

GUÉRIR L'INFECTION PAR LE VIH : un objectif réaliste ?

G. DARCIS (1), M. MOUTSCHEN (2)

RÉSUMÉ : Plus de 30 ans après sa découverte, le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) reste un problème de santé majeur. La multithérapie antirétrovirale est efficace et représente une avancée importante dans la prise en charge des patients séropositifs. Toutefois, elle ne permet pas de guérir les patients infectés par le VIH. En effet, le virus persiste durant des décennies dans des réservoirs latents capables de se réactiver et de causer une résurgence de l'infection lorsque la thérapie antirétrovirale est arrêtée. Ces réservoirs latents constituent l'obstacle principal à la mise au point d'un traitement curatif de l'infection à VIH. Nous proposons ici de décrire les différentes stratégies visant à éliminer ces réservoirs latents et qui pourraient permettre de guérir les patients séropositifs.

MOTS-CLÉS : *VIH - Réservoirs latents - Guérison*

HIV CURE : A REALISTIC PERSPECTIVE ?

SUMMARY : More than 30 years after its discovery, human immunodeficiency virus (HIV) continues to be a major global public health issue. Antiretroviral therapy increases survival and quality of life of HIV-infected patients but is not curative. Indeed, interruption of therapy invariably leads to the re-emergence of detectable viral replication, since HIV persists in extremely long-lived viral latent reservoirs. Those viral latent reservoirs constitute the major source of viral recovery following antiretroviral treatment interruption and are considered as the most important hurdle to HIV eradication. Multiple strategies aimed at targeting the HIV latent reservoirs are intensively being explored. We discuss here the most recent innovative works that will hopefully contribute to find a cure for HIV.

KEYWORDS : *HIV - Latent reservoirs - Cure*

INTRODUCTION

Avec plus de 36 millions de morts à ce jour, le VIH (virus de l'immunodéficience humaine, responsable du syndrome d'immunodéficience acquise) continue d'être un problème majeur de santé publique et certainement l'un des plus grands défis pour la médecine moderne. En 2015, plus d'un million de personnes sont décédées à cause du VIH et le nombre de personnes vivant avec le VIH était de 36,7 millions. En Belgique, le nombre d'individus infectés est proche de 20.000, dont plus de 1.000 suivis au CHU de Liège.

La multithérapie antirétrovirale est très efficace. Elle permet de prolonger la durée de vie et d'augmenter la qualité de vie des patients infectés par le VIH. Par ailleurs, elle réduit drastiquement le risque de transmission. Malheureusement, si cette multithérapie représente une avancée majeure dans la prise en charge des patients séropositifs, elle ne permet pas de les guérir. En effet, même après plusieurs années de traitement bien suivi, un arrêt de la multithérapie conduit inévitablement, en quelques jours à peine, à un rebond de la virémie, c'est-à-dire à une résurgence de la maladie (1). La cause de ce rebond de virémie réside dans la présence de réservoirs latents du VIH qui constituent,

dès lors, l'obstacle principal à une guérison de l'infection par le VIH.

Cet article s'attache, tout d'abord, à décrire la nature de ces réservoirs, la manière dont ils sont établis et les mécanismes de persistance du VIH dans l'organisme. Ce préambule nous permettra de comprendre les différentes stratégies thérapeutiques ciblant ces réservoirs de virus et qui permettront, nous l'espérons, de guérir l'infection par le VIH.

RÉSERVOIRS LATENTS DU VIH :

LE PRINCIPAL OBSTACLE À UN TRAITEMENT CURATIF

Les cellules cibles du VIH sont celles exprimant des récepteurs CD4 à leur surface, principalement les lymphocytes T CD4+, mais aussi les macrophages et les cellules dendritiques. L'infection de lymphocytes T CD4+ par le VIH conduit, dans la grande majorité des cas, à des cellules infectées de manière productive. Ces cellules produisent du virus et meurent des effets cytopathiques du virus ou sont reconnues comme infectées et détruites par le système immunitaire. Cependant, l'infection par le VIH conduit également à une minorité de cellules infectées de manière latente. Ces cellules contiennent des virus stablement intégrés dans l'ADN de la cellule cible (ils sont appelés provirus), mais transcriptionnellement silencieux. Cela signifie que le provirus n'est pas transcrit en ARN messager et ne produit donc pas de protéine virale.

(1) Assistant, (2) Chef de Service, Service de Médecine interne et Maladies infectieuses, CHU de Liège, Site Sart Tilman, Liège, Belgique.

Ces cellules, majoritairement des lymphocytes T CD4⁺ mémoire au repos, constituent les réservoirs latents du VIH. Elles ont une très longue demi-vie (plusieurs mois) et ont la capacité de se diviser sans compromettre l'état de latence, assurant ainsi la stabilité des réservoirs au cours du temps. N'exprimant aucune protéine virale, elles ne sont pas reconnues par le système immunitaire comme étant infectées et échappent donc à l'action de ce dernier. Elles gardent, cependant, la capacité de produire du virus suite à leur activation par de nombreux stimuli (par exemple une activation du système immunitaire par une infection intercurrente) et représentent, par conséquent, la source majeure de rebond de la virémie en cas d'arrêt de traitement. Si les lymphocytes T CD4⁺ mémoire au repos sont considérés comme le réservoir principal de virus, d'autres types cellulaires, tels que les macrophages, peuvent être infectés de manière latente et constituent également des réservoirs du VIH (2).

Les différentes stratégies d'éradication du VIH visent à éliminer complètement ces réservoirs latents du VIH, ou à réduire leur taille à un niveau si faible que le système immunitaire serait en mesure de contrôler l'infection en l'absence de tout traitement. Par analogie avec la cancérologie, la communauté scientifique utilise les termes de guérison et de rémission. La guérison désigne l'élimination complète du virus chez le patient. La rémission correspond au contrôle à long terme de l'infection par le VIH en l'absence de thérapie antirétrovirale, chez des patients n'ayant pourtant pas éliminé totalement les réservoirs de virus. Les sections suivantes expliquent les différentes stratégies ambitionnant de réduire/éliminer les réservoirs latents.

LE TRAITEMENT ANTIRÉTROVIRAL PRÉCOCE : EMPÊCHER L'ÉTABLISSEMENT DES RÉSERVOIRS LATENTS

Jusque fin 2016, la multithérapie n'était accessible, en Belgique, qu'aux patients présentant une diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺, afin de limiter la durée d'exposition des patients à des traitements potentiellement toxiques et les défauts d'observance thérapeutique. Toutefois, les bénéfices d'un traitement précoce ont, depuis, été clairement démontrés, aussi bien au niveau de l'individu lui-même qu'au niveau de la population via une diminution du risque de transmission (3). En outre, plusieurs études ont montré que l'instauration d'un

traitement très précocement dans le décours de l'infection par le VIH permet de réduire significativement la taille des réservoirs latents. Toutefois, cette diminution de la taille des réservoirs du VIH ne permet qu'un modeste allongement du délai (quelques semaines tout au plus) avant l'inéluctable résurgence de l'infection qui suit l'arrêt de traitement (4). En effet, les réservoirs latents du VIH sont établis de manière extrêmement rapide dans le décours de l'infection. Une étude réalisée chez le singe a montré qu'un traitement antirétroviral efficace instauré seulement 3 jours après l'infection par le SIV (Simian Immunodeficiency Virus, responsable du syndrome d'immunodéficience acquise du singe) ne permet pas de prévenir l'établissement des réservoirs latents. Après arrêt d'un traitement antirétroviral bien conduit durant 24 semaines, tous les singes traités aussi rapidement que 3 jours après l'infection ont connu un rapide rebond de virémie.

Si le traitement précoce est, sans aucun doute, un objectif important à atteindre puisqu'il permet de préserver l'immunité et de limiter la taille des réservoirs, il apparaît, malheureusement, qu'il n'est pas suffisant pour aboutir à une guérison ou une rémission de l'infection par le VIH. D'autres stratégies sont nécessaires et font l'objet d'intenses recherches.

LES THÉRAPIES GÉNIQUES : INACTIVER/EXCISER LES VIRUS LATENTS

Les différentes techniques de thérapie génique sont en plein développement, notamment dans le cadre de la cancérologie ou des maladies génétiques telles que la mucoviscidose. La lutte contre les infections virales, et notamment le VIH, pourrait également bénéficier de ces avancées scientifiques. Un des outils de thérapie génétique en plein essor est le CRISPR-Cas9 (CRISPR : Clustered Regular Interspaced Short Palindromic Repeats; Cas9 : CRISPR associated protein 9). Le CRISPR-Cas9 associe une endonucléase d'ADN, c'est-à-dire une enzyme capable de couper l'ADN, à un guide constitué d'ARN. En reconnaissant une séquence d'ADN de manière très spécifique, le guide d'ARN commande à l'endonucléase la région d'ADN à couper. Dans le cas précis du VIH, la séquence d'ADN ciblée correspond au génome du VIH, c'est-à-dire aux réservoirs latents du VIH. Les cassures dans le génome des provirus aboutissent soit à leur excision, soit à leur inactivation via l'introduction de mutations (5). Cette technique de théra-

pie génique a montré sa capacité à détruire les provirus du VIH *in vitro* et, plus récemment, *in vivo* dans plusieurs modèles murins d'infection par le VIH (6). Si ces résultats sont indéniablement prometteurs, des études de sécurité sont indispensables avant la réalisation d'essais cliniques chez l'homme. Il est, en effet, facile d'imaginer les conséquences potentiellement dramatiques d'un manque de spécificité de ces techniques de génie génétique.

IDENTIFIER ET ÉLIMINER LES CELLULES INFECTÉES DE MANIÈRE LATENTE

A ce jour, un seul patient a pu être guéri de l'infection par le VIH (7). Il s'agit du célèbre «patient de Berlin». Ce patient est un individu séropositif qui a présenté une leucémie myéloïde aiguë traitée à deux reprises par une allo-greffe de moelle osseuse. Le donneur avait, en outre, la particularité de présenter une mutation homozygote dans le gène d'un récepteur (CCR5) nécessaire à la pénétration du VIH dans la cellule cible. Ce traitement, particulièrement agressif, a permis de détruire toutes les cellules infectées de manière latente de ce patient et de le guérir de son infection par le VIH. Toutefois, la toxicité de ce type de traitement exclut son utilisation à grande échelle.

Une stratégie plus élégante consiste à éliminer, sélectivement, les cellules infectées de manière latente. Ceci impose, bien entendu, de pouvoir les identifier, tâche rendue très complexe par le fait que ces cellules n'expriment pas de protéines virales. D'intenses recherches ont, très récemment, abouti à l'identification d'un marqueur de surface, le CD32a, exprimé spécifiquement par les lymphocytes T CD4+ infectés de manière latente (8). L'identification de ce marqueur pourrait permettre le développement de molécules capables de détruire les cellules qui l'expriment et, dès lors, de réduire/éliminer les réservoirs latents.

MUSELER LES RÉSERVOIRS LATENTS

Comme expliqué précédemment, les cellules constituant les réservoirs latents du VIH gardent la capacité de produire du virus suite à leur activation par de nombreux stimuli et représentent, par conséquent, la source de rebond de la virémie en cas d'arrêt de traitement. Une des stratégies de recherche d'un traitement curatif consiste à installer un état de latence tellement profond que les provirus seraient incapables de se réactiver et, par conséquent, de provoquer

une résurgence de l'infection après arrêt du traitement (9). La protéine virale Tat (Trans-activator of Transcription) est indispensable à une transcription efficace du provirus. Cette protéine constitue, dès lors, une cible privilégiée de ce type de stratégie. L'inhibition de Tat pourrait, en effet, empêcher les provirus latents de se réactiver. Les réservoirs latents du VIH seraient ainsi rendus définitivement silencieux. D'intéressants travaux ont démontré que l'utilisation d'un inhibiteur de Tat permet d'inhiber la transcription des virus latents et donc d'annihiler toute réactivation des réservoirs viraux. De surcroît, cet effet perdure une fois le traitement par cet inhibiteur de Tat stoppé (10). Ces résultats obtenus *ex vivo*, à partir de sang de patients infectés par le VIH, demandent maintenant à être confirmés *in vivo*.

PURGER LES RÉSERVOIRS LATENTS

De manière étonnante, une des stratégies les plus explorées en matière de recherche d'un traitement curatif est une approche tout à fait opposée à la précédente. Elle consiste à forcer les cellules infectées de manière latente à produire du virus, en maintenant la trithérapie pour éviter l'infection d'autres cellules par les virus nouvellement produits. Les cellules latentes «réactivées», exprimant des protéines virales, pourraient alors être reconnues et détruites par le système immunitaire (11). Cette stratégie est appelée la «Shock and Kill strategy» ou encore «kick and kill strategy», c'est-à-dire «réactiver pour mieux détruire». Pour comprendre comment réactiver les cellules infectées de manière latente, de nombreuses études se sont attachées à explorer les mécanismes moléculaires à l'origine de la latence du VIH. La majorité des mécanismes de latence agissent au niveau de la régulation de la transcription du virus. Ils empêchent la transcription du provirus en ARN messager. Ces différents mécanismes, qui comportent, notamment, les modifications épigénétiques du promoteur viral, ou encore l'absence d'importants facteurs de transcription dans les cellules infectées de manière latente, sont décrits ailleurs de manière détaillée (11, 12). La compréhension de ces mécanismes a permis l'identification de molécules appelées agents anti-latence ou inducteurs du VIH (13, 14). Certains d'entre eux ont été testés dans différents essais cliniques réalisés chez des patients infectés par le VIH, visant à réactiver les cellules latentes et ainsi réduire ou éliminer les réservoirs de VIH (15, 16). Ces essais

cliniques ont permis de démontrer l'efficacité de ces agents anti-latence en termes de réactivation puisqu'ils ont causé l'apparition d'une virémie détectable chez des patients sous traitement suppressif. Toutefois, cette réactivation virale ne s'est pas accompagnée de réduction de la taille des réservoirs latents. En effet, le système immunitaire affaibli des patients infectés par le VIH est incapable de détruire efficacement les cellules produisant du VIH suite à leur réactivation par des agents anti-latence (17). Par conséquent, il apparaît, de manière de plus en plus évidente, que cette stratégie du «shock and kill» ne pourra être efficace que si elle est combinée à des interventions immuno-adjuvantes, donnant au système immunitaire du patient les armes pour détruire les réservoirs réactivés et pour contrôler les réservoirs latents qui persisteraient après cette intervention. C'est pourquoi il est de plus en plus question de stratégie de «shock, kill and control».

STIMULER L'IMMUNITÉ POUR CONTRÔLER LES RÉSERVOIRS LATENTS

Le terme «elite controllers» est utilisé pour décrire les patients infectés par le VIH, mais capables de contrôler l'infection. Ces rares patients ont une virémie indétectable en l'absence de traitement et n'évoluent pas vers une lymphopénie. Comprendre pourquoi ces patients contrôlent l'infection pourrait permettre de reproduire ces caractéristiques chez l'ensemble des individus infectés et ainsi contribuer à une guérison du VIH. Les patients «elite controllers» sont caractérisés par une immunité adaptative T cytotoxique VIH-spécifique à la fois puissante et variée. En effet, le VIH évolue très rapidement au sein d'un individu et forme une population complexe et hétérogène de virus. Pour être efficace, une réponse lymphocytaire cytotoxique doit être capable de cibler des épitopes conservés, c'est-à-dire communs à l'ensemble de cette population virale. La mise au point d'un vaccin thérapeutique pourrait permettre de produire ce phénotype (18). Brièvement, le but de ces vaccins est de produire, au sein des cellules présentatrices d'antigène (principalement les cellules dendritiques), des peptides capables d'induire une puissante réponse T cytotoxique dirigée contre ces épitopes conservés.

Différentes stratégies ciblant l'immunité innée pourraient, elles aussi, participer à la guérison de l'infection par le VIH. Un mécanisme fondamental dans la détection d'agents

pathogènes implique les récepteurs de reconnaissance de pathogènes (PRR). Certains de ces récepteurs sont capables de reconnaître l'ARN viral et d'induire la mort des cellules infectées. Toutefois, le VIH réduit l'expression de ce système de reconnaissance par les PRR dans les cellules qu'il infecte (19). La stimulation pharmacologique de la production de l'un de ces PRR, au sein des cellules infectées, a récemment été testée en association avec un agent anti-latence. L'idée est de réactiver la production d'ARN viraux tout en permettant la détection de ces ARN par les PRR, ce qui aboutirait à la subséquente mort des cellules réactivées (19). Les résultats obtenus *ex vivo* sont très prometteurs puisqu'ils montrent une diminution majeure des réservoirs latents du VIH.

CONCLUSION

La communauté scientifique mène, depuis plus de 30 ans, d'intenses recherches visant à trouver un traitement curatif de l'infection par le VIH. Ces recherches ont abouti à la caractérisation des réservoirs latents du VIH, obstacle principal à la mise au point d'un tel traitement. Ces réservoirs latents sont établis très tôt lors de l'infection et persistent durant des décennies. La dysfonction immunitaire et l'incapacité du système immunitaire à reconnaître et éliminer ces réservoirs latents est, sans conteste, l'autre obstacle important à la mise au point d'un traitement curatif.

Il est toutefois encourageant de constater que d'importants progrès ont été réalisés, comme en témoigne la profusion d'articles de haut niveau publiés presque quotidiennement dans un nombre croissant de journaux s'intéressant à ce passionnant défi. Les recherches sont diverses et explorent de nombreuses stratégies de guérison de l'infection par le VIH. Il est probable que l'aboutissement de la recherche d'un traitement curatif de l'infection par le VIH reposera sur la complémentarité de ces différentes stratégies et l'union des efforts fournis aux quatre coins du monde.

BIBLIOGRAPHIE

1. Redel L, Le Douce V, Cherrier T, et al.— HIV-1 regulation of latency in the monocyte-macrophage lineage and in CD4+ T lymphocytes. *J Leukoc Biol*, 2010, **87**, 575-588.
2. Honeycutt JB, Thayer WO, Baker CE, et al.— HIV persistence in tissue macrophages of humanized myeloid-only mice during antiretroviral therapy. *Nat Med*, 2017, **23**, 638-643.

3. Group ISS, Lundgren JD, Babiker AG, et al.— Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *N Engl J Med*, 2015, **373**, 795-807.
4. Li JZ, Etemad B, Ahmed H, et al.— The size of the expressed HIV reservoir predicts timing of viral rebound after treatment interruption. *AIDS*, 2016, **30**, 343-353.
5. Wang G, Zhao N, Berkhout B, et al.— A combinatorial CRISPR-Cas9 attack on HIV-1 DNA extinguishes all infectious provirus in infected T cell cultures. *Cell Rep*, 2016, **17**, 2819-2826.
6. Yin C, Zhang T, Qu X, et al.— In vivo excision of HIV-1 provirus by saCas9 and multiplex single-guide RNAs in animal models. *Mol Ther*, 2017, **25**, 1168-1186.
7. Hutter G, Nowak D, Mossner M, et al.— Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, 2009, **360**, 692-698.
8. Descours B, Petitjean G, Lopez-Zaragoza JL, et al.— CD32a is a marker of a CD4 T-cell HIV reservoir harbouring replication-competent proviruses. *Nature*, 2017, **543**, 564-567.
9. Darcis G, Van Driessche B, Van Lint C.— HIV latency: should we shock or lock? *Trends Immunol*, 2017, **38**, 217-228.
10. Mousseau G, Kessing CF, Fromentin R, et al.— The Tat inhibitor didehydro-cortistatin A prevents HIV-1 reactivation from latency. *MBio*, 2015, **6**, e00465.
11. Van Lint C, Bouchat S, Marcello A.— HIV-1 transcription and latency: an update. *Retrovirology*, 2013, 10-67.
12. Kumar A, Darcis G, Van Lint C, et al.— Epigenetic control of HIV-1 post integration latency: implications for therapy. *Clin Epigenetics*, 2015, **7**, 103.
13. Darcis G, Van Driessche B, Van Lint C.— Preclinical shock strategies to reactivate latent HIV-1: an update. *Curr Opin HIV AIDS*, 2016, **11**, 388-393.
14. Darcis G, Kula A, Bouchat S, et al.— An in-depth comparison of latency-reversing agent combinations in various in vitro and ex vivo HIV-1 latency models identified bryostatin-1+JQ1 and ingenol-B+JQ1 to potentially reactivate viral gene expression. *PLoS Pathog*, 2015, **11**, e1005063.
15. Rasmussen TA, Tolstrup M, Brinkmann CR, et al.— Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent-virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single group, clinical trial. *Lancet HIV*, 2014, **1**, e13-21.
16. Sogaard OS, Graversen ME, Leth S, et al.— The depsipeptide romidepsin reverses HIV-1 latency in vivo. *PLoS Pathog*, 2015, **11**, e1005142.
17. Shan L, Deng K, Shroff NS, et al.— Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after virus reactivation. *Immunity*, 2012, **36**, 491-501.
18. Norton TD, Miller EA.— Recent advances in lentiviral vaccines for HIV-1 infection. *Front Immunol*, 2016, **7**, 243.
19. Li P, Kaiser P, Lampiris HW, et al.— Stimulating the RIG-I pathway to kill cells in the latent HIV reservoir following viral reactivation. *Nat Med*, 2016, **22**, 807-811.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Pr M. Moutschen, Service des Maladies Infectieuses, CHU de Liège, Site Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.
Email : michel.moutschen@chu.ulg.ac.be