale reste en dessous d'environ $2 \mu M$ [12, 13]. De la même manière, il y a une proportion variable d'antigène, souvent $< 1\%$ de la charge d'antigène totale, qui n'est pas liée directement à l'adjuvant [14-16], et une partie de cet antigène « libre » peut aussi être pris dans un complexe avec l'aluminium. L'injection de cette « soupe » vaccinale signifie généralement qu'environ $0.5 mg$ d'aluminium total sera dilué dans le fluide interstitiel du site de l'injection. Le fluide interstitiel des tissus qui reçoivent l'injection a généralement un pH de 7.4 , pour présenter une composition ionique similaire au plasma, et être riche en nutriments et métabolites associés au développement et à la fonction des tissus. En bref, sa composition est très différente de celle de la préparation vaccinale, et dans le voisinage immédiat du site de l'injection, il sera influencé de manière considérable du fait de son mélange avec le vaccin. La perturbation des capillaires va également provoquer une pénétration de plasma et une infiltration de cellules sanguines, comme résultat direct des conséquences physiques d'une injection. Alors qu'il y aura une migration immédiate limitée de certaines des formes de la préparation vaccinale plus petites ou qui ne se présentent pas sous la forme particulaire et qui vont s'éloigner du site de l'injection, la majeure partie de l'adjuvant et de l'antigène va, au cours des heures qui suivent l'injection, rester près du site où le « mélange » de vaccin, de fluide interstitiel et de plasma va déclencher une réaction locale.

Les formes solubles d'aluminium qui sont transmises sur le site de l'injection du vaccin, essentiellement de l'aluminate ($Al(OH)_4^-$)_(aq) en proportions équilibrées avec Al^{3+} _(aq) et ses produits d'hydrolyse [13], seront les premières à quitter le site de l'injection en se diluant dans le fluide interstitiel en état de réapprovisionnement continu. Les sels d'aluminium sont légèrement plus solubles dans un pH de 7.4 que dans un pH de 7.0 , et ce degré de solubilité va conduire à la dissolution continue d'aluminium particulaire, même si ce n'est que lentement. Une concentration croissante de Al^{3+} _(aq) sera disponible pour une liaison avec des ligands solubles dans le fluide interstitiel (par exemple, les acides amino et carboxyliques et les protéines comme l'albumine et la fibrinogène) et des ligands ancrés (comme le phosphate et les groupes de carboxylate) dans les membranes cellulaires et autres structures. Ces interactions vont, en plus du degré de solubilité du pH, accélérer la dissolution de l'aluminium particulaire, bien que le taux reste faible en comparaison, du fait de l'inertie cinétique des sels d'aluminium, et de la protection des sels d'aluminium aux sites de dissolution par les antigènes adsorbés qui les piègent.

Ainsi, alors qu'une petite proportion d'aluminium injecté restera présente près du site de l'injection sous une forme rapidement disponible biologiquement, Al^{3+} _(aq), la majeure partie de l'aluminium injecté restera présent sous forme particulaire à la fois avec et sans antigène associé.



TRENDS in Immunology

Figure 1. L'arsenal de l'adjuvant aluminique et l'immunité innée et d'adaptation. **(a)** La dilution de la préparation vaccinale dans le fluide interstitiel musculaire (FIM) entraîne toute une batterie d'agents potentiels de la cascade immunitaire, comprenant : (1) $Al^{3+}_{(aq)}$; (2) les antigènes libres (AG); (3) les adjuvants particuliers (ADJ); (4) ADJ avec AG associé; (5) un complexe AG-Al; (6) un complexe FIM ligand-Al; (7) ADJ avec ligand FIM associé; (8) complexe FIM ligand-AG; (9) du fer particulaire (comme contaminant de l'adjuvant), soit libre, soit avec Al/AG adsorbé et des espèces réactives de l'oxygène qui en résultent (ERO); (10) ADJ avec un complexe FIM ligand AG associé; (11) ADJ avec un complexe FIM ligand-Al associé. Les ligands FIM peuvent comprendre des biomolécules comme : l'ATP, l'albumine, la transferrine, le citrate, la fibrinogène. **(b)** Le groupe d'agents agit sur un certain nombre de cellules types, y compris le tissu musculaire hôte (provoquant potentiellement la mort nécrotique et/ou apoptotique des cellules) et s'infiltrant parmi les cellules innées telles les monocytes (potentiel de différenciation avec les cellules dendritiques induites par l' Al_{ADJ}), les granulocytes (potentiel d'éosinophilie induite par l' Al_{ADJ} agissant directement sur les cellules B), les macrophages (connus pour rester pendant de longues périodes près du site de l'injection et qui peuvent se caractériser par des inclusions d' Al_{ADJ}) et les cellules dendritiques (CD). Ces dernières peuvent être les cellules porteuses d'antigène (CPA) les plus importantes. **(c)** Il existe une multitude de modes d'interaction possibles entre les agents et les cellules de naissance, y compris : (i) le récepteur de type Toll (TLR) liant AG^2 , un complexe $AG-Al^5$, un complexe FIM ligand- AG^8 , $Al^{3+}_{(aq)}{}^1$; (ii) de multiples TLR liant $Ag-ADJ^4$; (iii) une phagocytose de ADJ^3 , $AG-ADJ^4$, FIM ligand- ADJ^7 , un complexe- ADJ FIM ligand- Al^{11} , un complexe- ADJ FIM ligand- AG^{10} ; une liaison directe¹ ou indirecte⁶ de l' $Al^{3+}_{(aq)}$ par des récepteurs membranaires et une activité extracellulaire (membrane lipidique) ou intracellulaire (nucléus) d' ERO^9 . **(d)** Les CPA déclenchent une immunité d'adaptation à travers tout le processus; **(a)** la production de chimiokines et de cytokines (soucoupes vertes) dépendante ou indépendante de l'inflammasome Nalp3 comprenant IL-1 β et IL-18; **(b)** la présentation d'AG par MHC au récepteur de cellules T combinée avec des molécules co-stimulantes; **(c)** l'action directe d'ADJ et/ou d' $Al^{3+}_{(aq)}$ sur les cellules B/T. Les chiffres supérieurs font référence aux nombres entre parenthèses sur le schéma.

L'aluminium comme munition

L'action adjuvante des sels d'aluminium pourrait potentiellement être attribuée, soit à l'aluminium sous forme soluble ou insoluble (particulaire), soit comme étant une réponse combinée aux deux formes d'aluminium. La forme biologiquement réactive de l'aluminium est essentiellement l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$, et ce petit ion hydraté extrêmement électropositif se lie avidement à l'oxygène et aux groupes fonctionnels à base de fluor [17]. Ces derniers sont probablement de moindre importance dans la biochimie de l'aluminium, bien que les complexes d'aluminium fluorés soient de puissants agents des protéines G [18]. Beaucoup de ligands et de groupes fonctionnels à base d'oxygène s'attachent à l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ plutôt qu'à leurs cofacteurs métalliques habituels ; l'ATP, par exemple, se lie toujours à $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ plutôt qu'à Mg^{2+} [19]. Les réactions entre les biomolécules et l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ dérivé d'un adjuvant vont être rapides et vont signifier que l'aluminium est éloigné du site de l'injection. Une étude riche et originale utilisant de l'oxyhydroxyde d'aluminium ^{26}Al et des adjuvants d'hydroxyphosphate d'aluminium a démontré la présence dans le sang d' ^{26}Al dans l'heure qui a suivi leur injection intramusculaire chez des lapins [20]. Cette recherche a fait apparaître la labilité de l'aluminium dès lors qu'il est injecté comme adjuvant, et a mis en cause le rôle de l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ dans son mode d'action, que ce soit à proximité ou à distance du site de l'injection. Cependant, la forme la plus importante et la plus persistante de l'aluminium sur le site de l'injection sera particulaire (se dissolvant et se dissociant lentement), avec une taille de l'ordre de 1-20 μm . Son rôle dans l'activité adjuvante inclurait notamment que les particules soient (i) une source constante d' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$, (ii) une réserve régulière d'antigène relargué, (iii) une surface qui offre une population dense d'antigène pour certaines formes de molécules de reconnaissance, et (iv), une masse de particules de taille optimale pour la phagocytose par les cellules résidentes et d'infiltration. Alors que l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ est la forme biologiquement réactive de l'aluminium, étant disponible pour la complexation de biomolécules multiples, un arsenal d' Al_{ADJ} comprend aussi des munitions sous forme de particules qui vont dès lors élargir l'étendue des cibles biologiques potentielles (voir Figure 1).

Les cibles biologiques des adjuvants aluminiques

Alors que la concentration totale d'aluminium sur le site de l'injection va être élevée (mM), la disponibilité de l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ cytotoxique (nM- μM) ne sera probablement pas suffisamment élevée, même au cours d'une exposition prolongée, pour provoquer la mort cellulaire par nécrose [17].

Cadre 1 . Médiateurs de l'inflammation

Le processus inflammatoire sert d'intermédiaire entre la réponse immunitaire innée et celle d'adaptation en fournissant un milieu essentiel au déclenchement de la réponse immunitaire d'adaptation. Les médiateurs qui lient la réponse immunitaire innée et celle d'adaptation sont des composants qui facilitent l'infiltration cellulaire et les signes de différenciation/activation. Les médiateurs pro-inflammatoires peuvent être, par exemple, des cytokines, des cytokines chimiotactiques /chimiokines, des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et l'oxyde nitrique (ON).

Cytokines pro-inflammatoires principales :
IL1-alpha, IL1-beta, IL6, et TNF-alpha.

Chimioattractants :
IL8, MCP 1, -4, MIP-1, RANTES, GRO- α , - β , - γ

Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et ON :
Anion superoxyde, radical hydroxyde, peroxyde d'hydrogène, peroxyde nitrite et oxyde nitrique

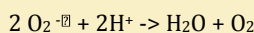
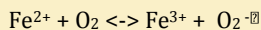
De la même manière, on ne s'attend pas à ce que l'aluminium sous forme particulaire que l'on trouve dans les adjuvants agréés cliniquement entraîne une toxicité « physique » ou « de morphologie » sur, par exemple, les membranes cellulaires ou lysosomales [21] comme on l'a suggéré pour la silice [7], ou les cristaux d'urate de monosodium [22]. Bien qu'on l'ait souvent conclu, il n'y a dans la littérature scientifique [23] que très peu de preuves directes de la toxicité aiguë des Al_{ADJ} autorisés cliniquement dans les tissus qui entourent le site de l'injection [1]. En gardant ceci à l'esprit, il est important de réaliser que les phagocytes d'infiltration vont s'alimenter d'une quantité illimitée d' Al_{ADJ} sous forme de particules sur le site de l'injection et vont s'en nourrir jusqu'à ce qu'ils meurent, produisant ainsi une variété de réactions moléculaires associées à des lésions (RMAL). La chaîne de cellules phagocytaires

suivante va donc se trouver dans un milieu riche en particules d' Al_{ADJ} et en RMAL ; ce qui augmenterait la possibilité de l'activation de l'inflammasome Nalp3, et la production d'IL-1 β , et, en conséquence, le déclenchement de l'inflammation et le recrutement accru, l'activation, et la maturation des cellules immunitaires compétentes (voir cadre 1).

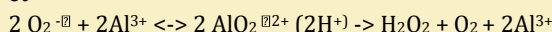
On sait que la réponse cellulaire à l'exposition à l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ est biphasique, c'est-à-dire qu'elle est stimulante à basses concentrations, et inhibitive à fortes concentrations. Pour les concentrations que l'on trouve dans le fluide interstitiel à proximité du site de l'injection, l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ aurait des effets stimulants, et non pas inhibitifs, dans les cellules et les tissus de l'hôte [17]. On peut glaner la nature de ces effets à partir d'exemples d'exposition d'autres cellules types à l'aluminium. Par exemple, l'exposition des cellules du cerveau humain dans une culture primaire à des concentrations nM d' $\text{Al}(\text{III})$ a provoqué une régulation importante de l'expression des gènes qui favorisent les signaux inflammatoires (par exemple, le précurseur IL-1 β) et l'apoptose (comme *DAXX*) [24]. On a pu observer des effets pro-inflammatoires similaires (comme la régulation de NF- κ B) suite à une exposition chronique à l' $\text{Al}(\text{III})$ dans le glioblastome humain [25], et chez une large gamme de sujets animaux [26-30]. Il existe des preuves solides que beaucoup des effets pro-inflammatoires d'une exposition systémique chronique à l'aluminium passent par la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) [24, 31]. Comme l'aluminium est un pro-oxydant puissant, peut-être en raison de sa liaison par l'anion radical superoxyde [32], on s'attendrait à ce qu'il déclenche des réactions oxydantes sur le site de l'injection. Il faut remarquer que les Al_{ADJ} agréés cliniquement sont contaminés avec des concentrations importantes de fer (ppm). Puisque l'aluminium, sous certaines conditions physiologiques, peut à la fois réduire Fe(III) en Fe(II) et déclencher l'auto-oxydation de ce dernier [33], la combinaison du fer et de l'aluminium va dès lors potentialiser la formation et les activités des ERO sur le site de l'injection et tout autour (voir Cadre 2).

Cadre 2. L'aluminium facilite l'oxydation biologique favorisée par le fer

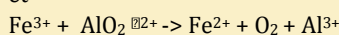
Le mécanisme qui est proposé pour souligner cet effet implique la formation de « *aluminium superoxide semi-reduced radical ion* », $\text{AlO}_2^{\ominus 2+}$, qui joue le rôle d'un pro-oxydant à la fois en catalysant la formation du peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 , et en réduisant Fe^{3+} en Fe^{2+} .



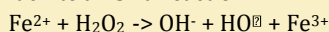
et



et



facilite ainsi la réaction



Les cycles redox sont des composants à part entière des signaux pro-inflammatoires liés aux adjuvants [62], et sont des cibles claires de potentialisation par l'aluminium

Le rôle connu de l'aluminium, en tant qu'adjuvant et autre, comme médiateur de la formation et de la production d'IL-1 β et IL-18, pourrait également impliquer des signaux extracellulaires à travers l'ATP. L'ATP extracellulaire joue un rôle dans la production de cytokines pro-inflammatoires à travers son action sur un ou plusieurs types de récepteurs P2 dans un certain nombre de cellules types immunitaires réactives, y compris les macrophages [34, 35]. On a montré que l'aluminium potentialisait l'activité des ATP extracellulaires, soit en prolongeant la durée de vie du complexe récepteur de nucléotides, soit en réduisant le taux de son hydrolyse par ectonucléotidase [36, 37]. L'un des effets possibles de l'aluminium sur le taux d'hydrolyse des ATP serait de donner un coup de fouet à la réponse immunitaire en

bloquant la fonction cellulaire régulatrice T [38, 39]. Ce qui appuie encore le rôle de l' Al -ATP dans la modulation de la réponse immunitaire, c'est le fait bien connu que la toxicité de l'aluminium dans les racines végétales se manifeste comme une fuite accrue de potassium [40], ce dernier étant un signe supplémentaire de l'activation de la caspase-1 et de la production d'IL-1 β et d'IL-18 [41]. En fait, des expériences, qui ont démontré le développement des réponses immunitaires des cellules B sous l'action des Al_{ADJ} en l'absence d'antigène adsorbé, ont fait apparaître des augmentations de calcium intracellulaire induites par l'aluminium [42], un effet qui s'accorde avec l'expression accrue du gène pour la phospholipase cytosolique A_2 (cPLA $_2$) induite par l'aluminium que l'on connaissait déjà [24]. Manifestement, il existe une multitude de possibilités par lesquelles l' $\text{Al}^{3+}_{(\text{aq})}$ peut influencer l'immunité innée (et d'adaptation), qui impliquent peut-être [2, 4], mais pas exclusivement [5], l'activation de l'inflammasome Nalp3, et, surtout, sans que la mort cellulaire soit une condition préalable nécessaire [1].

Les différents rôles de l'aluminium particulière dans la potentialisation de la réponse immunitaire aux antigènes est moins facile à définir. La phagocytose des Al_{ADJ} par les cellules innées n'est pas suffisante en elle-même pour conduire à la lyse intracellulaire de la phagolysosome qui se produit par la suite et à l'activation de l'inflammasome Nalp3. Comme nous l'avons déjà mentionné, les particules de Al_{ADJ} , y compris la boémite des préparations commerciales d'hydroxyde d'aluminium à faible teneur cristalline, ne peuvent pas perturber les structures des membranes par une toxicité « de morphologie » [21]. Cependant, il

est possible que l'intégrité des phagolysosomes puisse être perturbée si leurs contenus sont acidifiés par un processus actif favorisant alors la dissolution de l'aluminium particulaire et la production d' $Al^{3+}_{(aq)}$ qui endommage les membranes [43]. Le passage de l'aluminium dans le cytosol cellulaire pourrait alors conduire à l'activation de l'inflammasome Nalp3 par le biais, par exemple, d'un mécanisme pro-oxydant [44]. On a fait la démonstration de mécanismes similaires par lesquels des métaux à la fois solubles et sous forme de particules ont déclenché l'inflammasome Nalp3 dans les macrophages [45]. L'aluminium particulaire, suite à sa phagocytose par une cellule porteuse d'antigène, pourrait potentialiser une réponse immunitaire en produisant une population importante d'antigènes associés aux cellules T dans les nodules lymphatiques [46, 47]. La production simultanée de l'adjuvant aluminique en tant qu' $Al^{3+}_{(aq)}$ pourrait alors agir de façon co-stimulante, peut-être comme nous l'avons noté plus haut pour les cellules B [42]. Le mécanisme d'action de dépôt classique des Al_{ADJ} est généralement décrit comme la diffusion lente mais constante d'antigènes, après quoi l'antigène est transformé et transmis par les cellules innées aux cellules T comme un complexe antigène-MHC. Ce qui est moins clair, c'est de savoir si les récepteurs de reconnaissance types (RRT) des cellules innées peuvent « sentir » et se lier à l'antigène qui est encore associé à l'adjuvant [48]. Si ce scénario était possible, le recrutement des RRT à haute densité dans la membrane cellulaire des cellules innées pourrait alors entraîner une réponse immunitaire plus « efficace », à la fois pour la sécrétion de cytokine qui s'ensuit, et pour la transformation et la transmission de l'antigène-MHC (voir figure 1).

Il existe d'autres réponses biologiques aux Al_{ADJ} qui pourraient avoir un impact sur leur action en tant qu'adjuvants. Les composés d'aluminium sont utilisés dans un grand nombre d'applications industrielles diverses, y compris en tant que modificateurs de surface et comme catalyseurs [49]. Toutes les formes d'aluminium particulaire ont le potentiel d'agir comme surfaces d'adsorption ou de capture de biomolécules, exactement comme elles le font dans les préparations vaccinales, et ces surfaces pourraient agir de plus comme des modèles de commandes biomoléculaires et de catalyse de réactions biochimiques. Elles pourraient agir de la sorte *in situ* sur le site de l'injection, suite à la désorption de l'antigène associé, ou plus loin du site de l'injection, par exemple dans les nodules lymphatiques, soit en ayant été transportées comme particules par phagocytose ou, en théorie, en ayant été précipitées de nouveau en tant qu'hydroxyde d'aluminium amorphe [50]. Il est ainsi fort possible que l'action adjuvante des sels d'aluminium ne soit pas restreinte à la seule amélioration du caractère antigénique de l'antigène injecté simultanément, mais qu'elle serve également à améliorer l'antigénicité des biomolécules qui sont déjà présentes dans le fluide interstitiel du receveur du vaccin [51]. De telles biomolécules étrangères « qui arrivent naturellement » peuvent, en l'absence de la matière Al_{ADJ} résiduelle, ne pas être présentes en assez grande quantité pour déclencher une réponse immunitaire. Autre cas de figure, elles peuvent ne pas exposer de déterminants antigéniques dans leur structure tridimensionnelle originelle qui puissent être exposés suite à leur adsorption à l' Al_{ADJ} . Par rapport à cette « adjuvantité indirecte », il existe un nombre d'exemples croissant dans la littérature scientifique relative aux sels d'aluminium qui concluent à une sensibilisation des substances qui ne seraient pas en temps normal considérées comme des antigènes. Par exemple, de tels effets peuvent favoriser les allergies alimentaires. [52].

Une autre réponse biologique aux Al_{ADJ} qui est apparemment passée inaperçue est l'acceptation du fait que l'aluminium lui-même puisse être antigénique. On a montré que des anticorps monoclonaux qui étaient élevés face à un immunogène BSA-aluminique (albumine de sérum bovin) reconnaissaient l'aluminium dans des solutions physiologiques, qu'il soit lié ou non à des protéines [53]. Ces anticorps ont ensuite été utilisés avec succès pour identifier l'aluminium dans les tissus du cerveau humain [54]. La propension des métaux à agir comme antigènes quand ils sont conjugués aux protéines ne semble pas unique à l'aluminium [55], et cette propriété devrait être reconnue comme un contributeur potentiel à la fonction d'adjuvant des sels d'aluminium. Dans le monde moderne que l'on a baptisé « l'âge de l'aluminium » [56], tous les humains sont exposés à l'aluminium tout au long de leur existence depuis la conception, de la naissance à la mort. L'aluminium s'accumule dans le corps avec l'âge [57], et chaque fois qu'un individu reçoit une injection de vaccin qui comprend des Al_{ADJ} , on court le risque de voir se développer une réponse immunitaire à la fois contre l'adjuvant et contre n'importe quelle réserve d'aluminium importante dans le corps. Il existe un nombre croissant de cas de réactions indésirables aux vaccinations qui contiennent des BSA, et certains de ces incidents atypiques pourraient s'expliquer par l'antigénicité apparente de l'aluminium lui-même [58].

Quand un adjuvant aluminique n'est pas un adjuvant aluminique

En dépit des efforts importants de Stanley Hem et de ses collègues [12, 59], les chercheurs ont continué à considérer tous les sels d'aluminium comme des « équivalents biochimiques » quant à leurs modes de fonctionnement en tant qu'adjuvants. Très peu d'entre eux, en dehors de Hem, ont compris que le mécanisme de fonctionnement détaillé des deux Al_{ADJ} agréés cliniquement, généralement appelés hydroxyde d'aluminium et phosphate d'aluminium, sont différents l'un de l'autre, et que le produit adjuvant expérimental non-agréé cliniquement connu sous le nom de Imject® Alum est encore radicalement différent des deux produits dont l'usage est autorisé chez l'Homme. Les problèmes sont apparus quand les expérimentations *in vitro* et chez les sujets animaux se sont servis d'Imject® Alum comme d'un modèle d'adjuvant agréé cliniquement dans les vaccinations humaines. C'est un problème dans la mesure où, bien que ce produit soit un adjuvant efficace, sa formulation et sa physico-chimie est celle d'un antiacide. Il est composé de poids identiques (40g/L) d'hydroxycarbonate d'aluminium et d'hydroxyde de magnésium. Ce dernier ne fait pas partie des Al_{ADJ} autorisés cliniquement et fait partie de la composition d'Imject® Alum, d'après une correspondance par email personnelle avec les fabricants, « dans le but d'augmenter la réponse immunitaire à l'adjuvant. » La réponse améliorée suggérée pourrait être due à la multitude de fonctions du magnésium dans la physiologie, dont beaucoup touchent au fonctionnement du système immunitaire [60] (voir cadre 3).

Cadre 3. Le magnésium et le système immunitaire

Le magnésium, en tant que Mg^{2+} , est le deuxième cation le plus abondant dans les systèmes cellulaires, et joue une multitude de rôles dans les systèmes biochimiques [63]. Les sels de magnésium ont été utilisés comme adjuvants dans le traitement des maladies cardiaques [64] et de l'asthme [65], ainsi qu'en anesthésie [66]. Alors que le magnésium a été impliqué dans différentes fonctions du système immunitaire [60], les mécanismes sous-jacents restent à être complètement élucidés. Par exemple, le magnésium joue un rôle au niveau de la prolifération cellulaire [67], ce qui pourrait avoir des implications pour la différenciation cellulaire dans l'immunité innée. Le magnésium protège généralement des affections pro-inflammatoires [68, 69], et pourrait exercer ses effets anti-inflammatoires en réduisant la sécrétion de cytokines [70] ou en régulant l'activité de NF- κ B [71]. Le magnésium est également l'antagoniste biochimique naturel de l'aluminium pro-inflammatoire [72], et ceci, en soi, pourrait être à la base de beaucoup de ses effets biochimiques liés aux adjuvants.

De plus, le magnésium est un cardio protecteur reconnu, ce qui pourrait expliquer les effets athéroprotecteurs manifestes d'Imject® Alum [51]. Une autre manière par laquelle la présence d'une forte concentration de magnésium pourrait encore améliorer l'effet d'adjuvant d'Imject® Alum se fait par le biais d'une amélioration des effets de l'injection d'un sel d'aluminium qui est ostensiblement plus soluble, et moins inerte cinétiquement, que l'oxyhydroxyde d'aluminium ou l'hydroxyphosphate d'aluminium. Pour être un antiacide efficace, l'hydroxycarbonate d'aluminium doit pouvoir répondre aux transformations de $[H^+]$ en diffusant rapidement des formes solubles d'aluminium ($Al^{3+}_{(aq)} \leftrightarrow Al(OH)_4^{-}_{(aq)}$) afin de réguler tous les changements de pH. La dilution d'Imject® Alum dans le fluide interstitiel va favoriser toute réponse biologique qui passe en

premier lieu par $Al^{3+}_{(aq)}$. De plus fortes concentrations d'aluminium biochimiquement réactif pourraient entraîner des effets inhibitoires au lieu d'effets stimulants, par exemple, par l'inhibition de l'action de l'oxydase NADH [61]. Ces effets ne se manifesteraient pas nécessairement comme une immuno-stimulation.

Cependant, on pourrait s'attendre à ce que la présence simultanée d'un excès molaire important de Mg^{2+} réactif biologiquement fournisse une protection partielle contre les actions inhibitrices de l' $Al^{3+}_{(aq)}$ [13, 19, 56], et fasse ainsi passer au moins une partie de l'effet adjuvant augmenté que le fabricant d'Imject® Alum a attribué à l'hydroxyde de magnésium (voir cadre 3). La plus grande solubilité de l'hydroxycarbonate d'aluminium dans Imject® Alum pourrait aussi entraîner une précipitation importante de l'hydroxyde d'aluminium amorphe et son endocytose ultérieure par les cellules, soit à proximité, soit à distance du site de l'injection. Cet aluminium particulaire est chimiquement distinct de la substance mère de l'adjuvant et pourrait, suite à l'acidification et la lyse de l'endosome, être diffusé dans le cytosol cellulaire où il aurait le potentiel d'être cytotoxique. A concentrations égales d'aluminium total dans les adjuvants appliqués, la mort cellulaire nécrotique serait donc plus probable par Imject® Alum que par l'oxyhydroxyde d'aluminium ou l'hydroxyphosphate d'aluminium. En conséquence, pour d'excellentes raisons déjà montrées du doigt par Hem [12, 59], et accentuées encore ici, Imject® Alum ne devrait pas être utilisé comme modèle pour comprendre le *modus operandi* des Al_{ADJ} autorisés cliniquement.

Conclusions

Des études détaillées et pertinentes sur les mécanismes d'action possibles des Al_{ADJ} ont fait avancer à grands pas notre compréhension de la biochimie de l'aluminium. Alors que l'on connaît les effets pro-inflammatoires de l'intoxication chronique à l'aluminium depuis de nombreuses années, on comprenait peu leur étiologie sous-jacente. Il y a désormais des preuves solides du rôle de l'inflammasome Nalp3 dans la toxicité connue de l'aluminium et dans d'autres effets indépendants de l'inflammasome Nalp3 qui passent par des cellules porteuses d'antigène et directement ou indirectement sur les cellules B et T. Cependant, ces nouvelles études expliquent-elles le mécanisme d'action de Al_{ADJ} agréés cliniquement ? La réponse est « probablement pas », puisque les expérimentations adéquates, en particulier sur les humains, restent à mettre en application. En prenant en considération toutes les preuves dans leur ensemble, un individu ayant une réponse biologique classique à l'aluminium peut évoluer vers un des mécanismes ou une combinaison de mécanismes liés à l'effet « dépôt » classique, comme premier mode d'action probable des « vrais » Al_{AD}. Mais, avec la restriction que nous, en tant qu'individus, ne répondrons pas tous de manière identique, dans le court ou le long terme, à l'injection d'aluminium dans nos tissus.

Remerciements

Andrew Lawrence de KUDIS, Université Keele, est remercié pour son aide dans la préparation de la figure.

Références

- 1 Li, H., Nookala, S. and Re, F. (2007) Aluminium hydroxide adjuvants activate caspase-1 and induce IL-1b and IL-18 release. *J. Immunol.* 178, 5271–5276
- 2 Li, H. et al. (2008) Cutting edge: Inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effect are mediated by NLRP3. *J. Immunol.* 181, 17–21
- 3 Kool, M. et al. (2008) Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J. Exp. Med.* 205, 869–882
- 4 Eisenbarth, S.C. et al. (2008) Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* 453, 1122–1126
- 5 Franchi, L. and Núñez, G. (2008) The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1b secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur. J. Immunol.* 38, 2085–2089
- 6 Wang, H-B. and Weller, P.F. (2008) Pivotal advance: Eosinophils mediate early alum adjuvant-elicited B cell priming and IgM production. *J. Leukoc. Biol.* 83, 817–821
- 7 Hornung, V. et al. (2008) Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilisation. *Nature Immunol.* 9, 847–856
- 8 Lambrecht, B.N. et al. (2009) Mechanism of action of clinically approved adjuvants. *Curr. Opin. Immunol.* 21, 23–29
- 9 Marrack, P., McKee, A.S. and Munks, M.W. (2009) Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. *Nature Rev. Immunol.* 9, 267–293
- 10 Aimanianda, V. et al. (2009) Novel cellular and molecular mechanisms of induction of immune responses by aluminum adjuvants. *Trends Pharm. Sci.* 30, 287–295
- 11 Janeway, C.A. (1989) Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 54, 1–13
- 12 Hem, S.L. and HogenEsch, H. (2007) Relationship between physical and chemical properties of aluminum-containing adjuvants and immunopotentiality. *Expert Rev. Vaccines* 6, 685–698
- 13 Martin, R.B. (1986) The chemistry of aluminium as related to biology and medicine. *Clin. Chem.* 32, 1797–1806
- 14 Jang, M., Cho, I. and Callahan, P. (1997) Adsorption of globular proteins to vaccine adjuvants. *J. Biochem. Mol. Biol.* 30, 346–351
- 15 Jiang, D. et al. (2006) Relationship of adsorption mechanism of antigens by aluminium-containing adjuvants to in vitro elution in interstitial fluid. *Vaccine* 24, 1665–1669
- 16 Méndez, I.Z.R. et al. (2007) Potentiation of the immune response to non-adsorbed antigens by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine* 25, 825–833

- 17 Exley, C. and Birchall, J.D. (1992) The cellular toxicity of aluminium. *J. Theor. Biol.* 159, 83–98
- 18 Bigay, J. et al. (1987) Fluoride complexes of aluminum and beryllium act on G-proteins as reversibly bound analogs of the gamma-phosphate of GTP. *EMBO J.* 6, 2907–2913
- 19 MacDonald, T.L. and Martin, R.B. (1988) Aluminium ion in biological systems. *Trends Biochem. Sci.* 13, 15–19
- 20 Flarend, R.E. et al. (1997) In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26Al. *Vaccine* 15, 1314–1318
- 21 Ramesh, M. et al. (2007) Effects of the physico-chemical nature of two biomimetic crystals on the innate immune response. *Int. Immunopharmacol.* 7, 1617–1629
- 22 Shi, Y., Evans, J.E. and Rock, K.L. (2003) Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 425, 516–521
- 23 Goto, N. et al. (1997) Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminium hydroxide with different physical properties. *Vaccine* 15, 1364–1371
- 24 Lukiw, W.J., Percy, M.E. and Kruck, T.P. (2005) Nanomolar aluminum induces pro-inflammatory and pro-apoptotic gene expression in human brain cells in primary culture. *J. Inorg. Biochem.* 99, 1895–1898
- 25 Campbell, A. et al. (2002) Pro-inflammatory effects of aluminium in human glioblastoma cells. *Brain Res.* 933, 60–65
- 26 Tsunoda, M. and Sharma, R.P. (1999) Modulation of tumor necrosis factor alpha expression in mouse brain after exposure to aluminum in drinking water. *Arch. Toxicol.* 73, 419–426
- 27 Ghribi, O. et al. (2001) Abeta(1-42) and aluminum induce stress in the endoplasmic reticulum in rabbit hippocampus, involving nuclear translocation of gadd 153 and NF-kappa B. *Mol. Brain Res.* 96, 30–38
- 28 Johnson, V.J. and Sharma, R.P. (2003) Aluminum disrupts the proinflammatory cytokine/neurotrophin balance in primary brain rotation-mediated aggregate cultures: Possible role in neurodegeneration. *Neurotoxicology* 24, 261–268
- 29 Campbell, A. et al. (2004) Chronic exposure to aluminum in drinking water increases inflammatory parameters selectively in the brain. *J. Neurosci. Res.* 75, 565–572
- 30 Becaria, A. et al. (2006) Aluminum and copper in drinking water enhance inflammatory or oxidative events specifically in the brain. *J. Neuroimmunol.* 176, 16–23
- 31 Lukiw, W.J. and Pogue, A.I. (2007) Induction of specific micro RNA (miRNA) species by ROS-generating metal sulfates in primary human brain cells. *J. Inorg. Biochem.* 101, 1265–1269
- 32 Exley, C. (2004) The prooxidant activity of aluminium. *Free Rad. Biol. Med.* 36, 380–387
- 33 Khan, A., Dobson, J.P. and Exley, C. (2006) Redox cycling of iron by Ab42. *Free Rad. Biol. Med.* 40, 557–569
- 34 Cruz, C.M. et al. (2007) ATP activates a reactive oxygen species dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages. *J. Biol. Chem.* 282, 2871–2879
- 35 Pelegrin, P. and Surprenant, A. (2009) Dynamics of macrophage polarization reveal new mechanism to inhibit IL-1b release through pyrophosphates. *EMBO J.* 28, 2114–2127
- 36 Korchazhkina, O., Wright, G. and Exley, C. (1999) No effect of aluminium upon the hydrolysis of ATP in the coronary circulation of the isolated working rat heart. *J. Inorg. Biochem.* 76, 121–126
- 37 Korchazhkina, O.V., Wright, G. and Exley, C. (1998) Action of Al-ATP on the isolated working rat heart. *J. Inorg. Biochem.* 69, 153–158
- 38 Hasko, G. and Cronstein, B.N. (2004) Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. *Trends Immunol.* 25, 33–39
- 39 Sitkovsky, M.V. (2009) T regulatory cells: hypoxia-adenosinergic suppression and re-direction of the immune response. *Trends Immunol.* 30, 102–108
- 40 Osawa, H. and Matsumoto, H. (2002) Aluminium triggers malate independent potassium release via ion channels from the root apex in wheat. *Planta* 215, 405–412
- 41 Solle, M. et al. (2001) Altered cytokine production in mice lacking P2X7 receptors. *J. Biol. Chem.* 276, 125–132
- 42 Jordan, M.B. et al. (2004) Promotion of B cell immune responses via an alum-induced myeloid cell population. *Science* 304, 1808–1810
- 43 Zatta, P. et al. (1997) Aluminium(III) induces alterations on the physical state of the erythrocytic membrane: an ESR evaluation. *J. Inorg. Biochem.* 65, 109–114
- 44 Tassi, S. et al. (2009) Pathogen-induced interleukin-1b processing and secretion is regulated by a biphasic redox response. *J. Immunol.* 183, 1456–1462
- 45 Caicedo, M.S. et al. (2009) Soluble and particulate Co-Cr-Mo alloy implant metals activate the inflammasome danger signalling pathway in human macrophages: A novel mechanism for implant debris reactivity. *J. Orthopaedic Res.* 27, 847–854

- 46 Rimaniol, A.-C. et al. (2004) Aluminium hydroxide adjuvant induces macrophage differentiation towards a specialised antigen-presenting cell type. *Vaccine* 22, 3127–3135
- 47 Sokolovska, A., Hem, S.L. and HogenEsch, H. (2007) Activation of dendritic cells and induction of CD4+ T cell differentiation by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine* 25, 4575–4585
- 48 Gavin, A.L. et al. (2006) Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signalling. *Science* 314, 1936–1938
- 49 Atwood, D.A. and Yearwood, B.C. (2000) The future of aluminium chemistry. *J. Organometal. Chem.* 600, 186–197
- 50 Beardmore, J. and Exley, C. (2009) Towards a model of nonequilibrium binding of metal ions in biological systems. *J. Inorg. Biochem.* 103, 205–209
- 51 Wigren, M. et al. (2009) Atheroprotective effects of alum are associated with capture of oxidised LDL antigens and activation of regulatory T cells. *Circ. Res.* 104, e62–e70
- 52 Brunner, R. et al. (2009) Aluminium per se and in the anti-acid drug sucralfate promotes sensitization via the oral route. *Allergy* 64, 890–897
- 53 Levy, R., Shohat, L. and Solomon, B. (1998) Specificity of an antialuminium monoclonal antibody toward free and protein-bound aluminium. *J. Inorg. Biochem.* 69, 159–163
- 54 Levy, R. et al. (1998) Immunodetection of aluminium and aluminium-induced conformational changes in calmodulin-implications in Alzheimer's disease. *Cell. Biochem.* 189, 41–46
- 55 Blake, D.A. et al. (1996) Metal binding properties of a monoclonal antibody directed toward metal-chelate complexes. *J. Biol. Chem.* 271, 27677–27685
- 56 Exley, C. (2003) A biogeochemical cycle for aluminium? *J. Inorg. Biochem.* 97, 1–7
- 57 Exley, C. et al. (1996) Aluminium toxicokinetics. *J. Toxicol. Environ. Health* 48, 569–584
- 58 Exley, C. et al. (2009) A role for the body burden of aluminium in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome. *Med. Hyp.* 72, 135–139
- 59 Hem, S.L., Johnston, C.T. and HogenEsch, H. (2007) Imject Alum is not aluminium hydroxide adjuvant or aluminium phosphate adjuvant. *Vaccine* 25, 4985–4986
- 60 Tam, M. et al. (2003) Possible roles of magnesium on the immune system. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57, 1193–1197
- 61 Yang, X.D. et al. (2003) Multi-NMR and fluorescence spectra study the effects of aluminum (III) on coenzyme NADH in aqueous solutions. *Spectrochim. Acta A-Mol. Biomol. Spectroscopy* 59, 2561–2569
- 62 Rubartelli, A. and Lotze, M.T. (2007) Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends Immunol.* 28, 429–436
- 63 Touyz, R.M. (2004) Magnesium in clinical medicine. *Front. Biosci.* 9, 1278–1293
- 64 Li, J. et al. (2007) Intravenous magnesium for acute myocardial infarction. *Cochrane Database System. Rev.* 2, CD002755
- 65 Beasley, R. and Aldington, S. (2007) Magnesium in the treatment of asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 7, 107–110
- 66 Dube, L. and Granry, J.C. (2003) The therapeutic use of magnesium in anaesthesiology, intensive care and emergency medicine: a review. *Can. J. Anaesthesia* 50, 732–746
- 67 Wolf, F.I., Trapani, V. and Cittadini, A. (2008) Magnesium and the control of cell proliferation: looking for a needle in a haystack. *Magnesium Res.* 21, 83–91
- 68 Mazur, A. et al. (2007) Magnesium and the inflammatory response: Potential physiopathological implications. *Arch. Biochem. Biophys.* 458, 48–56
- 69 King, D.E. (2009) Inflammation and elevation of C-reactive protein: does magnesium play a key role? *Magnesium Res.* 22, 57–59
- 70 Nowacki, W. et al. (2009) High-magnesium concentration and cytokine production in human whole blood model. *Magnesium Res.* 22, 93–96
- 71 Rochelson, B. et al. (2007) Magnesium sulfate suppresses inflammatory responses by human umbilical vein endothelial cells (HuVECs) through the NF kappa B pathway. *J. Reprod. Immunol.* 73, 101–107
- 72 Exley, C. (2009) Darwin, natural selection and the biological essentiality of aluminium and silicon. *Trends Biochem. Sci.* 34, 589–593

Le document ci-dessus a été traduit par :

Florence Ciret-Strecker, Ph.D, Professeur d'université
Titulaire d'un Doctorat de Littérature Française de l'Université de Tulane,
(La Nouvelle-Orléans, Etats-Unis)
Simmons College
300 the Fenway
Boston, MA 02115 – Etats-Unis
Tél. : (617) 960-7142
Email : ciret@simmons.edu

En ma qualité de professeur d'université, je certifie que le document ci-dessus est une traduction conforme à l'original qui m'a été fourni.

Florence Ciret-Strecker

Le 31 août 2011