

# Stratégies vers la rémission du VIH : caractérisation des mécanismes impliqués dans la rémission et étude de la dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans des cohortes pré-cliniques

Nastasia Dimant

▶ **To cite this version:**

Nastasia Dimant. Stratégies vers la rémission du VIH : caractérisation des mécanismes impliqués dans la rémission et étude de la dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans des cohortes pré-cliniques. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02058840

**HAL Id: dumas-02058840**

**https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02058840**

Submitted on 14 Mar 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 1 Mars 2019

PAR

Madame DIMANT Nastasia

Née le 16 Décembre 1991 à Aix-en-Provence (13)

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**TITRE :**

# STRATEGIES VERS LA REMISSION DU VIH : CARACTERISATION DES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA RÉMISSION ET ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE DES CELLULES MYÉLOIDES SUPPRESSIVES DANS DES COHORTES PRÉ-CLINIQUES

**JURY :**

Président : Pr. Jean-Marc ROLAIN

Membres : Pr. Philippe COLSON
Dr. Delphine DESJARDINS

**Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie** –27 bd Jean Moulin – CS 30064 - 13385 Marseille cedex 05 - France
Tél. : +33 (0)4 91 83 55 00 - Fax : +33 (0)4 91 802612

Faculté de Pharmacie
Aix+Marseille Université

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

| | |
|---|---|
| *Doyen :* | Mme Françoise DIGNAT-GEORGE |
| *Vice-Doyens :* | M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT |
| *Chargés de Mission :* | Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI |
| *Conseiller du Doyen :* | M. Patrice VANELLE |
| *Doyens honoraires :* | M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE |
| *Professeurs émérites :* | M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL |
| *Professeurs honoraires :* | M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI |
| *Chef des Services Administratifs :* | Mme Florence GAUREL |
| *Chef de Cabinet :* | Mme Aurélie BELENGUER |
| *Responsable de la Scolarité :* | Mme Nathalie BESNARD |

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**
Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

| | |
|---|---|
| BIOPHYSIQUE | M. Vincent PEYROT<br>M. Hervé KOVACIC |
| GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE | M. Christophe DUBOIS |
| PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE | M. Philippe PICCERELLE |

## MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|---|---|
| BIOPHYSIQUE | M. Robert GILLI<br>Mme Odile RIMET-GASPARINI<br>Mme Pascale BARBIER<br>M. François DEVRED<br>Mme Manon CARRE<br>M. Gilles BREUZARD<br>Mme Alessandra PAGANO |
| GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE | M. Eric SEREE-PACHA<br>Mme Véronique REY-BOURGAREL |
| PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE | M. Pascal PRINDERRE<br>M. Emmanuel CAUTURE<br>Mme Véronique ANDRIEU<br>Mme Marie-Pierre SAVELLI |
| NUTRITION ET DIETETIQUE | M. Léopold TCHIAKPE |

## A.H.U.

| | |
|---|---|
| THERAPIE CELLULAIRE | M. Jérémy MAGALON |

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

| | |
|---|---|
| ANGLAIS | Mme Angélique GOODWIN |

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

## PROFESSEURS

| | |
|---|---|
| BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE | M. Philippe CHARPIOT |
| BIOLOGIE CELLULAIRE | M. Jean-Paul BORG |
| HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE | Mme Françoise DIGNAT-GEORGE<br>Mme Laurence CAMOIN-JAU<br>Mme Florence SABATIER-MALATERRE<br>Mme Nathalie BARDIN |
| MICROBIOLOGIE | M. Jean-Marc ROLAIN<br>M. Philippe COLSON |
| PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE | Mme Nadine AZAS-KREDER |

## MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|---|---|
| BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE | Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI<br>M. Thierry AUGIER<br>M. Edouard LAMY<br>Mme Alexandrine BERTAUD<br>Mme Claire CERINI<br>Mme Edwige TELLIER<br>M. Stéphane POITEVIN |
| HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE | Mme Aurélie LEROYER<br>M. Romaric LACROIX<br>Mme Sylvie COINTE |
| MICROBIOLOGIE | Mme Michèle LAGET<br>M. Michel DE MEO<br>Mme Anne DAVIN-REGLI<br>Mme Véronique ROUX<br>M. Fadi BITTAR<br>Mme Isabelle PAGNIER<br>Mme Sophie EDOUARD<br>M. Seydina Mouhamadou DIENE |
| PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE | Mme Carole DI GIORGIO<br>M. Aurélien DUMETRE<br>Mme Magali CASANOVA<br>Mme Anita COHEN |
| BIOLOGIE CELLULAIRE | Mme Anne-Catherine LOUHMEAU |

## A.H.U.

| | |
|---|---|
| HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE | M. Maxime LOYENS |

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

| | |
|---|---|
| CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION | Mme Catherine BADENS |
| CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES | M. Philippe GALLICE |
| CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE<br>– CHIMIE THERAPEUTIQUE | M. Pascal RATHELOT<br>M. Maxime CROZET |
| CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE | M. Patrice VANELLE<br>M. Thierry TERME |
| PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE | Mme Evelyne OLLIVIER |

## MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|---|---|
| BOTANIQUE ET CRYPTOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE | Mme Anne FAVEL<br>Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT |
| CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION | Mme Catherine DEFOORT<br>M. Alain NICOLAY<br>Mme Estelle WOLFF<br>Mme Elise LOMBARD<br>Mme Camille DESGROUAS |
| CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES | M. David BERGE-LEFRANC<br>M. Pierre REBOUILLON |
| CHIMIE THERAPEUTIQUE | Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT<br>Mme Caroline DUCROS<br>M. Marc MONTANA<br>Mme Manon ROCHE |
| CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE | M. Armand GELLIS<br>M. Christophe CURTI<br>Mme Julie BROGGI<br>M. Nicolas PRIMAS<br>M. Cédric SPITZ<br>M. Sébastien REDON |
| PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE | M. Riad ELIAS<br>Mme Valérie MAHIOU-LEDDET<br>Mme SokSiya BUN<br>Mme Béatrice BAGHDIKIAN |

## MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

| | |
|---|---|
| CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION | Mme Anne-Marie PENET-LOREC |
| CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES | M. Cyril PUJOL |
| DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE | M. Marc LAMBERT |
| GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC | Mme Félicia FERRERA |

## A.H.U.

| | |
|---|---|
| CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION | M. Mathieu CERINO |

## ATER

| | |
|---|---|
| CHIMIE ANALYTIQUE | M. Charles DESMARCHELIER |
| CHIMIE THERAPEUTIQUE | Mme Fanny MATHIAS |

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**
Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

| **PROFESSEURS** | |
|---|---|
| PHARMACIE CLINIQUE | Mme Diane BRAGUER<br>M. Stéphane HONORÉ |
| PHARMACODYNAMIE | M. Benjamin GUILLET |
| TOXICOLOGIE GENERALE | M. Bruno LACARELLE |
| TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT | Mme Frédérique GRIMALDI |

| **MAITRES DE CONFERENCES** | |
|---|---|
| PHARMACODYNAMIE | M. Guillaume HACHE<br>Mme Ahlem BOUHLEL<br>M. Philippe GARRIGUE |
| PHYSIOLOGIE | Mme Sylviane LORTET<br>Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL |
| TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE | M. Joseph CICCOLINI<br>Mme Raphaëlle FANCIULLINO<br>Mme Florence GATTACECCA |
| TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE | M. Pierre-Henri VILLARD<br>Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU<br>Mme Marie-Anne ESTEVE |

| **A.H.U.** | |
|---|---|
| PHARMACIE CLINIQUE | M. Florian CORREARD |
| PHARMACOCINETIQUE | Mme Nadège NEANT |

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Jean-Marc ROLAIN**

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

**A Monsieur le Professeur Philippe COLSON**

Qui a accepté d'encadrer ce projet et a bien voulu examiner mon travail.

**A Madame le Docteur Delphine DESJARDINS**

Pour le plaisir que j'ai eu à travailler durant ces 6 mois de stage,

Pour m'avoir guidée dans la réalisation de cette thèse et pour son aide précieuse dans l'écriture de ce document.

**A mes parents, ma sœur et mon frère**

Merci pour votre soutien à chaque instant dans tout ce que j'entreprends. Puisse ce travail être une petite source de fierté pour vous.

**A mes amies les plus chères depuis toujours, Lisa, Clarisse et Marion**

Je vous remercie d'être présentes au quotidien depuis toutes ces années. Que ces belles amitiés durent toujours.

**A Fanny et Alexia**

Pour tous les bons moments passés et à venir. Merci pour votre soutien.

**A mes nouvelles rencontres, Margaux et mon Roméo**

Merci d'être la au quotidien dans ma vie parisienne.

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

# PREAMBULE

Le travail sur l'étude de la dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans des cohortes précliniques a été effectué lors de mon stage au sein de l'infrastructure nationale pour la biologie et la santé, *Infectious Diseases Models for Innovative Therapies* (IDMIT) au sein du Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) de Fontenay aux Roses, réalisé dans le cadre du Master 2 professionnel Management et Innovation en Biotechnologie. Ce master est enseigné à l'UFR Sciences, Vie, Terre et Environnement à Dijon.

Ce manuscrit présentera en première partie le contexte de l'infection par le VIH. La seconde partie s'intéressera aux cas de contrôle virologique, et enfin la troisième partie détaillera l'inflammation chronique au cours de l'infection par le VIH et notamment l'étude de la dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans des cohortes pré-cliniques.

# Table des matières

ABBREVIATIONS ..... 14

TABLE DES ILLUSTRATIONS ..... 16

A. INTRODUCTION ..... 17

I. CONTEXTE DE L'INFECTION PAR LE VIH ..... 17

1) Infection par le VIH ..... 17

a. Histoire et découverte du virus ..... 17

b. Epidémiologie ..... 17

c. Caractères virologiques : ..... 19

1. Classification et sous types ..... 19

2. Structure ..... 21

3. Tropisme ..... 22

d. Physiopathologie et clinique ..... 23

e. Traitements ..... 24

2) Réservoirs viraux ..... 26

a. Réservoir cellulaire ..... 26

b. Principaux réservoirs anatomiques ..... 28

c. Quantification du réservoir ..... 31

3) Choix du moment optimal pour initier le traitement antirétroviral ..... 31

II. CAS DE CONTROLE VIROLOGIQUE, VERS UNE REMISSION ? ..... 37

1) Progresseurs lents ou asymptomatiques à long terme ..... 37

2) VIH contrôleurs ..... 37

3) Contrôleurs post traitement (PTC) ..... 39

4) Patient de Berlin ..... 40

5) Bébé du Mississippi ..... 40

6) Enfants non progresseurs séropositifs pour le VIH ..... 40

7) Autre cas ..... 41

III. CONTEXTE INFLAMMATOIRE AU COURS DE L'INFECTION VIH ..... 41
1) Inflammation au cours de l'infection par le VIH : causes et conséquences ..... 41
2) Altération des réponses immunes anti-VIH ..... 43
a. Polynucléaires neutrophiles ..... 43
b. Cellules dendritiques ..... 44
c. Monocytes/macrophages ..... 45
d. Cellules « Natural Killer » (NK) ..... 45
e. Lymphocytes T CD8+ ..... 45
3) Approches thérapeutiques visant à réduire l'inflammation et l'activation immunitaire ..... 46
4) Cellules myéloïdes suppressives ..... 47
a. Découverte ..... 48
b. Phénotype ..... 48
c. Activité immunorégulatrice ..... 49
d. MDSC et VIH ..... 51
e. MDSC et SIV ..... 52
B. ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE DES CELLULES MYÉLOIDES SUPPRESSIVES DANS DES COHORTES PRÉ-CLINIQUES ..... 52
I. PRESENTATION DU PROJET pVISCONTI ..... 52
II. OBJECTIF DE L'ETUDE ..... 53
III. MATERIEL ..... 54
1) Modèle expérimental d'infection par le virus SIVmac251 et prélèvements ..... 54
2) Anticorps utilisés pour la cytométrie en flux ..... 56
IV. METHODES ..... 56
1) Isolement des PBMC et des BMMC ..... 56
2) Protocole de marquage et cytométrie en flux ..... 57
a. Principe de la cytométrie en flux ..... 57
b. Marquage extracellulaire et de viabilité ..... 58

c. Analyse FACS ..... 58
V. RESULTATS ..... 58
1) Caractérisation des MDSC chez le macaque ..... 58
2) Etude de la dynamique des MDSC au cours de la primo-infection, en phase chronique et sous traitement antirétroviral ..... 60
a. Caractérisation des MDSC avant l'infection ..... 60
b. Caractérisation des MDSC en primo-infection ..... 61
c. Caractérisation des MDSC en phase chronique ..... 63
d. Impact du traitement sur les MDSC ..... 64
C. DISCUSSION ET PERSPECTIVES ..... 64
I. Dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans le modèle d'infection de primate non humain par le virus SIVmac251 ..... 64
II. Stratégies en développement pour l'éradication du VIH ..... 66
III. Conclusion ..... 73
D. BIBLIOGRAPHIE ..... 74

## ABBREVIATIONS

ALT : asymptomatiques à long terme

ANRS : Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les Hépatites Virales

ARV : antirétroviraux

ART : thérapie antirétrovirale

BMMC : Bone Marrow Mononuclear Cells

bNAbs : *broadly neutralizing antibodies*

CD : Cluster of differenciation ou groupe de différenciation

CyM : Macaques cynomolgus

GMMC : gastrointestinal mucosa mononuclear cells

IL : Interleukine

LDN : Low Density Neutrophils

LNMC : lymph-node mononuclear cells

LPS : lipopolysaccharide

LT CD4+: lymphocytes T CD4+

LTh17 : lymphocytes Th17

MAI : Maladies Auto-Immunes

MNP : Mémoire immunitaire Normale et Pathologique

MDSC : Myeloid-Derived Suppressor Cells

MST : Maladies Sexuellement Transmissibles

PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cells

PNH : Primates Non Humains

pVISCONTI : p(rimate)-Viro-Immunological Sustained CONtrol after Treatment Interruption

ROS : Reactive Oxygen Species

RHIVIERA: Remission of HIV Infection ERA

SIV: Simian Immunodeficiency Virus

SIVmac251: Simian Immunodeficiency Virus macaque souche 251

TAM : Tumor-associated macrophage

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Arbre phylogénétique des lentivirus SIV et VIH-2 ..... 19
Figure 2 : Arbre phylogénétique des lentivirus SIV et VIH-1 ..... 20
Figure 3 : Schéma structural du VIH ..... 22
Figure 4 : Evolution des marqueurs virologique au cours de l'infection par le VIH ..... 24
Figure 5 : Cycle de réplication du VIH avec sites d'action des différents antirétroviraux ..... 25
Figure 6 : Capacité prolifération et durée de vie des différentes populations de lymphocytes CD4+ ..... 27
Figure 7 : Résultats d'un PET scan d'un macaque infecté par le SIV ..... 30
Figure 8 : Représentation du cycle viral dans les cellules infectées latentes (droite) et dans les cellules productives (gauche) ainsi que les tests de quantification ..... 31
Figure 9 : Cinétique de la décroissance virale après traitement antirétroviral ..... 33
Figure 10 : ADN proviral durant le traitement antirétroviral ..... 34
Figure 11 : Cinétique virale après arrêt du traitement antirétroviral ..... 35
Figure 12 : Réponses immunes spécifiques anti SIV (A : cellulaire et B : humorale) ..... 36
Figure 13 :Modèle de pathogénèse du VIH ..... 42
Figure 14 : Modèle de différenciation et d'accumulation des MDSC ..... 49
Figure 15 : Mécanismes d'immunosuppression de la réponse immunitaire des MDSC ..... 51
Figure 16 : Description expérimentale du projet pVISCONTI ..... 53
Figure 17 : Calendrier des analyses ..... 55
Figure 18 : Schéma du principe de la séparation sur Ficoll ..... 56
Figure 19 : Stratégie d'analyse des MDSC dans le sang (A) et dans la moelle osseuse (B) ..... 60
Figure 20 : Cellules granuleuses observées dans la moelle osseuse ..... 61
Figure 21 : Fréquence des PMN-MDSC et des M-MDSC observés dans le sang (A) et la moelle osseuse (B) avant l'infection et au cours des 4 semaines suivant l'infection ..... 62
Figure 22 : Fréquence des PMN-MDSC et des M-MDSC observés dans le sang (A) et la moelle osseuse (B) en phase chronique ..... 63
Figure 23 : Impact du traitement sur les PMN MDSC dans la moelle osseuse ..... 64

# A. INTRODUCTION

## I. CONTEXTE DE L'INFECTION PAR LE VIH

### 1) Infection par le VIH

#### *a. Histoire et découverte du virus*

En juin 1981, le *Center for Disease Control* (CDC) à Atlanta (USA) est informé de l'utilisation anormale de pentamidine pour le traitement de cinq jeunes homosexuels atteints d'une pneumonie grave à *Pneumocystis carinii*, associée à une immunodépression sévère [1].

Quelques semaines plus tard, un nouvel article décrit la recrudescence, toujours chez de jeunes homosexuels, de sarcomes de Kaposi. Ce syndrome sera tout d'abord appelé « gay syndrome » ou « gay cancer ». Mais des observations montrent néanmoins que ce syndrome ne touche pas exclusivement les homosexuels. Il se manifeste également chez les hémophiles, les hétérosexuels, les usagers de drogues par injection intraveineuse. La transmission de ce que l'on nommera dorénavant syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) se fait donc par voie sexuelle, sanguine et materno-fœtale. Au vu de ces modes de contamination, l'hypothèse d'une origine virale est privilégiée [2]. A l'initiative de Willy Rozenbaum, infectiologue français, se constitue, fin 1982 à l'Institut Pasteur, un groupe de travail composé, entre autres, de Françoise Barré Sinoussi, Jean Claude Chermann et Luc Montagnier, dont les recherches au sein de l'unité d'oncologie virale concernent les rétrovirus connus pour provoquer des immunodéficiences. A partir d'une biopsie ganglionnaire de patient atteint d'une lymphoadénopathie généralisée, les chercheurs mettent en évidence une activité transcriptase inverse, caractéristique des rétrovirus dans des cultures de cellules ganglionnaires dont des lymphocytes T CD4+, cibles apparentes du virus [2]. Ils observent également l'effet cytopathique du virus sur les lymphocytes T CD4+. Le virus est ensuite observé pour la première fois au microscope électronique. L'équipe de l'Institut Pasteur, appela ce nouveau virus « Lymphadenopathy Associated Virus », soit LAV puis il fut désigné en 1986 par le comité international de taxonomie des virus : « Virus de l'Immunodéficience Humaine 1» (VIH-1).

#### *b. Epidémiologie*

En 2017, on comptait dans le monde 36,9 millions de personnes vivant avec le VIH et 21,7 millions de personnes avaient accès à la thérapie antirétrovirale. De plus, 1,8 millions de

personnes sont devenues nouvellement infectées par le VIH et 940 000 personnes sont décédées de maladies liées au SIDA.

L'Afrique subsaharienne est la région la plus touchée avec 25,7 millions de personnes vivant avec le VIH en 2017 et près de 60% d'entre elles sont des femmes. Il compte également plus de deux tiers des nouvelles infections par ce virus dans le monde.

En France, 6 000 personnes ont découvert leur séroposivité VIH en 2016.

Depuis la découverte du virus, le VIH a fait plus de 36 millions de morts dans le monde. Le SIDA reste un problème majeur de santé publique particulièrement dans les pays en voie de développement malgré des traitements antirétroviraux qui améliorent la qualité de vie des patients et la mise en place de moyens de prévention.

En effet l'accessibilité au traitement antirétroviral dans les pays en voie de développement et particulièrement en Afrique subsaharienne reste encore difficile, les moyens de prévention tels que le préservatif qui protège de l'infection ne sont pas forcément acceptés d'un point de vue culturel par les hommes. Les jeunes femmes d'Afrique subsaharienne sont particulièrement exposées au VIH du fait d'un manque d'accès à l'éducation et de la difficulté à imposer à leur partenaire un moyen de protection. C'est dans ce contexte que l'organisation *International Partnership for Microbicides* (IPM) a développé un moyen de prévention qui permet aux femmes de se protéger : un anneau vaginal microbicide à base de dapivirine, inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse. Cet anneau offre une protection significative. En effet deux essais cliniques, Aspire [3] et Ring Study [4] ont conclu que cet anneau entraine, une réduction du taux d'infection de 27 % et 31 %.Une diminution encore plus importante a été observée dans deux autres études, Hope et Dream, avec respectivement une diminution du risque de 53,6% et 53,6%.

Un autre moyen de prévention qui montre une efficacité de 86% en prévention est la prophylaxie pré exposition (PrEP) [5]. La PrEP est une stratégie qui permet à une personne séronégative exposée au VIH d'éliminer le risque d'infection, en prenant, de manière continue ou «à la demande», un traitement anti-rétroviral à base de Truvada®.

La conception d'un vaccin prophylactique est une priorité de la recherche sur le VIH. En effet il n'y a à ce jour pas de vaccin prophylactique. Ceci est dû à une grande diversité du virus qui compte de nombreux sous types circulants dans le monde mais également des variants viraux, « quasi espèce » au sein d'un même individu.

### c. *Caractères virologiques :*

#### 1. Classification et sous types

Le 18 juillet 1986, un nouveau virus fut identifié chez des patients venant d'Afrique de l'ouest et nommé virus de l'immunodéficience humaine 2 (VIH-2) [6]. Ce virus est morphologiquement proche du VIH-1 mais génétiquement différent. Le VIH-2 se rencontre essentiellement en Afrique subsaharienne occidentale (Figure 1). Il est moins pathogène que le VIH-1 avec une progression plus lente vers le stade SIDA et une plus faible transmissibilité.

Les VIH-1 et VIH-2 sont proches des virus simiens SIV (simian immunodeficiency virus) retrouvés chez les primates non humains [7][8].

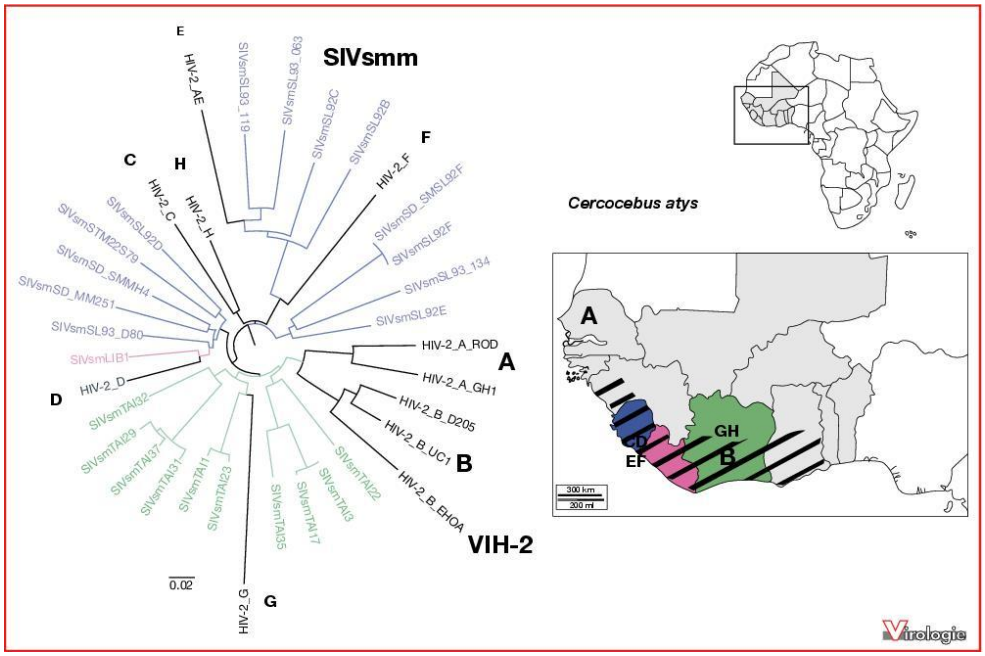



**Figure 1 : Arbre phylogénétique des lentivirus SIV et VIH-2**

L'arbre phylogénétique représente les relations d'évolution entre les différentes lignées. Il a été construit avec la méthode du maximum de vraisemblance à partir d'un alignement protéique de séquences SIV/VIH dans Env. L'échelle représente 0,02 substitution par site. Les SIV des mangabeys enfumés d'Afrique de l'Ouest sont à l'origine du VIH-2. *D'après « Origine du VIH, une réussite émergentielle » L. Etienne, M. Peeters, 2010.*

Il a été mis en évidence que le virus de l'immunodéficience humaine présente une grande diversité génétique. Notamment pour le VIH-1, le plus présent dans le monde, 4 sous-groupes ont été identifiés: groupe M (Major), O (Outlier), N (non M non O) et P, dernier identifié en 2009 [9].Ces différents groupes proviennent de passages inter-espèces distincts. La transmission à l'homme serait liée à des morsures de singes infectés, notamment lors de la chasse, ou par la consommation de viande. Les groupes M et N sont liés aux SIV de chimpanzés alors que les groupes O et P sont liés à un virus de gorille (Figure 2).

Les VIH-1 du groupe M sont responsables de la pandémie et comprennent 9 sous types ou clades (A, B, C, D, F, G, H, J, K). De plus, de nombreuses formes recombinantes entre ces sous types (circulating recombinant forms, CRF) ou entre formes recombinantes sont apparues du fait de la co-infection de patients par des VIH-1 de sous types distincts. Le sous type B est responsable de l'épidémie dans les pays industrialisés et il prédomine dans le monde et cause plus de 50% des cas d'infections.

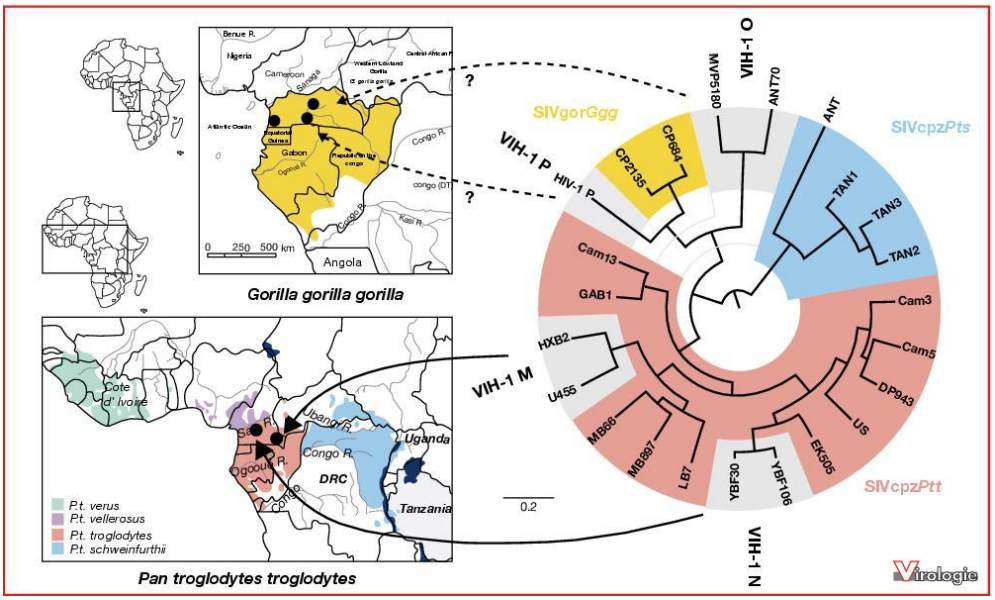



**Figure 2 : Arbre phylogénétique des lentivirus SIV et VIH-1**

L'échelle représente 0,2 substitution par site. Les cartes représentent les répartitions géographiques des espèces concernées : les G. g. gorilla (en haut) et les quatre sous-espèces de chimpanzés (en bas). Les flèches reliant l'arbre phylogénétique aux cartes indiquent les réservoirs des ancêtres des différents groupes du VIH-1. Les SIV des chimpanzés et des gorilles dans l'ouest de l'Afrique centrale sont à l'origine du VIH-1. *D'après « Origine du VIH, une réussite émergentielle » L. Etienne, M. Peeters, 2010.*

## 2. Structure

Le VIH est un rétrovirus du genre Lentivirus appartenant à la famille Retroviridae générant des maladies à évolution lente.

Le VIH comprend 3 parties :

- Le génome : ARN simple brin, linéaire, diploïde (deux molécules identiques d'ARN monocaténaire) et de polarité + (capable de servir d'ARN messager directement). Il contient 3 gènes de structure :
- gag codant pour les protéines de structure
- pol codant pour les enzymes (transcriptase inverse, intégrase, protéase)
- env codant pour les protéines de l'enveloppe

Le génome des VIH comprend six gènes de régulation (tat, rev, nef, vif, vpr ainsi que vpu pour le VIH-1 ou vpx pour le VIH-2) de l'expression des protéines virales. Il est associé à deux molécules de transcriptase inverse (p64), à une molécule d'intégrase (p32) et à une molécule de protéase (p10), toutes codées par le gène pol. Le VIH réussit à contrecarrer les mécanismes de défense immunitaire de l'hôte en échappant aux facteurs de restriction grâce à ses protéines auxiliaires. Les facteurs de restriction sont des facteurs cellulaires qui bloquent certaines étapes du cycle réplicatif ou de propagation virale au sein de la cellule infectée. Trois facteurs de restriction ont été identifiés dans l'infection par le VIH-1. Les cytidine désaminase enzymes éditrices d'ARN, comme l'APOBEC3G (Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like) 3G, convertissent les cytidines en uraciles sur le brin négatif de l'ADNc générant lors de la rétrotranscription une mutation de la guanine en adénosine sur l'ADN proviral. Ces mutations, appelées hypermutations, peuvent inactiver les gènes viraux en générant des codons stops. La protéine vif exprimée par le VIH permet au virus d'échapper à ce facteur de restriction en entrainant sa dégradation par le protéasome [10]. Le facteur de restriction TRIM5 empêche la décapsidation du core viral dans le cytoplasme [11]. SAMHD1 inhibe la réplication virale dans certains types cellulaires sans cibler directement le virus [12]. La protéine lentivirale Vpx du VIH-2 inhibe SAMHD1. La tétherin agit à un stade plus tardif du cycle viral en retenant les virions à la membrane. Le VIH-1 et le VIH-2 utilisent respectivement Vpu et Env pour séquestrer le facteur de transcription hors de la membrane plasmique [13]. Les SIV quant à eux utilisent la protéine nef.

- La nucléocapside, avec une couche externe (p17) et interne (p24). Ses protéines sont codées par le gène gag.
- L'enveloppe virale, constituée d'une bicouche lipidique et de deux glycoprotéines d'origine virale, gp120 et gp41, codées par le gène env. La gp120 se lie avec le récepteur CD4 et le corécepteur CXCR4 ou CCR5 des cellules cibles. La gp41, transmembranaire permet la fusion de la membrane cellulaire à l'enveloppe après attachement de la gp120. Elle comprend également des protéines membranaires de la cellule hôte comme les molécules du CMH.

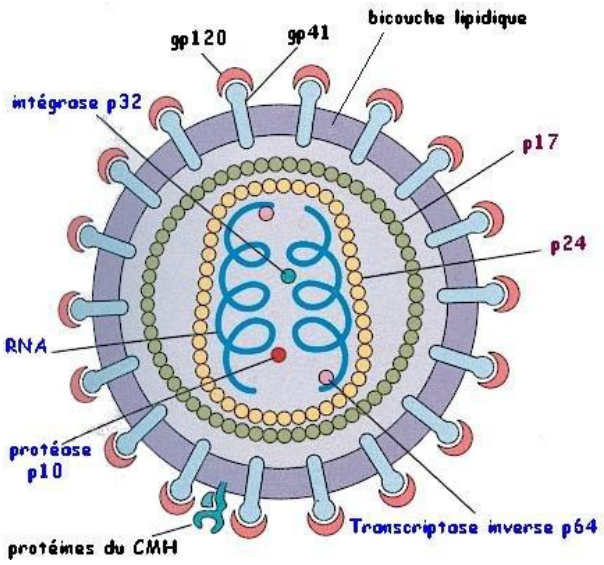



**Figure 3 : Schéma structural du VIH**

Schéma organisationnel montrant les différents composants protéiques et génomiques constituant le VIH, *d'après « Immunologie 7ème Ed » Kuby, Owen, Punt, Stanford. Edition DUNOD.*

### 3. Tropisme

Le VIH infecte les cellules ayant le récepteur CD4 à leur surface : les lymphocytes T auxiliaires ou helper (lymphocytes CD4+), les monocytes, les macrophages, les cellules microgliales, les cellules dendritiques dont les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques folliculaires. De fait, il existe plusieurs souches virales classées selon leur tropisme : celles qui infectent les CPA (virus à tropisme macrophagique) et qui utilisent le corécepteur CCR5, dénommées R5, sont des virus peu réplicatifs, peu cytopathogènes et préférentiellement retrouvés au cours de la primo-infection et celles qui infectent les lymphocytes T (virus à tropisme lymphocytaire) utilisant le corécepteur CXCR4, dénommées

alors X4, se répliquent de façon intense dans les lymphocytes T CD4+ activés entrainant un effet cytopathogène.

### *d. Physiopathologie et clinique*

Le principal mode de transmission, représentant 90% des cas de l'infection dans le monde est sexuel via les voies génitales ou la muqueuse orale ou rectale, même si la voie parentérale comprenant la transfusion de sang ou de produits dérivés du sang et la toxicomanie intraveineuse par l'usage et les échanges de seringues non stérilisées ont un rôle important dans la transmission.

L'infection par le VIH se déroule en 3 phases en l'absence de traitement :

- La phase aiguë ou primo-infection : Elle dure entre 6 et 12 semaines et correspond à la phase de réplication virale intense avec un pic de réplication 2 à 4 semaines après la transmission du virus. Le virus diffuse dans l'organisme notamment dans tous les organes lymphatiques en établissant des réservoirs viraux (ganglions, tissu lymphoïde du tube digestif, système nerveux central) avec une intégration du génome du VIH dans les cellules hôtes. Cette phase de dissémination dure 7 à 21 jours et correspond à la phase d'éclipse (Figure 4), le virus n'est pas détectable. Tout d'abord les lymphocytes T CD4 circulants vont diminuer de façon transitoire du fait de la cytotoxicité directe du virus puis après quelques semaines, le taux de lymphocytes T CD4 circulants va remonter et la charge virale va diminuer pour atteindre un plateau. Cette phase est symptomatique dans 50 à 70% des cas et se traduit par un syndrome mononucléosique non spécifique.
- Le stade de latence asymptomatique ou peu symptomatique : il est dû à la mise en place, de la réponse immunitaire vis-à-vis du VIH. Il y a un équilibre entre la destruction du VIH par le système immunitaire (SI) et la réplication (il y a alors production de nouveaux VIH). Il peut durer plusieurs années.
- Le stade symptomatique, SIDA : Le SI devient trop déficient. La production de virus de VIH augmente de nouveau. Ce stade est défini par des pathologies opportunistes majeures et des complications tumorales. Enfin, le stade SIDA, se définit par la survenue de maladies opportunistes ou de tumeurs malignes associé à un état d'immunodépression cellulaire sévère (en général lorsque le taux de lymphocytes T CD4+ est inférieur à 200/mm3). Le stade SIDA apparait généralement au bout de 10 ans mais il existe une grande variabilité interindividuelle.

L'infection au VIH présente une dynamique très rapide, en effet environ 10 milliards de virions sont produits chaque jour chez une personne infectée non traitée.

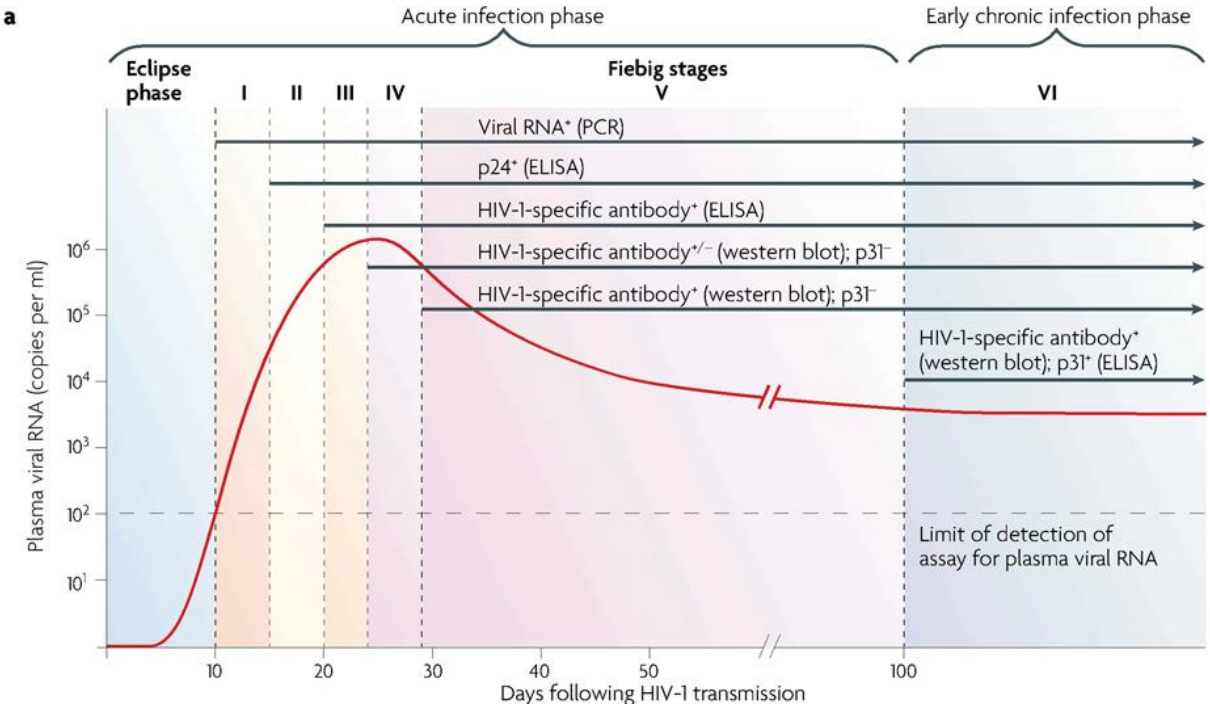



**Figure 4 : Evolution des marqueurs virologique au cours de l'infection par le VIH**

Cinétique d'apparition des marqueurs virologiques et stades de l'infection à VIH-1 définis par une série de tests de laboratoire qui mesurent l'apparition des anticorps spécifiques du VIH-1, l'ARN viral et les antigènes viraux. Figure de *Fiebig et al, AIDS, 2003.*

### *e. Traitements*

L'azidothymidine (AZT), développé dans les années 1960 en tant qu'agent anticancéreux, fut le premier traitement antirétroviral utilisé. En effet, suite à la découverte de son activité inhibitrice de la transcriptase inverse du VIH *in vitro* [14], un essai randomisé avec placebo fut conduit et démontra que l'AZT pouvait prolonger l'espérance de vie des patients [15]. Elle fut alors approuvée en 1987 par la FDA pour être utilisée contre le VIH. Grâce à la connaissance de l'histoire naturelle du virus, d'autres molécules ont été développées qui agissent à différente étape du cycle viral. L'inhibiteur du récepteur CCR5, antagoniste sélectif du récepteur CCR5, agit en amont de l'étape de fusion du virus avec la cellule hôte en bloquant la liaison de la gp120 avec le CCR5. L'inhibiteur de fusion se fixe à la gp41 empêchant ainsi l'entrée du virus dans la cellule. Les inhibiteurs de la transcriptase inverse, qu'ils soient nucléosidiques ou non, bloquent la rétrotranscription de l'ARN en ADNc double

brin. Les inhibiteurs de l'intégrase agissent sur l'intégrase, qui est une enzyme responsable de l'intégration du génome du VIH dans le génome de la cellule hôte. Enfin, la dernière classe de médicaments antirétroviraux est celle des inhibiteurs de protéase qui agissent en phase tardive et permet la libération de particules virales immatures et non infectieuses.

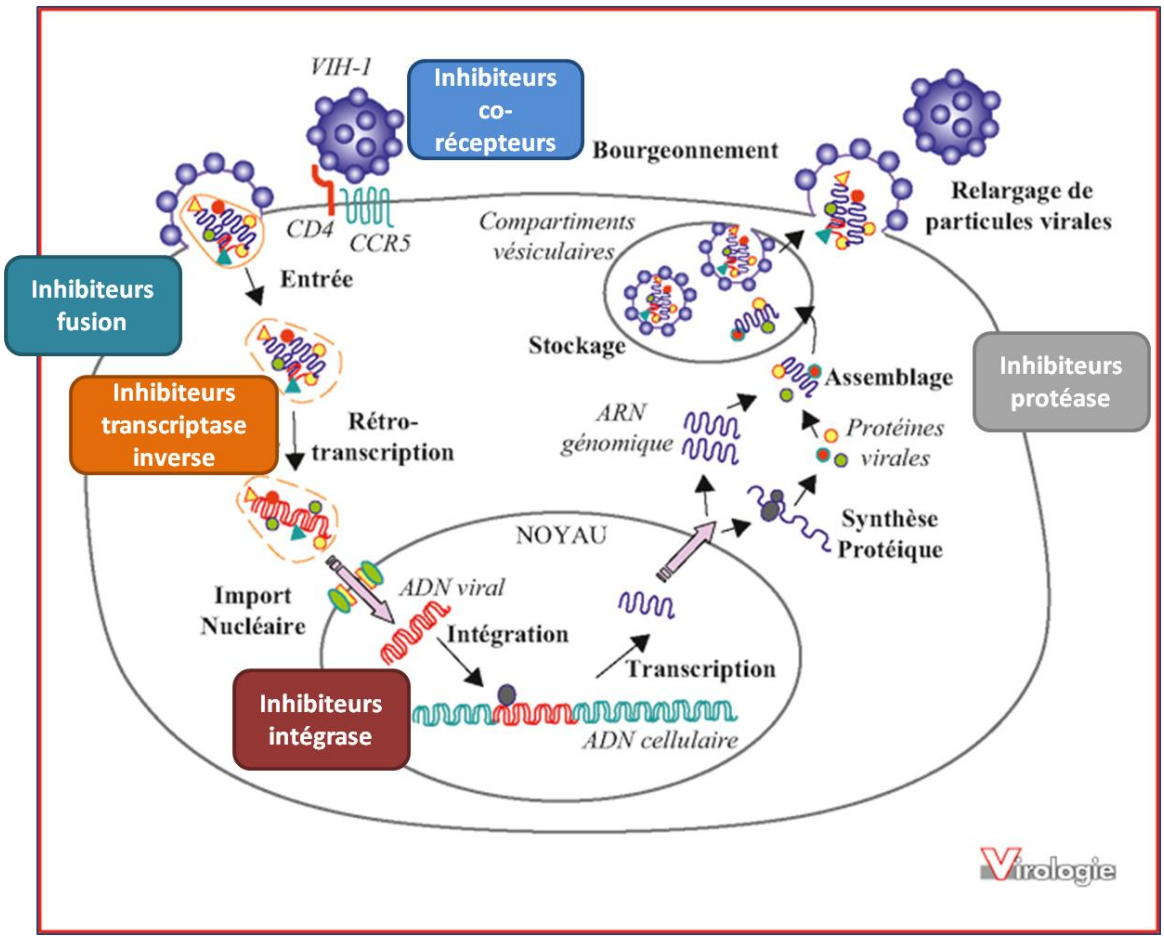



**Figure 5 : Cycle de réplication du VIH avec sites d'action des différents antirétroviraux**

Illustration adaptée de « les interactions complexes entre le virus de l'immunodéficience humaine et les macrophages » (A. Bergamaschi, A. David, G. Pancino. Virologie, volume 15, issue 2. 2011).

Depuis 1996, le traitement du VIH s'est orienté vers la trithérapie, combinaison de plusieurs molécules antirétrovirales. Les trithérapies recommandées associent deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse et une autre molécule : un inhibiteur de protéase, un inhibiteur de l'intégrase ou un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse. Les associations à utiliser préférentiellement en première trithérapie sont ténofovir

disoproxil(TDF)-emtricitabine, ténofovir alafénamide (TAF)-emtricitabine, et abacavir-lamivudine. Cette association permet de rendre indétectable le virus et d'augmenter le taux de lymphocytes T CD4+. Les inhibiteurs de l'intégrase sont devenus une classe incontournable dans l'arsenal thérapeutique du fait de leur mécanisme d'action unique et de leur action virologique rapide. En effet la charge virale plasmatique est indétectable après 6 à 10 semaines de traitement. De plus, ils ont une excellente tolérance clinique et biologique. En particulier, le Dolutégravir permet une administration en une prise par jour sans contraintes alimentaires et une meilleure génétique contre la résistance du VIH.

Le traitement antirétroviral (ARV) diminue le risque de morbidité sévère et réduit également le risque de transmission à un tiers. En France, depuis 2013, il est recommandé d'instaurer le traitement antirétroviral quel que soit le stade de l'infection au moment du diagnostic.

### 2) Réservoirs viraux

Malgré les avancées très importantes au cours des vingt dernières années, les traitements antirétroviraux ne permettent pas d'éradiquer le VIH de l'organisme bien qu'ils réduisent la mortalité et les morbidités associées au VIH. Ces traitements permettent d'interrompre le cycle viral en empêchant l'infection de nouvelles cellules. Cependant, l'infection reste toujours présente dans l'organisme du fait que les antirétroviraux n'atteignent pas les cellules infectées latentes au repos, qui constituent les réservoirs VIH. En effet, le VIH établit des réservoirs de cellules infectées dès les premiers temps de la primo-infection, qui persistent dans le temps malgré la suppression efficace de la réplication virale par la trithérapie.

En conséquence, la réplication virale reprend rapidement après une interruption du traitement chez la plupart des patients séropositifs, leur imposant une prise en charge à vie avec des médicaments.

#### *a. Réservoir cellulaire*

L'infection virale latente s'établit principalement dans les cellules T CD4+ quiescentes (à un moindre degré dans les monocytes/macrophages) et ce avec une distribution hiérarchique du virus dans les différentes populations lymphocytaires CD4+. En effet, les lymphocytes T CD4 centrales mémoires (TCM), particulièrement abondantes dans les ganglions, les tissus lymphoïdes et digestifs (iléum, duodénum, caecum, rectum) sont les plus infectées en phase chronique de l'infection, ensuite les transitionnelles mémoires (TTM) et les effectrices

mémoires (TEM) et enfin les cellules CD4 naïves [16].Les TTM et les TEM contribuent le plus au réservoir en primo infection [17].

Les cellules CD4 naïves, d'une demi-vie de plusieurs années et dont les capacités de prolifération sont les plus fortes peuvent aussi être infectées.

La quasi-espèce virale à l'origine de l'infection durant la phase précoce utilise le récepteur de chimiokines CCR5 (virus de tropisme R5) en plus de CD4 pour pénétrer dans les cellules.

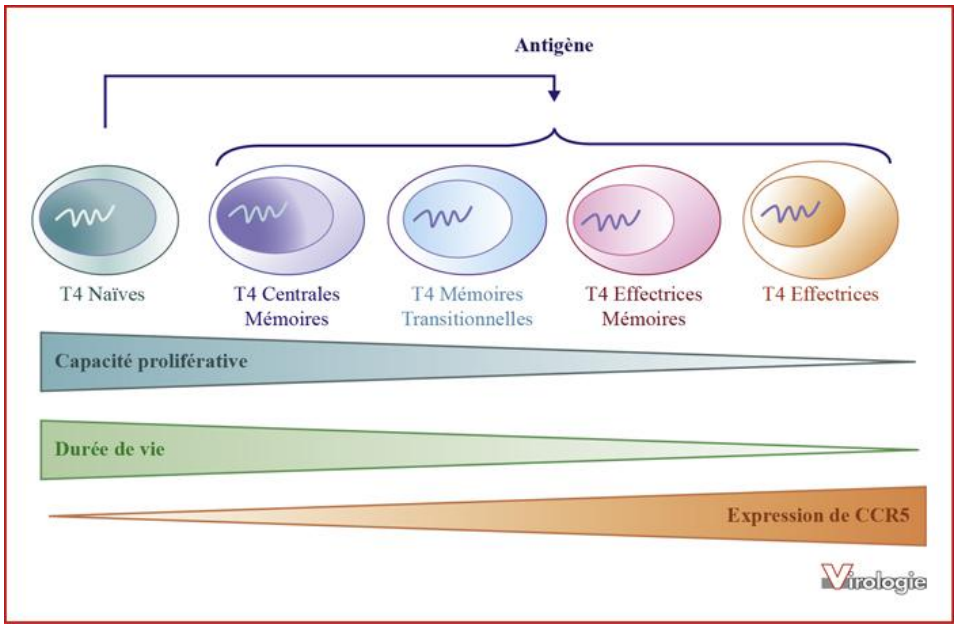



**Figure 6 : Capacité proliférative et durée de vie des différentes populations de lymphocytes CD4+**

Illustration tirée de « Réservoirs et réponses immunitaires au cours de l'histoire naturelle de l'infection à VIH-1Volume 17, numéro 3, Mai- Juin 2013.

La capacité proliférative de ces cellules et leur durée de vie jouent un rôle important dans la persistance virale. Les TCM permettent à la fois le maintien de la mémoire immunitaire au long cours mais aussi participent à la persistance virale. De plus, l'expression du CCR5 qui est plus importante sur les cellules effectrices explique leur niveau d'infection malgré leur courte durée de vie.

Il a récemment été constaté que les différences de susceptibilité au VIH-1 entre les sous-ensembles naïfs et les sous-ensembles plus différenciés étaient associées à l'activité métabolique des cellules. En effet, les cellules T CD4+ infectées sélectivement par le VIH-1

présentent une phosphorylation et une glycolyse oxydatives élevées, indépendamment de leur phénotype d'activation [18]. Le virus va détourner l'énergie et les produits fournis par la cellule pour se multiplier. Les cellules TEM étant les plus sensibles, suivies des cellules TTM et TCM, et les cellules naïves étant fortement résistantes à l'infection.

Le réservoir cellulaire du VIH est donc constitué de cellules hétérogènes ayant des propriétés immunitaires et des durées de vie différentes et qui rentrent en jeu à différents stades de l'infection par le VIH.

### *b. Principaux réservoirs anatomiques*

- Le tractus gastro-intestinal, réservoir anatomique majeur :

Quelque soit le mode d'acquisition, le tractus gastro-intestinal est le site majeur de l'infection [19]. La proportion des cellules lymphocytaires et des cellules infectées tout le long du tube digestif (duodénum, iléum, colon et rectum) y est la plus forte [20] (plus de 50% des cellules du tube digestif expriment le CCR5). La majorité des lymphocytes intestinaux sont de type effecteur ou effecteur mémoire activé et dans une moindre proportion cellules T CD4 naïves [21]. Les cellules infectées sont principalement des cellules mémoires. Comparé au sang, le niveau d'infection (proportion des cellules T CD4+ infectées) est beaucoup plus élevé dans le tube digestif (10 fois supérieure). En effet, les tissus lymphoïdes associés au tube digestif (GALT) représentent 80% du réservoir total [22]. Au cours de la primo infection, le virus détruit de manière importante la barrière de défense, le GALT, au sein duquel sont infectés préférentiellement les lymphocytes Th17 (LTh17) sécrétant de l'IL-17 et de l'IL-22. Les LTh17 sont des LT CD4 + et jouent un rôle important dans l'homéostasie intestinale et la défense contre les agents microbiens [23]. Les LTh17 font le pont entre l'immunité innée et l'immunité adaptative à la surface des muqueuses. Des études récentes sur les primates non humains soulèvent la possibilité qu'une réplication virale de faible niveau dans les GALT persiste malgré l'efficacité du traitement ART, qui entraîne la suppression de la virémie plasmatique, et peut contribuer à la persistance des réservoirs viraux [24]. Le traitement ART ne parvient pas à rétablir la fréquence et la fonctionnalité des LTh17 de la muqueuse ce qui fait des LTh17 un site majeur de réplication virale et de persistance du réservoir viral.

- Nœuds lymphatiques :

Les nœuds lymphatiques sont des organes lymphoïdes secondaires, lieu de prolifération et de maturation des cellules immunitaires. Les cellules dendritiques folliculaires (FDC), présentes

dans les follicules secondaires, capturent grâce à leur récepteur au complément, le CD21, les complexes immuns formés des antigènes viraux recouverts de molécule du complément (C3d) et les présentent aux lymphocytes B (LB). Ces derniers sont eux aussi capables de fixer les antigènes viraux grâce à leur CD21. Les lymphocytes T folliculaires *helper* (Tfh), sous population de LT CD4+, interagissent avec les LB dans les follicules des organes lymphoïdes secondaires et permettent la différenciation et la maturation des LB et la production d'Ac hautement neutralisants. Des contacts répétés entre le LB et le Tfh sont nécessaires pour permettre une maturation des Ac grâce à l'hypermutation somatique et la commutation de classe isotypique en association avec les FDC. Lors de l'infection par le VIH, les Tfh sont les cibles privilégiés de l'infection dans les ganglions et constituent un compartiment majeur pour la réplication et la production de particules virales [25]. Ils représentent également un réservoir cellulaire latent. En effet, ces cellules expriment un facteur de transcription, BCL6, qui se fixe sur les LTR et réprime la transcription virale [26]. De plus, une fois les Tfh infectés, ils ne peuvent pas être éliminés par les LT CD8 cytotoxiques car ces derniers ne possèdent pas les récepteurs aux chimiokines nécessaires à leur migration dans la zone B. Bien qu'elles ne soient pas productrices de nouvelles particules virales, les FDC participent à la persistance des réservoirs viraux dans les ganglions en capturant les complexes immuns (Ag-complément) et en les gardant pendant plusieurs années. Enfin, le traitement ART ne permet pas de supprimer la réplication virale dans les ganglions, faisant des nœuds lymphatiques un véritable sanctuaire pharmacologique, comme l'a montré une étude chez le macaque cynomolgus infecté par le SIV et recevant un traitement ART [27].

- Le système nerveux central (SNC), difficile à atteindre par les ARV :

Au niveau du SNC, le virus est à tropisme macrophagique. Il infecte les cellules microgliales et les macrophages capables de produire des virus ayant une longue durée de vie. Une analyse phylogénétique a montré la compartimentalisation de l'infection avec dans les macrophages et les astrocytes du SNC des clones différents de ceux circulants [28]. De plus, le SNC est un véritable sanctuaire du fait de la barrière hémato-encéphalique qui empêche certaines molécules antirétrovirales d'accéder au SNC ce qui participe à la persistance virale. Les virus produits sont ainsi protégés de l'action des traitements antirétroviraux.

- Le compartiment génital, siège d'une réplication systématique :

La présence de cellules infectées productives participe au maintien d'une réplication virale constante, à l'origine de la transmission sexuelle de l'infection qui est la voie de contamination la plus fréquente.

Des études phylogénétiques montrent que les virus dans le sperme ont une double origine : certains sont produits par les organes séminaux et d'autres proviennent de virus plasmatiques circulants [29]. Ceci traduit une compartimentalisation du virus dans le compartiment génital. Ce phénomène est augmenté avec l'utilisation des antiprotéases qui diffusent mal dans le compartiment génital, ce qui explique l'importance de ces réservoirs viraux qui sont à prendre en compte dans le choix des antirétroviraux.

Afin de mieux documenter les données des réservoirs viraux chez l'homme, les études chez le primate non humain ont permis grâce au PET scan de mettre en évidence la localisation du virus dans le corps entier. Le virus se retrouve dans les voies gastro-intestinales et respiratoires, les tissus lymphoïdes et les organes reproducteurs (Figure 7) [24].

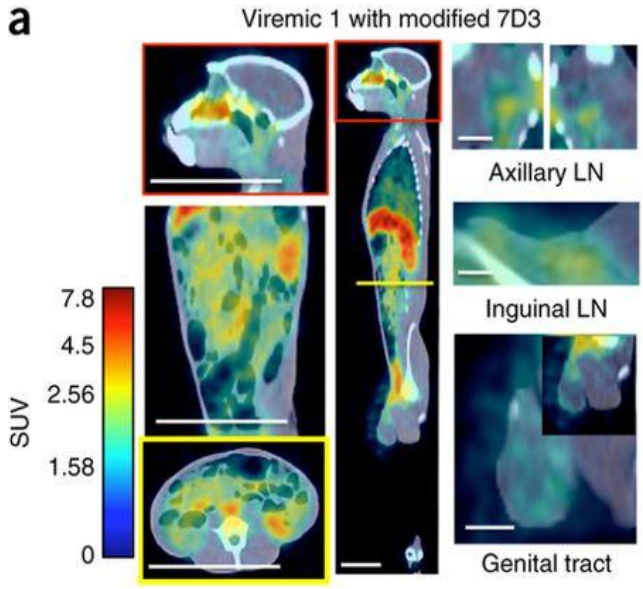



**Figure 7 : Résultats d'un PET scan d'un macaque infecté par le SIV**

Vues frontale, sagittale et axiale d'un singe virémique par immunoPET (tomographie par émission de positrons ciblée par anticorps) après administration d'un clone 7D3 d'un anticorps monoclonal spécifique de la protéine d'enveloppe Gp120 du SIV modifié au polyéthylène glycol et marqué au Cu. Signaux détectables dans les voies gastro-intestinales et respiratoires, les tissus lymphoïdes et les organes reproducteurs, *d'après Santangelo et al. 2015*

### c. *Quantification du réservoir*

La mesure de l'ADN VIH total dans les cellules périphériques du sang par la technique de PCR en temps réel est un bon reflet du réservoir total. Cette technique, sensible, spécifique et reproductible, permet de mesurer toutes les formes d'ADN VIH, intégrées ou non [30]. Ce marqueur est très prédictif du risque de progression vers le sida et le décès [31].

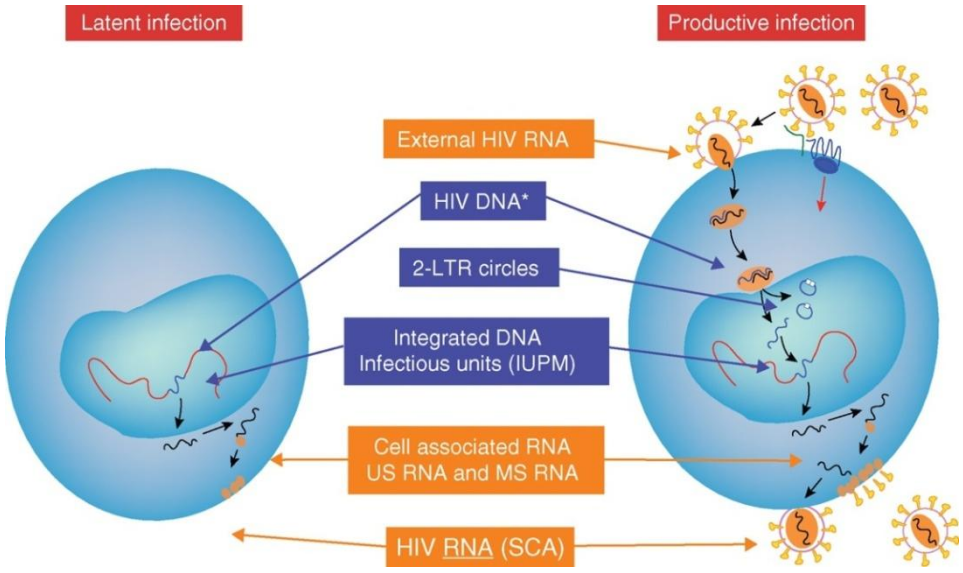



**Figure 8 : Représentation du cycle viral dans les cellules infectées latentes (droite) et dans les cellules productives (gauche) ainsi que les tests de quantification**

L'ADN du VIH est en bleu et l'ARN du VIH est en noir. L'ADN du VIH comprend l'ADN non intégré et intégré ainsi que les cercles 2-LTR, *d'après Lewin et Rouzioux 2011*.

L'ADN VIH comprend les formes non intégrées linéaires (ADN viral double brin non intégré), non intégrées épisomales (ADN double brin circulaire avec 1 ou 2 LTR) et le provirus (ADN viral double brin linéaire intégré) (Figure 8). Les formes épisomales, sous produits du processus d'intégration, sont uniquement présentes dans les cellules productrices. Chez les patients traités, la majorité des cellules infectées sont latentes et la majorité de l'ADN VIH est sous forme intégré [32], les formes non intégrées n'étant pas décelables.

## 3) Choix du moment optimal pour initier le traitement antirétroviral

Malgré l'apparition de nouveaux traitements ARV permettant de réduire la charge virale du VIH, d'optimiser la restauration immunitaire T CD4+, de réduire la morbidité et la mortalité

associées aux infections opportunistes et aux affections classant SIDA, ceux-ci sont inactifs sur les réservoirs viraux lesquels représentent un véritable obstacle dans l'éradication virale.

Dans une étude menée chez 20 macaques infectés par le SIVmac251, plusieurs temps d'initiation de traitement ont été comparés afin d'identifier le meilleur moment qui permettrait à la fois de limiter l'établissement des réservoirs viraux et en même temps de permettre à la réponse immunitaire de se constituer.

➔ Impact du traitement sur les réservoirs viraux :

Il a été observé qu'un traitement initié à J3 post-infection a bloqué l'émergence de l'ARN viral (Figure 9) et de l'ADN proviral dans le sang périphérique et a également réduit considérablement les niveaux d'ADN proviral dans les ganglions lymphatiques et la muqueuse gastro-intestinale par rapport au traitement à des moments ultérieurs (J3, J7, J10 et J14) (Figure 10) [33].

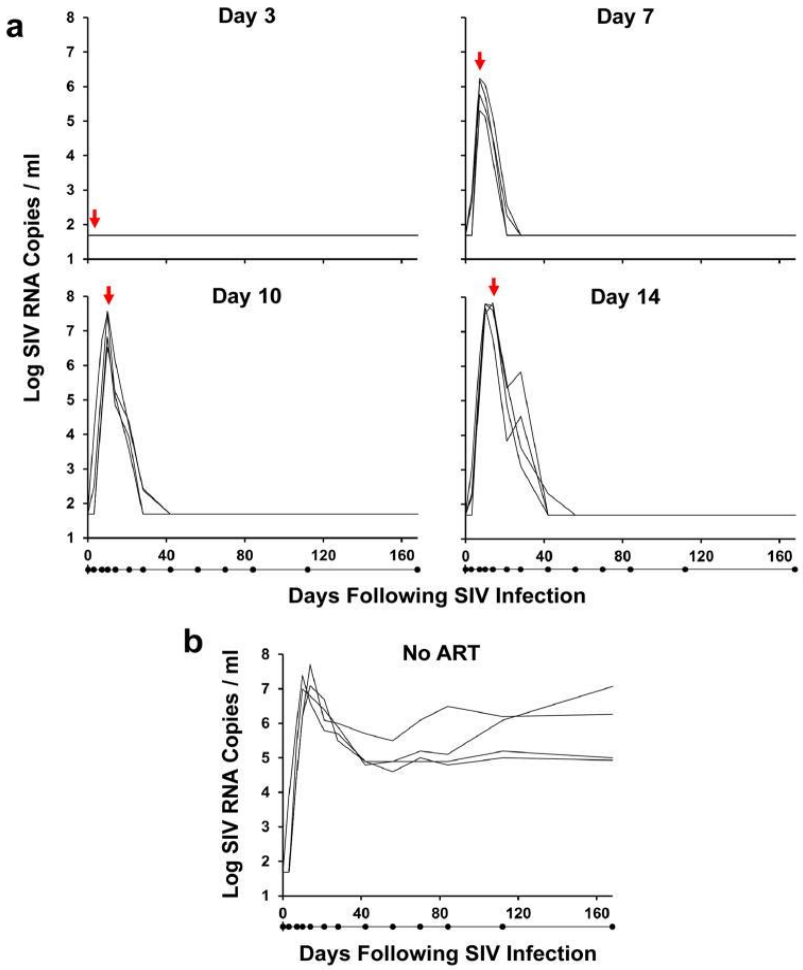



**Figure 9 : Cinétique de la décroissance virale après traitement antirétroviral**

Log ARN viral plasmatique (copies/ml) chez les singes rhésus infectés par SIVmac251 et après l'initiation de la thérapie antirétrovirale aux jours 3, 7, 10 et 14 de l'infection (a) ou sans ART (b), *d'après Whitney and al, 2014.*

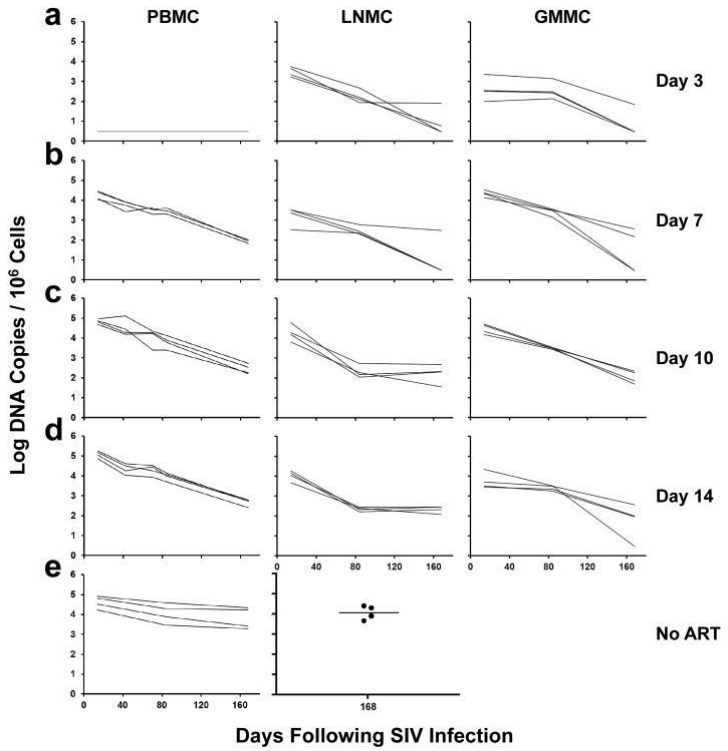



**Figure 10 : ADN proviral durant le traitement antirétroviral**

Log ADN proviral dans les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC), les cellules mononucléées des ganglions lymphatiques (LNMC) et les cellules mononucléées de la muqueuse gastro-intestinale (GMMC) chez les singes qui ont commencé le traitement antirétroviral aux jours 3 (a), 7 (b), 10 (c), et 14 (d) de l'infection ou sans ART (e), *d'après Whitney and al, 2014.*

Un traitement commencé tôt (J3 post-infection) limite donc l'établissement des réservoirs viraux. Mais malgré de très faibles réservoirs, la réplication virale peut facilement reprendre après l'interruption du traitement (Figure 11).

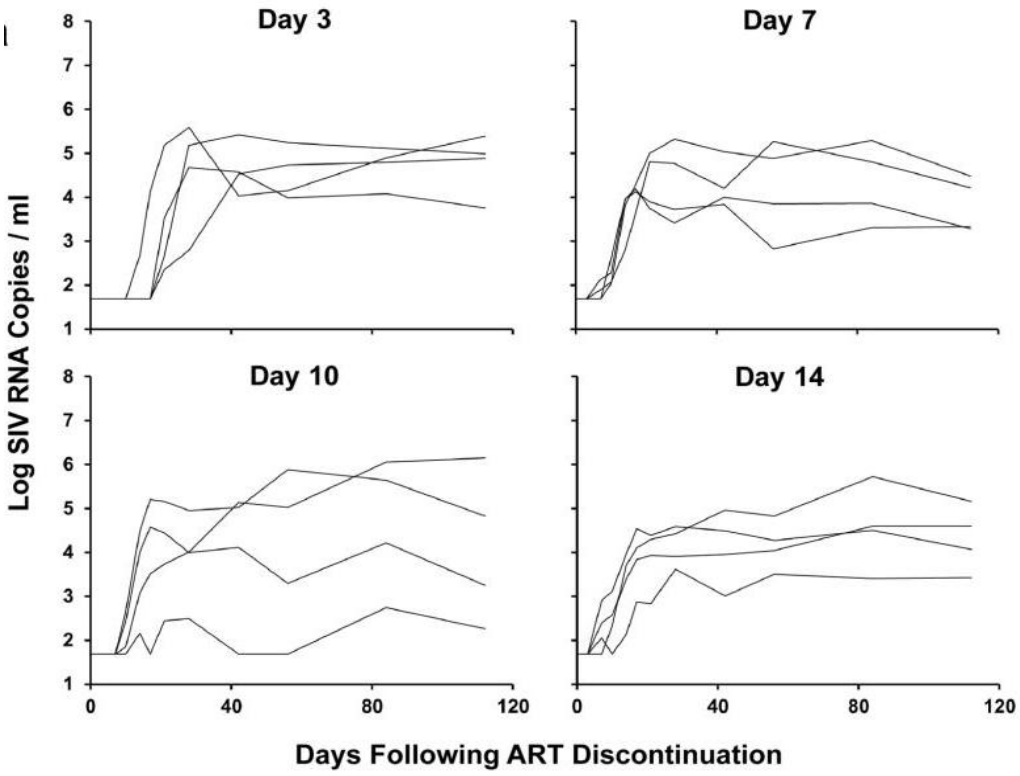



**Figure 11 : Cinétique virale après arrêt du traitement antirétroviral**

Log ARN viral plasmatique (copies/ml) chez les animaux après l'arrêt du traitement antirétroviral à la semaine 24 chez les singes qui ont commencé le traitement antirétroviral aux jours 3, 7, 10 et 14 de l'infection, *d'après Whitney and al, 2014.*

Après l'arrêt du traitement antirétroviral à 24 semaines de traitement le rebond virologique s'est produit chez tous les animaux, bien que ceux traités au jour 3 aient présenté un rebond viral retardé comparativement aux animaux traités aux jours 7, 10 et 14.

➔ Impact du traitement sur la réponse immunitaire :

Le moment de l'initiation du traitement impacte également l'établissement des réponses immunitaires.

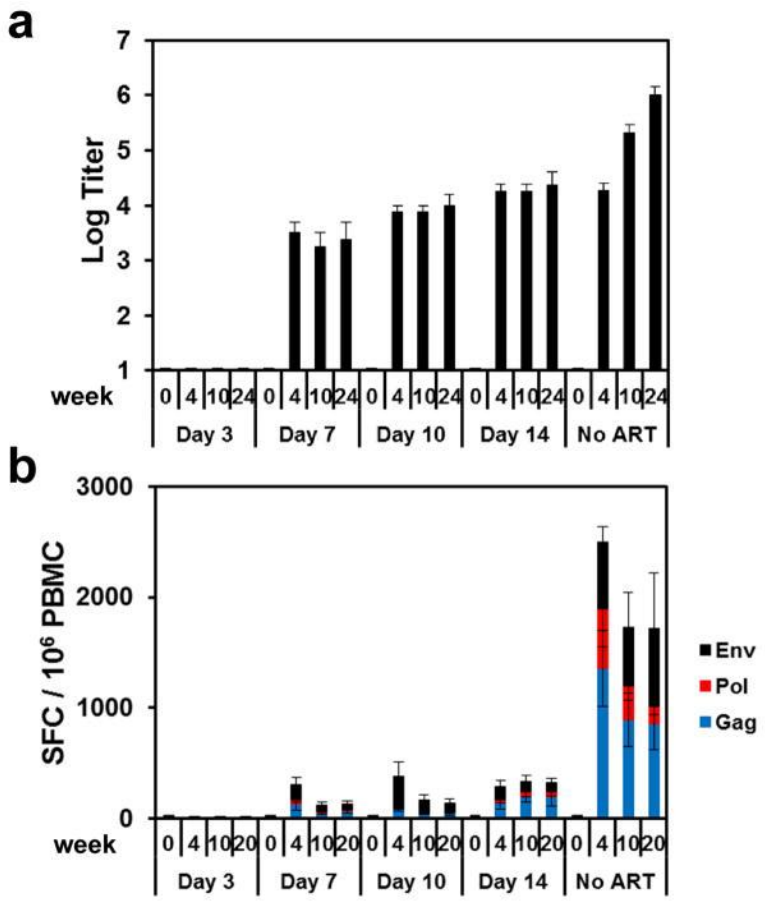



**Figure 12 : Réponses immunes spécifiques anti SIV (A : cellulaire et B : humorale)**

Réponses ELISPOT IFN-γ spécifiques d'Env, Pol et Gag aux semaines 0, 4, 10 et 20 chez les singes infectés par le SIV qui ont commencé le traitement ARV aux jours 3 et 10 de l'infection (a) et titres d'anticorps ELISA spécifiques d'Env aux semaines 0, 4, 10 et 24 (b), *d'après Whitney and al, 2014.*

Les réponses immunes cellulaires sont faibles lors de l'initiation d'un traitement antirétroviral à J3 post-infection (mesurée par la quantification d'IFN-γ par ELISPOT). Lors de l'initiation d'un traitement antirétroviral à J3 post-infection, peu d'anticorps anti-env spécifiques, témoin d'une réponse humorale, sont produits contrairement à J10 (b). Si le traitement antirétroviral est débuté à J3, les réponses spécifiques ne peuvent pas se mettre en place à la différence d'un traitement commencé à J10.

C'est ici que réside l'une des problématiques de l'éradication virale lors de l'infection par le VIH à savoir comment une mise sous traitement précoce influe sur l'équilibre entre la réponse immunitaire et les réservoirs viraux. C'est l'objectif du projet p-VISCONTI qui sera décrit plus tard.

## II. CAS DE CONTROLE VIROLOGIQUE, VERS UNE REMISSION ?

L'étude des réservoirs a conduit à l'identification de patients présentant une rémission, avec un contrôle de l'infection plusieurs années après l'arrêt des traitements.

### 1) Progresseurs lents ou asymptomatiques à long terme

Identifiés dans les années1990, ces patients désignés comme asymptomatiques à long terme (ALT), définis sur la base d'un critère immunologique, ont comme caractéristique de maintenir un taux de LT CD4+ élevé (supérieur à 500 CD4/mm3) pendant plusieurs années sans traitement antirétroviral et sans signes cliniques du SIDA [34]. Ils représentent 2 à 15% des patients infectés par le VIH. Il a pu être montré que la réplication virale chez ces patients est spontanément faible et partiellement contrôlée ce qui les rapproche de la classe des patients VIH contrôleurs [34].

### 2) VIH contrôleurs

Les « VIH contrôleurs » (HIC), définis sur un critère virologique, sont des patients infectés par le VIH depuis plus de 5 ans et dont la virémie est basse ou indétectable (5 dernières charges virales consécutives en ARN inférieures à 400 copies/ml) en l'absence de traitement antirétroviral. Ils représentent moins de 1% de tous les patients infectés par le VIH [35]. Ces patients sont très peu symptomatiques en primo-infection.

Trois principales hypothèses ont été émises pour expliquer ce contrôle de la réplication virale : (1) le virus se répliquerait mal, (2) il existerait une prédisposition génétique chez ces patients et (3) le système immunitaire de ces patients pourrait bloquer la réplication virale de manière efficace.

- (1) un virus atténué :

Une étude a montré que les patients HIC étaient infectés par des virus compétents pour la réplication [36]. Il n'existe pas de mutations dans les gènes du VIH qui conduisent à des virus défectifs. La population virale peut se répliquer en culture. Par ailleurs, la taille du réservoir chez ces patients (niveau d'ADN VIH) est la plus faible [35].

- (2) il existerait une prédisposition génétique chez ces patients :

En effet, il existe une surreprésentation de certains haplotypes protecteurs du système HLA (Human Leucocyte Antigenes) de classe I, notamment HLA*B27 ou B*57 chez des HIC [37].

Il a été mis en évidence une restriction de l'infection des lymphocytes CD4+ TCM et des macrophages des HIC [38].

- (3) la qualité de la réponse immunitaire :

➢ Réponse des lymphocytes T CD8+ : les lymphocytes T CD8+ prolifèrent de façon plus importante en présence du VIH. Ils sont polyfonctionnels c'est-à-dire capables de sécréter de l'interleukine 2 (IL2), du TNF alpha, de libérer des granules cytotoxiques, des perforines et de tuer les lymphocytes T CD4+ infectés [39]. De plus, ils sont préférentiellement dirigés contre la protéine virale Gag [40], protéine produite précocement au cours du cycle viral et qui permet une réponse anti CD8 précoce.

➢ Réponse des lymphocytes T CD4+ : les lymphocytes T CD4+ effecteurs sont polyfonctionnels (sécrètent de l'IL2 et de l'IFN-γ) et ont une avidité importante pour les peptides de Gag [41]. Leurs récepteurs T sont capables de reconnaitre les peptides présentés par différentes molécules du CMH. Ces lymphocytes CD4+ ont également une activité cytotoxique [42].

➢ Les LB mémoires des HIC sont retrouvés sur le long terme et sont facilement mobilisables [43]. Cela serait dû à une meilleure fonction des Tfh qui seraient également plus nombreux que chez les patients traités [44].

La moitié des HIC présente un très haut niveau de contrôle de l'infection, avec une diminution lente et progressive du réservoir sanguin du VIH et un très faible niveau de réplication virale. Les HIC étant un modèle de rémission, ce sous-groupe avec un très haut degré de contrôle représente la population de patients la plus pertinente et informative à cet égard. Certains facteurs sont associés à ce niveau unique de contrôle, à savoir de très faibles taux de réplication du VIH, des taux d'ADN VIH total très faibles et la présence d'allèles protecteurs [45].

Deux patients ayant un profil très particulier ont été récemment décrits [46]. Ces 2 patients, infectés par le VIH, ne présentent ni symptôme de la maladie, ni d'ARN VIH dans le plasma et ni d'ADN VIH détecté dans les cellules par les tests diagnostics de routine [47]. En évaluant les réponses immunitaires humorales et cellulaires au VIH chez les 2 patients, les chercheurs identifient une réponse forte chez l'un et modérée chez l'autre, ce qui confirme qu'une infection productive a bien eu lieu chez les 2 patients. En pratiquant de très nombreuses PCR nichées ciblant l'ADN VIH dans les cellules mononucléées du sang périphérique de ces deux patients, les chercheurs ont pu obtenir des séquences d'ADN du VIH

intégrées dans leur génome. Ils ont par ailleurs observé dans ces séquences VIH un taux élevé de mutation G vers A et de remplacement de codons tryptophane par des codons stop. Ceci est la signature des enzymes cellulaires APOBEC3, qui peuvent inactiver les gènes du VIH et donc empêcher le virus de se multiplier. Une protéine VIH, Vif, peut neutraliser les enzymes APOBEC3 en conduisant à leur dégradation. Pour ces deux patients, une hypothèse est que l'action des APOBEC3 ait pu être amplifiée et très efficace dès la phase précoce de l'infection. Ces observations pourraient représenter une nouvelle voie thérapeutique.

Les HIC représentent donc un grand espoir dans la lutte contre le VIH. Ces éléments ont été retrouvés de façon non systématique et cette évolution particulière semble multi-factorielle. Les raisons du contrôle spontané de la réplication VIH restent ainsi actuellement largement non caractérisées.

### 3) Contrôleurs post traitement (PTC)

Les résultats de l'étude ANRS VISCONTI (Viro-Immunological Sustained CONtrol after Treatment Interruption) publiés récemment ont fourni la preuve qu'un état de rémission durable du VIH peut être induit chez au moins certains patients infectés par le VIH [48] : les contrôleurs post-traitement (PTC). Vingt PTC, qui ont contrôlé la virémie pendant une période médiane de 10 ans après l'interruption du traitement, sont actuellement inclus dans l'étude VISCONTI. Tous ces PTC ont en commun l'initiation précoce d'un traitement antirétroviral (dans 10 semaines suivant l'infection), qui a été maintenu pendant plusieurs années avant l'interruption. Entre 5 et 15% des patients ayant bénéficié d'un traitement précoce seraient ainsi capables de contrôler leur virémie à long terme, à l'issue d'une interruption thérapeutique programmée. À ce jour, le délai médian de rémission est de 9,3 ans, avec la plus longue période de contrôle supérieure à 12 ans.

La charge virale et le taux de CD4+ restent stables après l'arrêt du traitement. A la différence des HIC, les PTC ne présentent pas d'allèles protecteurs mais au contraire sont nombreux à présenter des allèles qui ont été associés à la progression de la maladie (HLA-B35 ou B07) [37].

Ces sujets ont également des réponses T CD8 plus faibles avec un niveau d'expression d'activation CD38 diminué. Les PTC ont un réservoir viral bas distribué dans l'ensemble des cellules T CD4+ mémoires [48]. De plus, il a été observé une surexpression du récepteur KIR

à la surface des cellules NK, entrainant une élimination des cellules infectées par les NK et donc une progression plus lente de l'infection.

Une des hypothèses est que l'initiation précoce du traitement a permis de réduire considérablement les réservoirs de VIH, de limiter également la diversité du virus et de protéger les réponses immunitaires innées et adaptatives contre l'épuisement et les effets délétères de l'inflammation exacerbée.

Les HIC et les PTC ont en commun un très faible niveau de réservoir ce qui représente une nouvelle piste de stratégies thérapeutiques visant à éradiquer les réservoirs viraux.

### 4) Patient de Berlin

Atteint d'une leucémie myéloïde à la suite de son infection par le VIH, ce patient a reçu une greffe de moelle osseuse HLA compatible [49]. Le donneur était porteur de la mutation protectrice delta 32 du corécepteur CCR5 à l'état homozygote. Le patient a changé progressivement de génotype et au bout de 2 mois il n'exprimait plus le corécepteur CCR5. 20 mois après la greffe de moelle osseuse et sans traitement antirétroviral, la charge virale était indétectable.

### 5) Bébé du Mississippi

Née d'une mère séropositive, cet enfant a reçu un traitement antirétroviral dans les trente heures suivant sa naissance pendant 18 mois [50]. Il a obtenu un excellent contrôle de son infection sous traitement et a arrêté son traitement pendant 5 mois. 23 mois après l'interruption du traitement, la charge virale et l'ADN étaient indétectables et les anticorps dirigés contre les particules du VIH avaient disparu [50]. Cependant à l'âge de 4 ans ont été détectés des microtraces de virus dans les cellules et des Ac anti VIH. Le traitement très précoce avait donc empêché la réplication du virus et limité l'établissement des réservoirs viraux.

### 6) Enfants non progresseurs séropositifs pour le VIH

Un nouveau type de protection contre le VIH est décrit dans une cohorte pédiatrique où 170 enfants séropositifs pour le VIH sud-africains ne présentent aucun signe de la maladie sans traitement [51]. Leur taux de CD4+ est normal. Ils représentent 5 à 10 % des enfants infectés par le VIH. Ils expriment deux caractéristiques immunologiques de l'infection par le SIV non pathogène chez les hôtes naturels du SIV, les mangabeys : une faible activation immunitaire

malgré une virémie élevée et une expression réduite du CCR5 des lymphocytes TCM à longue durée de vie entrainant une faible infection.

### 7) Autre cas

Une jeune française née séropositive au VIH a interrompu son traitement antirétroviral commencé dès sa naissance à l'âge de 6 ans. Douze ans plus tard, le virus est indétectable dans le sang [52]. Cependant de l'ADN VIH a été trouvé dans ses cellules immunitaires. Elle est le premier enfant infecté par le VIH à interrompre son traitement et à rester en rémission pendant cette période de temps. A ce jour, aucune donnée n'a été répertoriée expliquant ce contrôle.

Au vu des données présentées sur l'établissement des réservoirs viraux et les cas de rémission observés chez certains patients un état de rémission semble possible. Une réponse immunitaire particulièrement efficace est observée chez certains patients suggérant leur importance dans le contrôle de l'infection. Cependant chez la majorité des patients infectés par le VIH y compris les individus bénéficiant d'un traitement antirétroviral efficace, une inflammation généralisée persiste en raison de la persistance d'une réplication à bas bruit responsable de l'entretien et du remplissage permanent du réservoir viral. Cette inflammation favorise un vieillissement accéléré, la survenue de maladies cardiovasculaires et entraine une activation immunitaire permanente.

## III. CONTEXTE INFLAMMATOIRE AU COURS DE L'INFECTION VIH

L'infection par le VIH se caractérise par une hyperactivation du système immunitaire et par une inflammation chronique. Cet état d'hyperactivation/inflammation résulte de plusieurs phénomènes décrit ci-dessous.

### 1) Inflammation au cours de l'infection par le VIH : causes et conséquences

Les multiples causes de l'activation du système immunitaire et de l'inflammation ainsi que leurs conséquences au cours de l'infection par le VIH sont représentées dans la Figure 13.

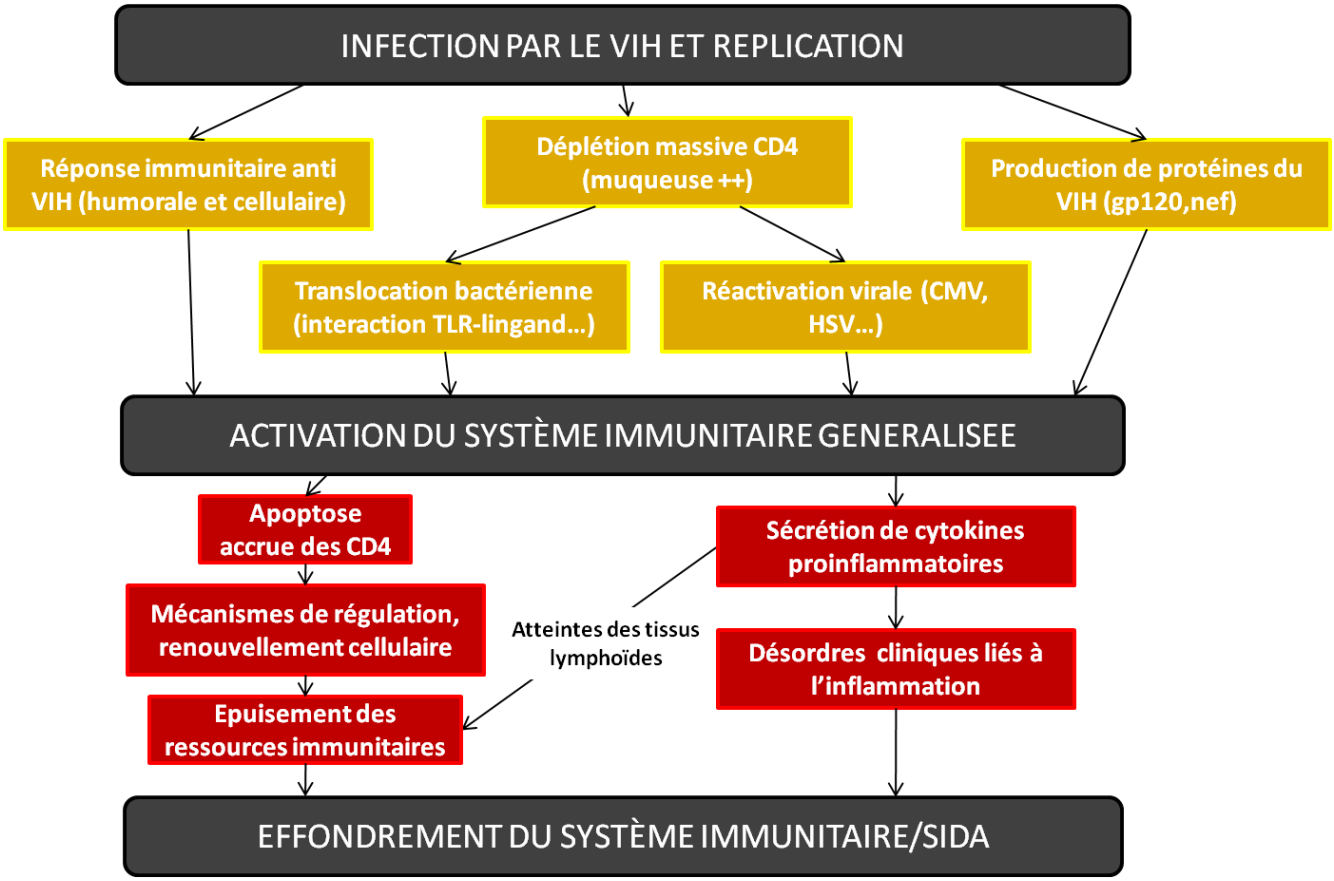



**Figure 13 :Modèle de pathogénèse du VIH**

Représentation des causes (en jaune) et conséquences (en rouge) de l'activation immunitaire et de l'inflammation au cours du VIH, *adapté d'après Appay and Sauce, 2008*

Un des premiers événements lors de l'infection par le VIH est la déplétion massive des lymphocytes TCD4+ en particulier dans les tissus lymphoïdes muqueux malgré l'activation des réponses immunes anti VIH. La perte massive des LTh17, lymphocytes T CD4+ pro-inflammatoires, situés aux sites muqueux de transmission du VIH et notamment au niveau du GALT et responsables de l'intégrité des jonctions serrées de l'épithélium, de la libération de peptides microbicides et du recrutement des neutrophiles, entraine un déséquilibre de la balance Th17/lymphocytes T régulateurs (Treg), un sous-ensemble de lymphocytes T CD4+ anti-inflammatoires capables de bloquer l'activité des autres CD4+. Cela a des conséquences immédiates sur l'intégrité des surfaces des muqueuses (rupture des jonctions serrées, perte des cellules épithéliales intestinales) et s'ensuit une translocation microbienne. En effet, l'une des premières causes de l'inflammation chronique est le rôle de la translocation microbienne favorisée par l'altération des barrières intestinales. Les produits microbiens qui traversent la

muqueuse intestinale comprennent entre autre le lipopolysaccharide (LPS), la flagelline, l'ADN CpG non méthylé. Cette translocation de produits microbiens entraîne une activation systémique des lymphocytes et des monocytes. Par exemple, le LPS, marqueur le plus utilisé pour évaluer la translocation bactérienne, est connu pour activer les monocytes par l'intermédiaire du Toll Like Receptors (TLR) 4 conduisant à l'entretien de l'inflammation et de l'activation chronique du système immunitaire [53]. En conséquence, les niveaux de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL6...) augmentent considérablement. De plus, l'activation immunitaire favorise la réplication du VIH, établissant ainsi un cercle vicieux.

La perte importante des lymphocytes TCD4+ peut entrainer une réactivation des agents pathogènes latents comme le cytomégalovirus (CMV) et la survenue d'infections opportunistes.

Enfin, les protéines du VIH et notamment la gp120 peuvent induire directement l'activation du système immunitaire à travers la reconnaissance de motifs spécifiques du VIH par les Pattern Recognition Receptors (PRRs) et plus particulièrement les TLR présents à la surface des cellules présentatrices d'antigène. Cette reconnaissance conduit à la production de cytokines proinflammatoires et induit donc un état inflammatoire chronique.

L'activation immunitaire provoque un renouvellement cellulaire considérable et une sénescence et une apoptose accrues, qui représentent une tâche énorme pour le système immunitaire en termes de renouvellement cellulaire afin de maintenir l'homéostasie. Cela a pour conséquences un déclin progressif des capacités régénératives, le développement de l'immunosénescence et une perte de l'immunité anti VIH.

L'activation chronique du système immunitaire a pour conséquences possibles athérosclérose, ostéoporose, risque accru de cancer [54].

### 2) Altération des réponses immunes anti-VIH

Cette inflammation chronique conduit à l'altération des réponses immunitaires immunes et adaptatives.

#### *a. Polynucléaires neutrophiles*

Les neutrophiles font partie de la réponse immunitaire innée. Ils sont impliqués dans la défense non spécifique anti-bactérienne et anti-fongique par la mise en œuvre d'une phagocytose dépendante des mécanismes d'oxydation et par la production d'espèces réactives

de l'oxygène [55]. Le VIH n'infecte pas les neutrophiles mais entraine un dysfonctionnement de leur phagocytose et un excès d'apoptose [56]. L'environnement inflammatoire observé lors de l'infection par le VIH, produisant des cytokines proinflammatoires comme IL-8, IL-18 et du TNF-α, active les neutrophiles. Les neutrophiles de patients infectés expriment plus de CD11b et produisent plus d'espèces réactives de l'oxygène, témoins d'une hyper activation [57].

### *b. Cellules dendritiques*

Les cellules dendritiques (DC) sont des cellules présentatrices d'antigènes qui jouent un rôle crucial dans les fonctions de reconnaissance de l'immunité innée et dans l'organisation de la réponse adaptative par notamment l'activation des lymphocytes T spécifiques du virus. Elles sont divisées en 2 groupes : les DC myéloïdes (mDC) et les DC plasmocytoïdes (pDC). Après détection et capture du virus dans les tissus périphériques, ces cellules migrent vers les nœuds lymphatiques et présentent les antigènes viraux grâce à leurs molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) aux lymphocytes T qui seront alors activés. Elles initient ainsi la réponse immune adaptative.

Lors de la primo infection par le VIH, les fréquences des DCs circulantes sont fortement diminuées [58]. Cette diminution est due à un phénomène d'apoptose accru induit par l'inflammation et à un recrutement des DC au niveau des organes lymphoïdes secondaires.

Les mDC reconnaissent le VIH grâce aux lectines de type C, notamment DC-SIGN et produisent de l'interleukine-12 (IL-12) après activation. Les pDC reconnaissent spécifiquement les pathogènes contenants de l'ARN monocaténaire par TLR7 et des motifs d'ADN CpG non méthylés via TLR9 [59]. Au cours de l'infection par le VIH, les pDC produisent de grandes quantité d'IFN de type I et d'autres cytokines proinflammatoiresen réponse au VIH, ce qui permet de contenir la propagation du virus [60]. En phase chronique, les taux de pDC sont inversement corrélés à la charge virale plasmatique [61], et l'épuisement des pDC est associé à la progression de l'infection à VIH et au développement d'infections opportunistes.

Les mDC isolées chez des patients en phase aiguë d'infection produisent plus de cytokines proinflammatoires comme IL6, IL 12, ou encore du TNF [62]. L'IL12 produite par les mDC permet la différenciation des cellules T naïves en cellules Th1 et de stimuler les activités cytotoxiques des cellules NK et des lymphocytes T cytotoxiques.

De plus, les DC participent à la lymphopénie CD4. En effet, les DC activées par le VIH expriment le ligand proapoptotique TRAIL. Celui-ci va induire l'apoptose des lymphocytes T CD4+ car elles expriment le récepteur de mort du TRAIL, DR5 [63, p. 4].

### c. *Monocytes/macrophages*

80-90% des monocytes circulant sont des monocytes classiques et sont définis par l'expression du CD14 (récepteur au LPS) et l'absence du CD16. Lors de l'infection par le VIH, on constate une augmentation du nombre de monocytes intermédiaires (CD16+) et de monocytes non classiques (CD16++) [64]. De plus, il a été montré qu'une petite population de monocytes exprimait la molécule M-DC8 et était plus importante chez les patients infectés par le VIH. Ces monocytes M-DC8 + produisent de façon exagérée une cytokine inflammatoire, le TNF-α en réponse au LPS [65]. La translocation bactérienne, qui se traduit par une augmentation du LPS, est un activateur clé des monocytes.

Les macrophages jouent un rôle dans l'établissement des réservoirs viraux car ils sont particulièrement résistants à l'effet cytotoxique du virus. De plus, les macrophages peuvent accumuler de grandes quantités de virus ce qui leur permet d'une part d'échapper à l'immunosurveillance et d'autre part participent à la dissémination du virus dans l'organisme.

### d. *Cellules « Natural Killer » (NK)*

La population des cellules NK est divisée en 2 sous-types selon l'expression des marqueurs CD56 et CD16 : les cellules $CD56^{bright}$ $CD16^{-}$, minoritaire dans le sang périphérique, ont une faible activité cytotoxique mais produisent de grandes quantités de cytokines proinflammatoires (IFN-γ, TNF-α). Les cellules $CD56^{dim}CD16^{+}$, population majoritaire, sont responsables de la fonction cytotoxique [44]. Lors de l'infection par le VIH, il a été observé une réduction de la proportion de $CD3^{-}$ $CD56^{+}$. Cette réduction est due à l'émergence d'une troisième sous-population NK $CD3^{-}$ $CD56^{-}$ $CD16^{+}$ qui est plus importante chez les personnes présentant une réplication virale active. Cette population est dépourvue de propriétés cytotoxiques [66].

### e. *Lymphocytes T CD8+*

Les lymphocytes T CD8 jouent un rôle majeur dans la défense antivirale. Les lymphocytes T cytotoxiques détruisent les cellules présentant par le CMH I l'antigène qui les ont activés via la production de cytokines (TNF-α et IFN-γ) et la sécrétion de molécules cytolytiques telles que la perforine et la granzyme. Lors de la primo-infection du VIH, leur taux augmente et

reste élevé jusqu'à un stade évolué puis diminue à la phase préterminale. La stimulation chronique du système immunitaire entraine une hyper-activation des lymphocytes T CD8+ exprimant des marqueurs d'activation comme CD38, HLA-DR et l'antigène nucléaire Ki67 [67]. La fonctionnalité de ces cellules, évaluée par leur capacité de dégranulation, par la production de cytokines, est réduite chez les patients avec une forte activation. En effet, au cours de l'infection par le VIH, les lymphocytes T CD8+ spécifiques présentent un défaut de leurs capacités prolifératives, qui est mis en évidence par l'expression du marqueur CD57, marqueur de sénescence [68].

L'infection par le VIH créé un état inflammatoire chronique avec une altération des réponses immunes. Cependant les données immunologiques des patients en rémission montrent que si les réponses immunes sont préservées, elles peuvent être efficaces pour contrôler le virus aussi bien dans le contexte des HIC que des PTCs bien que les mécanismes immunologiques de contrôle sont différents. C'est pourquoi des stratégies visant à réduire l'inflammation permettant d'améliorer les réponses immunes ont été développées.

### 3) Approches thérapeutiques visant à réduire l'inflammation et l'activation immunitaire

Afin de réduire l'inflammation et l'activation immunitaire qui sont délétères, plusieurs stratégies ont été développées dont certaines sont exposées ci-dessous :

- Utiliser l'IL-21 pour favoriser le maintien et la fonctionnalité des cellules LTh17. L'administration d'IL-21 chez les macaques rhésus traités par thérapie antirétrovirale a amélioré la reconstitution des LTh17 et l'intégrité de la barrière mucosale et a diminué l'activation des LT dans le sang et l'intestin. Il en résulte le maintien de l'intégrité de la barrière et une réduction de la translocation microbienne et de l'inflammation systémique [69]. De plus, l'association d'IL-21 et de probiotiques a limité la translocation microbienne, a permis une expansion polyfonctionnelle des Th17 chez des macaques infectés par le SIV et traités par ART [70]. Un effet bénéfique de l'IL-21 sur les fonctions antivirales des lymphocytes T CD8+ a également été observé dans l'infection aiguë par le SIV [66]. Des essais cliniques chez l'homme sont nécessaires pour explorer cette piste dans le cadre de la rémission au VIH.
- Agir sur les macrophages. En effet, ces cellules sont activées par les LPS déversés dans la circulation sanguine après translocation. Plusieurs molécules qui modulent l'expression du récepteur au LPS (TLR4) ou qui agissent sur la signalisation peuvent

être utilisées et notamment la chloroquine, les statines et la vitamine D3. Plusieurs essais ont évalué la chloroquine et l'hydroxychloroquine, connues pour leur activité anti-inflammatoire, au cours de l'infection par le VIH mais il a été observé aucun gain en terme de remonter des lymphocytes CD4 ni de diminution de la suractivation immunitaire [71]. Les statines en diminuant le taux de CRP ont une activité anti-inflammatoire. Lors de l'essai Saturn HIV, les statines ne semblaient pas diminuer la suractivation immunitaire. L'essai Cesar II vise à étudier la rosuvastatine qui réduirait l'activation des lymphocytes T. Les premiers résultats de cette étude sont en attente de publication.

- Utiliser le raltégravir (inhibiteur de l'intégrase) pour intensifier le traitement et diminuer la réplication résiduelle : une baisse du marqueur D Dimère (marqueur de l'activation des voies de la coagulation) a été observée [72].
- Utiliser des probiotiques pour réduire la translocation bactérienne et restaurer l'immunité du tube digestif. Dans l'étude BITE, il a été observé chez les patients utilisant des compléments alimentaires comprenant des probiotiques une baisse des lymphocytes T CD4 moins importante que chez les sujets qui n'en prenaient pas [73]. Il a été observé le même effet dans l'étude COPA [74]. Enfin, une étude récente a montré qu'après un traitement prébiotique chez des patients infectés par le VIH-1, la translocation microbienne et l'inflammation ont diminué de manière significative (diminution de la production de IL-6) [74].

L'administration d'un supplément de probiotiques ou de molécules réduisant l'inflammation à des personnes infectées par le VIH en combinaison avec un traitement antirétroviral pourrait améliorer l'immunité du tractus gastro-intestinal et atténuer les conséquences de l'inflammation chronique, ce qui améliore le pronostic.

### 4) Cellules myéloïdes suppressives

Les cellules myéloïdes suppressives, *Myeloid derived suppressor cells* (MDSC) sont des cellules aux fonctions immunosuppressives. Des données de la littérature montrent que ces cellules joueraient un rôle au cours de l'infection VIH et notamment elles entraineraient une dysfonction des réponses immunes. Peu d'études s'intéressent à leur cinétique d'apparition au cours de l'infection VIH c'est pourquoi l'étude des MDSC semble nécessaire car celles-ci

empêchent la mise en place d'une réponse innée et adaptative antivirale efficace et participent également à l'activation chronique du système immunitaire.

### a. Découverte

Les cellules myéloïdes suppressives ont été décrites en 1987 chez la souris comme des cellules de la moelle osseuse suppressives de la réponse lymphocytaire dans un modèle de carcinomes pulmonaires [75]. Les cellules myéloïdes suppressives (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) sont une population hétérogène de progéniteurs myéloïdes dérivés de la moelle osseuse et de cellules myéloïdes immatures (IMC) observée lors de certaines situations pathologiques, d'abord identifiée dans le cancer et ensuite lors de maladie inflammatoire, auto-immune, ou encore lors de l'infection au VIH [76]. Chez les individus sains, les IMC se différencient en granulocytes matures, en macrophages ou en cellules dendritiques (DC). En condition physiologique, le rôle des MDSC serait de limiter l'immunopathologie induite par l'inflammation, permettant ainsi la résolution du processus inflammatoire. Aujourd'hui, il est clairement admis que les MDSC sont l'un des principaux régulateurs négatifs des réponses immunitaires dans de nombreuses pathologies. En effet, lors de cancer ou d'infection chronique, ces cellules s'accumulent du fait d'une activation pathologique des cellules myéloïdes en présence de signaux faibles mais persistants d'activation. Ces cellules présentent une faible activité phagocytaire mais une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, participant à une suppression des réponses immunitaires [77]. Les MDSC ont en commun leur origine myéloïde, leur état immature et leur capacité à supprimer les réponses des cellules T.

### b. Phénotype

Chez la souris, les MDSC sont caractérisées par l'expression du marqueur Gr1 et CD11b. Chez l'homme, du fait de l'absence du marqueur Gr1, les MDSC sont de phénotype CD11b+, CD33+ et HLA-DRLow/- et peuvent être divisées en 2 groupes : les polynucléaires MDSC (PMN-MDSC) qui dérivent des polynucléaires neutrophiles et les M-MDSC qui dérivent des monocytes. Les PMN-MDSC sont CD14-, CD66+ et CD15+ tandis que les M-MDSC sont CD14+ et CD15Low/-. Les M-MDSC sont des cellules à faible densité et les PMN-MDSC sont également des cellules à faible densité, contrairement aux neutrophiles.

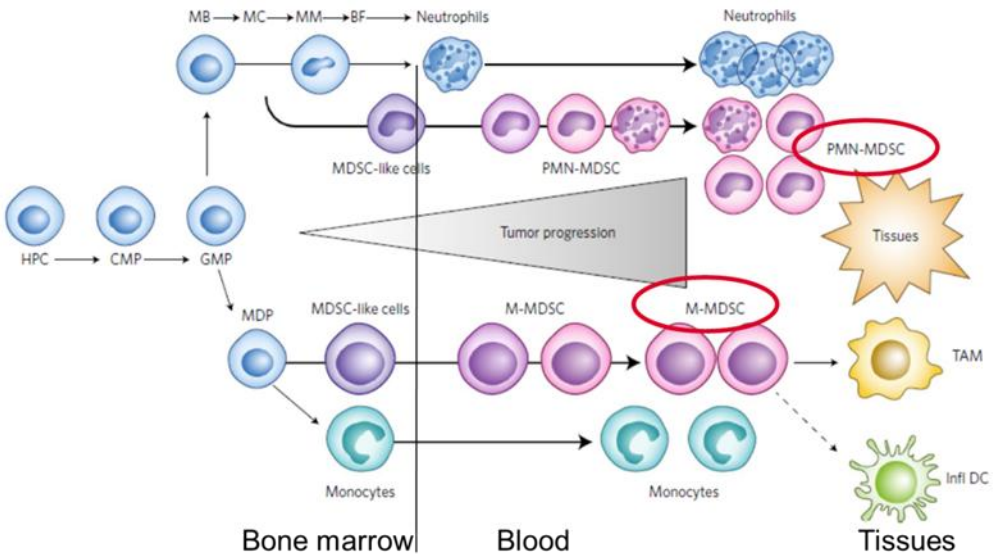



**Figure 14 : Modèle de différenciation et d'accumulation des MDSC**

Dans des conditions pathologiques telles que le cancer, les populations de cellules myéloïdes immatures se développent et sont converties en MDSC dans les régions périphériques. Avec la progression tumorale, les MDSC s'accumulent. Les M-MDSC se différencient rapidement en macrophages associés aux tumeurs (TAM) et en cellules dendritiques inflammatoires (Infl DC) dans la tumeur, *d'après Veglia et al. Nature Immunology, 2018.*

### *c. Activité immunorégulatrice*

Les MDSC modulent les réponses immunitaires par divers mécanismes (Figure 15).

- Effet immunosuppresseur sur les cellules de la réponse immunitaire :

La caractéristique des MDSC est leur capacité à supprimer les réponses des lymphocytes T, des cellules NK et des CPA.

- Lymphocytes T CD 8 : les MDSC suppriment la fonction des cellules T par l'arginase 1 et l'oxyde nitrique synthase inductible, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le peroxynitrite. Chez l'homme, il est décrit que les PMN-MDSC utilisent de préférence les ROS alors que les M-MDSC utilisent l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) [76]. L'iNOS a pour substrat le L-arginine. Les M-MDSC expriment des taux élevés d'iNOS et entrainent donc une déplétion de L-arginine dans le microenvironnement extracellulaire. Cette déplétion en L-arginine régule les fonctions des lymphocytes T par différents mécanismes dont la diminution de l'expression de la chaine ζ du CD3 [76].

L'augmentation de la production de ROS est devenue l'une des principales caractéristiques des MDSC chez les souris porteuses de tumeurs et les patients atteints de cancer [78]. Le stress oxydatif induit par les ROS inhibe l'expression de la chaîne ζ des cellules T et la prolifération cellulaire induite par l'antigène [79]. Le peroxynitrite, puissant oxydant produit lors de l'inflammation, induit la nitration de certains acides aminés comme la tyrosine du TCR et du CD8 dont la nitration peut entrainer la rigidité du TCR, perturbant ainsi la liaison peptide/CMH des lymphocytes T CD8 [76]. Les MDSC peuvent également supprimer l'activation des cellules T en appauvrissant l'environnement de cystéine, acide aminé essentiel à l'activation des cellules T.

Ainsi, les MDSC bloquent la production IFN-γ par les lymphocytes T CD8.

- Cellules NK : les MDSC suppriment la réponse des cellules NK soit par l'action du TGF-β qu'elles produisent soit par la régulation négative du récepteur activateur des cellules NK, le NKp30 [80].
- CPA : en produisant de l'IL10, les MDSC induisent une baisse de la production d'IL12 par les macrophages [81]. Ainsi les macrophages sont moins efficaces dans la stimulation des activités cytotoxiques des lymphocytes T et des cellules NK. Chez des patients atteints de mélanome, il a été décrit que les MDSC réduisent la capture de l'antigène par les DC ce qui bloque leur maturation, leur migration et leur fonction sur les réponses immunes [82].

- Inducteur de l'expansion des lymphocytes Treg :

Les MDSC favoriseraient l'expansion des lymphocytes Treg. En effet, dans un modèle murin de lymphome, il a été démontré que les MDSC induisent l'expansion des cellules Treg par un mécanisme qui nécessite l'arginase et la présentation des antigènes par les MDSC [76]. Mais d'autres travaux ne montrent pas de lien entre l'expansion des Treg et les MDSC [83], le taux de Treg étant invariablement élevé et sans lien avec la cinétique de l'expansion des MDSC. Bien que d'autres travaux semblent donc nécessaires pour résoudre ces divergences, il est possible que les MDSC participent à la différenciation des cellules Treg par la production de cytokines ou par des interactions cellules-cellules.

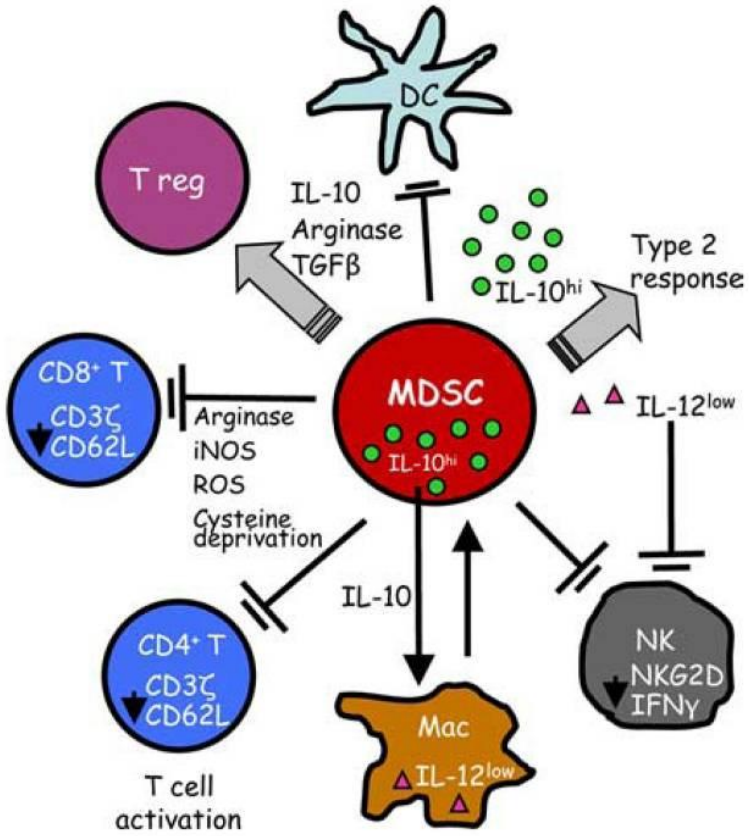



**Figure 15 : Mécanismes d'immunosuppression de la réponse immunitaire des MDSC**

L'activation des lymphocytes T est supprimée par la production d'arginase et de ROS, la nitration du TCR, la privation de cystéine et l'induction de Tregs. L'immunité innée est affaiblie par la baisse de l'IL-12 produite par les macrophages, par l'augmentation de la production d'IL-10 par les MDSC et par la suppression de la cytotoxicité des cellules NK, *d'après S. Ostrand-Rosenberg et P. Sinha, 2009.*

### *d. MDSC et VIH*

Elles ont été étudiées lors de l'infection par le VIH durant la phase chronique et il a été décrit que la fréquence des M-MDSC est inversement proportionnelle avec le taux de lymphocytes T CD4+ et est corrélée avec la charge virale plasmatique. L'augmentation de la fréquence des MDSC chez les personnes infectées par le VIH est donc associée à la progression de la maladie [84]. Cette augmentation pourrait donc participer aux dysfonctionnements des réponses antivirales.

Il a été décrit que le traitement par ART de personnes infectées par le VIH produit une diminution significative des MDSC.

### e. *MDSC et SIV*

Chez le macaque infecté par le SIV, en situation chronique, il a été observé un enrichissement des MDSC dans le sang qui serait due à une mobilisation continue des MDSC de la moelle osseuse vers la périphérie et une diminution des MDSC dans la moelle osseuse qui pourrait s'expliquer, sans avoir été démontré, par une faible reconstitution des MDSC à partir des cellules souches hématopoïétiques [85]. L'augmentation du taux de MDSC dans le sang est principalement due à la population des PMN-MDSC [86].

Ces cellules sont peu caractérisées dans l'infection VIH et peu d'études sont menées chez le PNH c'est la raison pour laquelle je me suis intéressée à caractériser ces cellules dans le cadre de mon master dans le modèle d'infection SIV.

# B. ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE DES CELLULES MYÉLOIDES SUPPRESSIVES DANS DES COHORTES PRÉ-CLINIQUES

## I. PRESENTATION DU PROJET pVISCONTI

Au sein de l'infrastructure IDMIT, un projet collaboratif, le projet p-VISCONTI (p(rimate)-VISCONTI), a été mis en place afin de mieux comprendre les mécanismes du contrôle de l'infection par le VIH chez les patients en rémission, d'identifier les marqueurs prédictifs à ce contrôle et de développer de nouvelles stratégies susceptibles d'obtenir un tel contrôle chez une majorité des patients infectés par le VIH.

L'objectif principal de ce projet est d'évaluer comment une mise sous traitement précoce influe sur l'équilibre temporel entre la réponse immunitaire et les réservoirs viraux, qui est nécessaire pour obtenir une rémission à long terme, et affecte le rebond viral au moment de l'interruption du traitement.

Ce projet pourrait permettre de mieux caractériser les mécanismes impliqués dans le contrôle de l'infection après l'interruption du traitement et de démêler les biomarqueurs qui prédisent la réponse après l'interruption de la cART. Il est essentiel de mieux comprendre la dynamique de l'établissement et de l'entretien des réservoirs cellulaires du VIH, l'interaction entre les réponses immunitaires et les cellules infectées, et l'impact de la trithérapie précoce sur ces paramètres.

Pour cela, une étude menée chez 66 macaques cynomolgus (CyM) est réalisée à IDMIT afin de mieux caractériser les mécanismes conduisant au contrôle viral lors de l'interruption du traitement (Figure 16).

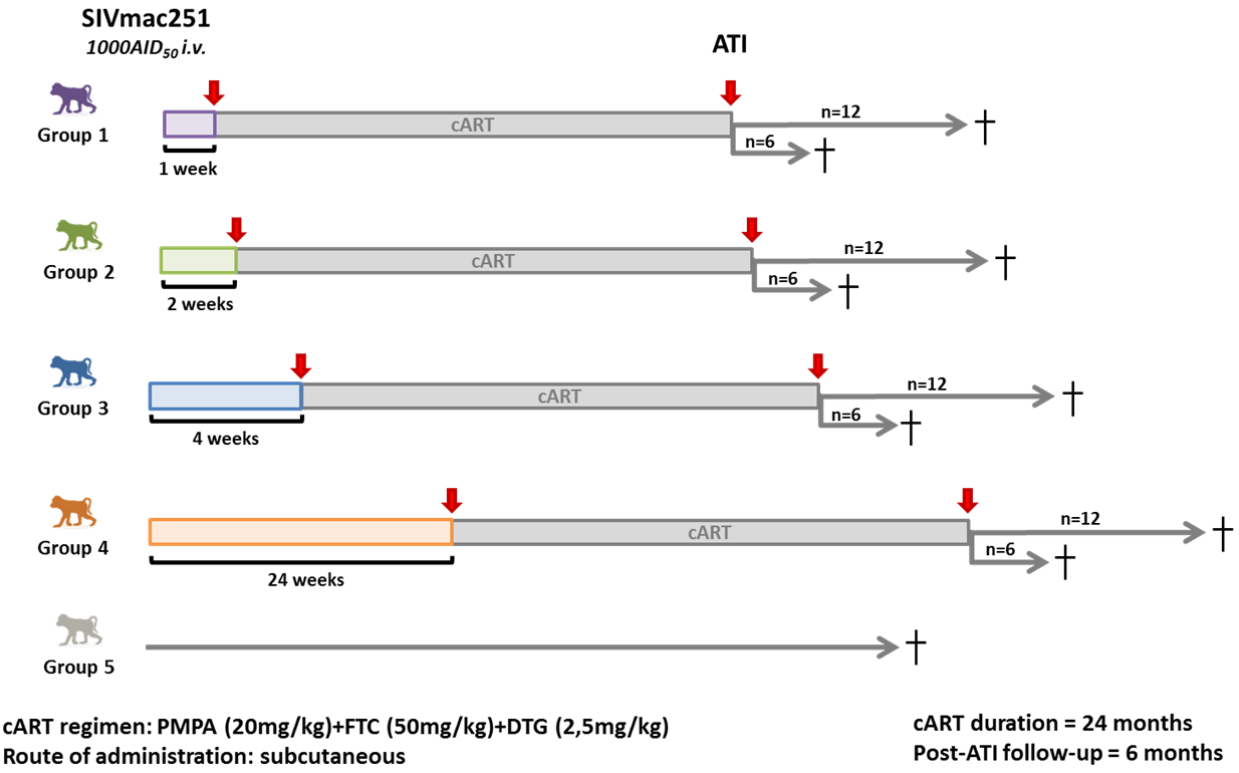



**Figure 16 : Description expérimentale du projet pVISCONTI**

4 groupes de CyM infectés par le virus SIVmac251 (Simian Immunodeficiency Virus macaque souche 251) et traités à différents moments après l'infection et un groupe contrôle sont comparés. Le premier groupe est traité une semaine après l'infection, le deuxième à 2 semaines post infection, le troisième un mois après l'infection et le quatrième 24 semaines après l'infection. Le cinquième groupe est le groupe contrôle et ne sera pas traité. Le traitement comprend 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, l'emtricitabine et le ténofovir et un inhibiteur de la protéase, le dolutégravir et dure 2 ans.

## II. OBJECTIF DE L'ETUDE

Concernant les cellules MDSC, leur dynamique depuis la moelle osseuse vers le sang ainsi que le moment de leur apparition au cours de l'infection par le VIH est encore mal compris. Par ailleurs, la compréhension des signaux induisant la production et la mobilisation des MDSC dans cette infection permettrait de mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de cibler cette population suppressive.

L'objectif de mon étude est de suivre la dynamique des MDSC depuis le site de production, la moelle osseuse, vers le sang par cytométrie en flux, chez une cohorte de primates non humains inclus dans le projet p-VISCONTI. Cette étude sera menée chez des animaux infectés et chez des animaux infectés et traités par thérapie antirétrovirale pour évaluer l'impact du traitement sur la dynamique des MDSC. Afin de contrôler la date de l'infection, de réaliser des prélèvements répétés et d'observer l'impact du traitement antirétroviral, nous utilisons un modèle primate non-humain (PNH) pertinent dans l'étude du VIH. Le macaque cynomolgus infecté par le virus SIVmac251 est utilisé comme modèle animal car il est notamment possible de reproduire les voies d'exposition et les voies de contamination naturelles de l'Homme. Ces primates ont en effet la possibilité d'être infectés par voie vaginale, rectale et sanguine tout comme l'humain. D'autre part, la transposition est facile car il possède les mêmes intervenants cellulaires, cytokiniques et protéiques que l'Homme. Le système immunitaire des macaques est en tout point comparable à celui de l'Homme. Il existe une réponse humorale et cellulaire dont la cinétique d'apparition après l'infection SIV est parfaitement décrite. L'agent infectieux se réplique ainsi de façon analogue chez l'humain et le macaque. Ces derniers développent les mêmes atteintes cliniques lors d'une infection et les principales techniques de détection du virus chez l'Homme sont utilisables après adaptation pour le macaque. Tous ces points font du macaque *Cynomolgus* un bon modèle animal pour l'étude de l'infection par le SIV. L'accès au suivi durant la primo-infection ainsi que la possibilité de pouvoir réaliser des prélèvements itératifs font des modèles de PNH infectés par le virus SIV les meilleurs modèles animaux disponibles en recherche pré-clinique translationnelle.

# III. MATERIEL

## 1) Modèle expérimental d'infection par le virus SIVmac251 et prélèvements

Afin de réaliser ce projet, nous travaillons sur des échantillons sanguins et des échantillons de moelle osseuse de macaques *Cynomolgus* provenant de 2 groupes de 6 animaux. Les macaques ayant un haplotype H6 sont exclus car ils sont connus pour contrôler l'infection[87]. Ces 2 groupes ont été infectés par voie intraveineuse d'une dose infectieuse animale 50% de 1000 (1000AID50) par la souche SIVmac251. Le SIV est un virus phylogénétiquement proche du VIH et le SIVmac251 infecte spécifiquement le macaque *Cynomolgus*. Il reproduit le tableau clinique classique de l'infection en ciblant les mêmes cellules que le VIH chez l'humain. En effet, il reproduit la dynamique de déplétion des

cellules T CD4+, la réplication virale observée chez les patients infectés par le VIH-1 et les traitements antirétroviraux utilisés chez l'homme permettent de contrôler le virus [88]. Le premier groupe de macaques est traité 28 jours après infection alors que le deuxième groupe est traité 168 jours après infection. Le traitement comprend 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, l'emtricitabine et le ténofovir, et un inhibiteur de l'intégrase, le dolutégravir. Les animaux sont traités quotidiennement par voie sous-cutanée pendant 2 ans.

Les prélèvements de sang ont été réalisés avec des tubes héparinate de lithium et ceux de moelle osseuse avec des tubes de citrate de sodium. Les échantillons de sang et de moelle osseuse ont été traités dans l'heure suivant le prélèvement.

Les analyses ont été prévues comme indiqué ci-dessous.

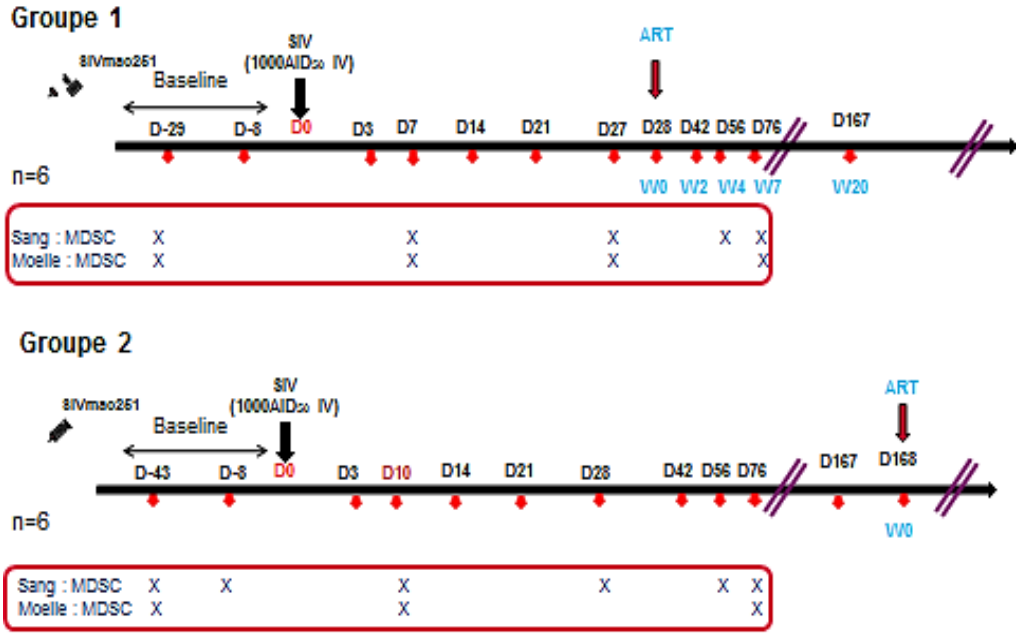



**Figure 17 : Calendrier des analyses**

Suivi des analyses effectuées sur le sang et la moelle pour le groupe 1 et 2

L'objectif de cette étude est d'analyser les MDSC au cours de la primo-infection SIV, de la phase chronique et d'observer l'impact de la date d'initiation du traitement antirétroviral. Pendant la primo-infection SIV : pour le groupe 1, j'ai analysé par cytométrie en flux les MDSC le jour 7 et le jour 27 (semaine 4) dans le sang et la moelle osseuse et pour le groupe 2, j'ai analysé les MDCS dans le sang et la moelle osseuse le jour 10. J'ai également effectué

une analyse sur le sang le 28e jour (semaine 4) pour le groupe 2. Pour étudier l'impact du traitement sur le MDCS, je vais comparer différents points dans le temps entre les 2 groupes : j'ai effectué des analyses sur les jours 56 et 76 post-infection correspondant à la semaine 4 et à la semaine 7 post-traitement pour le groupe 1.

### 2) Anticorps utilisés pour la cytométrie en flux

Afin de réaliser les expériences de cytométrie en flux, j'ai utilisé un panel d'anticorps déjà mis au point (choix des anticorps, association avec le fluorochrome). Les anticorps utilisés sont récapitulés dans le tableau 1 (Table 1).

## IV. METHODES

### 1) Isolement des PBMC et des BMMC

Les fractions de cellules mononuclées du sang périphériques (PBMC pour *Peripheral Blood Mononuclear Cells*) et de la moelle osseuse (BMMC pour *Bone Marrow Mononuclear Cells*) sont isolées à partir de sang total et de la moelle osseuse provenant des animaux. La méthode par gradient de densité (Ficoll) est utilisée car elle permet de séparer les cellules mononucléées des granulocytes et érythrocytes.

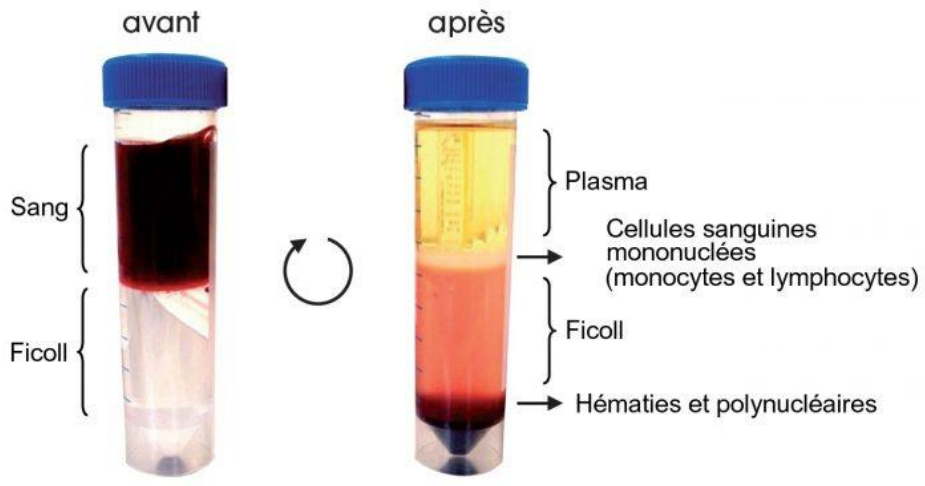



**Figure 18 : Schéma du principe de la séparation sur Ficoll**

Apres centrifugation, les cellules mononuclées se rassemblent en un anneau opaque au dessus du Ficoll.

| Anticorps | Clone | Fluorochrome | Fournisseur | Marqueurs caractéristiques |
|---|---|---|---|---|
| CD11b | ICRF44 | V450 | BD | Lignée myéloïde |
| CD45 | D058-1283 | V500 | BD | Lignée hématopoïétique |
| CD3 | SP34.2 | BV650 | BD | Lymphocytes T |
| CD8a | RPAT8 | | BD | Lymphocytes T/NK |
| CD20 | 2H7 | | BD | Lymphocytes B |
| CD14 | M5E2 | FITC | BD | Monocytes |
| CDw125 | A14 | PE | BD | Eosinophiles |
| CD10 | HI10a | PerCP-Cy5.5 | Biolegend | Granulocytes matures |
| CD33 | AC104,3E3 | PE-vio770 | Miltenyi | Lignée myéloïde |
| HLA-DR | L234 | AF700 | Biolegend | Activation |
| CD66 (A,B,C,E) | TET2 | APC-Vio770 | Miltenyi | Granulocytes |

**Tableau 1 : Table des anticorps utilisés lors des expériences de cytométrie en flux**

## 2) Protocole de marquage et cytométrie en flux

### *a. Principe de la cytométrie en flux*

La cytométrie en flux est une technique permettant d'étudier pour une suspension de particules (notamment des cellules), les caractéristiques de chaque particule telles que des caractères morphologiques comme la taille et la granulosité, mais aussi les antigènes de surface ou cytoplasmiques grâce à l'utilisation de marqueurs fluorescents. Les cellules en suspension (système fluidique) passent devant des lasers (système optique) en un flux de cellules uniques grâce à un centrage hydrodynamique et des détecteurs captent les signaux émis : la lumière diffractée mesurée en face du rayon laser permet d'évaluer la taille des cellules (paramètre FSC), et la lumière diffractée, mesurée à 90°de l'axe du laser (paramètre SSC) donne une mesure de la granularité de la cellule. L'utilisation de fluorochromes associés à des anticorps permet de détecter, de manière spécifique, la présence des molécules comme les marqueurs du Cluster de Différenciation (CD). Ces signaux lumineux sont convertis par

un système électronique (photomultiplicateurs) en signaux électroniques qui vont être ensuite analysés par un ordinateur.

### b. *Marquage extracellulaire et de viabilité*

Les marquages sont réalisés à partir des anticorps présentés dans la Table 1 dilués dans une solution de PBS contenant un marqueur de viabilité LIVE/DEAD BlueVid (ThermoFisher) permettant de discriminer les cellules vivantes des cellules mortes. Afin d'éviter l'adsorption non spécifique des anticorps sur les cellules, les culots cellulaires frais contiennent 2 millions de cellules qui sont resuspendues dans du milieu de culture avec 10% de sérum de macaque avant marquage. Après saturation des sites non spécifiques de liaison des anticorps, les cellules sont marquées avec le mélange d'anticorps. Les cellules sont ensuite lavées 2 fois avant de les fixer dans 200 µL de CellFix 1X (BD Biosciences).

### c. *Analyse FACS*

Les données de nos marquages sont acquises à l'aide d'un cytomètre en flux Fortessa (BD Biosciences) équipé de 5 lasers (355, 405, 488, 561, 640 nm) et les résultats sont analysés grâce au logiciel FlowJo.

## V. RESULTATS

### 1) Caractérisation des MDSC chez le macaque

La stratégie de fenêtrage (« gating strategy ») pour l'analyse des MDSC est présentée dans la Figure 19. L'analyse commence par l'exclusion des doublets, signaux qui parasitent l'analyse. Les cellules vivantes sont sélectionnées grâce au Live/Dead. Les leucocytes sont définis sur la base de l'expression de CD45.

Grâce à la taille (FSC) et à la granulosité (SSC), les cellules granuleuses et les cellules myéloïdes ont pu être sélectionnées. Les lymphocytes ont été exclus avec les marqueurs CD3, CD8a et CD20.

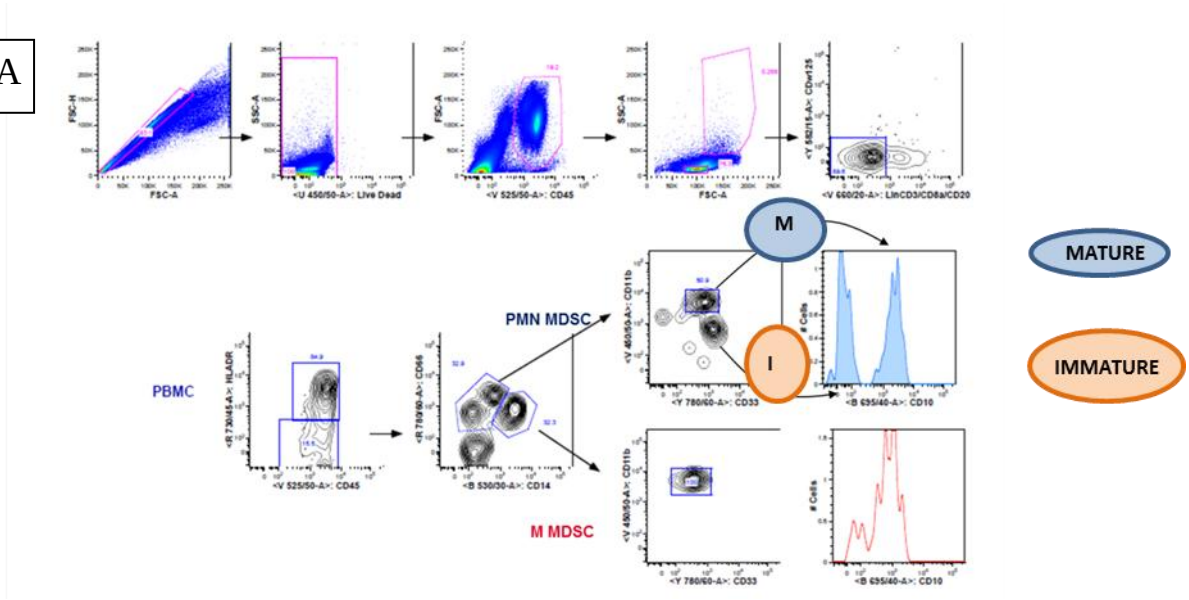
Les MDSC ont été définis par l'absence de HLADR, molécule du CMH de classe II permettant notamment la présentation antigénique par les cellules dendritiques. Les PMN-MDSC sont des cellules suppressives d'origine granulocytaire caractérisées par l'expression du CD66abce et l'absence d'expression du CD14. Le CD14 forme le récepteur au LPS, le TLR4, qui est le marqueur caractérisant les monocytes. Les PMN-MDSC ont été distingués des M MDSC en utilisant le CD14 et le CD66 et qui nous permettra d'identifier les M-

MDSC. Enfin, CD11b et CD33, marqueurs des cellules myéloïdes, ont été utilisés pour sélectionner les populations de MDSC pures.

En utilisant le marqueur CD10, nous pouvons distinguer les populations de neutrophiles matures et immatures dans le sang (Figure 19A). On peut observer qu'il y a 2 populations matures et immatures au sein des PMN-MDSC sur la base du marqueur CD10 et que celles qui sont CD10 faibles ont une expression moins forte de CD66.

Dans la moelle osseuse, on ne distingue qu'une population de PMN-MDSC (Figure 19B): des PMN-MDSC immatures car ils ont une faible expression des marqueurs CD66 et CD10.

A



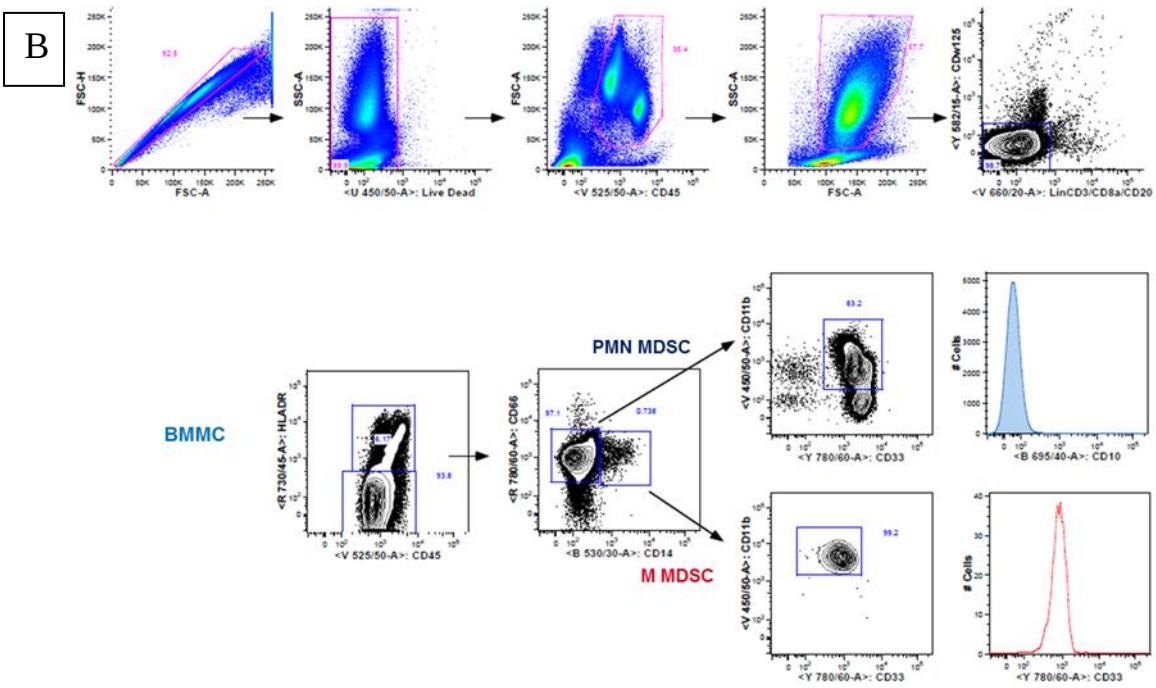



**Figure 19 : Stratégie d'analyse des MDSC dans le sang (A) et dans la moelle osseuse (B)**

## 2) Etude de la dynamique des MDSC au cours de la primo-infection, en phase chronique et sous traitement antirétroviral

### *a. Caractérisation des MDSC avant l'infection*

Les cellules granuleuses ne sont normalement pas présentes après un Ficoll dans le sang et la moelle osseuse.

Or dans la moelle osseuse, nous avons observé beaucoup de cellules granuleuses qui correspondent à des neutrophiles de faible densité (LDN), des neutrophiles immatures qui sont CD10 faible (population entourée en rouge dans la Figure 20).

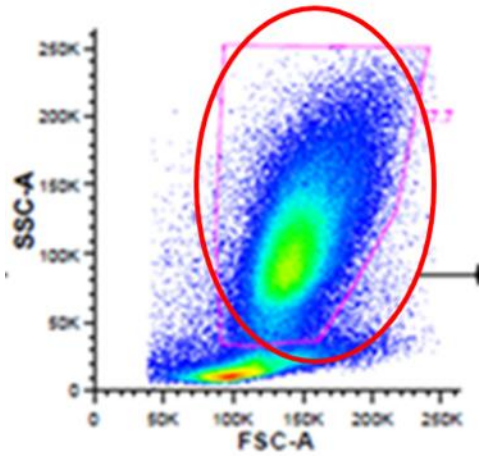



**Figure 20 : Cellules granuleuses observées dans la moelle osseuse**

Cellules granuleuses entourées en rouge.

### *b. Caractérisation des MDSC en primo-infection*

L'infection des animaux des 2 groupes expérimentaux a eu en même temps. Les animaux du groupe 1 sont rentrés en traitement 4 semaines après l'infection et j'ai pu suivre les 2 groupes pendant les 2 mois qui ont suivi correspondant au J76 post-infection (soit semaine 7 post-traitement pour le groupe 1 : Figure 17). Concernant la primo infection, j'ai analysé pour le groupe 1 le J7 et le J27 post-infection. Pour le groupe 2, le J10 et J28 post infection. Les résultats présentés dans la Figure 21 montrent la dynamique des MDSC au cours de la primo-infection, jusqu'à 4 semaines suivant l'infection, dans le sang (Figure 21A) et la moelle osseuse (Figure 21B) pour les 2 groupes expérimentaux.

Pour les analyses réalisées sur le sang avant l'infection (baseline) et à J27 (groupe 1/semaine 4) et J28 (groupe 2/semaine 4) post-infection, les données des 2 groupes ont été regroupées (Figure 21A). Pour le groupe 2 à J10 post-infection, nous n'avons pas eu de PBMC pour réaliser cette analyse. Sur la Figure 21A sont montrées les seules données du groupe 1 à J7 post-infection correspondant à la semaine 1.

Pour les analyses réalisées sur la moelle osseuse (Figure 21B), les données des 2 groupes ont également été regroupées en baseline et à J7 (groupe 1/semaine 1) et J10 (groupe 2/semaine 1) post-infection. A J27 post-infection, seul le groupe 1 a été analysé.

La séparation des cellules sanguines par Ficoll met en évidence la présence de faibles pourcentages de M-MDSC et PMN-MDSC dans le sang. Dans la moelle osseuse, la fraction

de faible densité contient plus de cellules granuleuses qui sont des précurseurs et des neutrophiles immatures, comme confirmé par leur faible expression de CD10.

Dans le sang, lorsque nous avons comparé la fréquence des MDSC pour les 12 animaux entre la baseline (avant l'infection) et 4 semaines après l'infection, nous avons observé une augmentation significative des M-MDSC et une plus faible augmentation des PMN-MDSC (Figure 21A, test statistique Wilcoxon).

Dans la moelle osseuse, lorsque nous avons comparé la fréquence des MDSC pour les 12 animaux, nous avons pu noter que les M-MDSC ont augmenté de manière significative entre la baseline et la 4ème semaine après l'infection. Pour les PMN-MDSC, une très faible diminution a été observée entre la baseline et la première semaine après l'infection (Figure 21B, test statistique Wilcoxon).

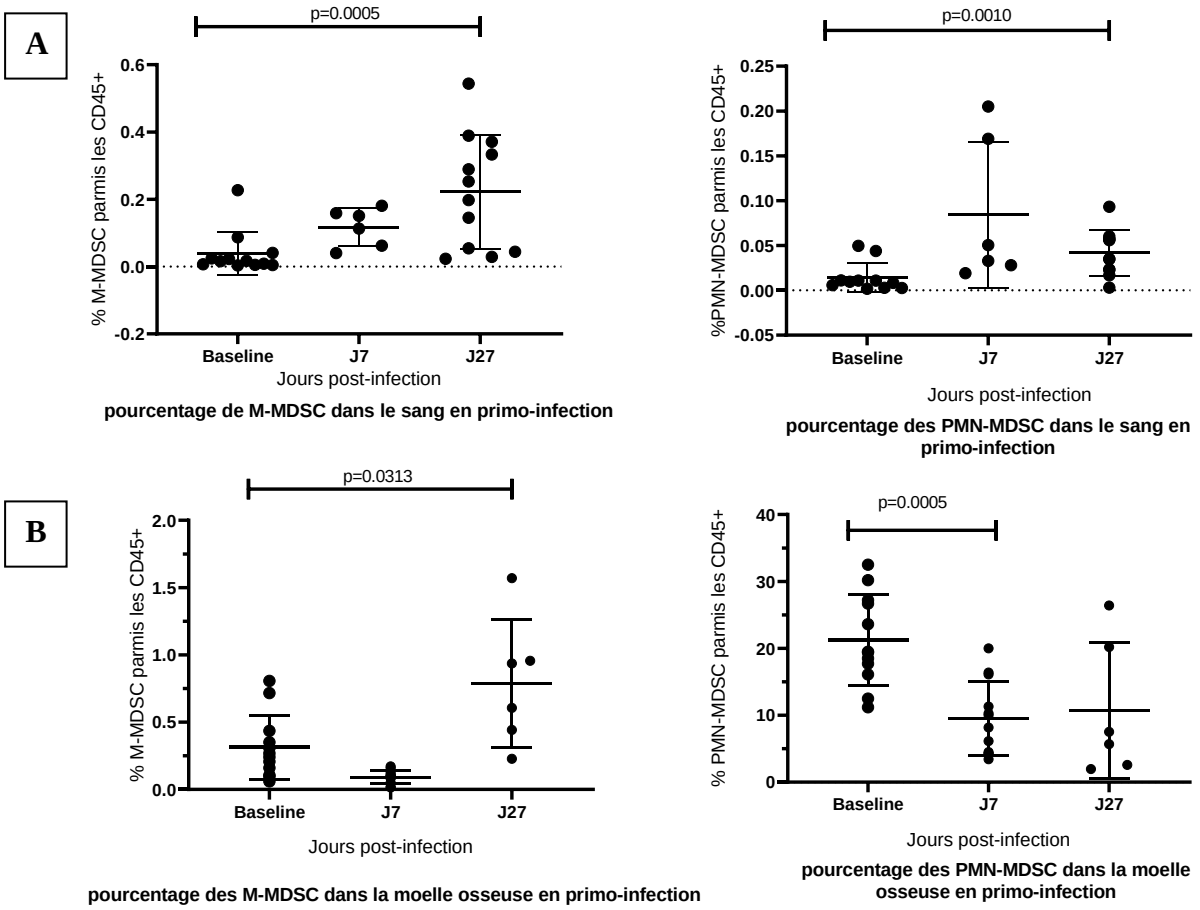



**Figure 21 : Fréquence des PMN-MDSC et des M-MDSC observés dans le sang (A) et la moelle osseuse (B) avant l'infection et au cours des 4 semaines suivant l'infection**

### c. *Caractérisation des MDSC en phase chronique*

La caractérisation des MDSC en phase chronique a été réalisée uniquement sur le groupe 2 jusqu'à 12 semaines post-infection, soit J83. Le groupe 1 ayant initié le traitement ART 28 jours après l'infection.

Nous confirmons la diminution du taux de PMN-MDSC dans la moelle osseuse en phase chronique (12 semaines post-infection), diminution observée à J28 (Figure 22, test statistique Wilcoxon). Dans le sang, pas de différence significative a été observée pour les PMN-MDSC entre J28 et J83. Pour les M-MDSC pas de différence significative a été observée que ce soit dans le sang. En revanche une diminution significative a été observée dans la moelle osseuse.

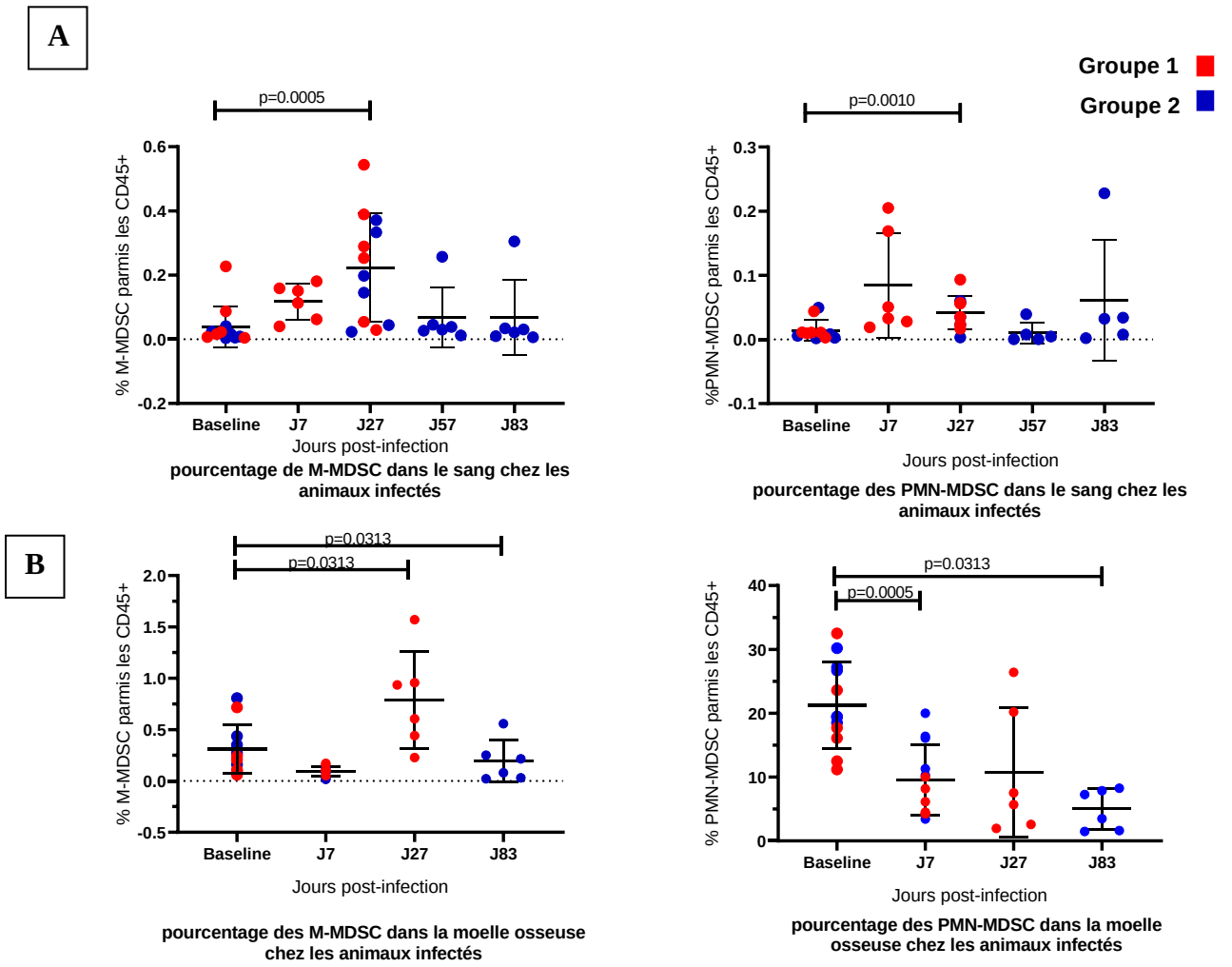



**Figure 22 : Fréquence des PMN-MDSC et des M-MDSC observés dans le sang (A) et la moelle osseuse (B) en phase chronique**

### d. *Impact du traitement sur les MDSC*

Pour évaluer l'impact du traitement sur les différentes populations de MDSC, nous avons comparé le groupe 1 traité et le groupe 2 en phase chronique soit 7 semaines post traitement pour le groupe 1 et J83 post infection pour le groupe 2.

Le résultat le plus significatif montre que le pourcentage de PMN MDSC chez les animaux traités est proche de la baseline et qu'en l'absence de traitement il y a un épuisement des PMN MDSC dans la moelle osseuse (Figure 23, test statistique Mann Whitney).

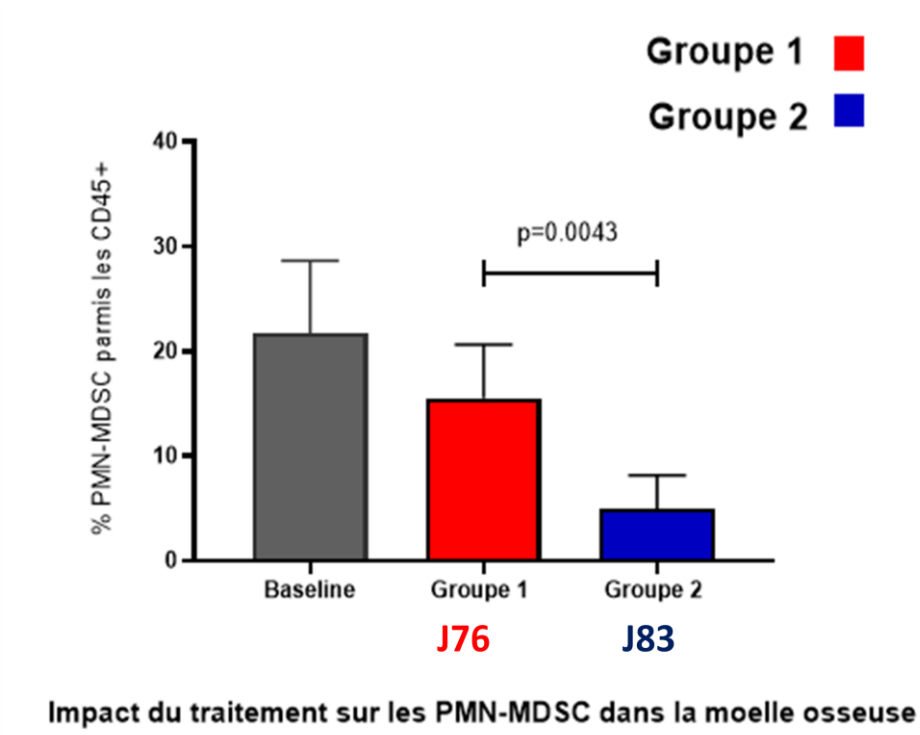



**Figure 23 : Impact du traitement sur les PMN MDSC dans la moelle osseuse**

# C. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

## I. Dynamique des cellules myéloïdes suppressives dans le modèle d'infection de primate non humain par le virus SIVmac251

Lors de l'étude menée chez le primate non humain, l'objectif était de caractériser la dynamique des cellules MDSC au cours de l'infection par le virus SIVmac251 et d'évaluer l'impact d'un traitement ARV sur cette dynamique.

Nous obtenons des résultats assez similaires que ce qui est décrit. Ces résultats bien que préliminaires ont permis de montrer que l'infection par le virus SIVmac251 induisait un augmentation des MDSC en primo-infection (J28) dans le sang. En effet, nous avons observé une augmentation des M-MDSC dans le sang et la moelle osseuse 4 semaines après l'infection (Figure 21). Une augmentation des PMN-MDSC est également retrouvée dans le sang mais une diminution dans la moelle osseuse une semaine après l'infection (Figure 21). En phase chronique de l'infection, soit 12 semaines post-infection, la diminution des PMN MDSC observée dans la moelle osseuse à J28 est confirmée à J83 (Figure 22).

Pour les données sur le sang à J83, nous n'avons pas observé une augmentation franche des MDSC car nous sommes encore trop tôt dans la phase chronique.

Des analyses à des temps plus tardifs en phase chronique de l'infection sont prévues sur le groupe 2 afin de déterminer si une augmentation des MDSC est observée dans le sang plus tardivement au cours de l'infection.

Les analyses réalisées sur le groupe 1 nous ont permis d'observer l'impact du traitement antirétroviral qui a maintenu le taux de PMN MDSC proche de la valeur de base (Figure 23).

Il est important de noter ici que nous sommes en phase préliminaire des analyses. Certaines modifications pourraient être effectuées pour affiner ces résultats. La gating stratégie pourrait ainsi être améliorée. La capacité suppressive des MDSC pourrait être évaluée en dosant par exemple l'arginase et l'oxyde nitrique synthase inductible dans les surnageants de culture de MDSC co-cultivées avec des lymphocytes T autologues.

A terme, l'ensemble des données collectés au cours de l'étude seront mis en perspective en fonction des données concernant les marqueurs inflammatoires circulants (cytokines, chimiokines, facteurs de coagulation), les données virologiques, ainsi que les données relatives à l'activation des lymphocytes T et des neutrophiles circulants, ce qui permettra d'avoir une vue d'ensemble du profil inflammatoire au cours de l'infection par le SIV et chez des animaux traités à différents temps post-infection. La compréhension des signaux induisant la production et la mobilisation des MDSC dans cette infection permettrait de mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de cibler cette population suppressive. L'objectif final sera d'observer le paysage inflammatoire au cours de l'infection par le SIV afin de mieux comprendre les facteurs immunologiques à l'origine de l'apparition des MDSC.

## II. Stratégies en développement pour l'éradication du VIH

La guérison ou l'éradication semble difficile du fait des réservoirs viraux, difficilement accessibles aux traitements et au système immunitaire, ce qui complique l'éradication complète du virus et la guérison définitive en dehors de l'exception du patient de Berlin. Le traitement en primo-infection a permis d'atteindre une rémission chez certains patients. Un état de rémission semble donc possible au vue des exemples exposés, bébé du Missisipi, PTC mais il reste encore des éléments à comprendre.

Plusieurs stratégies sont à l'étude :

Une des stratégies consiste à réactiver le virus latent dans les réservoirs. Cette stratégie, nommée « shock and kill » consiste à stimuler la réplication du virus latent dans les cellules infectées (« shock ») [89]. Ces dernières deviennent alors visibles par le système immunitaire et les antirétroviraux et seront ainsi détruites (« kill »). Parmi les molécules capables d'activer la réplication du virus on retrouve les inhibiteurs des histones désacétylases (HDACis) et notamment la romidepsine, le vorinostat ou encore le panobinostat [89] qui augmentent l'accessibilité à l'ADN en réduisant sa compaction et donc favorisent sa transcription. Les histone-désacétylases (HDAC) permettent elles le maintien de l'infection au VIH dans un état latent [90]. D'autres molécules telles que les inhibiteurs de la méthylation de l'ADN (inhibiteurs de l'ADN méthyl-transférase (DNMTI)) et les inhibiteurs de la méthylation des histones (inhibiteurs des Histone-méthyl-transférases (HMTIs)) permettent également la transcription de l'ADN viral. Le relargage de P-TEFb qui est un facteur positif d'élongation de la transcription par des inducteurs de P-TEFb active aussi la transcription. Enfin, l'activation de facteurs de transcription, en utilisant par exemple la prostratine qui est une protéine kinase C (PKC) qui active la voie NF-ķB [91], favoriserait l'activation des lymphocytes T et la transcription du VIH *in vitro* [92].

Plusieurs stratégies visent par ailleurs à rendre les lymphocytes T CD4 résistants au VIH. La première technique est la thérapie génique. Grace à la thérapie génique, l'expression de gènes du VIH peut être modifiée. L'utilisation de nucléases à doigt de zinc permet de modifier l'ADN. L'avantage de cette approche par rapport à l'intégration des vecteurs viraux réside dans le fait qu'elle permet d'éviter les événements aléatoires d'intégration du génome qui peuvent mener à l'oncogenèse. Les résultats des premiers essais cliniques chez 12 patients infectés par le VIH et traités par ART qui ont reçu des cellules T autologues transduites avec une nucléase à doigt de zinc inhibant l'expression du CCR5 ont montré que cette technique

était sure et bien tolérée et a démontré l'efficacité du traitement chez un patient (ARN VIH indétectable) [93]. D'autres techniques ont été ensuite utilisées, comme les Transcription Activator Like Effector Nucleases (TALENs) ciblant les gènes codant les corécepteurs CCR5 ou CXCR4, ou ciblant les gènes codant une protéine impliquée dans l'intégration de l'ADN viral comme la protéine LEDGF/p75 [94] et les CRISPR-Cas9 [95]. Ces résultats sont encourageants pour le développement de stratégies de traitement basées sur la thérapie génique qui pourrait permettre d'obtenir une rémission fonctionnelle.

Les cellules T *Chimeric Antigen Receptor* (CAR-T), utilisées dans la lutte de certains cancers, pourraient changer la stratégie de traitement. Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T modifiés génétiquement et qui ont à leur surface des récepteurs chimériques dirigés contre le VIH et ses particules présentes à la surface des cellules infectées. Elles pourraient permettre d'éliminer les lymphocytes T infectés par le VIH et d'assurer une immunité pendant au moins 2 ans [96]. En effet, ces cellules étant des cellules souches, elles ont migré dans la moelle osseuse et ont entrainé la destruction des cellules infectées. Elles ont continué à se multiplier dans la moelle osseuse pendant 2 ans sans effet indésirable. L'une des limites de l'immunothérapie utilisant les cellules CAR-T est qu'elles ne reconnaissent et ne tuent que les cellules hébergeant des épitopes du VIH, alors qu'elles ne reconnaissent pas les cellules infectées latentes qui n'expriment pas d'épitopes du VIH [97]. Cette stratégie pourrait être combinée à des agents réactivant le virus latent pour tenter d'éradiquer complètement le VIH.

La seconde technique permettant de rendre les lymphocytes T CD4 résistant au VIH est la transplantation par greffe de moelle osseuse avec le corécepteur CCR5 muté. Après 45 mois d'arrêt de la trithérapie chez un patient infecté par le VIH recevant une greffe de moelle osseuse avec la mutation Δ32 du CCR5, il a été montré que l'ARN et l'ADN VIH étaient indétectables dans le sang et les tissus [49]. Les thérapies cellulaires pourraient également être utilisées en combinaison avec des thérapies à base d'anticorps neutralisants à large spectre, *broadly neutralizing antibodies* (bNAbs) qui pourraient entraîner une plus grande suppression du VIH. En effet, les bNAbs sont des Ac capables de reconnaitre plusieurs souches du VIH et sont produits par un petit nombre de patients qui contrôlent l'infection. Ces bNAbs fournissent une réactivité croisée très puissante qui cible les épitopes Env partagés entre différents clades de VIH. Ils peuvent prévenir l'infection en neutralisant directement les virions, ce qui prévient l'infection et accélère le déclin de la virémie par la clairance virale à médiation anticorps. Une étude chez les PNH a montré qu'ils offraient une protection contre le SHIV [98]. Les bNAbs peuvent se lier aux cellules infectées et médier l'activité antivirale

par le biais d'interactions Fc-FcR qui engagent les cellules NK pour l'ADCC ou les macrophages pour la phagocytose et la destruction cellulaire. De plus, les complexes immunitaires formés par les bNAbs liés à l'antigène viral peuvent être absorbés par les cellules dendritiques et stimuler les réponses immunitaires adaptatives de l'hôte, lymphocytes T cytotoxiques antiviraux et maturation des cellules B [99]. En utilisant des vecteurs de virus adéno-associés (AAV) porteurs de transgènes codant pour les bNAbs, ces anticorps peuvent être produits directement à partir du tissu musculaire où les AAV ont été délivrés. Cette nouvelle stratégie, également appelée immunoprophylaxie vectorisée, a montré dans des études précliniques une production et un maintien des titres d'Ac anti-VIH/SHIV qui confèrent une protection contre l'infection par le VIH/SHIV [100].

Parmi les stratégies utilisant les cytokines. IL-7 contribue à la survie et à la prolifération des lymphocytes T et au maintien de la longévité des LT CD8+ mémoires. Les essais cliniques utilisant l'IL-7 ont montré une augmentation des taux de lymphocytes T circulants, mais aucune réduction du réservoir viral n'a été observée [69]. L'IL-15 est essentielle au développement, au maintien et à l'expansion des cellules T CD8+ mémoires et améliore le maintien et la survie des cellules NK. Le traitement par l'IL-15 a donné des résultats prometteurs dans le modèle de PNH, car ces études ont montré une augmentation de la prolifération et de la cytotoxicité des LT CD8+ spécifiques du SIV et du trafic vers les follicules des lymphocytes B dans les ganglions lymphatiques, tout en limitant également les titres d'ARN SIV et d'ADN SIV [101]. Ce traitement induit également la prolifération des cellules NK. Les études précliniques utilisant des PNH seront primordiales pour tester l'innocuité et l'efficacité des nouvelles thérapies combinées pour la rémission au VIH.

Une autre stratégie en cours de développement consiste à restaurer une réponse des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques anti-VIH par blocage des récepteurs inhibiteurs tels que le PD-1 et CTLA-4. Ces récepteurs se trouvent à la surface des lymphocytes T et leur rôle est d'inhiber l'activation des lymphocytes T. Lors de l'infection par le VIH, ils sont fortement exprimés à la surface des lymphocytes T. En les bloquant grâce à des anti PD-1 les lymphocytes T sont capables de proliférer et de sécréter des molécules effectrices [102]. Dans une autre étude menée chez un patient séropositif VIH atteint d'un cancer du poumon, le traitement par nivolumab, anti PD-1, a rétabli la fonction des lymphocytes T CD8 spécifiques du VIH et réduit l'ADN VIH et donc les réservoirs viraux [103]. Le blocage de CTLA-4 avec l'ipilimumab chez une personne séropositive au VIH sous ART a permis une augmentation du taux d'activation des lymphocytes T CD4+ et induit une diminution de l'ARN du VIH

plasmatique [104]. Bloquer les points de contrôle immunitaires pourrait activer les cellules infectées de façon latente.

Plusieurs stratégies vaccinales sont en cours pour stimuler l'immunité protectrice contre le VIH, y compris celles qui combinent l'induction de réponses cellulaires et humorales. Le VIH est classé en 3 groupes selon sa sensibilité à la neutralisation par des Ac : ceux qui sont facilement neutralisables sont classés Tier1, et les plus difficiles à neutraliser sont classés Tier3. La plupart sont du groupe Tier2. Depuis le début de l'épidémie de nombreux essais sur des vaccins prophylactiques ont été menés mais n'ont pas été concluants, hormis l'essai Thaï où une protection de 32,1% de la population vaccinée a été observée. Depuis cet essai, de nouveaux vaccins sont en cours de développement et utilisent la stratégie « prime-boost ». Notamment l'essai HVTN702, nouvelle version du vaccin Thaï, comprend 2 injections. D'abord, le « prime » qui contient l'ADN codant pour les protéines du VIH puis le « boost » qui lui contient les protéines déjà constituées. Un autre essai, l'essai Approach dont le but est de développer un vaccin mosaïque visant plusieurs souches du VIH, a eu des résultats encourageants. Le prime est composé d'ARN codant les protéines gag, pol et env du VIH encapsidées dans des vecteurs viraux comme l'adénovirus sérotype 26 (Ad26), qui va stimuler les réponses immunitaires, et le boost est constitué de la gp140 qui va renforcer la réponse immunitaire spécifique anti-VIH induite. Plusieurs combinaisons « prime-boost » ont été testées dans cet essai afin de trouver celle qui provoquera la meilleure réponse. En parallèle aux essais chez l'homme pour évaluer la sureté et l'immunogénicité du vaccin, des essais chez le macaque ont été réalisés dans le but d'évaluer l'efficacité. Les résultats chez l'homme ont révélé une innocuité et une tolérabilité favorables. Le vaccin mosaïque constitué de 2 primes Ad26 et de 2 boosts gp140 à dose élevée est le plus immunogène chez l'humain ; il a provoqué une réponse humorale chez 100 % des participants à la semaine 52 post vaccination, et des réponses cellulaires à la semaine 50 post vaccination chez 83 % des participants. Ce régime de vaccination a induit une réponse immunitaire chez le singe similaire à celle de l'homme et une efficacité de protection de 67 % a été observée contre le virus de l'immunodéficience simienne-humaine chez les singes rhésus [85].

Enfin l'essai Imbokodo, qui fait suite à ces résultats et inclut 2 600 jeunes femmes séronégatives apportera ses résultats pour 2021.

La récente découverte du rôle de l'activité métabolique des lymphocytes T CD4+ dans leur infection par le VIH ouvre la voie de nouvelles stratégies thérapeutiques. En effet, il a été

montré qu'une inhibition partielle de la glycolyse par le 2 desoxy glucose (2-DG), inhibiteur compétitif de la glycolyse, a bloqué la réplication du VIH-1 *in vitro* dans tous les sous-ensembles de lymphocytes T CD4+, a éliminé les cellules infectées et a empêché l'amplification du VIH-1 à partir des réservoirs [18]. D'autres inhibiteurs métaboliques comme l'etomoxir, inhibiteur de l'oxydation des acides gras, a un effet limité sur la réplication du VIH dans des conditions sous-optimales, surtout dans les cellules TEM (CCR7−; CD45RO+), mais inhibe fortement l'infection à des concentrations plus élevées. Le 6-diazo-5-oxo-l-norleucine (DON), antagoniste de la glutamine bloque la réplication virale. L'inhibition du transport du pyruvate vers les mitochondries bloquée par UK5099 bloque également l'infection par le VIH et montre que l'oxydation du glucose est importante pour l'infection à VIH-1.

L'intégrine α4β7, exprimée par les lymphocytes T CD4+, T CD8+, les lymphocytes B, les cellules NK et les macrophages, joue un rôle dans le *homing* des lymphocytes, notamment des lymphocytes T CD4+ Th17 au niveau du tissu lymphoïde associé au tube digestif. En effet, elle permet la migration des lymphocytes Th17 vers l'intestin. Ce mécanisme implique une interaction spécifique avec la *mucosal addressin celladhesion molecule-1* (MAdCAM), molécule d'adhésion principalement exprimée à la surface des cellules endothéliales, et entraine le roulement du lymphocyte le long de la paroi vasculaire. Le trafic de lymphocytes à l'entrée et à la sortie du GALT, en particulier pendant la phase aiguë de l'infection, joue très probablement un rôle central dans la réplication virale, la réponse immunitaire contre les antigènes viraux et la persistance des réservoirs viraux [105]. La majorité des lymphocytes T CD4+ naïfs et une partie des lymphocytes T CD4+ mémoires expriment cette intégrine et ces cellules circulent dans les tissus lymphoïdes secondaires. Le VIH interagit avec l'intégrine α4β7 via la gp120. La fréquence des lymphocytes T CD4+ $\alpha4\beta7^{hight}$ circulants est corrélée à la fois au risque d'acquisition du VIH et au déclin des lymphocytes T CD4+ dans le sang [106]. L'utilisation d'un antagoniste de l'intégrine α4β7 pourrait bloquer l'interaction du VIH au lymphocyte. Il a été montré que les lymphocytes T CD4+ mémoires $\alpha4\beta7^{hight}$ étaient les premières cibles de l'infection par le VIH. Parmi les cellules portant ce phénotype figurent les lymphocytes Th17, qui sont également des cibles précoces de l'infection. L'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-intégrine α4β7, administré chez des macaques rhésus en primo-infection, a permis de diminuer les charges virales plasmatique et intestinale tissulaire [107]. De plus, il a été observé une augmentation des lymphocytes T CD4+ naïfs et mémoires dans le sang. Il a récemment été décrit que le vedolizumab, anticorps monoclonal anti-intégrine

α4β7, prévient la transmission du SIV, et combiné avec la thérapie antirétrovirale cet anticorps facilite le contrôle virologique durable après l'interruption du traitement [108]. Une autre étude chez le macaque rhesus infecté par le SIV et traité par ART et par un Ac anti-intégrine α4β7 a montré des charges virales indétectables et une numération normale des lymphocytes T CD4+ dans le plasma et les tissus gastro-intestinaux pendant plus de 9 mois, même après l'arrêt de cette combinaison de traitement [109]. Toutes ces études ont montré que l'administration de vedolizumab réduisait significativement l'ADN proviral intestinal. Ceci permet d'envisager ces molécules dans un but préventif et curatif. Le traitement des patients infectés par le VIH traités par ART et vedolizumab est bien toléré et réduit dans le GALT la taille et le nombre d'agrégats lymphoïdes qui sont des sites inductifs pouvant favoriser la réplication virale et contribuer aux réservoirs viraux [110].

De nouvelles thérapies spécifiques ciblant les LTh17 sont nécessaires pour la rémission de l'infection VIH. Outre l'utilisation de l'IL-21 et du vedolizumab dont les effets ont été décrits précédemment [111], des études ont révélé que l'initiation précoce du traitement antirétroviral est bénéfique pour préserver la fréquence et poly-fonctionnalité des LTh17 intestinaux [112]. Or, l'initiation précoce du traitement antirétroviral dépend d'un diagnostic précoce VIH qui reste rare et un défi même dans les pays développés.

Une nouvelle stratégie consiste à diminuer la réplication virale dans les cellules réservoirs du tractus gastro-intestinal. Des chercheurs ont découvert une molécule qui stimule la réplication virale dans les LT CD4+ intestinaux [113]. Ils ont montré que les LTh17 qui expriment CCR6+ sont très permissifs à l'infection et que chez des patients infectés par le VIH et traités par ART ces cellules contiennent une grande quantité d'une molécule, mTOR. mTOR est responsable de la forte vulnérabilité au VIH des LTCD4+ exprimant CCR6 et résidant dans l'intestin. La molécule CCR6 est responsable de l'adressage des LT CD4+ vers l'intestin. *In vitro* les études montrent une réduction considérable de la réplication du VIH en utilisant un inhibiteur de mTOR, sur des cellules de patients infectés par le VIH et dont la charge virale était indétectable. Cette découverte ouvre de nouvelles pistes vers une rémission VIH. L'utilisation d'inhibiteurs mTOR couplée au traitement antirétroviral permettrait de restaurer et protéger les LTh17 intestinaux contre l'infection et de diminuer les réservoirs du VIH.

Une autre approche est de purger les réservoirs viraux et plus particulièrement les ganglions. Il a été décrit que l'utilisation d'Ac anti-CD21 permettait de réduire la quantité de virus dans les ganglions [114]. Le traitement des FDC par le récepteur CD21 soluble (CD21s) a permis

de diminuer la quantité de virus présent dans les FDC et donc de réduire leur transmission du virus aux lymphocytes. De plus, le CD21s élimine le virus à la surface des LB. L'utilisation combinée du CD21s et d'un traitement antirétroviral permettrait d'éliminer le virus des cellules réservoirs des ganglions, de limiter la transmission aux cellules cibles (LTh, LB) et donc d'éviter les rebonds virologiques à l'arrêt du traitement [115].

Le manque d'efficacité de certains vaccins et thérapies immunitaires peut être dû à l'expansion ou à la fonction accrue des cellules immunorégulatrices dont les MDSC. Elles jouent un rôle important dans la diminution des niveaux d'activation immunitaire et d'inflammation systémique, mais en même temps, elles inhibent considérablement les effets des différentes stratégies immunothérapeutiques. De plus, les réponses cytotoxiques des lymphocytes T étant importantes pour tuer les cellules réactivées qui abritent les provirus VIH, l'atténuation des effets immunosuppressifs des MDSC pourrait être essentielle pour purger le réservoir du VIH. Des études murines utilisant des inhibiteurs d'histone désacétylases afin d'activer les réservoirs de VIH ont démontré qu'ils entrainaient une expansion des MDSC. Les MDSC joueraient ainsi un rôle dans le maintien du réservoir viral. L'identification de voies ou d'interactions spécifiques entre ces cellules immunorégulatrices pourrait être une piste essentielle à la conception de stratégies immunitaires efficaces contre le VIH. Ainsi, les MDSC pourraient être une nouvelle cible.

## III. Conclusion

Il existe de multiples obstacles à l'éradication de l'infection par le VIH et, malgré quelques avancées significatives récentes dans les modèles *in vitro*, de meilleurs modèles animaux et l'identification de plusieurs composés capables de réactiver les réservoirs viraux latents, d'autres recherches sont encore nécessaires. Il reste en autre à identifier un marqueur phénotypique des cellules infectées latentes et un biomarqueur pour prédire la réponse après l'arrêt du traitement. Une approche combinée de ces nouvelles stratégies sera très probablement nécessaire afin d'éradiquer le virus de l'organisme.

Des stratégies *in vitro* prometteuses doivent être mises à l'essai dans le cadre d'essais cliniques bien conçus et bien tolérés afin de démontrer leur validité. De multiples approches combinées seront nécessaires pour éradiquer le VIH étant donné que le VIH peut persister dans diverses populations cellulaires chez les patients sous traitement antirétroviral. L'une des plus grandes préoccupations concernant tout traitement du VIH est la capacité du virus à muter rapidement et à développer une résistance, et pour plusieurs de ces nouvelles approches, il n'existe toujours pas de données sur la capacité du virus à devenir résistant.

L'apport des modèles primates non humains, modèles de choix dans l'infection par le VIH, sont nécessaires afin de mieux comprendre la physiopathologie du VIH et les mécanismes qui concourent à une rémission, et d'initier de nouvelles pistes thérapeutiques et préventives.

## D. BIBLIOGRAPHIE


[1] M. S. Gottlieb *et al.*, « Pneumocystis Carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men. Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency », *The Journal of Urology*, vol. 128, n° 2, p. 444, août 1982.

[2] F. Barre-Sinoussi *et al.*, « Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS) », *Science*, vol. 220, n° 4599, p. 868-871, mai 1983.

[3] J. M. Baeten *et al.*, « Use of a Vaginal Ring Containing Dapivirine for HIV-1 Prevention in Women », *New England Journal of Medicine*, vol. 375, n° 22, p. 2121-2132, déc. 2016.

[4] A. Nel *et al.*, « Safety and Efficacy of a Dapivirine Vaginal Ring for HIV Prevention in Women », *New England Journal of Medicine*, vol. 375, n° 22, p. 2133-2143, déc. 2016.

[5] J.-M. Molina *et al.*, « On-Demand Preexposure Prophylaxis in Men at High Risk for HIV-1 Infection », *New England Journal of Medicine*, vol. 373, n° 23, p. 2237-2246, déc. 2015.

[6] F. Clavel *et al.*, « Isolation of a New Human Retrovirus from West African Patients with AIDS », *Science, New Series*, vol. 233, n° 4761, p. 343-346, 1986.

[7] A. Ayouba *et al.*, « Evidence for continuing cross-species transmission of SIVsmm to humans: characterization of a new HIV-2 lineage in rural Côte d'Ivoire », *AIDS*, vol. 27, n° 15, p. 2488-2491, sept. 2013.

[8] L. Etienne et M. Peeters, « Origine du VIH, une réussite émergentielle », *Virologie*, vol. 14, n° 3, p. 171-184, mai 2010.

[9] J.-C. Plantier *et al.*, « A new human immunodeficiency virus derived from gorillas », *Nature Medicine*, vol. 15, n° 8, p. 871-872, août 2009.

[10] R. S. Harris et M. T. Liddament, « Retroviral restriction by APOBEC proteins », *Nature Reviews Immunology*, vol. 4, n° 11, p. 868-877, nov. 2004.

[11] T. Hatziioannou et P. D. Bieniasz, « Antiretroviral Restriction Factors », *Curr Opin Virol*, vol. 1, n° 6, p. 526-532, déc. 2011.

[12] N. Laguette *et al.*, « SAMHD1 is the dendritic– and myeloid–cell–specific HIV–1 restriction factor counteracted by Vpx », *Nature*, vol. 474, n° 7353, p. 654-657, mai 2011.

[13] N. Aschman, W. Weissenhorn, et P. Renesto, « La tétherine, dernière amarre du VIH », vol. 16, p. 11, 2019.

[14] H. Mitsuya *et al.*, « 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 82, n° 20, p. 7096-7100, oct. 1985.

[15] M. A. Fischl *et al.*, « The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial », *N. Engl. J. Med.*, vol. 317, n° 4, p. 185-191, juill. 1987.

[16] N. Chomont *et al.*, « HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation », *Nature Medicine*, vol. 15, n° 8, p. 893-900, août 2009.

[17] C. Bacchus *et al.*, « A Single HIV-1 Cluster and a Skewed Immune Homeostasis Drive the Early Spread of HIV among Resting CD4+ Cell Subsets within One Month Post-Infection », *PLoS ONE*, vol. 8, n° 5, p. e64219, mai 2013.

[18] J. C. Valle-Casuso *et al.*, « Cellular Metabolism Is a Major Determinant of HIV-1 Reservoir Seeding in CD4+ T Cells and Offers an Opportunity to Tackle Infection », *Cell Metabolism*, déc. 2018.

[19] M. D. George et D. M. Asmuth, « Mucosal immunity in HIV infection: what can be done to restore gastrointestinal-associated lymphoid tissue function? », *Current Opinion in Infectious Diseases*, vol. 27, n° 3, p. 275-281, juin 2014.
[20] S. Yukl et J. K. Wong, « Blood and Guts and HIV: Preferential HIV Persistence in GI Mucosa », *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 197, n° 5, p. 640-642, mars 2008.
[21] J. J. Mattapallil, D. C. Douek, B. Hill, Y. Nishimura, M. Martin, et M. Roederer, « Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in multiple tissues during acute SIV infection », vol. 434, p. 5, 2005.
[22] J. M. Brenchley *et al.*, « CD4 $^{+}$ T Cell Depletion during all Stages of HIV Disease Occurs Predominantly in the Gastrointestinal Tract », *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 200, n° 6, p. 749-759, sept. 2004.
[23] M. Younas, C. Psomas, J. Reynes, et P. Corbeau, « Immune activation in the course of HIV-1 infection: Causes, phenotypes and persistence under therapy », *HIV Medicine*, vol. 17, n° 2, p. 89-105, 2016.
[24] P. J. Santangelo *et al.*, « Whole-body immunoPET reveals active SIV dynamics in viremic and antiretroviral therapy-treated macaques », *Nat Methods*, vol. 12, n° 5, p. 427-432, mai 2015.
[25] M. Perreau *et al.*, « Follicular helper T cells serve as the major CD4 T cell compartment for HIV-1 infection, replication, and production », *J Exp Med*, vol. 210, n° 1, p. 143-156, janv. 2013.
[26] K. Kaczmarek, A. Morales, et A. J. Henderson, « T Cell Transcription Factors and Their Impact on HIV Expression », *Virology (Auckl)*, vol. 4, p. 41-47, sept. 2013.
[27] O. Bourry *et al.*, « Effect of a short-term HAART on SIV load in macaque tissues is dependent on time of initiation and antiviral diffusion », *Retrovirology*, vol. 7, p. 78, sept. 2010.
[28] K. A. Thompson *et al.*, « Astrocyte specific viral strains in HIV dementia », *Annals of Neurology*, vol. 56, n° 6, p. 873-877, déc. 2004.
[29] J. Ghosn *et al.*, « Evidence of genotypic resistance diversity of archived and circulating viral strains in blood and semen of pre-treated HIV-infected men »:, *AIDS*, vol. 18, n° 3, p. 447-457, févr. 2004.
[30] S. R. Lewin et C. Rouzioux, « HIV cure and eradication: how will we get from the laboratory to effective clinical trials? »:, *AIDS*, vol. 25, n° 7, p. 885-897, avr. 2011.
[31] C. Rouzioux *et al.*, « Early Levels of HIV-1 DNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells Are Predictive of Disease Progression Independently of HIV-1 RNA Levels and CD4+ T Cell Counts », *J Infect Dis*, vol. 192, n° 1, p. 46-55, juill. 2005.
[32] K. K. Koelsch *et al.*, « Dynamics of Total, Linear Nonintegrated, and Integrated HIV-1 DNA In Vivo and In Vitro », *J Infect Dis*, vol. 197, n° 3, p. 411-419, févr. 2008.
[33] J. B. Whitney *et al.*, « Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys », *Nature*, vol. 512, n° 7512, p. 74-77, août 2014.
[34] Y. Cao, L. Qin, L. Zhang, J. Safrit, et D. D. Ho, « Virologic and Immunologic Characterization of Long-Term Survivors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection », *New England Journal of Medicine*, vol. 332, n° 4, p. 201-208, janv. 1995.
[35] O. Lambotte *et al.*, « HIV Controllers: A Homogeneous Group of HIV-1--Infected Patients with Spontaneous Control of Viral Replication », *Clinical Infectious Diseases*, vol. 41, n° 7, p. 1053-1056, oct. 2005.
[36] A. Lamine *et al.*, « Replication-competent HIV strains infect HIV controllers despite undetectable viremia (ANRS EP36 study) »:, *AIDS*, vol. 21, n° 8, p. 1043-1045, mai 2007.

[37] The International HIV Controllers Study, « The Major Genetic Determinants of HIV-1 Control Affect HLA Class I Peptide Presentation », *Science*, vol. 330, n° 6010, p. 1551-1557, déc. 2010.
[38] A. Sáez-Cirión *et al.*, « Restriction of HIV-1 replication in macrophages and CD4+ T cells from HIV controllers », *Blood*, vol. 118, n° 4, p. 955-964, juill. 2011.
[39] A. Sáez-Cirión, G. Pancino, M. Sinet, A. Venet, et O. Lambotte, « HIV controllers: how do they tame the virus? », *Trends in Immunology*, vol. 28, n° 12, p. 532-540, déc. 2007.
[40] A. Sáez-Cirión *et al.*, « Heterogeneity in HIV Suppression by CD8 T Cells from HIV Controllers: Association with Gag-Specific CD8 T Cell Responses », *The Journal of Immunology*, vol. 182, n° 12, p. 7828-7837, juin 2009.
[41] S. J. Potter *et al.*, « Preserved Central Memory and Activated Effector Memory CD4+ T-Cell Subsets in Human Immunodeficiency Virus Controllers: an ANRS EP36 Study », *J Virol*, vol. 81, n° 24, p. 13904-13915, déc. 2007.
[42] D. Benati *et al.*, « Public T cell receptors confer high-avidity CD4 responses to HIV controllers », *J Clin Invest*, vol. 126, n° 6, p. 2093-2108.
[43] C. M. Buckner *et al.*, « Maintenance of HIV-Specific Memory B-Cell Responses in Elite Controllers Despite Low Viral Burdens », *J Infect Dis*, vol. 214, n° 3, p. 390-398, août 2016.
[44] M. Claireaux *et al.*, « A High Frequency of HIV-Specific Circulating Follicular Helper T Cells Is Associated with Preserved Memory B Cell Responses in HIV Controllers », *mBio*, vol. 9, n° 3, mai 2018.
[45] V. Avettand-Fenoel *et al.*, « Dynamics in HIV-DNA levels over time in HIV controllers », *J Int AIDS Soc*, vol. 22, n° 1, janv. 2019.
[46] P. Colson *et al.*, « HIV infection en route to endogenization: two cases », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 20, n° 12, p. 1280-1288, déc. 2014.
[47] C. Tamalet *et al.*, « Reevaluation of possible outcomes of infections with human immunodeficiency virus », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 22, n° 4, p. 299-311, avr. 2016.
[48] A. Sáez-Cirión *et al.*, « Post-Treatment HIV-1 Controllers with a Long-Term Virological Remission after the Interruption of Early Initiated Antiretroviral Therapy ANRS VISCONTI Study », *PLoS Pathogens*, vol. 9, n° 3, p. e1003211, mars 2013.
[49] K. Allers *et al.*, « Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cell transplantation », *Blood*, vol. 117, n° 10, p. 2791-2799, mars 2011.
[50] D. Persaud *et al.*, « Absence of Detectable HIV-1 Viremia after Treatment Cessation in an Infant », *New England Journal of Medicine*, vol. 369, n° 19, p. 1828-1835, nov. 2013.
[51] M. Muenchhoff *et al.*, « Nonprogressing HIV-infected children share fundamental immunological features of nonpathogenic SIV infection », p. 15.
[52] J. Cohen, « Child fights HIV to a draw », *Science*, vol. 349, n° 6246, p. 355-355, juill. 2015.
[53] J. M. Brenchley *et al.*, « Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection », *Nature Medicine*, vol. 12, n° 12, p. 1365-1371, déc. 2006.
[54] M. S. Freiberg *et al.*, « HIV Infection and the Risk of Acute Myocardial Infarction », *JAMA Intern Med*, vol. 173, n° 8, p. 614-622, avr. 2013.
[55] N. Borregaard, « Neutrophils, from Marrow to Microbes », *Immunity*, vol. 33, n° 5, p. 657-670, nov. 2010.
[56] C. Michailidis, G. Giannopoulos, V. Vigklis, K. Armenis, A. Tsakris, et P. Gargalianos, « Impaired phagocytosis among patients infected by the human immunodeficiency virus: implication for a role of highly active anti-retroviral therapy », *Clin Exp Immunol*, vol. 167, n° 3, p. 499-504, mars 2012.

[57] L. Campillo-Gimenez *et al.*, « Neutrophils in antiretroviral therapy-controlled HIV demonstrate hyperactivation associated with a specific IL-17/IL-22 environment », *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 134, n° 5, p. 1142-1152.e5, nov. 2014.
[58] F. Grassi, A. Hosmalin, D. McIlroy, V. Calvez, P. Debré, et B. Autran, « Depletion in blood CD11c-positive dendritic cells from HIV-infected patients », *AIDS*, vol. 13, n° 7, p. 759, mai 1999.
[59] K. McKenna, A.-S. Beignon, et N. Bhardwaj, « Plasmacytoid Dendritic Cells: Linking Innate and Adaptive Immunity », *J Virol*, vol. 79, n° 1, p. 17-27, janv. 2005.
[60] J.-F. Fonteneau *et al.*, « Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activates Plasmacytoid Dendritic Cells and Concomitantly Induces the Bystander Maturation of Myeloid Dendritic Cells », *J Virol*, vol. 78, n° 10, p. 5223-5232, mai 2004.
[61] H. Donaghy *et al.*, « Loss of blood CD11c+ myeloid and CD11c−plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load », *Blood*, vol. 98, n° 8, p. 2574-2576, oct. 2001.
[62] J. Huang *et al.*, « Dendritic Cell Dysfunction During Primary HIV-1 Infection », *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 204, n° 10, p. 1557, nov. 2011.
[63] J.-P. Herbeuval *et al.*, « CD4+ T-cell death induced by infectious and noninfectious HIV-1: role of type 1 interferon–dependent, TRAIL/DR5-mediated apoptosis », *Blood*, vol. 106, n° 10, p. 3524-3531, nov. 2005.
[64] N. Thieblemont, L. Weiss, H. M. Sadeghi, C. Estcourt, et N. Haeffner-Cavaillon, « CD14lowCD16high: A cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection », *European Journal of Immunology*, vol. 25, n° 12, p. 3418-3424, déc. 1995.
[65] C.-A. Dutertre *et al.*, « Pivotal role of M-DC8+ monocytes from viremic HIV-infected patients in TNFα overproduction in response to microbial products », *Blood*, vol. 120, n° 11, p. 2259-2268, sept. 2012.
[66] G. Alter et M. Altfeld, « NK cells in HIV-1 infection: Evidence for their role in the control of HIV-1 infection », *J Intern Med*, vol. 265, n° 1, p. 29-42, janv. 2009.
[67] L. Williams, « The Dominant Source of CD4+ and CD8+ T-Cell Activation in HIV Infection Is Antigenic Stimulation », *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, vol. 25, n° 3, p. 9, 2000.
[68] J. M. Brenchley *et al.*, « Expression of CD57 defines replicative senescence and antigen-induced apoptotic death of CD8+ T cells », *Blood*, vol. 101, n° 7, p. 2711-2720, avr. 2003.
[69] T. N. Hoang et M. Paiardini, « Role of cytokine agonists and immune checkpoint inhibitors toward HIV remission »:, *Current Opinion in HIV and AIDS*, vol. 14, n° 2, p. 121-128, mars 2019.
[70] A. M. Ortiz *et al.*, « IL-21 and Probiotic Therapy Improve TH17 Frequencies, Microbial Translocation, and Microbiome in ARV-Treated, SIV-Infected Macaques », *Mucosal Immunol*, vol. 9, n° 2, p. 458-467, mars 2016.
[71] J.-P. Routy *et al.*, « Assessment of chloroquine as a modulator of immune activation to improve CD4 recovery in immune nonresponding HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy », *HIV Medicine*, vol. 16, n° 1, p. 48-56, 2015.
[72] H. Hatano *et al.*, « Increase in 2-long terminal repeat circles and decrease in D-dimer after raltegravir intensification in patients with treated HIV infection: a randomized, placebo-controlled trial », *J. Infect. Dis.*, vol. 208, n° 9, p. 1436-1442, nov. 2013.
[73] P. Cahn *et al.*, « The Immunomodulatory Nutritional Intervention NR100157 Reduced CD4+ T-Cell Decline and Immune Activation: A 1-Year Multicenter Randomized Controlled Double-Blind Trial in HIV-Infected Persons Not Receiving Antiretroviral Therapy (The BITE Study) », *Clin Infect Dis*, vol. 57, n° 1, p. 139-146, juill. 2013.

[74] J. Villar-García *et al.*, « Effect of Probiotics (Saccharomyces boulardii) on Microbial Translocation and Inflammation in HIV-Treated Patients: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial », *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, vol. 68, n° 3, p. 256, mars 2015.
[75] M. R. Young, M. Newby, et H. T. Wepsic, « Hematopoiesis and Suppressor Bone Marrow Cells in Mice Bearing Large Metastatic Lewis Lung Carcinoma Tumors », p. 7.
[76] D. I. Gabrilovich et S. Nagaraj, « Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system », *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 9, n° 3, p. 162-174, mars 2009.
[77] F. Veglia, M. Perego, et D. Gabrilovich, « Myeloid-derived suppressor cells coming of age », *Nature Immunology*, vol. 19, n° 2, p. 108-119, févr. 2018.
[78] J.-I. Youn, S. Nagaraj, M. Collazo, et D. I. Gabrilovich, « Subsets of Myeloid-Derived Suppressor Cells in Tumor Bearing Mice », *J Immunol*, vol. 181, n° 8, p. 5791-5802, oct. 2008.
[79] M. Otsuji, Y. Kimura, T. Aoe, Y. Okamoto, et T. Saito, « Oxidative stress by tumor-derived macrophages suppresses the expression of CD3 ζ chain of T-cell receptor complex and antigen-specific T-cell responses », *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 93, n° 23, p. 13119-13124, nov. 1996.
[80] C. Goh, S. Narayanan, et Y. S. Hahn, « Myeloid derived suppressor cells: The Dark Knight or The Joker in viral infections? », *Immunol Rev*, vol. 255, n° 1, p. 210-221, sept. 2013.
[81] S. Cao *et al.*, « Differential Regulation of IL-12 and IL-10 Gene Expression in Macrophages by the Basic Leucine Zipper Transcription Factor c-Maf Fibrosarcoma », *The Journal of Immunology*, vol. 169, n° 10, p. 5715-5725, nov. 2002.
[82] I. Poschke, Y. Mao, L. Adamson, F. Salazar-Onfray, G. Masucci, et R. Kiessling, « Myeloid-derived suppressor cells impair the quality of dendritic cell vaccines », *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 61, n° 6, p. 827-838, juin 2012.
[83] K. Movahedi *et al.*, « Identification of discrete tumor-induced myeloid-derived suppressor cell subpopulations with distinct T cell-suppressive activity », *Blood*, vol. 111, n° 8, p. 4233-4244, janv. 2008.
[84] A. Qin *et al.*, « Expansion of Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells Dampens T Cell Function in HIV-1-Seropositive Individuals », *Journal of Virology*, vol. 87, n° 3, p. 1477-1490, févr. 2013.
[85] Y. Sui *et al.*, « Paradoxical myeloid-derived suppressor cell reduction in the bone marrow of SIV chronically infected macaques », *PLOS Pathogens*, vol. 13, n° 5, p. e1006395, mai 2017.
[86] S. E. Dross *et al.*, « Kinetics of Myeloid-Derived Suppressor Cell Frequency and Function during Simian Immunodeficiency Virus Infection, Combination Antiretroviral Therapy, and Treatment Interruption », *The Journal of Immunology*, vol. 198, n° 2, p. 757-766, janv. 2017.
[87] E. T. Mee *et al.*, « Mhc haplotype H6 is associated with sustained control of SIVmac251 infection in Mauritian cynomolgus macaques », *Immunogenetics*, vol. 61, n° 5, p. 327-339, mai 2009.
[88] T. Hatziioannou et D. T. Evans, « Animal models for HIV/AIDS research », *Nature Reviews Microbiology*, vol. 10, n° 12, p. 852-867, déc. 2012.
[89] Y. Kim, J. L. Anderson, et S. R. Lewin, « Getting the "Kill" into "Shock and Kill": Strategies to Eliminate Latent HIV », *Cell Host & Microbe*, vol. 23, n° 1, p. 14-26, janv. 2018.
[90] K. Bashiri, N. Rezaei, M. Nasi, et A. Cossarizza, « The role of latency reversal agents in the cure of HIV: A review of current data », *Immunology Letters*, vol. 196, p. 135-139, avr. 2018.

[91] S. A. Williams *et al.*, « Prostratin Antagonizes HIV Latency by Activating NF-κB », *J. Biol. Chem.*, vol. 279, n° 40, p. 42008-42017, janv. 2004.
[92] S. Reuse *et al.*, « Synergistic Activation of HIV-1 Expression by Deacetylase Inhibitors and Prostratin: Implications for Treatment of Latent Infection », *PLoS One*, vol. 4, n° 6, juin 2009.
[93] P. Tebas *et al.*, « Gene Editing of CCR5 in Autologous CD4 T Cells of Persons Infected with HIV », *N Engl J Med*, vol. 370, n° 10, p. 901-910, mars 2014.
[94] R. Benjamin, B. K. Berges, A. Solis-Leal, O. Igbinedion, C. L. Strong, et M. R. Schiller, « TALEN gene editing takes aim on HIV », *Hum Genet*, vol. 135, n° 9, p. 1059-1070, sept. 2016.
[95] R. J. Park *et al.*, « A genome-wide CRISPR screen identifies a restricted set of HIV host dependency factors », *Nat Genet*, vol. 49, n° 2, p. 193-203, févr. 2017.
[96] A. Zhen *et al.*, « Long-term persistence and function of hematopoietic stem cell-derived chimeric antigen receptor T cells in a nonhuman primate model of HIV/AIDS », *PLOS Pathogens*, vol. 13, n° 12, p. e1006753, déc. 2017.
[97] P. J. Skinner, « Targeting reservoirs of HIV replication in lymphoid follicles with cellular therapies to cure HIV », *ADVANCES IN CELL AND GENE THERAPY*, vol. 2, n° 1, p. e27, 2019.
[98] C. K. Hua et M. E. Ackerman, « Engineering broadly neutralizing antibodies for HIV prevention and therapy », *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 103, p. 157-173, août 2016.
[99] A. Halper-Stromberg et M. C. Nussenzweig, « Towards HIV-1 remission: potential roles for broadly neutralizing antibodies », *J Clin Invest*, vol. 126, n° 2, p. 415-423.
[100] M. Pino, M. Paiardini, et V. C. Marconi, « Progress in achieving long-term HIV remission »:, *Current Opinion in HIV and AIDS*, p. 1, juin 2018.
[101] M. C. Pitman, J. S. Y. Lau, J. H. McMahon, et S. R. Lewin, « Barriers and strategies to achieve a cure for HIV », *The Lancet HIV*, vol. 5, n° 6, p. e317-e328, juin 2018.
[102] F. Porichis et D. E. Kaufmann, « Role of PD-1 in HIV Pathogenesis and as Target for Therapy », *Curr HIV/AIDS Rep*, vol. 9, n° 1, p. 81-90, mars 2012.
[103] A. Guihot *et al.*, « Drastic decrease of the HIV reservoir in a patient treated with nivolumab for lung cancer », *Annals of Oncology*, vol. 29, n° 2, p. 517-518, févr. 2018.
[104] F. Wightman *et al.*, « Effect of ipilimumab on the HIV reservoir in an HIV-infected individual with metastatic melanoma », *AIDS*, vol. 29, n° 4, p. 504-506, févr. 2015.
[105] C. Cicala, J. Arthos, et A. S. Fauci, « Role of T-cell trafficking in the pathogenesis of HIV disease »:, *Current Opinion in HIV and AIDS*, vol. 14, n° 2, p. 115-120, mars 2019.
[106] A. Sivro *et al.*, « Integrin α4β7 expression on peripheral blood CD4+ T cells predicts HIV acquisition and disease progression outcomes », *Science Translational Medicine*, vol. 10, n° 425, p. eaam6354, janv. 2018.
[107] A. A. Ansari *et al.*, « Blocking of α4β7 Gut-Homing Integrin during Acute Infection Leads to Decreased Plasma and Gastrointestinal Tissue Viral Loads in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques », *J Immunol*, vol. 186, n° 2, p. 1044-1059, janv. 2011.
[108] J. Arthos *et al.*, « The Role of Integrin α4β7 in HIV Pathogenesis and Treatment », *Curr HIV/AIDS Rep*, vol. 15, n° 2, p. 127-135, 2018.
[109] S. N. Byrareddy *et al.*, « Sustained virologic control in SIV+ macaques after antiretroviral and α4β7 antibody therapy », *Science*, vol. 354, n° 6309, p. 197-202, oct. 2016.
[110] M. Uzzan *et al.*, « Anti-α4β7 therapy targets lymphoid aggregates in the gastrointestinal tract of HIV-1–infected individuals », *Sci Transl Med*, vol. 10, n° 461, oct. 2018.

[111] D. Planas, J.-P. Routy, et P. Ancuta, « New Th17-specific therapeutic strategies for HIV remission »:, *Current Opinion in HIV and AIDS*, vol. 14, n° 2, p. 85-92, mars 2019.
[112] A. Schuetz *et al.*, « Initiation of ART during Early Acute HIV Infection Preserves Mucosal Th17 Function and Reverses HIV-Related Immune Activation », *PLoS Pathog*, vol. 10, n° 12, déc. 2014.
[113] D. Planas *et al.*, « HIV-1 selectively targets gut-homing $CCR6^{+}CD4^{+}$ T cells via mTOR-dependent mechanisms », *JCI Insight*, vol. 2, n° 15, août 2017.
[114] L. Kacani *et al.*, « Detachment of Human Immunodeficiency Virus Type 1 from Germinal Centers by Blocking Complement Receptor Type 2 », *J Virol*, vol. 74, n° 17, p. 7997-8002, sept. 2000.
[115] H. Dutartre, « Les cellules dendritiques folliculaires des ganglions stockent du VIH-1 infectieux malgré les traitements antirétroviraux », *médecine/sciences*, vol. 32, n° 10, p. 803-805, oct. 2016.

# *SERMENT DE GALIEN*

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

- *D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*

- *De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*

- *En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*

RESUME

Malgré les avancées très importantes au cours des 20 dernières années, les traitements antirétroviraux ne permettent pas d'éradiquer le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) de l'organisme. En effet, ce rétrovirus établit des réservoirs de cellules infectées qui ne sont pas éliminés dans le temps.

Le VIH entraine une l'inflammation chronique et une activation du système immunitaire qui participent au développement de morbidités telles que les maladies cardio-vasculaires ou l'ostéoporose. L'investigation de cas de contrôle virologique spontané et l'étude des mécanismes impliqués dans l'activation immunitaire et l'inflammation et l'établissement des réservoirs viraux sont des axes de recherche visant au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Le projet p-VISCONTI a pour objectif de comprendre comment une mise sous traitement anti-VIH précoce influe sur l'équilibre entre la réponse immunitaire et les réservoirs viraux, dans le but d'obtenir une rémission à long terme. Ce projet utilise un modèle simien d'infection de macaques par la souche de virus de l'immunodéficience simienne (SIVmac251) qui permet l'étude de phases très précoces de l'infection et après mise sous traitement antirétroviral, ainsi que l'analyse de tissus non accessibles chez l'homme.

Mon travail dans ce projet a été d'analyser une population cellulaire encore mal caractérisée dans l'infection par le SIV chez le macaque, les cellules myéloïdes suppressives (MDSC). Ces MDSC sont une population hétérogène de progéniteurs myéloïdes dérivés de la moelle osseuse et de cellules myéloïdes immatures observée lors de certaines situations pathologiques, d'abord identifiée dans le cancer et ensuite lors de maladie inflammatoire, auto-immune, et lors de l'infection au VIH. Chez les personnes infectées par le VIH, il a été décrit qu'une augmentation des MDSC était associée à la progression de la maladie, et qu'une diminution survenait sous traitement antirétroviral.

Dans le travail présenté ici, les résultats préliminaires de l'analyse de la dynamique des MDSC suite à l'infection par le SIV chez le macaque montrent une augmentation dans la moelle osseuse et le sang des MDSC d'origine myéloïde 4 semaines après l'infection. De plus, l'absence de traitement antirétroviral montre un épuisement des polynucléaires (PMN) MDSC dans la moelle osseuse. La poursuite de cette étude pourrait contribuer à mieux comprendre les mécanismes immunologiques au cours de l'infection VIH.