

OBSTACLES À LA GUÉRISON DE L'INFECTION PAR LE VIH

PARTIE 1 : LES RÉSERVOIRS LATENTS

FOMBELLIDA-LOPEZ C (1), CHASLAIN A (1), SUSIN F (2), VAIRA D (2), MOUTSCHEN M (3), DARCIS G (3)

RÉSUMÉ : Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), responsable du syndrome d'immunodéficience acquise ou SIDA, est un problème de santé publique majeur. En Belgique, 2 à 3 nouveaux cas sont diagnostiqués par jour. Depuis l'arrivée des traitements antirétroviraux combinés en 1996, l'espérance et la qualité de vie des patients infectés se sont grandement améliorées. Cependant, il n'existe, à ce jour, aucun traitement curatif de cette infection. Les individus atteints doivent rester sous traitement antirétroviral toute leur vie. Cette difficulté à trouver un traitement curatif du VIH provient, notamment, du fait que le virus peut rester sous une forme latente, c'est-à-dire endormie, dans certaines cellules qu'il infecte. Ces réservoirs latents ne sont pas reconnus par le système immunitaire et peuvent se réactiver lorsque le patient arrête son traitement et ainsi redémarrer l'infection. Ces réservoirs latents sont, donc, un obstacle majeur à la guérison et de nombreuses recherches sont menées par la communauté scientifique afin de trouver une stratégie d'éradication. Dans cet article, nous présentons les différentes caractéristiques de ces réservoirs latents et les différentes stratégies mises en place pour les identifier et tenter de les éliminer.

MOTS-CLÉS : VIH - Réservoirs latents - Guérison

HURDLES TO HIV CURE. PART 1 : THE LATENT RESERVOIRS

SUMMARY : The human immunodeficiency virus (HIV), responsible for acquired immunodeficiency syndrome or AIDS, is a major public health problem. In Belgium, 2 to 3 new cases are diagnosed every day. Since the advent of combined antiretroviral treatments in 1996, the life expectancy and quality of life of infected patients have greatly improved. However, to date there is no cure for HIV. Individuals infected with HIV must remain on antiretroviral treatment for life. One of the reasons for the difficulty in finding a cure for HIV is that the virus can remain in a latent form, i.e. dormant, in some of the cells it infects. These latent reservoirs are not recognized by the immune system and can reactivate and thus restart the infection if the patient stops the treatment. These latent reservoirs are therefore a major obstacle to cure HIV and a great deal of research is being conducted by the scientific community to find an eradication strategy. In this article, we will present the different characteristics of these latent reservoirs and the different strategies put in place to identify and eliminate them.

KEYWORDS : HIV - Latent reservoirs - Cure

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est une infection chronique qui s'attaque au système immunitaire. Une personne infectée et diagnostiquée est généralement mise rapidement sous traitement antirétroviral (ART) consistant en une combinaison de deux ou trois molécules. Le traitement est très efficace et permet d'obtenir, chez presque tous les patients, une charge virale inférieure à 20 copies d'ARN VIH/ml de sang (limite de détection actuelle des tests utilisés). Ce traitement combiné a considérablement prolongé la durée de vie et augmenté la qualité de vie des patients infectés par le VIH. De nos jours, une personne infectée peut vivre presque normalement.

Malheureusement, ce traitement n'est pas curatif. En effet, si un patient l'arrête, la charge virale rebondit inévitablement dans les deux semaines. Les causes de ce rebond de viré-

mie ne sont encore que partiellement élucidées, mais comprendraient :

- la persistance du VIH dans des réservoirs latents, sujet abordé dans cet article (partie 1),
- la persistance d'une réplication continue, à bas bruit, dans des tissus lymphoïdes où la pénétration des antirétroviraux est insuffisante, sujet abordé dans l'article suivant (partie 2).

Le traitement doit donc être poursuivi à vie. Les dernières statistiques sur l'état de l'épidémie du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) démontrent que plus de 32 millions de personnes sont décédées des suites de maladies liées au SIDA depuis le début de l'épidémie (1). Environ 37,9 millions de personnes vivaient avec le VIH à la fin de 2018 (2). En Belgique, environ 20.000 personnes sont infectées par le VIH, parmi celles-ci, 1.200 sont suivies au CHU de Liège (3). Le VIH reste donc un problème de santé publique majeur malgré un traitement efficace qui permet d'arrêter la progression de la maladie.

Cet article est principalement consacré à un des deux obstacles majeurs à la guérison du VIH, à savoir les réservoirs latents du VIH. Nous aborderons, successivement, leurs caractéristiques principales, la manière dont ils sont établis et leurs mécanismes de persistance dans l'organisme. Nous présenterons, pour finir, les

(1) Faculté de Médecine, ULiège, Belgique.

(2) Laboratoire de référence SIDA, CHU Liège, Belgique.

(3) Service des Maladies infectieuses et Médecine interne générale, CHU Liège, Belgique.

différentes stratégies explorées pour éliminer ces réservoirs.

DÉFINITION DES RÉSERVOIRS LATENTS

Le VIH est un virus à ARN faisant partie de la catégorie des rétrovirus. Il a la particularité de rétrotranscrire son ARN génomique viral en ADN double brin grâce à une enzyme appelée la transcriptase inverse. Cet ADN est, ensuite, transporté jusque dans le noyau où il est intégré dans le génome de la cellule hôte grâce à une autre enzyme, l'intégrase. Un virus, dont l'ADN est intégré, est appelé provirus. Ce dernier peut utiliser la machinerie cellulaire de la cellule infectée pour produire ses propres ARN et protéines virales et fabriquer de nouveaux virions qui iront, à leur tour, infecter de nouvelles cellules.

Le VIH infecte, préférentiellement, les lymphocytes T CD4+ (lymphocytes T exprimant le récepteur CD4), mais peut, également, infecter d'autres cellules exprimant à leur surface les récepteurs CD4, tels que les macrophages et les cellules dendritiques. Dans la majorité des cas, les cellules T CD4+ sont infectées par le VIH de manière productive. En l'absence de traitement, les cellules infectées vont progressivement mourir suite aux effets cytopathiques du virus ou parce qu'elles seront reconnues comme infectées par le système immunitaire et éliminées. Le taux de CD4 diminue alors progressivement et le patient évolue, inévitablement, vers un état d'immunodépression sévère, appelé SIDA. Toutefois, on estime qu'une cellule sur un million sera infectée, non pas de manière productive, mais de manière latente. Ces cellules contiennent des virus stablement intégrés dans leur ADN (provirus), mais ne produisent pas ou peu d'ARN ni de protéines virales. Par conséquent, ces cellules ne sont pas reconnues par le système immunitaire comme étant infectées. Bien que la transcription du provirus soit généralement réprimée au sein des cellules infectées de manière latente, celle-ci peut être réactivée très rapidement à la suite de différents *stimuli*, ce qui aboutit à un rebond de l'infection en cas d'arrêt de traitement.

Il est important de préciser que toutes les cellules infectées de façon latente ne sont pas compétentes pour la réplication. En effet, on distingue les provirus défectifs et les provirus intacts. On estime que plus de 95 % des cellules réservoirs sont infectées par un provirus défectif. Ceux-ci sont incapables de se répliquer correctement et de produire de nouveaux virions. Ces

virus sont défectifs car différents défauts ont été introduits lors de leur rétrotranscription ou intégration. Ils ne peuvent pas causer de rebond de virémie puisqu'incompétents en termes de réplication. Néanmoins, il a été démontré qu'ils jouent un rôle dans l'inflammation chronique et l'épuisement du système immunitaire chez les patients sous ART, via la production d'antigènes viraux (4-6).

ÉTABLISSEMENT DES RÉSERVOIRS LATENTS

L'établissement des réservoirs latents se fait très tôt dans le décours de l'infection, avant même que le virus ne soit détectable dans le sang (7).

Le réservoir principal résiderait dans les lymphocytes T CD4+ mémoires au repos. L'explication la plus admise concernant l'établissement préférentiel d'une latence dans ces cellules fait intervenir une simple coïncidence dans la chronologie de l'infection. Comme déjà mentionné, les cibles principales du VIH sont les lymphocytes T CD4+ et, plus précisément, les cellules T activées qui sont les plus permissives à l'infection et à la production de nouveaux virions. Ces cellules, une fois infectées, meurent rapidement. Il arrive toutefois que, dans de rares occasions, le virus infecte un lymphocyte T CD4+ activé en transition vers un état de repos, beaucoup moins permissif à l'expression virale (4, 5, 8). C'est alors que la latence peut s'établir.

Les mécanismes moléculaires exacts menant à l'établissement de la latence du virus dans les cellules hôtes restent largement incompris. Néanmoins, des études suggèrent que des modifications épigénétiques, l'emplacement du site d'intégration, l'orientation du provirus dans le génome de l'hôte, l'expression de certains facteurs de transcription ou encore l'expression cellulaire des gènes de l'hôte auraient un rôle dans la régulation de la latence (9-11).

PERSISTANCE DES RÉSERVOIRS LATENTS

Les réservoirs latents du VIH persistent et ne diminuent pas, ou peu, au cours du temps. Plusieurs facteurs permettent d'expliquer ce phénomène.

Le premier est le temps de demi-vie extrêmement long des lymphocytes T CD4+ mémoires, de l'ordre de 43 mois. Une population d'un million de cellules infectées de façon latente met-

trait 73 ans à être éliminée naturellement chez un patient sous ART (12).

Il a également été démontré que ces réservoirs étaient maintenus tout au long de la vie du patient grâce à l'expansion clonale des cellules infectées. En d'autres mots, les cellules infectées de façon latente se divisent, ce qui maintient un taux relativement constant de cellules réservoirs. Cette prolifération cellulaire a été démontrée grâce au séquençage des provirus et de leurs sites d'intégration (13-15).

DIVERSITÉ/HÉTÉROGÉNÉITÉ DES RÉSERVOIRS LATENTS

Les réservoirs latents du VIH ont une nature très hétérogène liée aux types cellulaires infectés, mais aussi aux divers tissus dans lesquels ces réservoirs s'établissent. Une connaissance approfondie de ces cellules et des sites anatomiques servant de réservoirs au virus est primordiale dans la quête d'une guérison.

Le virus infecte les lymphocytes T CD4+ à plusieurs stades de leur développement. Ainsi, les lymphocytes T CD4+ naïfs, activés et mémoires, peuvent être infectés de manière latente (16).

Les lymphocytes T CD4+ mémoires sont les plus largement connus pour abriter des réservoirs. Ces cellules peuvent être classées en plusieurs sous-types tels que les cellules souches T mémoires (TSCM), les cellules T mémoires centrales (TCM) ou encore les cellules T mémoires effectrices (TEM). Ces différentes populations de cellules contribuent variablement aux réservoirs latents d'un patient à l'autre, selon des mécanismes encore peu compris. Les TCM sont considérées comme étant un réservoir majeur, comportant une plus grande quantité d'ADN VIH proviral (17). Des provirus intégrés de façon latente ont, plus récemment, été trouvés dans les lymphocytes T CD4+ naïfs (16).

D'autres cellules du système immunitaire, telles que les macrophages et/ou les cellules dendritiques, sont également considérées comme étant une source probable de réservoirs. Cette hypothèse reste cependant controversée et nécessite de plus amples recherches.

Ces réservoirs cellulaires sont retrouvés, majoritairement, dans les tissus et non dans le sang périphérique. Les réservoirs tissulaires, aussi appelés «sites sanctuaires» et abritant les cellules infectées de façon latente par le VIH, sont nombreux et comprennent les ganglions lymphatiques, les testicules, le système lymphoïde associé à l'intestin, la muqueuse vaginale ou encore les poumons.

Le tissu lymphoïde associé à l'intestin abrite une grande quantité de ces réservoirs et est considéré comme un réservoir tissulaire majeur. La participation du cerveau en tant que réservoir est plus controversée et doit encore être éclaircie (18). Plus probablement, le cerveau pourrait constituer un site anatomique où le virus pourrait continuer de se répliquer en raison d'une pénétration insuffisante d'antirétroviraux, un phénomène discuté dans l'article connexe : «Obstacles à la guérison de l'infection par le VIH. Partie 2 : la réplication continue malgré le traitement».

Il est important de souligner que les réservoirs latents du VIH ne sont pas figés, mais qu'ils sont bel et bien dynamiques. La nature et la taille des réservoirs diffèrent entre patients et évoluent au cours du temps (19, 20). La mort de cellules infectées de manière latente, leur division, ou encore l'interaction complexe entre les réservoirs latents (soumis à de fréquents épisodes de réactivation) avec le système immunitaire contribuent à remodeler perpétuellement ces réservoirs au cours du temps (21).

Récemment, une étude menée par De Scheerder et coll. a prouvé que le rebond de la virémie suivant l'arrêt du traitement pouvait émerger d'une multitude de cellules différentes, infectées de façon latente, provenant de différents compartiments anatomiques (14).

PERSPECTIVES D'ÉLIMINATION DES RÉSERVOIRS LATENTS

Les stratégies mises en place pour l'élimination du VIH sont multiples. Elles visent, soit à réduire la taille des réservoirs afin de permettre le contrôle à long terme de ceux-ci par le système immunitaire, soit à les éliminer complètement.

La première stratégie consiste à limiter l'établissement des réservoirs. Comme mentionné plus haut, les réservoirs latents sont établis très tôt dans le décours de l'infection. Ainsi, placer un patient infecté le plus rapidement possible sous ART permettrait de limiter la taille des réservoirs latents (8).

Une seconde stratégie consiste à rendre les cellules cibles non infectées résistantes au virus. Ainsi, lorsque le patient arrêtera son traitement, le virus ne pourra plus se propager et finira par disparaître. Cette stratégie est basée sur l'utilisation de la thérapie génique et, plus précisément, de l'outil CRISPR-Cas9 («Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated protein 9»). L'idée consiste

à modifier les lymphocytes T CD4+ du patient pour que ceux-ci n'expriment plus le récepteur CCR5, indispensable à l'entrée du virus dans la cellule cible (22). Une autre idée d'utilisation de cet outil serait de retirer, tout simplement, le provirus du génome de la cellule infectée. Cette stratégie n'est, néanmoins, pas encore envisageable sur l'homme à l'heure actuelle (22).

Une autre stratégie d'éradication des réservoirs latents, très en vogue, est celle connue sous le nom de «Shock and Kill therapy». Cette méthode consiste à «réveiller» les cellules infectées de façon latente grâce à des molécules antilatence. Ces cellules réactivées exprimeraient des protéines virales et pourraient ainsi être reconnues et détruites par le système immunitaire. Ce dernier devrait, préalablement, avoir été stimulé, par exemple à l'aide d'un vaccin, afin de le rendre plus apte à reconnaître et éliminer les cellules réservoirs (20, 23).

La grande difficulté dans l'élimination des réservoirs latents est liée au fait que les cellules infectées de manière latente représentent seulement une fraction minime des lymphocytes du patient. Cette fraction est encore bien plus petite lorsqu'il est question des provirus intacts, ceux qui sont capables de réplication et sont, donc, responsables du rebond de virémie après interruption de traitement. L'identification des réservoirs latents est donc un défi considérable. La découverte d'un marqueur spécifique des réservoirs du VIH pourrait permettre de les éliminer de façon ciblée.

Fromentin et coll. ont montré que les cellules contenant de l'ADN VIH proviral exprimaient fréquemment à leur surface des «immune checkpoint molecules» (PD-1, TIGIT, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, ...) (24). D'autres marqueurs de surface tels que le CD2, CD30 et CD20 ont également été associés aux réservoirs du VIH (25). Plus récemment, l'équipe de Monsef Benkirane a démontré que le CD32 constituerait un bien meilleur marqueur des réservoirs que ceux décrits jusqu'à présent (25). Nous avons confirmé ces résultats plus tard, et montré que les provirus latents intégrés dans ces cellules exprimant le CD32, pouvaient être réactivés (26, 27). Suite à ces travaux, nous cherchons, maintenant, à utiliser le CD32 comme un outil nous permettant d'étudier, de façon plus spécifique, les réservoirs du VIH.

CONCLUSION

Depuis l'identification du premier cas infecté par le VIH en 1981, d'énormes progrès ont

été effectués en matière de prise en charge des patients, mais également en matière de connaissance scientifique sur le sujet. Malgré tout, guérir du VIH reste un défi de taille. Les réservoirs latents représentent l'obstacle majeur à la guérison des patients. Ces réservoirs sont établis très tôt lors de l'infection et persistent tout au long de la vie du patient. Le caractère très hétérogène et dynamique des réservoirs latents rend leur étude complexe. L'incapacité du système immunitaire à les reconnaître et les éliminer est également un frein important à la guérison. Il est toutefois encourageant de constater que la communauté scientifique met tout en œuvre et fait preuve d'ingéniosité en cherchant, par divers recours, un moyen d'identifier et d'éliminer ces réservoirs latents du VIH.

BIBLIOGRAPHIE

1. <https://www.unaids.org/fr/resources/fact-sheet>, consulté le 31/03/2020.
2. <https://www.unaids.org/fr/resources/fact-sheet>, consulté le 31/03/2020.
3. https://www.sciensano.be/sites/www.wiv-isp.be/files/report-sida_2018_fr_final_28_11.pdf, consulté le 31/03/2020.
4. Siliciano JD, Siliciano RF. Recent developments in the search for a cure for HIV-1 infection : targeting the latent reservoir for HIV-1. *J Allergy Clin Immunol* 2014;**134**:12-9.
5. Murray AJ, Kwon KJ, Farber DL, Siliciano RF. The latent reservoir for HIV-1 : how immunologic memory and clonal expansion contribute to HIV-1 persistence. *J Immunol* 2016;**197**:407-17.
6. Imamichi H, Smith M, Adelsberger JW, et al. Defective HIV-1 proviruses produce viral proteins. *Proc Natl Acad Sci* 2020;**117**:3704-10.
7. Whitney JB, Hill AL, Sanisetty S, et al. Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys. *Nature* 2014;**512**:74-7.
8. Vanhamel J, Bruggemans A, Debyser Z. Establishment of latent HIV-1 reservoirs: what do we really know? *J virus Erad* 2019;**5**:3-9.
9. Darcis G, Van Driessche B, Van Lint C. Preclinical shock strategies to reactivate latent HIV-1 : an update. *Curr Opin HIV AIDS* 2016;**11**:388-93.
10. Romani B, Allahbakhshi E. Underlying mechanisms of HIV-1 latency. *Virus Genes* 2017;**53**:329-39.
11. Khoury G, Darcis G, Lee MY, et al. The molecular biology of HIV latency. In: *Advances in experimental medicine and biology*. New York:Springer 2018:187-212.
12. Crooks AM, Bateson R, Cope AB, et al. Precise quantitation of the latent HIV-1 reservoir: Implications for eradication strategies. *J Infect Dis* 2015;**212**:1361-5.
13. Wagner TA, McLaughlin S, Garg K, et al. Proliferation of cells with HIV integrated into cancer genes contributes to persistent infection. *Science* 2014;**345**:570-3.
14. De Scheerder MA, Vrancken B, Dellicour S, et al. HIV rebound is predominantly fueled by genetically identical viral expansions from diverse reservoirs. *Cell Host Microbe* 2019;**26**:347-58.
15. Virgilio MC, Collins KL. The impact of cellular proliferation on the HIV-1 reservoir. *Viruses* 2020;**12**:127.

16. Zerbato JM, McMahon DK, Sobolewski MD, et al. Naive CD4+ T cells harbor a large inducible reservoir of latent, replication-competent human immunodeficiency virus type 1. *Clin Infect Dis* 2019;**69**:1919-25.
17. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med* 2009;**15**:893-900.
18. Falcinelli SD, Ceriani C, Margolis DM, Archin NM. New frontiers in measuring and characterizing the HIV reservoir. *Front Microbiol* 2019;**10**:2878.
19. Darcis G, Véronique AF, Bouchat S, et al. Reactivation capacity by latency-reversing agents ex vivo correlates with the size of the HIV-1 reservoir. *Aids* 2017;**31**:181-9.
20. Ait-Ammar A, Kula A, Darcis G, et al. Current status of latency reversing agents facing the heterogeneity of HIV-1 cellular and tissue reservoirs. *Front Microbiol* 2020;**10**:3060.
21. Pinzone MR, VanBelzen DJ, Weissman S, et al. Longitudinal HIV sequencing reveals reservoir expression leading to decay which is obscured by clonal expansion. *Nat Commun* 2019;**10**:728.
22. Xiao Q, Guo D, Chen S. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. *Front Cell Infect Microbiol* 2019;**9**:69.
23. Darcis G, Van Driessche B, Van Lint C. HIV latency : should we shock or lock? *Trends Immunol* 2017;**38**:217-28.
24. Fromentin R, Bakeman W, Lawani MB, et al. CD4+ T cells expressing PD-1, TIGIT and LAG-3 contribute to HIV persistence during ART. *PLoS Pathog* 2016;**12**:e1005761.
25. Darcis G, Berkhout B, Pasternak AO. The quest for cellular markers of HIV reservoirs: Any color you like. *Front Immunol* 2019;**10**:2251.
26. Descours B, Petitjean G, López-Zaragoza JL, et al. CD32a is a marker of a CD4 T-cell HIV reservoir harbouring replication-competent proviruses. *Nature* 2017;**543**:564-7.
27. Darcis G, Kootstra NA, Hooibrink B, et al. CD32+CD4+ T cells are highly enriched for HIV DNA and can support transcriptional latency. *Cell Rep* 2020;**30**:2284-96.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr G. Darcis, Service des Maladies infectieuses et Médecine interne générale, CHU Liège, Belgique.
Email : gdarcis@chuliege.be