

Université de Montréal

Caractérisation des monocytes et de leur impact dans l'immunité naturelle lors de l'infection au
VIH dans une cohorte béninoise

Par
Laurence Blondin-Ladrie

Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie
Faculté de Médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Microbiologie et Immunologie

Août 2021

© Laurence Blondin-Ladrie, 2021

Université de Montréal
Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie
Faculté de Médecine

Ce mémoire intitulé :
Caractérisation des monocytes et leur impact dans l'immunité naturelle lors d'infection au VIH
dans une cohorte béninoise

Présenté par
Laurence Blondin-Ladrie

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Guy Lemay
Président-rapporteur

Dr. Jean-François Cailhier
Membre du jury

Dr. Michel Roger
Directeur de recherche

Dre Johanne Poudrier
Co-directrice de recherche

Résumé

La majorité des infections par le VIH sont acquises hétérosexuellement surtout chez les femmes en Afrique subsaharienne. Le tractus génital féminin (TGF) est la principale porte d'entrée pour le VIH et joue un rôle important dans la défense de l'organisme. De concert avec les cellules épithéliales, les cellules dendritiques (DC) aident à maintenir une balance immunitaire entre tolérance et inflammation. Dans un groupe de travailleuses du sexe (CSW) à Cotonou, au Bénin, des femmes (CSW \geq 8 ans) ont été identifiées comme hautement exposées séronégatives (HESN). La fréquence de populations cellulaires myéloïdes de type *Monocytes-Derived Dendritic Cells* (MoDC) présentant un potentiel antiviral et « tolérogénique/régulateur » est augmentée au niveau du TGF des HESNs et les monocytes pourraient être impliqués dans leur génération. Les résultats de RNA-seq sur les monocytes totaux permettent de constater une augmentation de gènes associés à des fonctions effectrices, de protection/contrôle de l'infection et de régulation chez les HESNs comparé aux contrôles (2,5-5 années *CSWs HIV-* « early HESN », *CSWs HIV+* et des femmes de la population générale *Non CSWs HIV-*). Les résultats de cytométrie en flux (FACS) démontrent une proportion élevée de non-classiques comparé aux autres sous-populations de monocytes sanguins, exprimant davantage de molécules effectrices et régulatrices, suggérant un lien avec les MoDCs tolérogéniques observées. Cinq individus ont séroconverti et ont présenté des modifications bien avant la séroconversion, soit une diminution de β -chimiokines et des IgG anti-gp41 dans le compartiment sanguin et mucosal du TGF. Un bris du profil « tolérogénique/régulateur » pourrait donc favoriser la séroconversion.

Mots-clés : VIH, résistance, *highly exposed seronegative* (HESN), travailleuses du sexe, séroconversion, monocytes, fonctions effectrices, fonctions régulatrices, chimiokine.

Abstract

Most HIV infection are acquired through heterosexual intercourse, mostly in women in subsaharian Africa. The female genital tract (FGT) is the principal portal of entry for HIV and plays a critical role in host defense. Together, epithelial cells and dendritic cells (DC) help maintain immunological balance between inflammation and tolerance. In a group of commercial sex worker (CSW) from Cotonou, in Benin, women (CSW $8 \geq$ years) have been identified as HIV-1 highly exposed seronegative (HESN). The frequency of myeloid cell populations alike to Monocytes-Derived Dendritic Cells (MoDC) presenting an antiviral potential and a tolerogenic/regulating profile were increased in FGT of HESNs and their monocytes could be implied in their generation. The RNA-seq results on total blood monocytes show an increase expression of genes associated with effector, protection/control of HIV infection and regulation functions in HESNs compared with control groups (2,5-5 years *CSWs HIV-* « early HESN », *CSWs HIV⁺* and women from general population *Non CSWs HIV-*). Our flow cytometry (FACS) results show an elevated frequency of non-classical compared with other sub-populations in blood monocytes, expressing more effector and regulator molecules, suggesting a link with observed tolerogenic MoDCs. Moreover, five individuals have seroconverted and presented modifications before seroconversion such as lower levels of β -chemokines and anti-gp41 IgG in blood and mucosal compartments in the FGT. A break of this “tolerogenic/regulating” profile could favor seroconversion.

Keywords: HIV, resistance, highly exposed seronegative (HESN), commercial sex worker (CSW), seroconversion, monocytes, effector functions, regulator functions, chemokines.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des figures	viii
Liste des tableaux	viii
Liste des sigles et abréviations	ix
Remerciements	xiv
Chapitre 1	1
Introduction	1
1 Le Virus de l'Immunodéficience Humaine	3
1.1 Origine et découverte	3
1.1.4 Les types de patients (progresseurs).....	13
2 Le tractus génital féminin.....	17
2.1 La physiologie et l'anatomie du TGF	17
2.2 Immunologie de l'hôte et des muqueuses.....	24
3 Mécanismes d'invasion par le VIH dans le TGF	41
4 Immunité Naturelle au sein des travailleuses du sexe de la cohorte béninoise.....	45
4.1 Les individus hautement exposés séronégatifs (HESN)	45
4.2 Description de la cohorte de travailleuses du sexe béninoise	45
4.3 Études HESNs CSWs	46
5 Les monocytes.....	51
5.1 Les sous-populations monocytaires	51
5.2 Les monocytes classiques	52
5.3 Les monocytes non-classiques	53

5.4	Les monocytes intermédiaires.....	54
5.5	Recrutement des monocytes dans les tissus.....	54
5.6	Les monocytes dans le contexte du VIH.....	56
6	Hypothèses et objectifs de recherche	59
Chapitre 2	61
	Mise en contexte.....	61
	Contribution des auteurs.....	62
	Résumé	63
	Abstract	64
1	Introduction	65
2	Methods.....	67
3	Results	70
4	Discussion	73
5	References	80
6	Figure Legends.....	87
Chapitre 3	109
	Mise en contexte.....	109
	Contribution des auteurs.....	110
1	Matériel et méthode.....	111
2	Résultats	114
3	Discussion	117
4	Figures.....	120
Chapitre 4	125
Discussion	125
1	Les monocytes associés à différentes fonctions effectrices et régulatrices de l'immunité naturelle chez les HESNs	125
1.1	Profil moléculaire de monocytes totaux du compartiment sanguin.....	126
1.2	Phénotype des sous-populations de monocytes du compartiment sanguin	130

1.3	L'impact du phénotype différentiel des monocytes dans la génération des MoDCs.	132
2	Immunité périphérique et mucosale durant la séroconversion au VIH	133
2.1	Les chimiokines dans le CVL et le sérum des femmes séroconvertrices	133
2.2	L'interféron- α dans le CVL des femmes séroconvertrices	134
2.3	Les niveaux de BAFF et d'immunoglobuline dans le CVL des femmes séroconvertrices	134
	Conclusion	137
	Perspectives	139
	Références bibliographiques	141
	Annexes	163
	Annexe 1: Revue	163
	Abstract	164
1	Introduction	165
2	The FGT	166
3	The FGT in the Context of HIV	167
4	The FGT Microbiota in the HIV Context	169
5	Natural Immunity to HIV Infection	171
6	Immunoregulatory Populations in the Context of Natural Immunity to HIV	174
6.1	Tolerogenic DCs	174
6.2	Tregs and Tr1	175
6.3	Importance of NR4As (Nuclear Receptors 4A)	176
6.4	Innate B-Cells with Breg Potential	177
6.5	Natural Killer Cells	179
7	Conclusions	183
8	References	186
	Annexe 2 : Affiche	203

Liste des figures

Figure 1. Structure morphologique et génomique du VIH-1.....	5
Figure 2. Cycle de réplication virale du VIH-1.	8
Figure 3. Phase clinique d'une infection au VIH-1.	12
Figure 4. Anatomie et immunologie du tractus génital féminin.	18
Figure 5. Cycles hormonaux du tractus génital féminin.....	20
Figure 6. Mécanismes d'action des DCs tolérogéniques.....	33
Figure 7. Différenciation des lymphocytes T CD4 ⁺	36
Figure 8. Modèle de transmission du SIV chez le rhesus macaque	44
Figure 9. Concentration de chimiokines dans le sérum des « early converter » et des « HESN converter ».	121
Figure 10. Concentration de chimiokines dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ».	122
Figure 11. Concentration d'interféron-alpha (IFN- α) dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ».	123
Figure 12. Concentration de B Lymphocyte Stimulator/B cell activation factor (BAFF) et niveaux d'immunoglobuline (IgG1) reconnaissant la protéine gp41 de l'enveloppe virale du VIH dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ».....	124

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques socio-démographiques et comportements sexuels chez les « early converter » et les « HESN converter ».....	120
---	-----

Liste des sigles et abréviations

Ac	Anticorps
ADCC	Réponse cytotoxique dépendante des anticorps (<i>Antibody-dependent cellular cytotoxicity</i>)
ADN	Acide désoxyribonucléique
APC	Cellule présentatrice d'antigènes (<i>Antigen-presenting cell</i>)
APOBEC	<i>Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like</i>
APRIL	Ligand induisant la prolifération (<i>A proliferation-inducing ligand</i>)
AR	Acide rétinoïque
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
ARNtLys	ARN de transfert lysine
ART	Traitement antirétroviral (<i>Antiretroviral therapy</i>)
ATP	Adénosine triphosphate
BAFF	Facteur d'activation des cellules B (<i>B-cell activating factor</i>)
BCR	Récepteur des cellules B (<i>B-cell receptor</i>)
BLyS	Stimulateur des lymphocytes B (<i>B lymphocyte stimulator</i>)
bNAbs	Anticorps neutralisants à large spectre (<i>Broadly neutralizing antibodies</i>)
Breg	Lymphocyte B régulateur
CA	Capside
CCL	Ligand C-C chimiokinique
CCR	Récepteur C-C chimiokinique
CD	Cluster de différenciation
CDC	<i>Center for Disease Control</i>
cDC	Cellules dendritiques conventionnelles
CG	Centre germinatif
cGAS	<i>Cyclic GMP-AMP synthetase</i>
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CRF	<i>Circulating recombinant forms</i>
CSF	Facteurs stimulateurs de colonies (<i>Colony-stimulating factor</i>)
CSWs	Travailleuses du sexe (<i>Commercial sex workers</i>)
CTLA-4	<i>Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>
CVL	Lavage cervico-vaginal
CXCL	Ligand C-X-C chimiokinique
CXCR	Récepteur C-X-C chimiokinique
DAMPs	Motifs moléculaires associés aux dégâts (<i>Damage-associated molecular patterns</i>)
DC	Cellule dendritique (<i>Dendritic cell</i>)
DC-SIGN	<i>Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin</i>
DHE	Dihydroergotamine

dNTPs	Désoxyribonucléosides triphosphates
Env	Enveloppe virale
FACS	Tri cellulaire induit par fluorescence (<i>Fluorescence activated cell sorting</i>)
FcR	Récepteur de la fraction cristallisable
FcRn	Récepteur de la fraction cristallisable néonatal
FOXP3	<i>Forkhead box P3</i>
FSH	Hormone folliculo-stimulante (<i>Follicle-stimulating hormone</i>)
Gag	<i>Group-specific antigen</i>
GalCer	GalactosylCéramide
GALT	Tissus lymphoïdes associés aux intestins (<i>Gut-Associated Lymphoid Tissue</i>)
GM-CSF	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages (<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>)
gp120	Glycoprotéine 120
gp41	Glycoprotéine 41
HARSAH	Hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes
HESNs	Hautement exposés et séronégatifs (<i>HIV-1 Highly exposed seronegative</i>)
HLA	Antigènes leucocytaires humains (<i>Human leukocyte antigen</i>)
HSPG	<i>Heparan sulfate proteoglycans</i>
HSV	Virus de l'herpès simplex (<i>Virus Simplex Herpes</i>)
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IDO	Indoleamine 2,3-dioxygénase
IFI16	<i>Interferon inducible protein 16</i>
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
ILT	Transcrits semblables à des immunoglobulines (<i>Immunoglobulin-like transcript</i>)
IN	Intégrase
IP-10	<i>IFN-γ induced protein 10</i>
IRF	Facteur de régulation de l'IFN (<i>Interferons regulatory factor</i>)
ISG	Gènes stimulés par l'IFN (<i>Interferon-stimulated gene</i>)
iTregs	Cellules T régulatrices induites
ITS	Infection transmise sexuellement
LC	Cellule de Langerhans
LDLR	<i>Low-density lipoprotein receptor</i>
LFA-1	<i>Lymphocyte function-associated antigen 1</i>
LH	Hormone Lutéinisante
LPS	Lipopolysaccharide
LTNP	Progresseurs lents (<i>Long term non progressors</i>)
LTR	Séquence terminale longue répétée (<i>Long terminal repeat</i>)
Ly6C	Antigène lymphocytaire 6 C
MA	Matrice virale
MALT	Tissu lymphoïde associés aux muqueuses (<i>Mucosa-associated lymphoid tissue</i>)

MCP-1	Monocyte chimioattractant protein-1 (<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>)
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor (<i>Macrophage colony-stimulating factor</i>)
mDC	Cellules dendritiques myéloïdes
MIG	<i>Monokine induced by IFN-γ</i>
MIP	<i>Macrophage inflammatory proteins</i>
MMP-9	Metalloprotéinase 9
MoDC	Cellules dendritiques dérivées de monocytes (<i>Monocyte-derived dendritic cells</i>)
MxB	<i>Myxovirus resistance protein B</i>
MZ	Zone marginale
NC	Nucléocapside
Nef	<i>Negative factor</i>
NF-κB	Facteur Nucléaire-kappa B (<i>Nuclear factor-κ B</i>)
NHP	Primate non humain
NK	Cellules tueuses naturelles (<i>Natural Killer</i>)
NLR	Récepteurs de type NOD (<i>Nod-like receptor</i>)
NR4A	Récepteurs nucléaires orphelins (<i>Orphan nuclear receptor</i>)
nTregs	Cellules T régulatrices naturelles
OE₂	Oestradiol
OLS	Organes lymphoïdes secondaires
ONUSIDA	Le programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA
P4	Progestérone
PAMPs	Patrons moléculaires associés aux pathogènes (<i>Pathogen-associated molecular pattern</i>)
PBMC	Cellules mononuclées périphériques sanguines (<i>Peripheral blood mononuclear cells</i>)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PD-1	<i>Programmed cell death-1</i>
pDC	Cellules dendritiques plasmacytoïdes
PEP	Prophylaxies post-exposition
PIC	Complexe de pré-intégration (<i>Pre-integration complex</i>)
pIgR	<i>Polymeric Ig receptor</i>
Pol	Polymerase
PR	Protéase virale
PrEP	Prophylaxies préexposition
PRR	Récepteurs de reconnaissance de patrons moléculaires (<i>Pattern recognition receptor</i>)
pTEFb	<i>Positive transcription elongation factor</i>
RALDH	<i>Retinoic acid synthesizing enzyme</i>
RANTES	<i>Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted</i>
Rev	<i>Regulator of virion expression</i>
RLR	Récepteurs de type RIG-1 (<i>RIG-like receptors</i>)
RORγt	<i>RAR-related orphan receptor gamma T</i>
ROS	Espèces réactives de l'oxygène (<i>Reactive oxygen species</i>)
RRE	<i>Rev-responsive element</i>

RT	Transcriptase inverse (<i>Reverse transcriptase</i>)
SAMHD1	<i>SAM domain and HD domain-containing protein 1</i>
SCARB1	<i>Scavenger receptor class B type-1</i>
SERINC	<i>SERin INCorporator</i>
SIDA	Syndrôme de l'immunodéficience acquise
SIV	Virus de l'immunodéficience simienne
SLP	Inhibiteurs de protéases sécrétés par les leucocytes (<i>Secretory leukocyte protease inhibitor</i>)
SRCR	<i>Scavenger receptor cysteine-rich</i>
STAB1	<i>Stabilin-1</i>
SU	Glycoprotéine de surface de l'enveloppe (<i>Surface envelope glycoprotein</i>)
TAR	<i>Trans-activating response element</i>
Tat	<i>Transactivator of transcription</i>
Teff	Lymphocytes T effecteurs
TGF	Tractus génital féminin (<i>Feminin genital tract</i>)
TGF-β	Facteur de croissance de transformation de type bêta (<i>Transforming growth factor-beta</i>)
Th	Lymphocytes T helper
TLR	Récepteurs de types toll (<i>Toll-like receptors</i>)
TM	Protéine transmembranaire de l'enveloppe (<i>Transmembrane envelope protein</i>)
TNF	Facteur de nécrose tumorale (<i>Tumor necrosis factors</i>)
tolDC	Cellules dendritiques tolérogéniques (<i>Tolerogenic dendritic cells</i>)
Tr1	Lymphocytes T régulatrices de type 1
TRAIL	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>
TRAILR	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor</i>
Trappin-2	<i>Transglutaminase substrate and wap domain containing protein</i>
Treg	Lymphocyte T régulateur
Trim5α	<i>Tripartite motif-containing protein 5 α</i>
TSLP	Lymphopoïétine stromale thymique (<i>Thymic stromal lymphopoietin</i>)
URF	<i>Unique recombinant forms</i>
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (<i>Vascular endothelial growth factor</i>)
Vif	<i>Viral infectivity factor</i>
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VPH	Virus du papilloma humain
Vpr	<i>Viral protein R</i>
Vpu	<i>Viral protein U</i>
VRC01	Anticorps monoclonal VRC-HIVMAB060-00-AB

“Je suis de ceux qui pensent que la science est d’une grande beauté. Un scientifique dans son laboratoire est non seulement un technicien : il est aussi un enfant placé devant des phénomènes naturels qui l’impressionnent comme des contes de fées.” -Marie Curie

Remerciements

Mes deux dernières années de maîtrise furent très enrichissantes malgré un parcours parsemé de rebondissements. La dernière année, tout particulièrement, fut un défi en soi alors que la pandémie nous a obligés à emprunter des routes différentes pour atteindre nos objectifs. La réalisation de mon projet de maîtrise n'aurait pu être possible sans la contribution, de près ou de loin, de plusieurs personnes que je tiens à remercier.

À mon directeur de recherche, Dr Michel Roger, je dis un grand merci de m'avoir accueillie au sein de son équipe. Merci Michel, pour ton approche médicale qui m'a incité à mettre l'humain au centre de mes recherches. Ce point de vue m'a permis de voir les choses sous un autre angle. Merci pour ta franchise et ton impartialité qui furent pour moi d'une aide précieuse, me permettant d'avancer dans la bonne direction et de prendre des décisions plus éclairées.

Merci à la Dre Johanne Poudrier, co-directrice du Laboratoire Roger, qui fut ma mentore en immunologie. Merci de m'avoir communiqué ta grande curiosité et ta passion scientifique qui, à ce jour, ne cesse de m'impressionner. C'est un privilège d'avoir une mentore qui transmet son savoir avec autant d'enthousiasme et d'intelligence. Merci de ta disponibilité et de ton support inébranlable tant au niveau académique que personnel.

Merci à tous mes collègues de Laboratoire qui ont été présents lors de ces 2 dernières années. Marie-Claude Faucher, Lyvia Fourcade, Michelle Byrns, Kim Doyon-Laliberté, Matheus Aranguren et Alessandro Modica. Merci pour votre soutien et votre motivation. Un merci tout particulier à Lyvia d'avoir été un pilier à mes débuts et de m'avoir encouragé à persévérer. Merci Alessandro, pour ton positivisme et ta bonne humeur qui ont illuminé mes journées.

Merci au Dr Coutlée d'avoir eu confiance en moi en m'offrant un travail au sein de son Laboratoire. Je suis extrêmement reconnaissante de l'opportunité que vous m'avez offerte, l'expérience fut des plus enrichissante. Merci à mes deux collègues au sein de ce Lab, Julie Guenoun et Émilie Comète. Merci, Émilie pour ton accueil et ton soutien durant toutes ces années. Pour tous ces échanges et la loyauté de ton amitié. Merci Julie pour ta grande disponibilité et ta générosité tant au niveau professionnel que personnel. Tu as su me guider et me soutenir pendant ce long parcours. Merci pour tous ces coups de fil qui ont su me remonter le moral quand j'en avais

besoin. Je te suis profondément reconnaissante d'avoir pris le temps de lire et relire mon mémoire afin d'en corriger les fautes. Pas une mince affaire, je sais ! Je ressors de cette dernière étape de ma vie étudiante avec une amie dévouée à qui je saurai rendre la pareille, tu peux compter sur moi. Merci à toute l'équipe du Dr Coutlée pour l'ambiance, votre bonne humeur et les bonnes bouffes aux restos.

Merci aux membres du laboratoire de virologie à l'UQTR qui m'ont accueilli au sein de leur équipe. Merci Dr Lionel Berthoux, de m'avoir donné ma première chance et de m'avoir soutenue dans mes démarches de maîtrise. Un merci tout particulier à ma responsable de stage, Dre Natasha Mérindol qui a cru en moi et m'a encouragée à poursuivre mes études de maîtrise.

Merci à la Dre Dominique Gauchat pour ses judicieux conseils en cytométrie en flux, tant sur le plan technique que théorique. Merci à Floriane Point pour ses conseils et son aide précieuse dans l'analyse de mes données de FACS. Merci à l'équipe de la plateforme de génomique et de bio-informatique de l'IRIC pour l'analyse des échantillons.

J'aimerais exprimer ma gratitude à toutes les participantes de l'étude « Immunité mucoale » du Bénin et les personnes associées de près ou de loin à ce projet, qui ont permis la réalisation de cette étude. Ces femmes béninoises détiennent peut-être, sans le savoir, l'une des clés qui permettront de comprendre l'immunité naturelle au VIH.

Mais par-dessus tout, un immense merci à mes parents pour avoir cru en moi et avoir tout mis en œuvre pour que je réalise mes objectifs. Je vous aime profondément et je n'y serais pas arrivé sans vous. Merci à mes sœurs Magalie, Fanny et Camille pour vos encouragements et votre soutien. Merci d'avoir fait comme si vous compreniez mes essais de vulgarisations scientifiques lors de nos rencontres familiales. Je vous aime les filles. Un merci tout particulier à ma tante Chantal pour l'écoute et le soutien. Merci de m'encourager à dépasser mes limites afin de devenir une meilleure version de moi-même. Un très grand merci à mon mari, Nicolas, l'amour de ma vie. Merci de m'avoir épaulé à travers les différentes épreuves qui ont jalonné mon parcours et d'avoir rendu cette aventure plus facile. Je ne trouverai jamais assez les mots pour te dire à quel point je suis reconnaissante de t'avoir dans ma vie. Merci à ma famille pour votre amour simple et inconditionnel, nos différences nous rendent plus forts, j'en suis convaincu.

Chapitre 1

Introduction

L'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) -1 reste, encore à ce jour, un problème de santé publique majeur et 37,7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde en 2020. Cela représente une augmentation par rapport aux années précédentes, mais qui s'explique par la grande amélioration de l'accessibilité aux traitements antirétroviraux (ART) également grâce à une diminution des taux de mortalité et de morbidité chez les personnes infectées. Heureusement, le nombre de nouvelles infections lors des dernières années a grandement diminué et, en 2020, on dénombrait 1,5 million de nouvelles infections dans le monde principalement grâce aux campagnes de prévention en matière de relations sexuelles, de drogues et de grossesses. Toutefois, le 2/3 des individus séropositifs vivent en Afrique subsaharienne. Dans cette région, la majorité des nouvelles infections sont acquises chez la femme de manière hétérosexuelle. Dans certains pays de cette région, l'égalité entre les sexes n'est pas totalement atteinte et les femmes peuvent subir une certaine subordination en matière de rapports sexuels comme l'interdiction d'utiliser des préservatifs ce qui leur permettrait de diminuer les risques d'acquisition du virus. Dans cette région, il y a de plus forts taux de travailleuses du sexe et la prévalence du VIH chez ces femmes est de 39%. Elles représentent une population dite vulnérable à l'infection puisqu'elles ont 26 fois plus de chances d'être infectées que la population normale. De plus, l'accès aux ART est restreint, ce qui n'aide pas à l'éradication de l'infection (1). Il est donc primordial de trouver des stratégies préventives fiables et efficaces afin de prévenir les cas de nouvelles infections.

L'immunité du compartiment systémique est différente de celle présente dans le compartiment génital soit au site initial de l'infection. Ce contraste entre les deux compartiments pourrait expliquer, en partie, les nombreuses difficultés rencontrées dans l'élaboration de stratégies préventives et thérapeutiques pour lutter contre l'infection virale (2-4). Chez la femme, le tractus génital féminin (TGF) joue un rôle important dans la défense de l'organisme contre les pathogènes tout en maintenant une tolérance à la flore commensale (5-7). Malgré les efforts considérables

déployés pour comprendre l'infection au VIH, certains mécanismes se déroulant dans la muqueuse vaginale doivent encore être élucidés, étant donné son rôle critique dans l'infection étant la principale porte d'entrée pour le virus.

Notre laboratoire étudie une cohorte de travailleuses du sexe à Cotonou, au Bénin, en Afrique subsaharienne. Dans cette cohorte, un groupe de femmes hautement exposées demeurent séronégatives (HESN), et ce malgré plus de sept ans de travail sexuel actif. Ces femmes sont dites « résistantes » à l'infection et d'autres groupes d'HESNs ont été répertoriés dans d'autres cohortes (8, 9). Elles représentent un modèle d'immunité naturelle contre le VIH et offrent l'opportunité de caractériser certains facteurs associés à la sensibilité ou à la résistance à l'infection pouvant être utilisés pour le développement de stratégies préventives.

Pour ce faire, nous utilisons des échantillons provenant des HESNs que nous comparons à trois populations contrôles soit des femmes de la population normale béninoise non-travailleuses du sexe et non-infectées, des femmes travailleuses du sexe non infectées et des femmes travailleuses du sexe infectées au VIH.

1 Le Virus de l'Immunodéficience Humaine

1.1 Origine et découverte

Au cours de l'année 1981, plusieurs médecins américains rapportent une augmentation de cas de maladies opportunistes tels que la pneumonie à *Pneumocystis carinii* et certains cancers rares comme le sarcome de Kaposi (10, 11). Plusieurs de ces cas s'accompagnaient également d'une lymphadénopathie persistante caractérisée entre autres par une diminution des fréquences et nombres absolus de lymphocytes T exprimant le cluster de différenciation (CD) -4, T CD4⁺, dans le sang périphérique. Ces observations ont permis de faire le lien entre les différentes manifestations de la maladie et sa cause (12). Ces augmentations d'infection sont tout d'abord relevées dans la communauté homosexuelle masculine, puis chez les utilisateurs de drogues injectables, les hémophiles et les personnes ayant reçu des transfusions sanguines, permettant de soupçonner que l'agent causal pourrait être de nature virale (13). Au cours de l'année suivante, les premiers cas chez des enfants sont observés (14). L'augmentation du taux de mortalité relié à ces infections dans un court laps de temps force le *Center for Disease Control* (CDC) d'Atlanta à investiguer. Ce n'est que l'année suivant l'apparition des premiers cas, lors du dépôt du rapport fait par le CDC, que la maladie sera nommée officiellement comme étant le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) (15).

En 1983, des chercheurs de l'Institut Pasteur à Paris déclarent avoir isolé l'agent causal du SIDA à partir du ganglion d'un patient atteint d'adénopathie. Cet agent sera nommé plus tard par le comité international de taxonomie des virus comme étant le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (16). Cette découverte vaudra au Dre Barré-Sinoussi et à son mentor le Dr Montagnier, le prix Nobel de médecine en 2008 (17, 18).

Quelques années plus tard, en Afrique de l'Ouest, une autre forme de VIH sera découverte. Sur la base des caractéristiques génétiques et virologiques, le VIH sera divisé en deux types soit VIH-1 et VIH-2. Le VIH de type 1 proviendrait des chimpanzés d'Afrique centrale porteurs du virus de l'immunodéficience des chimpanzé (SIVcpz) (19). Tandis que le VIH de type 2 proviendrait des Singes verts mangabeys d'Afrique de l'Ouest (SIVsm). Les multiples transferts zoonotiques ont permis un transfert inter-espèce de ce virus générant deux souches virales

distinctes. De plus, le type 1 est divisé en quatre sous-groupes soit M (*Major*), N (*Non-M, Non-O*), O (*Outlier*) et P (*Pending the identification of further human cases*). Le groupe M est celui qui est responsable de la pandémie actuelle. Il regroupe 11 sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J, K, CRF (*Circulating Recombinant Forms*), URF (*Unique Recombinant Forms*)), quant au VIH-2, il est divisé en 8 sous-groupes allant de A à H (20, 21). Le VIH-2, qui a un taux de transmission faible, restreint son infection à l'Afrique de l'Ouest (22). Nous continuerons l'étude du type 1 dans ce mémoire et nous y référerons donc comme étant le VIH pour la suite.

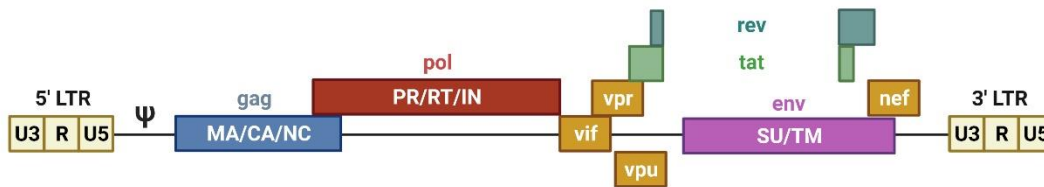
1.1.1 Structure morphologique et génomique

Le VIH est un virus de la famille des *Retroviridae* et du genre lentivirus dont la particule virale mesure environ 100 nm de diamètre (23). Ce virus possède une enveloppe composée d'une bicouche de phospholipides provenant de la membrane cellulaire de son hôte, qu'il acquière lors de son bourgeonnement hors de la cellule. Lorsque le virus est mature, il possède à sa surface des glycoprotéines de surface (SU, gp120) liées de façon non covalente, habituellement à un trimère de glycoprotéines transmembranaires (TM, gp41) (24). L'enveloppe recouvre la matrice virale (MA, p17) qui recouvre, quant à elle, la capsidie protéique de type conique (CA, p24) (voir figure 1)(25).

À l'intérieur de la capsidie réside le génome viral composé de deux simples brins identiques d'ARN à polarité positive associés à des nucléocapsides (NC, p7) qui agissent comme stabilisateurs des deux brins (26). Le génome viral est encadré d'une séquence terminale longue répétée (LTR), qui sont des séquences permettant au virus, une fois rétrotranscrit (voir section 1.3), de s'insérer dans le génome cellulaire (27). Sur chacun des brins d'ARN, on compte 3 gènes structuraux codant pour les protéines Gag (*group-specific antigen*), Pol (polymerase) et Env (enveloppe virale). Ces dernières peuvent être clivées par une des composantes du gène *pol*, la protéase, afin de générer les protéines de structure et des enzymes matures fonctionnelles. Le gène *gag* code pour les protéines externes du noyau soit MA, CA, NC et pour la protéine de stabilisation de l'acide nucléique (P6) (28). Le gène *env* code pour la polyprotéine précurseur gp160 qui, une fois clivée par la protéase cellulaire, génère la protéine membranaire gp120 et la protéine transmembranaire gp41 (29). Le gène *pol* code pour les enzymes nécessaires au bon fonctionnement de la réplication virale telles que la protéase (PR, p11), la transcriptase inverse (RT, p66/p51) et l'intégrase (IN, p31) (30).

De plus, le génome viral comprend des gènes accessoires tels que *rev* (*regulator of virion expression*), *vpu* (*viral protein U*), *vif* (*viral infectivity factor*), *vpr* (*viral protein R*) et des gènes régulateurs tels que *tat* (*transactivator of transcription*) et *nef* (*negative factor*) (31).

A) Génome du VIH-1



B) Virion du VIH-1

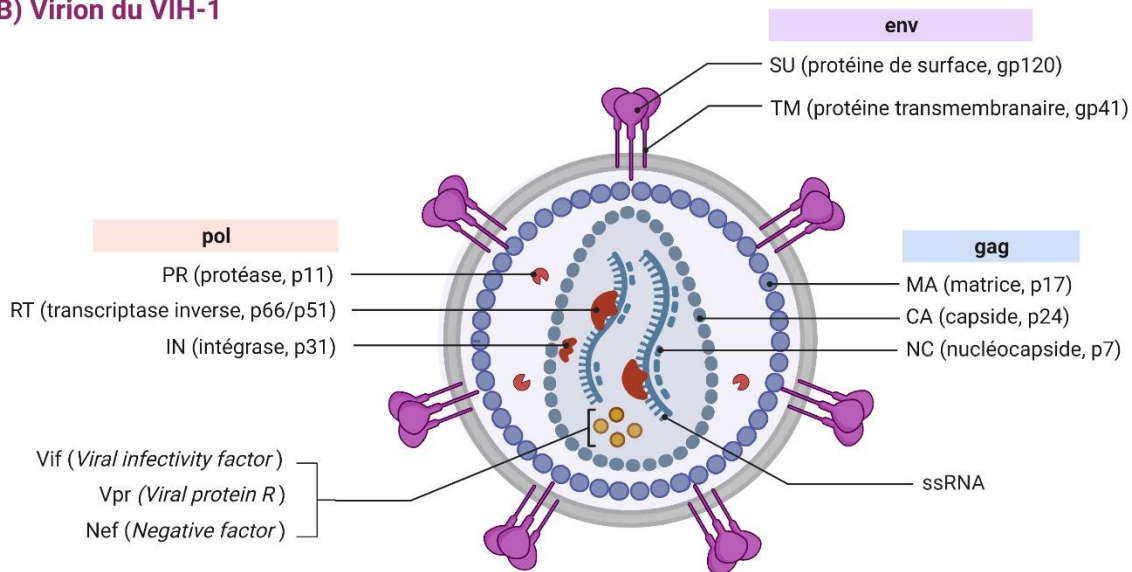


Figure 1. Structure morphologique et génomique du VIH-1.

A) Représentation schématique du génome du VIH-1, comprenant les gènes *gag*, *env*, *pol*, *tat*, *rev*, *vpu*, *vif*, *vpr* et *nef*. **B)** Cette représentation est suivie d'une autre portant sur la structure d'une particule virale mature du VIH-1 ainsi que son matériel génétique. Cette image met en évidence le lien entre les gènes et les structures morphologiques qu'ils encodent telles que les glycoprotéines de surface, ses protéines accessoires et de structure. Créé à partir de BioRender.com et basé sur (32).

1.1.2 Cycle de réplication

Le cycle de réplication du VIH, tel que résumé dans la figure 2 ci-dessous, comprend de nombreuses étapes qui peuvent être regroupées en deux grandes phases. La première est appelée phase précoce et regroupe les étapes commençant par l'attachement du virus à sa cellule cible jusqu'à l'intégration de son génome dans celui de son hôte. La deuxième phase, dite tardive, comprend les étapes de régulation de l'expression du VIH et se termine par la maturation des virions et leur bourgeonnement à l'extérieur de la cellule.

Au cours des dernières années, l'étude du cycle réplcatif a permis de développer plusieurs agents antirétroviraux ciblant différentes étapes du cycle. Ces agents thérapeutiques ont amélioré la qualité de vie des personnes atteintes par le VIH et augmenté leur espérance de vie, sans toutefois les guérir.

1.1.2.1 La phase précoce

La phase précoce débute avec l'attachement du virion à la cellule cible. Ainsi, la première liaison spécifique de cette phase se produit entre la glycoprotéine de l'enveloppe gp120 et le récepteur cellulaire CD4. Cette interaction engendre un changement de conformation des deux molécules de surface et permet le recrutement d'un co-récepteur cellulaire, soit le récepteur C-C chimiokine (CCR) de type 5, CCR5, ou le récepteur C-X-C chimiokine (CXCR) de type 4, CXCR4. L'utilisation de l'un ou l'autre de ces co-récepteurs détermine le tropisme du VIH: celle ciblant CCR5 est dite R5 et peut infecter les lymphocytes T, monocytes et les macrophages tandis que celle ciblant CXCR4 est dite X4 et peut infecter préférentiellement les lymphocytes T. Il est aussi possible qu'une souche du virus ait un tropisme mixte et puisse utiliser les deux types de co-récepteurs. Le recrutement d'un co-récepteur provoque un changement de conformation de la gp120 et de la gp41 permettant l'exposition de la partie hydrophobe de cette dernière et donc son interaction avec la membrane cellulaire. Cette liaison finale engendre la fusion de la membrane cellulaire avec l'enveloppe virale, permettant ainsi l'entrée de la capsid dans la cellule (33-35).

L'attachement du virus et la fusion de sa membrane est suivi rapidement par la décapsidation et la libération de son contenu dans le cytoplasme de la cellule. Lors de cette étape, le virus est progressivement désassemblé et le complexe RT est formé, permettant la rétro-transcription de son matériel génétique. Ce complexe nécessite la présence d'une amorce à ARN

de transfert lysine (ARNt^{Lys}) afin de débiter la rétrotranscription de l'ARN viral en ADN double brin encadré à chaque extrémité des LTRs (36). Un provirus est alors formé et le complexe de transcription inverse est désassemblé. Certaines des protéines du complexe se réassemblent avec des protéines cellulaires pour former le complexe de préintégration (PIC) (37). Par la suite, l'ADN viral double brin est acheminé avec le PIC vers le noyau cellulaire via des microtubules en passant par les pores nucléaires. Ainsi, le provirus peut s'insérer dans l'ADN cellulaire à la suite de l'action de l'intégrase qui clive l'ADN. Finalement, la machinerie cellulaire réparera les cassures dans l'ADN causées par le processus d'intégration, permettant ainsi l'intégration définitive de l'ADN viral dans le génome cellulaire (38).

1.1.2.2 La phase tardive

Une fois le génome viral intégré, le provirus peut entrer en latence ou bien commencer la transcription, à l'aide de l'ARN polymérase II, afin de former de nouvelles particules virales. La régulation de cette transcription est faite par le promoteur du VIH situé dans la région 5' LTR. Lors de la transcription initiale, il est uniquement possible de traduire les protéines régulatrices *transactivator of transcription* (Tat) et *regulator of virion expression* (Rev) ainsi que la protéine *negative factor* (Nef). Cela s'explique par le fait que ces protéines sont issues d'ARN messenger (ARNm) fortement épissés. Tat se lie à une région du transcrit naissant d'ARN en forme d'épingle à cheveux appelée *Trans-Activating Response element* (TAR) ce qui permet le recrutement du cofacteur de transcription cellulaire *positive Transcription Elongation Factor* (pTEFb). Cela formera un complexe qui permettra l'élongation du transcrit d'ARNm. La protéine Rev permet d'exporter les ARNm, partiellement ou non épissés, du noyau au cytoplasme en passant par les pores nucléaires. Pour effectuer son action de régulation du taux d'exportation, elle se lie au *Rev-Responsive Element* (RRE), qui est une région spécifique de l'ARNm, formant ainsi un complexe qui interagira avec la machinerie d'exportation cellulaire. La protéine Nef, quant-à-elle, permet l'acheminement des ARNm viraux vers l'appareil trans-Golgien, les endosomes ou les lysosomes. Cette protéine produite en abondance agit également comme facteur de restriction pour les protéines cellulaires *serin incorporator* (SERINC) -3 et -5.

Suite à la transcription et à la production de l'ensemble des protéines virales, l'assemblage des virions se produit au niveau de la membrane plasmique. Pour ce faire, la protéine virale Vpu permet l'adressage des protéines de l'enveloppe tandis que la protéine *viral infectivity factor* (Vif)

orchestre les étapes finales de l'assemblage du virion. Par la suite, la protéine virale Gag interagit avec les ARN viraux et la membrane pour permettre leur encapsidation dans un nouveau virion. Parallèlement, la protéine codée par le gène Env est synthétisée en gp160 dans le réticulum endoplasmique, puis clivée dans l'appareil de Golgi en gp120 et gp41 pour finalement être exporté et ancré dans la membrane plasmique. À ce moment, le processus de bourgeonnement est initialisé et le virion amorce sa sortie de la cellule en recrutant des protéines cellulaires qui effectueront la scission membranaire et permettront la libération des virions. Une fois sorti de la cellule, le virion subira une dernière maturation grâce à des protéases virales ce qui permettra d'achever sa maturation et le rendra infectieux.

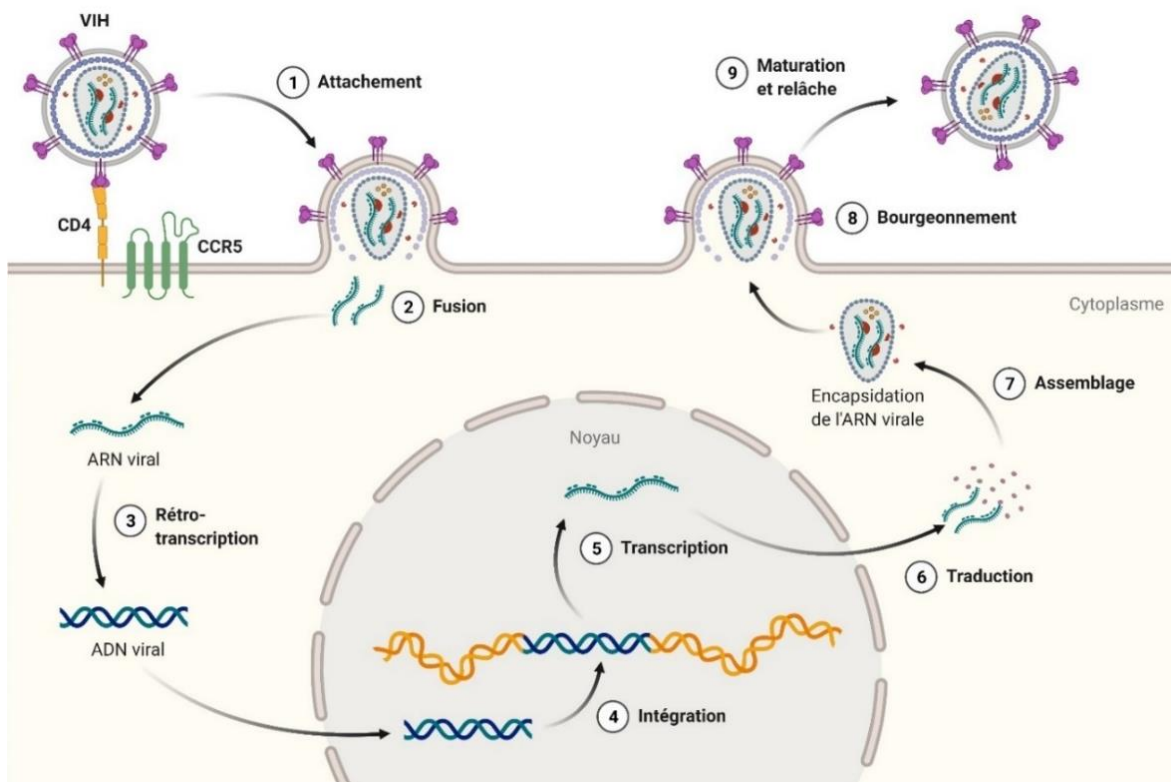


Figure 2. Cycle de réplication virale du VIH-1.

1) Les glycoprotéines de l'enveloppe du VIH-1 se lient à un récepteur CD4 puis à l'un des deux corécepteurs soit CCR5 ou CXCR4 d'une cellule cible. 2) Suite à cette liaison, la membrane plasmique fusionne ce qui permet de libérer le matériel génétique du virus dans le milieu de la cellule. 3) L'ARN viral est rétro-transcrit afin d'obtenir un brin d'ADN viral qui pénètre dans le noyau. 4) L'ADN viral est par la suite intégré à l'ADN de la cellule hôte. 5) L'ADN viral est transcrit en ARNm et exporté hors du noyau cellulaire pour être traduit en protéines virales. 7) Ces protéines sont ensuite assemblées et un nouveau virion peut alors sortir de la cellule par bourgeonnement. 9) Le virion terminera ses dernières étapes de maturation lors de son relâchement hors de la cellule. Créé à partir de BioRender.com et basé sur (39)

1.1.3 Pathogenèse du VIH-1 et SIDA

Selon le Programme commun des Nations Unies sur le VIH/sida (ONUSIDA) en 2019, 38 millions de personnes vivaient avec le VIH à travers le monde dont 1,7 million de personnes devenues nouvellement infectées. La majorité des nouvelles infections sont acquises par relation hétérosexuelle. Parmi ces nouveaux cas, les femmes d'Afrique subsaharienne en représentaient 59% (1).

1.1.3.1 La transmission et les facteurs de risques

La transmission du VIH peut s'effectuer de trois façons différentes : la transmission sexuelle ou mucosale, la transmission par voie parentérale et la transmission mère-enfant. La transmission par voie sexuelle ou mucosale est la plus fréquente et s'effectue via les muqueuses vaginales, rectales ou au niveau du prépuce du pénis à la suite d'une exposition au sperme ou au fluide vaginal d'un(e) partenaire infecté(e) (40, 41). La transmission par voie parentérale est celle qui s'effectue par voie d'inoculation intraveineuse de sang contaminé lors d'une transfusion sanguine ou l'exposition à des outils médicaux contaminés. Ce mode de transmission s'effectue principalement par inoculation sous-cutanée via l'utilisation de seringues contaminées par les utilisateurs de drogues injectables (40). Dans le cas de la transmission mère-enfant, elle peut se produire lors de la grossesse, de l'accouchement ou de l'allaitement (42). Étant donné que la transmission par voie mucosale est la plus répandue, nous nous concentrerons sur celle-ci et plus particulièrement dans celle acquise par voie vaginale.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la transmission du VIH. Parmi les facteurs de risque comportementaux les mieux documentés, on compte : le nombre de partenaires sexuels, le début précoce de l'activité sexuelle (avant 14 ans) et l'absence ou la mauvaise utilisation de condom (6). Plusieurs pratiques vaginales telles que l'utilisation de produits hygiéniques pour nettoyer ou lors de pratiques sexuelles peuvent modifier l'environnement intravaginal le rendant plus susceptible à l'acquisition du VIH (43, 44). Parmi les risques biologiques les plus probants, on retrouve la présence de vaginose ou d'infections transmissibles sexuellement (ITS), la charge virale élevée du partenaire sexuel accompagnée d'un compte faible de lymphocytes CD4 de l'hôte et possiblement le tropisme du virus (6).

1.1.3.2 L'évolution clinique de l'infection par le VIH

La pathogenèse du VIH se divise en trois phases qui se succèdent soit la phase aiguë, la phase chronique, puis la phase SIDA. Dans le cas classique, la progression de l'infection en phase SIDA peut prendre de 8 à 10 ans (45) (figure 3). Dans certains cas, la progression peut varier en temps selon le type de progressions tels que les progressions rapides (section 1.5.1) et les progressions lentes (section 1.5.3).

1.1.3.2.1 La phase aiguë

La phase aiguë, ou primo-infection, correspond à la période qui suit l'entrée du VIH et sa dissémination dans l'organisme. Dans la majorité des infections, le virus fondateur de tropisme R5 pénètre par les muqueuses (46). Il peut alors se lier aux cellules présentes dans les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT) soit : cellules épithéliales, cellules dendritiques (DC), cellules de Langerhans (LC) et macrophages ou infecter les lymphocytes T CD4⁺ (47, 48). Ce premier contact avec le virus provoque la production de facteurs et de cytokines visant à contrer l'invasion virale via l'activation d'une réponse immunitaire. Ce mécanisme permet le recrutement des DCs plasmacytoïdes (pDC), des DCs myéloïdes (*m*DC) et des lymphocytes T CD4⁺ activés au MALT augmentant ainsi la quantité de cellules cibles pour le virus (49). Cette expansion clonale des lymphocytes T CD4⁺ produit un foyer d'infection augmentant ainsi la concentration du virus dans le milieu nécessaire à la dissémination systémique. Par la suite, le virus libre ou lié aux DCs est acheminé aux ganglions drainants lui permettant ainsi d'atteindre davantage de lymphocytes T CD4⁺CCR5⁺ activés ainsi que les lymphocytes T CD4⁺ naïfs et quiescents, permettant l'établissement de réservoirs viraux (40, 50, 51). À partir des ganglions drainants, le virus migre en périphérie puis vers la muqueuse intestinale, plus précisément au niveau des tissus lymphoïdes associés aux intestins (GALT) qui regroupent une grande partie des lymphocytes T CD4⁺ du corps (52) dont 50% expriment le corécepteur CCR5, expliquant la déplétion rapide de ce type cellulaire en début d'infection (53, 54). La phase aiguë est aussi caractérisée par une déplétion des lymphocytes T CD4⁺ dans le sang périphérique et la production des immunoglobulines (Ig) de types G, IgG, spécifiques au VIH (2, 41). Vers la fin de la phase aiguë, la réponse humorale agissant de concert avec l'action des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques ciblant les lymphocytes T CD4⁺ infectés permet la stabilisation de la réplication virale et un rétablissement partiel des populations

de lymphocytes T CD4⁺ circulants, mais pas dans les muqueuses (55, 56), marquant ainsi l'entrée dans la phase chronique de l'infection.

Cette phase se caractérise par une charge virale élevée (57), soit 10⁶ à 10⁷ copies d'ARN viral/ml de sang pouvant causer des symptômes apparentés à ceux de la mononucléose tels que : adénopathies, myalgies, céphalées, fièvre et autres symptômes grippaux (58, 59). Cette phase symptomatique dans 50-70% des cas peut durer de quelques jours à quelques semaines.

1.1.3.2.2 La phase chronique

La phase chronique correspond à la période suivant le pic viral et la stabilisation de la virémie qui persiste tout au long de cette phase. Pendant cette période, le virus continue à se répliquer graduellement et acquiert de plus en plus de mutations qui lui permettent de s'adapter aux lymphocytes T (53). Dans la moitié des cas de patients infectés par le VIH-1 de clade B, le virus mute et acquiert la capacité d'utiliser le deuxième co-récepteur, CXCR4, et donc d'avoir des virus de tropisme X4 (60). Cette faible augmentation continue de la charge virale entraîne, à la longue, une suractivation du système immunitaire pour combattre le virus, provoquant un phénomène d'épuisement immunitaire rendant l'hôte plus susceptible aux infections opportunistes (46). Elle est aussi caractérisée par la perte progressive des lymphocytes T CD4⁺ dans les muqueuses et en périphérie, déjà présente en phase aigüe, qui mène à la déplétion cellulaire puis à l'épuisement du système immunitaire (53). À ce stade, la réponse immunitaire est perturbée et les cellules sont activées par des causes multiples dont des agonistes, des protéines virales, des produits de translocation bactérienne ou des cytokines pro-inflammatoires (40).

Cette phase chronique de l'infection est asymptomatique et peut être qualifiée de latence clinique. Elle est d'une durée variable selon le type de progression, mais, sans traitement, elle peut s'échelonner sur une période de 8 à 10 ans en moyenne (45).

1.1.3.2.3 La phase SIDA

Le syndrome de l'immunodéficience acquise est l'étape ultime de l'infection au VIH. Il est diagnostiqué lorsque le taux sanguin de lymphocytes T CD4⁺ est inférieur à 200 cellules/ μ L (61). Ce taux s'accompagne d'une charge virale très élevée et de lésions graves des tissus lymphoïdes dues à une inflammation chronique et une suractivation prolongée du système immunitaire (53). En absence de traitement, la maladie évolue rapidement et mène à la mort en 8 à 10 mois suivant

le diagnostic. Pendant cette période, le patient atteint du SIDA peut être la proie d'infections et/ou de réactivations bactériennes (tuberculose, listériose, pneumonie), fongiques (candidose), parasitaires (toxoplasmose, pneumonie à *Pneumocystis carinii*) ou virales (cytomégalovirus, virus du papillome humain, virus de l'herpès simplex, virus Epstein-Barr). Certains patients développeront aussi des formes rares de cancers comme le sarcome de Kaposi, les lymphomes non-hodgkiniens et le carcinome cervical invasif. Finalement, des problèmes de défaillances systémiques peuvent survenir en lien ou non avec des maladies opportunistes tels que des problèmes neurologiques (démence), cardiaques (endocardite, athérosclérose) et pulmonaires (emphysème) (62, 63).

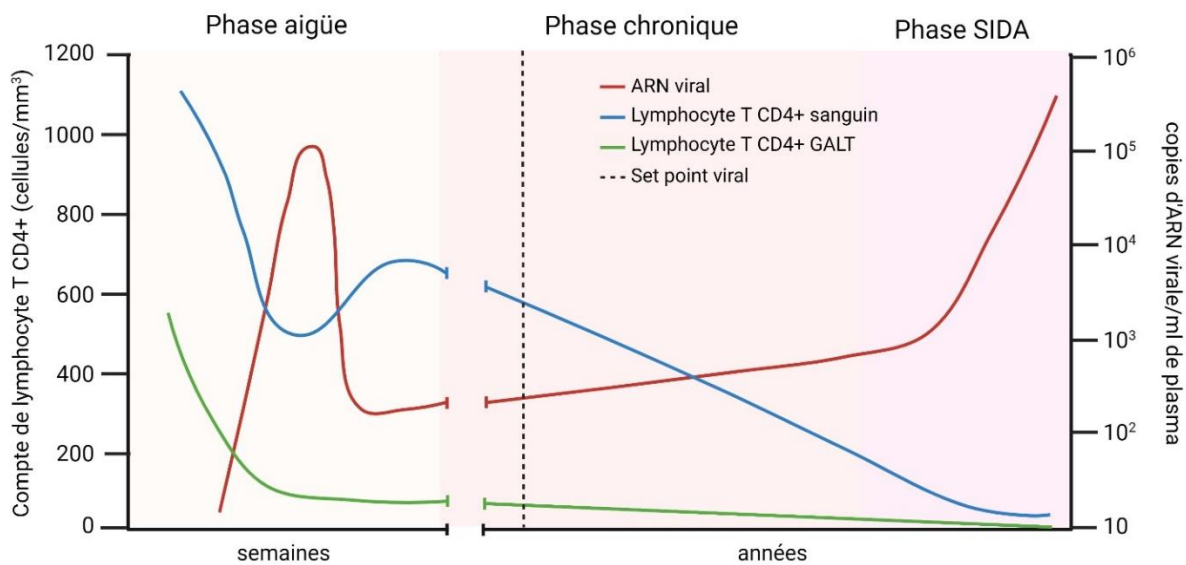


Figure 3. Phase clinique d'une infection au VIH-1.

Lors d'une infection au VIH-1 non traitée, la charge virale (ligne rouge) augmente considérablement lors de la première phase de l'infection, soit la phase aiguë, faisant chuter le compte de lymphocytes T CD4⁺ sanguin (ligne bleue) et le compte de lymphocytes du GALT (ligne verte). Les lymphocytes du GALT s'épuisent rapidement et le compte continue de descendre, et ce pendant les trois phases de l'infection. Suite à une réponse de l'hôte pour combattre l'infection, la réplication virale diminue vers la fin de la première phase et les lymphocytes du compartiment sanguin, quant à eux sont partiellement restaurés. Lorsque la charge virale se stabilise après la primo-infection, il s'agit alors d'un point d'équilibre appelé set point (ligne pointillée). Lors de la deuxième phase, les lymphocytes du compartiment sanguin se remettent à diminuer progressivement, dû à l'augmentation graduelle de la virémie. L'individu infecté entre en phase SIDA lorsque les lymphocytes T CD4⁺ sont complètement épuisés et son système immunitaire se retrouve dans l'incapacité de contrôler les comorbidités et/ou infections opportunistes. Créé à partir de BioRender.com et basé sur (42)

1.1.4 Les types de patients (progresseurs)

Les patients infectés par le VIH peuvent être divisés en trois catégories selon leur charge virale et la durée de temps avant d'entrer en phase SIDA.

1.1.4.1 Progresseurs rapides

Les progresseurs rapides sont caractérisés par une évolution rapide de la maladie atteignant la phase SIDA à l'intérieur de 2 à 3 ans en général en passant par une courte période asymptomatique, voire absente pour certains. Ils représentent 10-15% des personnes séropositives (45, 64). Ils possèdent habituellement plusieurs souches virales différentes de tropisme X4, rendant la dissémination du virus dans le corps plus efficace et donc plus rapide. Cet accroissement de la virémie fait donc chuter rapidement le compte de lymphocytes T CD4⁺ (65). Les progresseurs rapides démontrent une faible activité de neutralisation par les anticorps (Ac), un délai dans la réponse cytotoxique (66) et une augmentation de plusieurs facteurs inflammatoires (67).

1.1.4.2 Progresseurs classiques

La majorité des personnes infectées par le VIH, soit environ 70-80% de la population atteinte, vont présenter une progression dite classique de la maladie. Ces individus conservent un taux de lymphocytes T CD4⁺ supérieur à 500 cellules/ μ L après 2 ans d'infection. Suite à la phase aiguë, une longue phase chronique asymptomatique de la maladie s'installe et peut durer environ 8 à 10 ans avant d'entrer en phase SIDA (45).

1.1.4.3 Progresseurs lents

Les progresseurs lents ou *Long Term Non Progressors* (LTNPs) représentent 5% des personnes infectées par le VIH. Ces individus restent cliniquement et immunologiquement stables sans ART. La phase chronique est très longue et peut durer plus de 10 ans (68). Ces individus ont une fonction immunitaire préservée et maintiennent un niveau de lymphocytes T CD4⁺ périphériques normal ou élevé par rapport aux autres types de progresseurs (68-70). L'une des principales caractéristiques des LTNPs est la faible charge virale qui se situe à moins de 10⁴ copies d'ARN viral/ml de sang (71, 72). L'un des mécanismes possibles qui expliquerait partiellement le contrôle de l'infection est la présence dominante des allèles HLA-B27 et HLA-B57 codant pour le

complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type 1, CMH-I. Ceci permettrait une réponse très spécifique contre le VIH et donc une réponse cytotoxique plus efficace (72-74).

Les contrôleurs élites constituent une sous-catégorie des LTNP et représentent environ 1% de la population séropositive. Ce groupe est caractérisé par une virémie indétectable par des techniques classiques, soit moins de 50 copies d'ARN viral/ml de sang ainsi qu'un maintien du nombre normal de lymphocytes T CD4⁺ sans ART. De plus, la réponse cytotoxique est très efficace due, entre-autres, à la capacité des lymphocytes T CD8⁺ à augmenter leur contenu protéique afin de médier leur cytotoxicité spécifique au VIH. Cette population est très étudiée afin de comprendre les mécanismes impliqués dans le contrôle naturel de leur charge virale dans une optique d'utilisation potentielle pour des traitements thérapeutiques (68, 70, 72, 75).

1.1.5 Les modes de prévention et traitements

Selon ONUSIDA, le nombre de personnes vivant avec le VIH et ayant accès à l'ART avait atteint 25,4 millions de personnes en 2019 et le taux de personnes infectées sans traitement était en déclin (1). Ce type de traitement est souvent administré de manière combinée et permet d'atteindre une virémie si faible qu'elle devient indétectable aux tests commerciaux soit à moins de 50 copies d'ARN viral/ml de sang (42, 76). Il existe plusieurs catégories d'antirétroviraux qui ciblent différentes étapes clés du cycle de réplication du virus, permettant de diminuer fortement sa prolifération. Ces différentes molécules sont souvent administrées en combinaison pour cibler plusieurs étapes simultanément du cycle, permettant d'avoir un effet synergique. De plus, ces traitements permettent le rétablissement partiel des niveaux de lymphocytes T CD4⁺ soit entre 350 - 500 cellules/ml de plasma sanguin (77, 78). Ceci permet donc une reconstitution partielle du système immunitaire et retarde l'entrée en phase SIDA. En effet, l'ART permet aux patients séropositifs une meilleure qualité de vie et d'avoir une plus longue espérance de vie. Toutefois, ces traitements ne sont pas curatifs et s'accompagnent d'effets secondaires à long terme tels que stéatose hépatique, lipodystrophie ou néphrotoxicité rendant l'adhérence aux traitements plus difficile. De plus, l'inflammation chronique causée par la maladie perdure au-delà de la thérapie et contribue au développement accéléré de comorbidités normalement associées au vieillissement telles que les maladies cardiovasculaires (79). Malgré les bénéfices de cette approche thérapeutique, l'accessibilité n'est toujours pas universelle ni curative, et met en évidence l'importance des approches préventives et la découverte d'un traitement curatif.

Il existe plusieurs types de prévention qui ont pour objectif de réduire efficacement le risque d'acquisition du VIH chez les personnes non-infectées. L'une des plus répandues est l'utilisation de préservatifs lors de rapports sexuels. Il existe aussi la prophylaxie préexposition (PrEP) qui consiste à la prise de médicaments par des personnes séronégatives à haut risque de contracter l'infection au VIH (80). Le même genre de stratégie existe pour des personnes qui ont ou pensent avoir été exposées au virus soit la prophylaxie post-exposition (PEP). Ce traitement doit être pris dans les 72 heures suivant l'exposition au virus pour être efficace (81).

Les microbicides constituent une nouvelle catégorie d'agents préventifs visant à empêcher l'entrée du virus aux muqueuses. Ces agents chimiques peuvent être administrés sous forme de gel, de comprimés, de films ou d'anneaux dans les muqueuses génitales ou rectales. Les microbicides ciblent différentes étapes du cycle de réplication du VIH, mais principalement la liaison entre la gp120 et le récepteur CD4 empêchant ainsi la fusion entre la membrane virale et la membrane cellulaire (82).

L'un des principaux objectifs dans le domaine de la recherche sur le VIH est le développement d'une stratégie vaccinale pour la prévention et le traitement de cette infection. L'un des vaccins le plus prometteur à l'étude est l'essai vaccinal RV144. En 2009, lors des premiers tests, une efficacité de 44% de prévention du VIH a été observée 18 mois après l'injection. Malheureusement, cet effet ne semble pas durable puisque 42 mois après l'inoculation, l'effet protecteur descend à 31% (83, 84). Cependant, l'analyse des corrélats de protection a permis de mettre en évidence que la diminution d'acquisition du virus est liée à la réponse cytotoxique à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) médiée par IgG1 et IgG3 provenant du sang circulant. Lors de l'essai vaccinal en Afrique du Sud, il a été découvert que ce vaccin induisait une réponse plus robuste caractérisée par de la phagocytose dépendante des anticorps IgG. Malheureusement, la réponse mucoale n'a pas pu être étudiée lors de l'essai pour le RV144 étant donné qu'aucun échantillon vaginal ou anal n'a été prélevé (85).

Certaines études ont démontré un effet protecteur contre l'acquisition du VIH en visant une stratégie vaccinale basée sur l'utilisation des anticorps neutralisants à large spectre (bNAbs) ciblant l'enveloppe virale (86, 87). Les bNAbs ont la capacité de neutraliser les virus libres ainsi que de tuer les cellules infectées par le VIH et d'activer la réponse immunitaire de l'hôte modifiant ainsi la progression de l'infection (88). Parmi les essais vaccinaux utilisant des bNAbs, l'un des plus

prometteur chez l'humain est celui de l'anticorps monoclonal VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01). Ce vaccin est sous étude clinique pour la prévention de l'acquisition du VIH chez deux groupes hautement à risque soit dans un groupe de femmes sexuellement actives en Afrique subsaharienne et dans un groupe d'hommes transgenre ou non ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes aux États-Unis, au Brésil et au Pérou. Cette étude vise à déterminer la concentration minimale de bNAbs nécessaire au développement d'une immunité passive aux portes d'entrée du VIH, soit aux muqueuses. Ce type d'étude sur l'immunisation passive démontre l'importance de l'action des anticorps aux muqueuses afin de prévenir l'entrée du VIH ainsi que sa transmission (89).

Les vaccins et microbicides sont des avenues prometteuses pour la prévention de l'acquisition du VIH. De plus, l'étude des populations ayant une résistance naturelle au VIH est importante afin d'identifier les facteurs déterminants de cette immunité et permettre le développement de stratégies préventives.

2 Le tractus génital féminin

2.1 La physiologie et l'anatomie du TGF

Le TGF se subdivise en deux régions anatomiques distinctes selon leur environnement soit la partie supérieure, qui est considérée comme stérile, et la partie inférieure, dite non stérile. Ces deux régions expriment des phénotypes différents et sont séparées par une zone de transformation.

Le TGF supérieur est composé de l'utérus, les trompes de Fallope et l'endocol. L'endomètre utérin est constitué d'un épithélium prismatique simple contenant des cellules sécrétrices de glycogène, de cellules basales et de cellules ciliées. Les cellules épithéliales de celui-ci prolifèrent durant le cycle menstruel et forment des glandes lors de la phase sécrétoire (90). Le TGF supérieur présente aussi des agrégats lymphoïdes qui peuvent varier en taille pendant le cycle menstruel atteignant leur taille maximale autour de l'ovulation et pendant la phase sécrétoire du cycle. Ces agrégats sont composés d'un noyau de lymphocytes B entourés par des lymphocytes T CD8⁺ encapsulés par des macrophages (91).

La zone de transformation du TGF est la région qui réunit l'épithélium du TGF inférieur et supérieur. Cette zone contient une quantité élevée de cellules immunitaires par rapport au reste du TGF (92).

Le TGF inférieur est constitué du vagin et de l'exocol. Le vagin est recouvert d'une couche de mucus agissant comme barrière protectrice contre les bactéries constituant la flore commensale. Sous le mucus se trouve un épithélium pavimenteux non kératinisé qui recouvre une couche dense de fibroblastes. Les cellules épithéliales de la muqueuse vaginale emmagasinent de grandes quantités de glycogène qui une fois métabolisé en acide lactique par les bactéries de la flore commensale, permettent l'acidification du vagin. À travers l'épithélium se trouve une population dynamique de cellules immunitaires comprenant les DCs, les LCs et les macrophages. Sous-jacents à cette couche de fibroblastes se trouvent en plus les lymphocytes, les neutrophiles et les cellules tueuses naturelles (NK) ce qui permet d'avoir une stratégie de défense multicouche (90, 93).

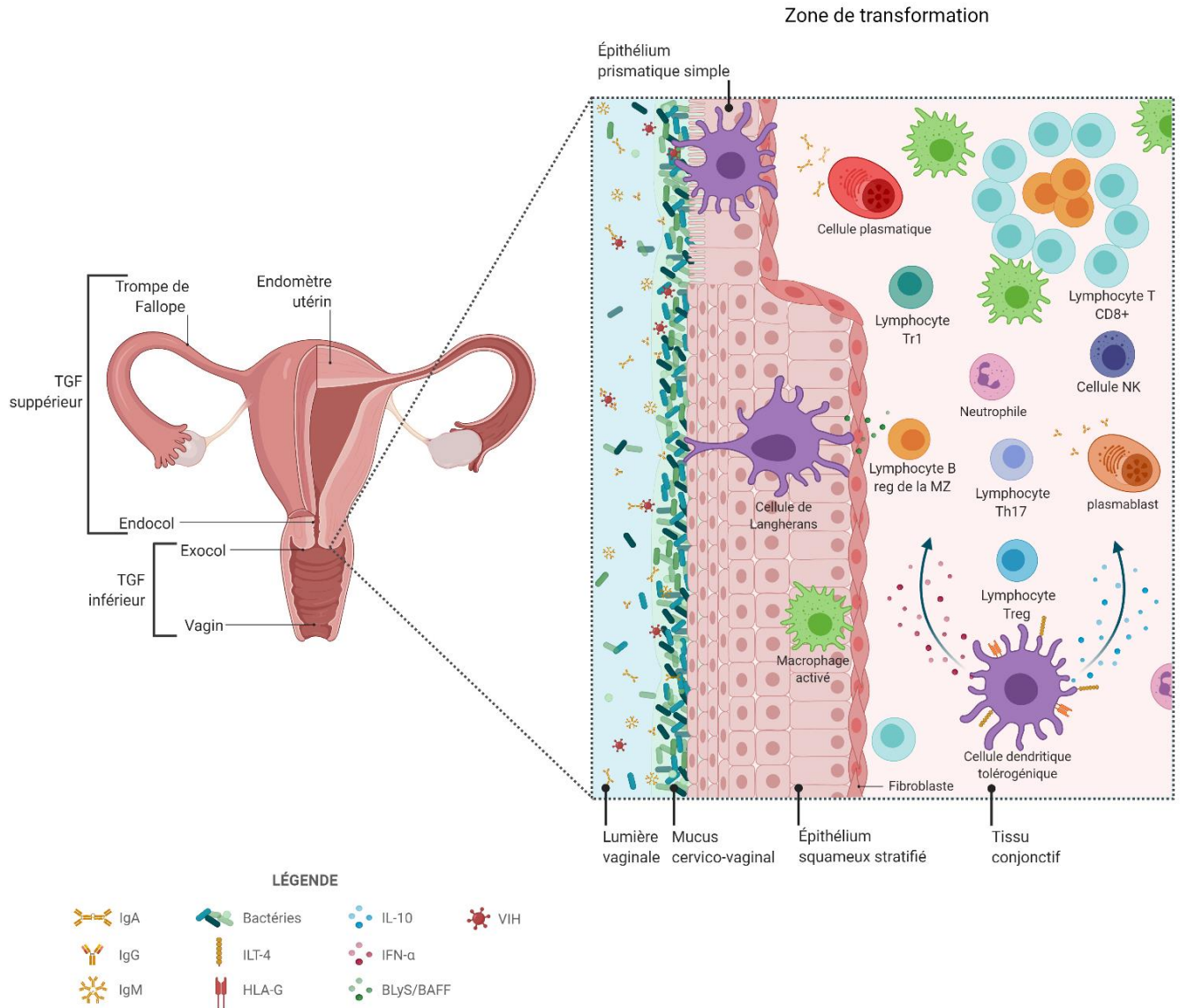


Figure 4. Anatomie et immunologie du tractus génital féminin.

La muqueuse vaginale se subdivise en deux régions anatomiques distinctes soit celle supérieure (trompes de Fallope, utérus et endocol) et celle inférieure (vagin, exocol). Le TGF inférieur est constitué d'une couche de fibroblastes superposée à un épithélium qui est recouvert de mucus et d'une flore bactérienne. Le TGF inférieur rejoint la partie supérieure dans une région anatomique appelée zone de transformation où l'épithélium squameux stratifié laisse place à un épithélium prismatique simple. Dans l'endomètre, de nombreuses cellules immunitaires sont présentes et forment des agrégats lymphoïdes en fonction du cycle menstruel. Créé à partir de BioRender.com et basé sur (5).

2.1.1 Le cycle menstruel et hormonal

L'immunité du TGF est étroitement régulée par des processus inflammatoires et hormonaux via le cycle menstruel afin d'adapter adéquatement sa réponse immunitaire pour permettre la procréation tout en assurant la protection de l'hôte (94).

Le cycle menstruel dure en moyenne 28 jours et comprend trois phases qui se succèdent soit la phase menstruelle, la phase proliférative et la phase sécrétoire. Le cycle menstruel implique une série de modifications cycliques subies par l'endomètre en réponse aux variations de concentrations sanguines d'hormones du cycle ovarien (90). Le cycle ovarien comprend trois phases qui se succèdent. La première phase du cycle ovarien correspond à la maturation du follicule dans l'ovaire et se nomme donc la phase folliculaire, s'en suit la phase ovulatoire lorsque le follicule atteint sa maturité. Finalement, le follicule non fertilisé dégénère en corps jaune et cela marque l'entrée dans la phase lutéale (95).

Chez la femme, le jour 0 du cycle menstruel correspond au premier jour des menstruations, soit le début de la phase menstruelle (du jour 0 au jour 4). Lors de cette phase, l'endomètre du cycle précédent est desquamé afin d'être évacué (96). Simultanément, dans le cycle ovarien, la phase folliculaire débute. Pendant cette phase, l'hormone folliculo-stimulante (FSH) stimule le développement de follicules dans un des deux ovaires. Au fil du temps, grâce à l'intermédiaire de la FSH le follicule mature et produit de plus en plus d'œstradiol (OE₂) (97).

Lors de la phase proliférative du cycle menstruel (du jour 4 au jour 14), l'augmentation graduelle de l'OE₂ stimule les cellules de l'endomètre afin qu'elles prolifèrent. Pendant ce temps, le follicule atteint sa taille maximum quand sa production d'OE₂ atteint son pic de concentration. Il s'en suit alors une augmentation considérable de la concentration de l'hormone lutéinisante (LH) par l'adénohypophyse. Cette hormone permet la rupture du follicule et la relâche de l'ovocyte dans les trompes de Fallope, puis dans l'utérus (96). La phase ovulatoire du cycle ovarien se déroule au jour 14.

Après l'ovulation, le follicule rompu se situant toujours dans l'ovaire cesse sa production d'OE₂ et de LH ce qui marque sa transformation en corps jaune et le début de la phase sécrétoire du cycle menstruel (du jour 14 au jour 28). Lors de cette phase, le corps jaune se développe pour devenir la principale source d'OE₂ et de progestérone (P4). Dans l'endomètre, l'OE₂ continuera à

stimuler le développement de celui-ci, préparant ainsi l'utérus en assurant un apport vasculaire adéquat ainsi que les nutriments nécessaires au futur embryon s'il y a fécondation. La P4, quant à elle, inhibe les concentrations utérines afin d'empêcher l'évacuation de l'endomètre. Ces deux hormones auront pour conséquence d'inhiber les sécrétions de LH par l'hypophyse. La LH étant essentielle au maintien du corps jaune, cette inhibition entraîne la dégénération de celui-ci et donc la diminution de la sécrétion de l'OE₂ et de la P4, mettant fin à un cycle menstruel (97).

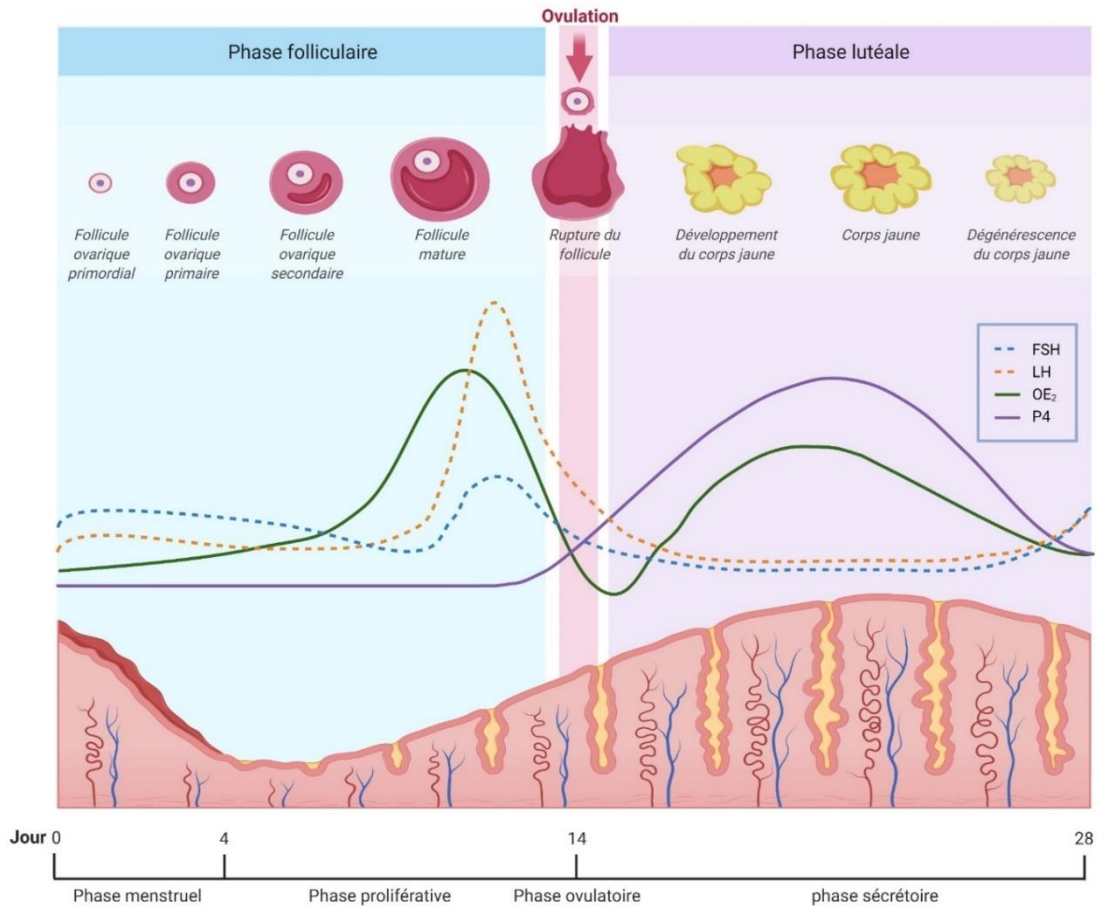


Figure 5. Cycles hormonaux du tractus génital féminin

Le cycle ovarien comprend trois phases (folliculaire, ovulation et lutéale). Sous l'action des différentes hormones sexuelles telles que l'œstrogène (OE₂), la progestérone (P4), l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH), un follicule mature jusqu'à l'ovulation et se transforme en corps jaune qui va finir par dégénérer. Le cycle menstruel suit parallèlement le cycle ovarien afin de préparer l'endomètre utérin en vue d'une potentielle fécondation et comprend quatre phases (menstruel, proliférative, ovulatoire et sécrétoire). Créé à partir de BioRender.com et basé sur (97).

Mis à part la fonction de reproduction, les hormones sexuelles stéroïdiennes affectent aussi les fonctions du système immunitaire du TGF. Ainsi, leurs variations durant le cycle menstruel ont un effet spécifique sur chaque région du tractus. Dans la région inférieure, les fluctuations hormonales n'affectent pas l'abondance des différents types de leucocytes, mais de récentes études semblent démontrer qu'ils influencent leurs fonctions (92).

La phase menstruelle est associée à une diminution des hormones sexuelles et à l'initiation d'une réponse inflammatoire. Durant cette phase, le nombre de cellules immunitaires augmente dans l'endomètre afin de permettre la dégradation de celui-ci, ainsi que la réparation tissulaire. La phase proliférative du cycle menstruel est caractérisée par l'angiogenèse, de même que la régénération de l'endomètre et du tissu cervical (98). Lors de cette phase, la concentration de cellules immunitaires est moindre, tandis que les sécrétions vaginales et cervicales contiennent plus de peptides antimicrobiens afin de balancer cette diminution (99). Lors de l'ovulation, le pic d'angiogenèse facilite le recrutement de plusieurs types cellulaires dans l'utérus tels que les NKs, les neutrophiles et les macrophages (90). Ce recrutement est modulé par les cellules de l'endomètre et les fibroblastes en réponse à l'influence des hormones sexuelles via la production de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance cellulaire qui s'accumulent au pourtour des vaisseaux sanguins utérins (98). Cette migration de cellules immunitaires est importante afin d'éliminer de potentiels agents pathogènes dans le haut du TGF pour préparer l'utérus à l'implantation de l'ovule fécondé (90). Lors de la phase sécrétoire, l'activité cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺ est diminuée, alors que la production d'agents antimicrobiens est augmentée afin d'assurer la survie des spermatozoïdes (99). De plus, au moment de la fertilisation, la production de substances antimicrobiennes est inhibée dans le bas du TGF et la protection immunitaire est atténuée afin de permettre des conditions favorables à l'implantation, créant ainsi une « fenêtre de vulnérabilité » aux infections telle que celle au VIH (90).

2.1.2 L'immunité via la microflore bactérienne

La flore bactérienne au niveau du TGF joue un rôle important dans la modulation de l'environnement et a de grandes répercussions sur la susceptibilité versus la protection de l'hôte contre les infections. Ainsi, une légère modification de la flore peut augmenter les risques d'acquisition d'une ITS. Parmi les facteurs de risques biologiques les plus connus pour l'acquisition du VIH se trouvent la présence de vaginose et d'ITS, une infection au virus du papillome humain (VPH), une charge virale élevée et un compte bas de lymphocytes T CD4⁺(6).

Une microflore en santé est caractérisée par une abondance élevée du genre *Lactobacillus* dont principalement les espèces *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri* et *L. jensenii* (100). Le genre *Lactobacillus* favorise un environnement acide par la production d'acide lactique dans le vagin (101). Cette production acide est augmentée lorsque le taux d'OE₂ est élevé permettant aux bactéries de métaboliser de grandes quantités de glycogène présentes dans l'épithélium vaginal. De plus, les lactobacilles produisent des peptides antimicrobiens et des substances bactériostatiques pour se protéger, protégeant ainsi le TGF des bactéries pathogènes (102, 103). Le fait d'avoir une abondance élevée de ce genre de bactéries dans le milieu permet une compétition interspécifique pour l'attachement à l'épithélium ce qui limite la colonisation d'autres espèces bactériennes (100).

La fonction et la composition de la flore bactérienne sont très complexes et peuvent être modulées par le cycle menstruel, les douches vaginales, la prise de contraceptifs hormonaux, l'utilisation d'antibiotiques ou de médicaments ayant un effet sur le système immunitaire ou endocrinien, ainsi que le nombre de partenaires sexuels et la fréquence des relations sexuelles (6, 43, 44). Un débalancement de la flore bactérienne survient lorsqu'elle n'est plus dominée par le genre *Lactobacillus* et que l'abondance d'autres espèces augmente, causant une vaginose bactérienne (104). Ce débalancement entraîne une augmentation du pH ayant pour principale conséquence la liquéfaction de la couche de mucus protégeant l'épithélium. Ceci entraîne généralement une augmentation de l'inflammation, des dégâts au niveau de l'épithélium et un recrutement massif de cellules immunitaires, les cellules cible du VIH, au site d'infection (105). Ainsi, la vaginose bactérienne augmente le risque d'acquisition du VIH d'environ 1,5 fois (106). Dû à leur persistance (107) et leur récurrence, même traitée (108), les vaginoses augmentent considérablement le risque d'infection au VIH (109, 110).

2.1.3 Le mucus cervico-vaginal

Le mucus joue un rôle important dans la régulation de la flore commensale et offre un support physique à celle-ci (111). Le mucus est un mélange complexe dont la composition et la texture varient durant le cycle menstruel. Cependant, la composante qui donne au mucus sa propriété de gel ou de colle sont les mucines, une famille de glycoprotéines sécrétées par les cellules épithéliales endocervicales (90, 112, 113). Les hormones de la phase menstruelle modifient l'expression des gènes codant pour les différents types de mucines, ce qui influence les propriétés du mucus telle que sa viscosité (114). Lors de la phase proliférative, le mucus est très aqueux et forme une fine couche sur la paroi vaginale et augmentera graduellement jusqu'à la fin de cette phase. Ce type de mucus dit oestrogénique facilite le mouvement des spermatozoïdes vers l'utérus afin de permettre la fécondation (115). Suite à l'ovulation, le mucus devient plus visqueux et forme une couche plus épaisse sur les parois jusqu'à la fin de la phase sécrétoire, ce type de mucus est dit progestatif (116).

Le mucus joue aussi un rôle important dans la défense de l'hôte envers les pathogènes en empêchant l'accès de ceux-ci à l'épithélium et à la partie supérieure du TGF (113). De plus, le mucus contient plusieurs peptides antimicrobiens tels que la calprotectine (117), le lysozyme (118), la lactoferrine (119), la défensine (120), les inhibiteurs de protéase sécrétée par les leucocytes (SLP) (121), la *transglutaminase substrate and wap domain containing protein* (Trappin-2) (9). Ces peptides sont, entre autres, sécrétés par les neutrophiles, les macrophages, les monocytes, les DCs et les cellules épithéliales (90).

Le mucus peut aussi piéger certains agents pathogènes. En effet, la glaire cervico-vaginal interagit avec les Ac pour entraver la mobilité du VIH (112, 122). Cette synergie améliore la fonction de la barrière mucoale en inhibant l'entrée dans les cellules par les pathogènes, en les neutralisant, en faisant l'opsonisation ou via le système du complément (90). De plus, les populations immunitaires ainsi que les cellules épithéliales sécrètent des cytokines et des chimiokines dans le mucus ce qui améliore davantage son action de protection de l'hôte (123).

2.2 Immunologie de l'hôte et des muqueuses

Tel que mentionné à la section 1.1, les leucocytes formant une population dynamique répartie à travers l'ensemble du TGF représentent environ 6-20% du compte total de cellules de celui-ci. L'immunité mucoale est la première ligne de défense du TGF contre les virus, bactéries, champignons et parasites pathogènes (90). Tout comme les autres types d'immunité mucoale, celle du TGF s'est développée afin de s'adapter aux spécificités du site qu'elle protège. Ainsi, une particularité de l'immunité à ce site est qu'elle doit être finement régulée afin de créer un environnement favorable à la procréation tout en étant capable de contrôler la microflore et d'éliminer les pathogènes potentiels (124).

Le système immunitaire au niveau du TGF est principalement sous le contrôle des hormones sexuelles qui modifient grandement la quantité et la répartition des leucocytes dans la partie supérieure de celui-ci. Les leucocytes se retrouvent en plus grande proportion au niveau de l'endocol et de l'exocol du TGF. La zone de transformation qui se situe entre ces deux régions anatomiques contient une très forte concentration de granulocytes, de macrophages, ainsi que de lymphocytes B, T CD4⁺ et T CD8⁺. Sous le contrôle hormonal, des agrégats lymphoïdes composés de ces cellules varient en taille et en composition dépendamment de la phase du cycle menstruel. Dans le TGF, ces agrégats sont ce qui se rapproche le plus d'une structure lymphoïde organisée bien qu'elles n'égalent pas les plaques de Peyer retrouvées dans le GALT (92). Le TGF ainsi que les structures lymphoïdes associées constituent une partie majeure du MALT qui comprend aussi le GALT. Les études faites sur le GALT sont souvent utilisées pour guider les recherches dans le TGF chez différentes populations dues à la difficulté d'obtention de consentement éthique et d'échantillons (125).

2.2.1 Les cytokines et les chimiokines

L'orchestration de la réponse immunitaire dépend de la communication entre les cellules et le microenvironnement. Cette communication est, entre autres, assurée par les cytokines, de petites glycoprotéines spécialisées dans la signalisation cellulaire qui peuvent transmettre des signaux d'activation, de prolifération, de différenciation, de mort cellulaire lorsqu'elles se fixent à leurs récepteurs spécifiques sur la cellule cible (126). Les cytokines agissent en cascade par induction de la production d'autres cytokines par les cellules cibles. Plusieurs cytokines différentes peuvent

aboutir à la même activation cellulaire ce qui rend leurs effets caractérisés de redondants. Les cytokines peuvent avoir un effet anti-inflammatoire qui a pour principal objectif de gérer l'intensité et la durée de la réponse inflammatoire ainsi que les propriétés d'adhérence à l'endothélium essentielle au recrutement des leucocytes. Elles peuvent avoir également un effet immunorégulateur qui permet d'intervenir dans la susceptibilité/résistance aux infections et la régulation des cytokines inflammatoires (127).

Les cytokines peuvent être classées en différentes familles. Parmi elles, on retrouve (i) les facteurs de croissance et de transformation qui jouent un rôle important dans la réparation tissulaire et le contrôle de l'inflammation (128); (ii) les facteurs hématopoïétiques qui jouent un rôle dans l'hématopoïèse et l'activation des leucocytes matures (129); (iii) les facteurs de nécrose tumorale (TNF) qui sont impliqués dans l'inflammation systémique (130); (iv) les interleukines (IL) interviennent dans la croissance, la différenciation et l'activation des leucocytes (131); (v) les interférons (IFN) qui jouent un rôle capital dans l'immunité innée contre les virus et les pathogènes (132); (vi) les chimiokines qui agissent comme chimioattractants.

En effet, les chimiokines jouent un rôle capital dans l'activation et le recrutement des leucocytes vers le site de l'inflammation. Elles sont classées en quatre groupes en fonction de l'espacement entre deux de leurs cystéines en N-terminal (CC, C, CXC et CX3C). Pour différencier les récepteurs des ligands, on ajoute un R pour désigner le récepteur ou un L pour le ligand à la fin de cette nomenclature avant le nombre (133). Les cytokines se retrouvent dans l'ensemble du TGF ainsi que dans les sécrétions vaginales et le mucus (134). L'expression des cytokines et des chimiokines sera abordée plus en détail au cours des prochaines sections.

2.2.2 Les récepteurs de patrons moléculaires

Les cellules de l'immunité innée ont la capacité de reconnaître des patrons moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) ainsi que des motifs moléculaires associés aux dégâts (DAMPs), qui sont normalement des molécules exprimées à l'intérieur d'une cellule comme l'ATP ou l'ADN, grâce à leur forte expression de *pattern recognition receptor* (PRR) sur leur membrane plasmique ou dans l'endosome cellulaire. Il existe plusieurs sous-groupes de PRRs tels que les récepteurs de type RIG-I (RLR), les récepteurs de type NOD (NLR), ainsi que des lectines (127). Les PRRs comprennent également les récepteurs de type Toll (TLR). La classification des différents types de

TLR dépend de leur reconnaissance des différents PAMPs de même que de leur localisation extracellulaire (TLR- 1,2,4,5,6,10) ou intracellulaire (TLR- 3,7,8,9).

Dans le contexte du VIH, la reconnaissance par les cellules de l'hôte peut se faire à de nombreuses étapes du cycle répliatif. Entre autres, deux types de PRRs intracellulaires permettent la détection de l'ADN rétroviral dans le cytoplasme soit *interferon inducible protein 16* (IFI16) et *cyclic GMP-AMP synthetase* (cGAS) (135). De plus, les TLRs 2 et 4 présents à la surface des cellules épithéliales reconnaissent la gp120 de l'enveloppe virale et les TLRs 7 et 8 endosomaux reconnaissent l'ARN génomique viral (136, 137). La reconnaissance du VIH par les PRRs active le facteur de régulation de l'interféron (IRF) 3, IRF3 qui permet d'activer une cascade de signalisation se finalisant par la transcription de l'IFN. Cette cytokine, à son tour, stimule l'expression de gènes antiviraux tels que les facteurs de restriction conférant un certain niveau de protection aux cellules contre le virus. Parmi ces facteurs de restriction, se retrouvent *SAM domain and HD domain-containing protein 1* (SAMHD1), *tripartite motif-containing protein 5 α* (Trim5 α), *apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like* (APOBEC) 3G, APOBEC3G, qui peuvent empêcher le VIH de se répliquer ou de sortir de la cellule évitant ainsi l'infection d'autres cellules par le virus. Toutefois, les protéines accessoires du virus, Vpu et Vif, lui confèrent une résistance aux facteurs de restriction et lui permettent d'éviter en grande partie cette réponse immunitaire innée (138).

2.2.3 Les cellules épithéliales

L'épithélium au niveau du TGF constitue une barrière physique et immunologique qui participe à la protection de l'hôte en séparant la lumière des tissus sous-cutanés. Cette barrière protectrice est modulée par les signaux hormonaux et les stimuli environnementaux tel que la microflore et possiblement des pathogènes. Elle doit donc être adéquatement régulée afin d'offrir une balance optimale de protection (90).

De manière générale, un épithélium est constitué de cellules reliées entre elles par des protéines d'adhérence intercellulaire telles que les desmosomes, les jonctions d'adhésion et les jonctions serrées. Ces protéines d'adhésion cellulaire effectuent différents rôles et se retrouvent donc en quantité différente selon le type d'épithélium et sa fonction (139). L'épithélium du TGF inférieur est constitué d'un épithélium pavimenteux non kératinisé afin de supporter les frictions et d'assurer une bonne protection de l'hôte (140). Les cellules épithéliales de la membrane basale

possèdent de nombreuses jonctions serrées ce qui limite la diffusion et la mobilité des molécules à travers l'épithélium (141). L'absence de jonctions serrées dans les couches superficielles de cet épithélium entraîne une faible liaison entre les cellules permettant une diffusion plus importante de molécules à travers celui-ci. Cette augmentation de la perméabilité permet également à des agents pathogènes comme le VIH de s'approcher des cellules immunitaires et de la membrane basale plus facilement (142).

L'épithélium du TGF supérieur est constitué d'un épithélium cylindrique simple cilié afin d'assurer le mouvement de l'ovule, sa nutrition et son implantation. Les cellules épithéliales de celui-ci sont maintenues entre elles uniquement par des jonctions serrées et sont grandement influencées par le cycle menstruel (140). L'augmentation de l'OE₂ module l'expression des protéines transmembranaires de ces jonctions, entraînant une relaxation de leur liaison. Ce relâchement au niveau des jonctions serrées permet une plus grande perméabilité, rendant la diffusion de molécules à travers la membrane plus facile (143).

Les jonctions serrées peuvent également être dégradées par des agents pathogènes ou un état inflammatoire perturbant ainsi l'intégrité de l'épithélium et le rendant plus vulnérable aux infections (142). Dans le cadre d'une infection au VIH, le virus peut traverser la barrière épithéliale de l'hôte via des jonctions cellulaires lâches ou par transcytose, rendant possible le transfert du VIH aux DCs et aux cellules cibles. En effet, la transcytose est un processus de transport cellulaire qui permet de faire traverser la cellule à des substances, comme des virus, via des vésicules. Ce processus ne permet donc pas au VIH d'infecter les cellules épithéliales (144).

Outre son action de barrière physique, les cellules épithéliales produisent également un large spectre de cytokines et chimiokines en plus d'exprimer, à leur surface, des molécules du CMH-I et II faisant de ces cellules des présentatrices d'antigènes. Elles sont donc caractérisées comme étant des cellules immunitaires dites non conventionnelles. En effet, les cellules épithéliales ont la capacité d'initier une réponse immunitaire suite à une reconnaissance des PAMPs via leur PRRs (145). Les types de TLRs à la surface cellulaire varient selon la région anatomique du TGF. Ainsi, les cellules épithéliales des trompes de Fallope, de l'endomètre, de l'épithélium vaginal et du col de l'utérus expriment à leur surface les TLRs 1-10 (146). Tandis que, au sein de l'endomètre, les cellules épithéliales expriment les TLRs 2-4 et 7-10. Cependant, l'expression des TLRs peut être modulée au cours du cycle menstruel (147).

2.2.4 Les macrophages

Les macrophages sont des cellules phagocytaires professionnelles permettant l'élimination des cellules apoptotiques et des débris cellulaires. Elles peuvent être activées en cas d'infection ou de dommage cellulaire, puisque ce sont des senseurs de l'environnement. Bien que faisant partie de l'immunité innée, ces cellules jouent un rôle important dans la régulation de l'immunité adaptative par leur capacité à présenter des antigènes. Les macrophages jouent également un rôle essentiel dans la réparation tissulaire, l'angiogenèse ainsi que dans l'immunomodulation (148). Ces cellules changent de phénotype en fonction des signaux dans le microenvironnement, ce processus est appelé polarisation ou reprogrammation. En effet, leur phénotype et leurs fonctions dépendent en partie de l'environnement dans lequel ils se trouvent (149). Les macrophages constituent une population cellulaire hétérogène et ayant une forte plasticité. Ces cellules peuvent exprimer une large gamme de phénotypes compris entre les profils M1, pro-inflammatoires, et M2, anti-inflammatoires.

Les M1 sont dits pro-inflammatoires et expriment à leur surface les molécules CD14, CD16, CD80, CD86, TLR2, et TLR4. Ils sont activés de manière classique via la détection de lipopolysaccharides (LPS) ou via l'IFN- γ ou TNF- α produits par des lymphocytes T *helper* (Th) 1, Th1, ou d'autres macrophages (150). Suite à cette activation, les M1 vont activer la voie de signalisation du facteur nucléaire-kappa B (NF- κ B) qui augmente la transcription de gènes impliqués dans l'inflammation favorisant la migration et l'activation des cellules immunitaires. De plus, les macrophage M1, possèdent un rôle dans l'activation des NKs et dans la polarisation des lymphocytes en Th1 via leur production accrue de cytokines telles que TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-12 (151). Les M2 sont dits anti-inflammatoires et expriment à leur surface les molécules CD163, CD206 et CD209. Ils sont activés de manière alternative par des signaux anti-inflammatoires tels que l'IL-4, IL-10, IL-13 et le facteur de stimulation des colonies (CSF) de macrophages, M-CSF ou suite à la phagocytose de cellules apoptotiques (152). Leur activation augmente leur production de cytokines telles que l'IL-10 et d'autres cytokines en fonction de leur sous-type telles que le TGF- β et le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) (153).

Les macrophages constituent environ 10-20% des leucocytes dans le TGF (154). Dans le vagin, leur nombre est moindre que dans le reste du TGF, mais reste stable tout au long du cycle menstruel (155). Dans l'endomètre utérin, les macrophages sont situés à travers l'épithélium ainsi

que dans le tissu conjonctif sous celui-ci (156). Toutefois, leur abondance dans l'endomètre varie selon les concentrations d'hormones sexuelles qui influencent leur migration et leur polarisation. Un plus grand nombre se trouve donc lors de la phase menstruelle, particulièrement au milieu de celle-ci, puis leur nombre décroît durant la phase proliférative (157). Les macrophages du TGF possèdent un phénotype modulé par leur milieu faisant foi de leur grande plasticité. Le type M1 se retrouve augmenté suite à une exposition au liquide séminal afin de créer un environnement inflammatoire favorable à l'implantation (158). De plus, les macrophages du TGF expriment davantage de récepteurs CD4, CCR5 et CXCR4 que ceux du GALT les rendant plus susceptibles à l'infection par le VIH (159).

Les macrophages et les DCs jouent un rôle important dans le contrôle des pathogènes grâce à leur capacité de phagocytose et de destruction des pathogènes à l'aide d'acides, d'enzymes digestives et d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Lors d'une infection virale, leur action directe sur les pathogènes ainsi que leur capacité à présenter des antigènes sont cruciales. En effet, lorsque les PRRs sont activés via la liaison avec des PAMPs ou suite à la phagocytose d'un pathogène, les macrophages et les DCs mûrissent et régulent à la hausse les CMH-I et -II en vue de la présentation de l'antigène aux lymphocytes T et libèrent des IFNs de type 1. Suite à cette maturation, les macrophages et les DCs sont en mesure d'activer d'autres cellules immunitaires dans leur environnement grâce à leur faculté de présentation d'antigènes (145).

2.2.5 Les cellules dendritiques

Les DCs jouent un rôle de sentinelle et répondent à une gamme variée de pathogènes. Elles ont un rôle capital dans l'homéostasie de l'immunité et l'immunotolérance, ce qui affecte le développement de la réponse innée et adaptative. Ce sont des cellules présentatrices d'antigènes (APC) professionnelles capables d'endocytose, de phagocytose et de macropinocytose. En général, les DCs immatures résidant dans les tissus surveillent leur environnement grâce à leurs nombreux PRRs. Lors de la détection d'un PAMP ou d'un DAMP, elles phagocytent l'antigène étranger, ce qui les active. Elles subissent alors de nombreuses modifications dont l'acquisition de dendrites ainsi que l'augmentation de l'expression cellulaire du CMH-II causée par le CD83. Elles possèdent aussi les marqueurs de costimulation CD80 et CD86. Elles se spécialisent également dans la sécrétion de cytokines pour attirer et activer les lymphocytes T CD4⁺ (160, 161). De plus, elles acquièrent le récepteur CCR7 nécessaire à leur migration vers les organes lymphoïdes secondaires

(OLS) afin de présenter l'antigène sur leur CMH-II aux lymphocytes T CD4⁺ naïfs et d'orchestrer une réponse immunitaire adéquate. Les DCs sont également capables d'activer les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques naïfs grâce à leur capacité de présentation antigénique croisée sur leur CMH-I.

Les DCs peuvent aussi être recrutées à un site inflammatoire via la liaison de chimiokines telles que *macrophage inflammatory protein* (MIP) -1 α , MIP-1 α /CCL3, *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted* (RANTES/CCL5) et MIP-3 α /CCL20 à leurs récepteurs spécifiques de surface. Dans ce contexte, leur activité endocytaire est intensifiée jusqu'à la capture d'un antigène inconnu provoquant l'arrêt de celle-ci afin d'éviter la surstimulation des lymphocytes T par la suite.

Les DCs représentent donc une population hétérogène d'APC. Ces cellules sont classifiées en fonction de leur origine, leur localisation ainsi que leur fonction. De manière générale, les DCs peuvent être subdivisées en trois grandes catégories soit les pDCs, les mDCs ainsi que les DCs dérivées de monocytes (MoDCs) (162).

Les pDCs sont des cellules spécialisées ayant une grande longévité. Elles sont principalement localisées dans les ganglions lymphatiques et le sang périphérique et expriment les récepteurs CD123 et CD303. Elles ont la capacité d'induire une vaste gamme de réponses chez plusieurs types cellulaires, mais sont principalement reconnues pour leur production massive d'IFN-I qui bloque directement l'infection virale suite à leur activation via les TLR7 et TLR9 lors d'une infection virale (163, 164). Elles participent également à la tolérance grâce à leur expression de l'enzyme indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) qui permet l'activation des lymphocytes T CD4⁺ en lymphocyte T régulateur (Treg) (165).

Les mDCs, aussi appelées classiques ou conventionnelles (cDC), sont des cellules spécialisées dans la présentation d'antigènes (166). Ce sont des cellules ayant une courte espérance de vie et qui sont constamment remplacées par des précurseurs présents dans le sang périphérique. Les mDCs peuvent être subdivisées en deux grandes sous-populations soit les cDC1 et cDC2. Les cDC1 ont une grande capacité de présentation croisée d'antigènes pour l'activation des lymphocytes T CD8⁺ et dans la promotion de l'activation des Th1. De plus, ce sont de grands producteurs d'IFN-III. Les cDC2 expriment une grande variété de TLRs (1-8) et leur expression cytokinique est modulée par le tissu dans lequel ils se trouvent (167, 168). En effet, une sous-catégorie des cDC2 serait les LCs, un type d'APC situé à travers l'épithélium de la peau exprimant

le récepteur Langérine (169). *In vitro*, les cDC2 possèdent la capacité de promouvoir les Th1, Th2, Th17, ainsi que les lymphocytes Tregs suggérant un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire (167).

Ainsi, les DCs peuvent acquérir un phénotype tolérogénique (tolDC) qui entraîne un état de tolérance immunitaire via différents mécanismes de régulation. Plusieurs études suggèrent que les DCs acquièrent leurs fonctions tolérogéniques en réponse à de nombreux types de stimuli tels que l'IL-10 et le TGF- β , ce qui leur confère un phénotype semi-mature. Ce phénotype est caractérisé par un état de maturation intermédiaire avec une faible expression des protéines de costimulation et de CMH-II (170). Les tolDCs peuvent induire la tolérance via plusieurs voies métaboliques dont : l'anergie clonale, la modulation métabolique des lymphocytes T, la production de cytokines anti-inflammatoires et la délétion clonale (voir figure 6). Parmi les tolDCs, une sous-population caractérisée par leur capacité à sécréter spontanément de l'IL-10 a été identifiée comme étant les DC-10. Ces cellules expriment un ensemble spécifique de marqueurs soit CD14, CD16, CD11c, CD11b et CMH-II. De plus, elles possèdent les marqueurs de maturité CD80 et CD86 et expriment des molécules tolérogéniques dont les transcrits semblables à des immunoglobulines (ILT) -2,3,4 et des antigènes leucocytaires humains (HLA) -G, HLA-G (171). Les DC-10 peuvent favoriser l'induction des lymphocytes T régulateurs 1 (Tr1) via la voie de signalisation d'ILT4/HLA-G dépendante d'IL-10 (172). Des études *in vitro* ont démontré que les MoDCs traitées avec l'IL-10 et/ou de l'IFN acquéraient un profil tolérogénique et promouvaient l'expression des récepteurs d'ILT3 et 4. Ces cellules étaient ensuite capables d'induire des Tr1 (173).

L'expression des marqueurs de surface ainsi que le profil d'expression des DCs diffèrent selon les sous-populations et peuvent varier selon les différents tissus au sein d'un même individu. Ainsi, dans le TGF, les DCs possèdent un phénotype cellulaire spécifique à leur fonction de protection dans ce tissu (174). Une différence phénotypique marquante des DCs aux muqueuses est leur expression unique de CD103, une intégrine nécessaire pour leur migration, dans l'endomètre utérin. Les DCs présents dans le col de l'utérus expriment plus fortement *Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin* (DC-SIGN) et CD14 que ceux dans l'endomètre. Les DCs exprimant DC-SIGN sont présentes dans tout le TGF, mais n'expriment pas CD103 (128, 175). De plus, une étude récente a démontré que les DCs résidant

dans le TGF de type CD11c⁺ peuvent être subdivisées en plusieurs sous-populations selon leurs niveaux d'expression de CD11b, CD1a et CD14. Ils ont également démontré que la principale population de DCs retrouvée dans le TGF est celle exprimant CD11c⁺ et CD14⁺. Dans le GALT, la majorité des DCs sont des MoDCs et sont impliquées dans le maintien de l'équilibre homéostatique, il est donc possible que cela en soit de même dans le TGF puisque la plupart des DCs exprimaient CD14 (128). Dans la partie supérieure du TGF, les DCs se retrouvent principalement dans l'épithélium luminal alors que les pDCs sont présentes dans le tissu conjonctif sous celui-ci. Lors de la phase proliférative, le nombre de DCs CD83⁺ augmente dans l'épithélium se situant près de la lame basale. Dans la partie inférieure du TGF, les DCs et les LCs sont principalement présentes dans l'épithélium (90). Les DCs et LCs aux muqueuses expriment la molécule CD1a, une glycoprotéine structurelle apparentée au CMH-I qui permet de présenter des antigènes de nature lipidique aux lymphocytes T (176).

De plus, l'équilibre de l'immunité mucoale, en conditions non inflammatoires, implique une communication croisée, « crosstalk », entre les cellules épithéliales et les DCs sous-jacentes à la muqueuse qui maintiennent une balance homéostatique entre tolérance et défense (6). En effet, l'interaction de la flore commensale avec les cellules épithéliales favorise l'expression de lymphopoïétine stromale thymique (TSLP) et TGF- β par celles-ci. Ces molécules avec l'acide rétinoïque (AR) sont essentielles à la différenciation des DCs dans un profil tolérogénique CD103⁺ (177). Lors d'une infection, les premières cellules à détecter les agents pathogènes sont les cellules épithéliales et les DCs via les PRRs permettant de contribuer à la protection en produisant des agents antimicrobiens, chimiokines et cytokines (90, 155). Les monocytes circulant dans le sang sont recrutés dans les tissus et se différencient en MoDCs ou en macrophages (178). Les monocytes seront décrits plus en détail à la section 6.

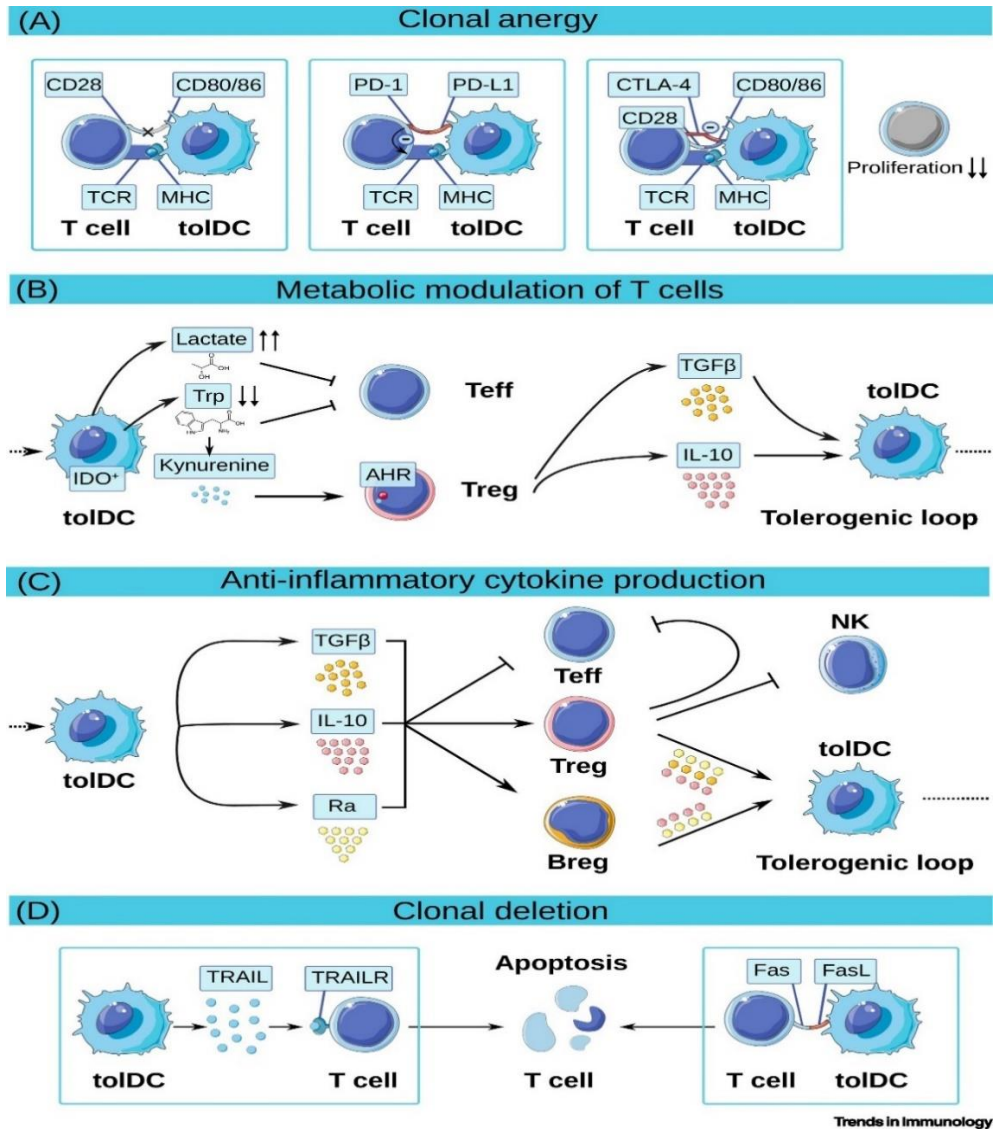


Figure 6. Mécanismes d'action des DCs tolérrogéniques.

(A) L'anergie clonale se produit suite à la liaison du récepteur des lymphocytes T (TCR) des lymphocytes T au CMH des toIDCs et à une forte deuxième liaison inhibitrice menant à la réduction de prolifération des lymphocytes T. (B) La modulation métabolique des lymphocytes T se produit suite à la synthèse par les toIDCs de l'enzyme indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) qui génère un microenvironnement diminuant l'activité des lymphocytes T effecteurs (Teff) et stimule la différenciation des lymphocytes T en régulateurs (Tregs) qui, à leur tour, produisent l'IL-10 et le TGF- β qui stimulent la différenciation des DCs en toIDCs. (C) La sécrétion de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10, le TGF- β et l'acide rétinoïque (AR) diminue l'activité des Teff, stimule la différenciation des Tregs ainsi que celle des lymphocytes B régulateurs (Breg). (D) La délétion clonale se produit suite à la liaison du récepteur FasL des toIDCs au récepteur Fas des lymphocytes T induisant l'apoptose des lymphocytes T. Cette apoptose peut aussi se produire lors de la liaison des cytokines TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) produit par les toIDCs au récepteur TRAIL (TRAILR) des lymphocytes T. Reproduction avec la permission de Elsevier inc., Trends in Immunology (179), numéro de licence : 5105480093934. Copyrights 2020.

2.2.6 Les lymphocytes T

La majorité des lymphocytes T sont des cellules de l'immunité adaptative. Ils débutent leur maturation dans le thymus en tant que thymocytes où plusieurs étapes de sélection positive et négative seront effectuées afin de sélectionner des cellules tolérantes au CMH du soi. Ce processus est connu sous le nom de tolérance centrale. Suite à ce processus, les lymphocytes T sont considérés comme matures, mais naïfs étant donné qu'ils n'ont pas encore été activés par une APC présentant un peptide sur leur CMH au récepteur des lymphocytes T $\alpha\beta$ (TCR). L'interaction avec l'antigène présenté par les APC ainsi que les molécules de costimulation telles que CD80, CD86 exprimées à sa surface et l'environnement cytokinique déterminent le type de lymphocyte T effecteur (Teff) qui seront générés et la nature de la population de lymphocytes T mémoire qui en découlera (180). Toutefois, il existe une population intraépithéliale de lymphocytes T $\gamma\delta$ faisant partie des lymphocytes T non conventionnels qui expriment une variante du TCR appelée TCR $\gamma\delta$. Cette population est présente dans l'utérus et sécrète du TGF- β afin de réprimer la réponse immunitaire de la mère contre le fœtus. Ces lymphocytes participent à la fois à l'immunité innée et adaptative en recrutant les Th1 via la sécrétion d'IFNs et sont donc considérés comme des populations cellulaires de première ligne (145, 181).

Les lymphocytes T CD4⁺ naïfs sont principalement activés par des DCs et peuvent se différencier, entre autres, en lymphocytes auxiliaires tels que les Th1, Th2, Th17 et Tregs (voir figure 7). En effet, l'environnement cytokinique joue un rôle dans cette différenciation/polarisation ainsi que les molécules de costimulations. La présence d'IL-12 et d'IFN- γ favorisent la différenciation des lymphocytes T en Th1 qui participent à l'immunité cellulaire par la sécrétion d'IFN- γ et d'IL-2 qui favorisent l'activation des lymphocytes T cytotoxique. En présence d'IL-4 et d'IL-2 les lymphocytes T se différencient en Th2 et produisent d'IL-4, IL-5 et IL-13 qui leur permet de participer à la réponse immunitaire en lien avec les allergies, à la défense contre les pathogènes extracellulaires tels que les helminthes ainsi qu'à la réponse humorale (180). Les Th17 se trouvent principalement aux muqueuses et nécessitent le facteur de transcription *RAR-related orphan receptor gamma T* (ROR γ t) et la présence de TGF- β et d'IL-6 pour induire le début de leur différenciation, puis d'IL-21 afin de médier leur amplification et finalement d'IL-23 pour les stabiliser. Les Th17 produisent de l'IL-17, IL-21 et IL-22 afin de maintenir l'intégrité de la barrière épithéliale et participent à la défense de l'organisme contre les bactéries et les mycètes pathogènes

(182). Ces sous-populations de lymphocytes expriment des molécules telles que CD40 ligand et sécrètent des cytokines particulières destinées à leurs fonctions d'auxiliaires ou « helper » notamment pour les lymphocytes B et T CD8⁺. Les Tregs expriment des molécules de surface comme le CD4 et le CD25 et sont essentiels à l'homéostasie immunitaire ainsi qu'à la tolérance périphérique et centrale (183). Il existe deux sous-populations de Tregs soit les Tregs naturels (nTreg) et les Tregs induits (iTreg) qui expriment tous deux le facteur de transcription *forkhead box P3* (FOXP3) avec des niveaux de méthylation différents. Les nTregs sont activés dans le thymus et nécessitent la présence de cytokines telles qu'IL-2, IL-15 et IL-7, ainsi que l'expression du facteur de transcription FOXP3 induit par les membres de la famille des récepteurs nucléaires orphelins (NR4A) (184). Les iTregs sont activés en périphérie par la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ naïfs par les tolDCs (voir figure 6) (185). Les lymphocytes T régulateurs de type 1 (Tr1) font parties d'une sous-population d'iTreg qui exprime le facteur FOXP3 de manière transitoire. Ces cellules possèdent un fort potentiel suppressif qui leur permet d'inhiber la réponse des lymphocytes T CD4⁺ par le biais de mécanismes impliquant une forte production d'IL-10 ainsi que l'expression à leur surface de *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4* (CTLA-4) empêchant la liaison de CD28 au CMH des APCs (186).

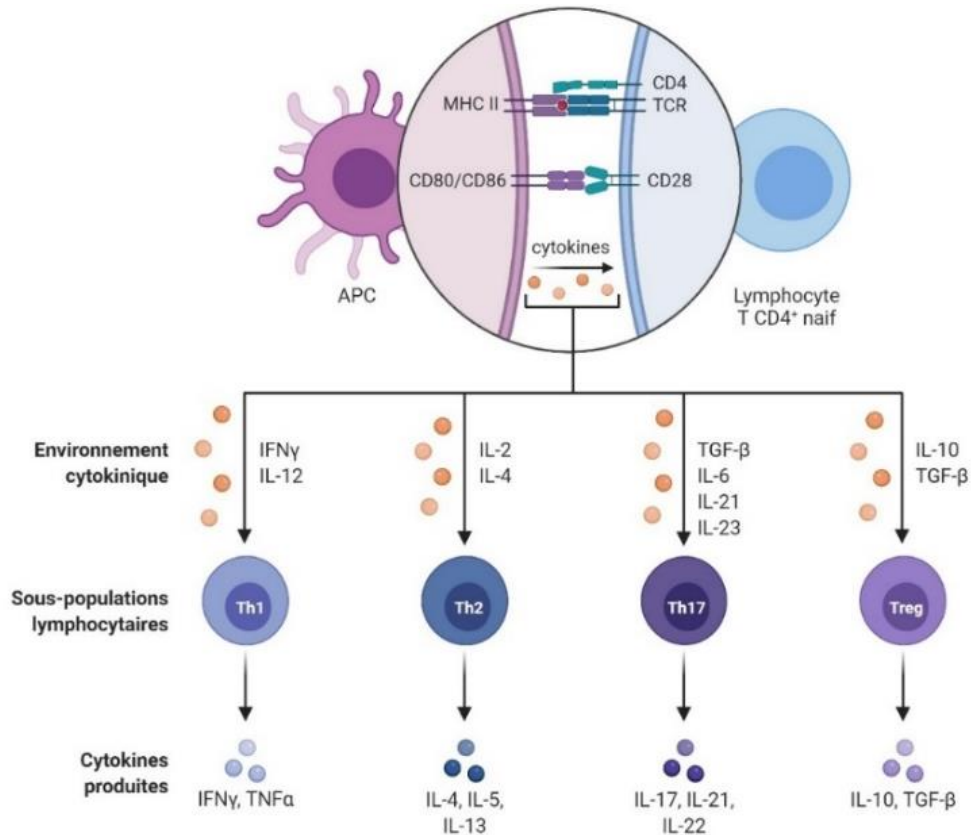


Figure 7. Différenciation des lymphocytes T CD4⁺

Par leur activité d'APC, les DCs peuvent activer la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ naïfs en lymphocytes T auxiliaires tels que Th1, Th2, Th17 et Tregs. L'environnement cytokinique joue également un rôle dans cette différenciation/polarisation avec les molécules de co-stimulation à la surface des DCs. Une fois différenciés en lymphocytes T auxiliaires, ceux-ci produiront une vaste gamme de cytokines spécifiques à leurs fonctions. Créé à partir de BioRender.com et basé sur (187).

Les lymphocytes T CD8⁺ sont des cellules cytotoxiques induisant l'apoptose des cellules présentant des peptides viraux sur leur CMH-I qui sont reconnus par le TCR (188). Ces cellules, une fois activées, créent des pores dans la membrane de la cellule cible grâce à la libération de perforines et de protéases à sérines comme les granzymes ou déclenchent via la liaison entre Fas et FasL (189).

Dans le TGF, les lymphocytes T constituent environ 40-50% des leucocytes totaux (7). Les lymphocytes T présents sont majoritairement des lymphocytes T mémoires effecteurs, mais s'y retrouve aussi une petite minorité de lymphocytes T naïfs. Dans la partie inférieure du TGF, les

populations de lymphocytes T CD4⁺ et T CD8⁺ sont retrouvées en abondances semblables (190). Dans cette région anatomique, les lymphocytes T sont distribués tout au long de la lamina propria, mais s'y trouve une plus grande concentration de lymphocytes T CD4⁺, alors que les lymphocytes T CD8⁺ se retrouvent principalement dans l'épithélium. La présence accrue de lymphocytes T CD4⁺ exprimant CCR5 par rapport à ceux du sang périphérique, suggère une plus grande susceptibilité à l'infection au VIH à ce site (191). À l'instar de plusieurs populations de cellules immunitaires du TGF, les populations de lymphocytes T sont influencées par les variations du cycle hormonal. Ainsi, l'activité cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺ diminue lorsque les niveaux de P4 et d'OE₂ sont élevés dans le sang (192). Cette perte d'activité cytotoxique corrèle avec la formation des agrégats lymphoïdes dans le tissu conjonctif de l'endomètre (193). Les lymphocytes Tregs sont aussi influencés par les niveaux cycliques hormonaux. Ainsi, durant la phase proliférative, leur abondance augmente dans l'endomètre et persiste durant la phase sécrétoire. Cette variation est aussi observée dans le sang. Ces modulations en lien avec le cycle hormonal pourraient augmenter la tolérance dans le TGF nécessaire au succès de l'implantation d'un fœtus (194).

2.2.7 Les lymphocytes B et les immunoglobulines

Les lymphocytes B jouent un rôle important dans l'immunité adaptative grâce à leur production d'anticorps spécifiques et participent à l'immunité innée grâce à certaines sous-populations de première ligne. Ces cellules débutent leur développement dans la moelle osseuse à partir de cellules précurseurs hématopoïétiques. Elles subissent de nombreuses étapes de maturation ainsi qu'un processus de sélection et de régulation appelé tolérance centrale afin d'éliminer les lymphocytes B non fonctionnels ou autoréactifs. Les lymphocytes B immatures ayant survécu aux différents points de contrôles sont dits transitionnels immatures et expriment, à leur surface, le complexe membranaire récepteur des cellules B (BCR) (195). Ils quittent la moelle osseuse via la circulation sanguine et migrent vers les OLS principalement la rate, mais aussi les ganglions lymphatiques, les amygdales et les plaques de Peyers afin de terminer leur maturation. Dans les follicules d'un OLS, les lymphocytes B effectuent d'autres mécanismes de sélection appelés tolérance périphérique pour devenir des lymphocytes B matures naïfs prêts à être activés par un antigène. La survie et la maturation en lymphocytes B matures naïfs dépendent du signal tonique, c'est-à-dire un signal agissant de manière indépendante d'un antigène spécifique, reçu via le BCR

ainsi que de la stimulation par la cytokine stimulatrice des lymphocytes B (BLys) (196). Cette cytokine aussi connue sous le nom de facteur d'activation des cellules B (BAFF) appartient à la superfamille des ligands du TNF et est exprimée sous forme trimérique à la surface de nombreuses cellules, comme les neutrophiles activés (197), les monocytes, les macrophages (198) et les DCs (199), mais aussi par certaines populations de lymphocytes T activés (200). Son expression est induite par certaines cytokines comme l'IL-10, le TNF- α , et l'IFN- γ ainsi que par l'OE₂ (201).

La survie, la maturation et l'activation des lymphocytes B sont influencés majoritairement par la présence de BAFF soluble et du type de récepteur auquel il se lie, générant différentes capacités de transduction du signal activant différenciellement les voies de signalisation de Notch2 et NF- κ B (196). De plus, la différenciation subséquente des lymphocytes B dépend de la force de signalisation perçue via leur BCR. Ainsi, de faibles niveaux de signalisation favoriseront un signal via Notch et la migration des lymphocytes B vers la zone marginale (MZ) où, les cellules deviendront des lymphocytes B matures de la MZ et de forts niveaux de signalisation favoriseront la migration vers le centre germinatif (CG), chez l'humain, où ils deviendront des lymphocytes B matures folliculaires (202). Dans le CG, les lymphocytes B migrent constamment d'une zone à une autre dans un processus de maturation permettant d'obtenir des lymphocytes B le plus spécifiques possible. Après chaque ronde de sélection positive, les lymphocytes B retournent soit dans la zone sombre du CG ou quittent celui-ci en tant que lymphocytes B mémoire ou plasmocytes produisant des Ac. C'est le temps passé dans le CG et le nombre de rondes ainsi que la force du signal du BCR qui dictent la différenciation des lymphocytes B dans un des deux types matures (203).

Les lymphocytes B de la MZ font partie d'une population hétérogène et sont identifiés par leur expression des marqueurs IgM^{hi}, IgD^{low}, CD27, CD21 et CD1c (204). Ils se situent dans un compartiment anatomique localisé au pourtour des CG soit entre la pulpe blanche, qui se trouve à être un tissu lymphoïde secondaire, et la pulpe rouge qui est riche en érythrocytes. Cette région anatomique permet aux lymphocytes B de la MZ d'être hautement exposés aux antigènes (205). Chez l'humain, ces lymphocytes ont la capacité de recirculer en périphérie vers d'autres OLS ainsi que vers certains tissus lymphoïdes au sein des muqueuses. Ils sont ainsi les premiers à entrer en contact avec les antigènes dans les OLS (206). Les lymphocytes B de la MZ sont dits innés ou de première ligne puisqu'ils possèdent un BCR polyréactif qui leur permet de reconnaître un grand nombre d'antigènes et la capacité à réagir rapidement. De plus, leur seuil d'activation est beaucoup

plus faible que celui des lymphocytes B folliculaires. Ils possèdent également de nombreux TLRs et lectines à leur surface ce qui permet de reconnaître une vaste gamme de PAMPs/DAMPs (207). Les antigènes peuvent être présentés aux lymphocytes B de la MZ par des APC ou être libres et être capturés par des neutrophiles auxiliaires des lymphocytes B qui se différencient en neutrophiles circulants suite à la production d'IL-10. Les neutrophiles et les APC libèrent BAFF et d'autres cytokines qui lient leurs récepteurs spécifiques entraînant de concert l'activation des cellules B et leur différenciation en plasmocyte à court terme sécrétant des IgM, mais également des IgG et des IgA via la commutation isotypique de classe. Ce type d'activation permet donc aux lymphocytes B de la MZ de produire des anticorps sans l'aide des lymphocytes T. Ces cellules ont aussi la capacité d'être activées de manière T-dépendante, en agissant comme cellules présentatrices d'antigènes pour les lymphocytes T, grâce à la forte présence de CMH-II à leur surface. Les lymphocytes B de la MZ peuvent également transporter des complexes antigène-complément vers la zone folliculaire pour les déposer à la surface des DCs folliculaires ce qui permettra aux autres types de lymphocytes B présents dans les centres germinatifs d'entrer en contact avec l'antigène. Finalement, les lymphocytes B de la MZ auraient aussi des fonctions régulatrices qui permettraient de moduler la réponse des lymphocytes T (202).

Les lymphocytes B régulateurs (Breg) jouent un rôle important dans la régulation des réponses inflammatoires via l'expression de molécules de surface et la production de diverses cytokines (208). La sécrétion de l'IL-10 par les Bregs a pour effet de supprimer l'inflammation en diminuant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ et l'IL-17 ce qui diminue l'activation des lymphocytes T, macrophages, et des DCs. Elle a également pour effet d'augmenter la polarisation des lymphocytes T en Th2 en supprimant la différenciation des Teff (Th1/Th17). L'IL-35 et le TGF- β possèdent un effet similaire à cette dernière par rapport à l'activation des Teff, mais favorisent également l'expansion des Tregs (209). De récentes études dans notre laboratoire ont démontré que les lymphocytes B précurseurs de la MZ du sang circulant et des amygdales expriment de hauts niveaux de CD83 à leur surface et de NR4A -1, -2, -3 chez des donneurs sains. La famille NR4A comporte des facteurs de transcription importants dans la régulation de la réponse inflammatoire. Ainsi, les lymphocytes B précurseurs de la MZ démontrent une fonction régulatrice et contrôlent la régulation des lymphocytes T suite à une activation *in vitro*. Ce phénotype observé est dépendant de l'expression de la molécule de surface immunorégulatrice CD83 qui est directement régulée par la famille NR4A (210).

Au niveau du TGF, les lymphocytes B représentent une population minoritaire soit moins de 1% des leucocytes. Ils sont retrouvés principalement à l'intérieur d'agrégats lymphoïdes tandis que les plasmocytes sont retrouvés dans la lamina propria de l'utérus et du vagin (191). Les hormones sexuelles influencent grandement la taille et la composition des agrégats ainsi que le niveau des anticorps et le type d'isotype produit. Leur fonction principale dans le TGF est de collaborer avec les cellules épithéliales afin de créer une première ligne de défense de l'hôte par la sécrétion d'anticorps (211). Les cellules épithéliales coordonnent le transport transépithélial des IgA vers la lumière vaginale grâce à une glycoprotéine transmembranaire nommée récepteur Ig polymérique (pIgR) (212). Les anticorps IgA, principalement produits localement en dimères par les plasmocytes au niveau des muqueuses, ont pour fonction de contrôler la flore commensale et de neutraliser les pathogènes et les toxines. Toutefois, une partie des anticorps retrouvés dans les sécrétions vaginales et le mucus sont produits par les lymphocytes B du sang périphérique. De plus, le TGF est caractérisé par son taux élevé d'IgG par rapport au sérum et une prédominance de ceux-ci par rapport aux autres muqueuses (90, 155). Le transport des IgG à travers l'épithélium vers la lumière vaginale se fait grâce au récepteur de la fraction cristallisable néonatal (FcRn). Ce transport est bidirectionnel et permet d'importer des complexes antigène-IgG vers le tissu suite à sa liaison dans la lumière vaginale. Ces complexes pourront ensuite entrer en contact avec des leucocytes ayant une fonction effectrice (213).

3 Mécanismes d'invasion par le VIH dans le TGF

En Afrique subsaharienne la majorité des nouvelles infections sont acquises chez la femme de manière hétérosexuelle, même si la probabilité d'infection par voie intravaginale lors d'une relation sexuelle est faible (1). Cette vulnérabilité accrue des femmes face à l'infection au VIH découle de multiples facteurs biologiques, sociaux et culturels. Au niveau biologique se retrouvent les dérèglements de la flore bactérienne pouvant mener à une vaginose, la présence d'ulcères, la présence d'ITS et la prise de contraceptifs oraux. Parmi les comportements à risque, les mieux documentés pour la transmission sexuelle du VIH figurent : les débuts précoces des relations sexuelles (14 ans et moins) (214), différence d'âge entre les partenaires sexuels (215), le nombre de partenaires sexuels (216) et l'absence ou la mauvaise utilisation de condom (217). De plus, certains comportements socioculturels peuvent influencer tels que l'inégalité entre les sexes, la pauvreté et les normes sexuelles. Certaines pratiques intravaginales peuvent aussi mener à une augmentation du risque d'infection au VIH telle que les lavages et l'utilisation de produits chimiques pour des raisons sexuelles ou d'hygiène comme les savons (ex : citron, vinaigre, savons, produits ménagers et produits commerciaux de douche vaginale, etc.), ce qui enlève le mucus et augmente les risques d'acquisition d'une ITS (43).

À ce jour, les mécanismes d'entrée du VIH dans le TGF ne sont pas encore complètement élucidés et plusieurs de nos connaissances sur le sujet se basent sur des études faites sur le GALT ainsi que sur le modèle d'étude de transmission du SIV à travers la barrière muqueuse chez les macaques rhésus (voir figure 8).

Le VIH peut entrer dans de multiples types cellulaires soit les monocytes, les lymphocytes T, les macrophages, les DCs ainsi que les cellules épithéliales et les fibroblastes. Cependant, les cellules épithéliales, les DCs et les LCs semblent jouer un rôle critique dans l'infection au VIH en détectant sa présence via les PRRs et en orchestrant une réponse cellulaire et inflammatoire adéquate. Les cellules épithéliales ne semblent pas être infectées par le virus, mais permettent son endocytose via le récepteur galactosylcéramide (GalCer). Ce dernier est hautement exprimé au pôle luminal des cellules épithéliales et peut lier les glycoprotéines de l'enveloppe virale gp120 et gp41 permettant son transfert aux DCs et aux autres cellules cibles présentes sous l'épithélium (218). Une autre voie par laquelle le virus peut être endocyté est par l'intermédiaire du récepteur gp340 faisant partie de la famille des *scavenger receptor cysteine-rich* (SRCR) présent à la surface des

cellules épithéliales. Suite à l'internalisation du virion, les cellules épithéliales produisent le facteur TSLP, via la voie de signalisation des TLR7, activant les DCs et augmentant la dissémination virale aux lymphocytes T CD4⁺ (219). Le virus peut également traverser la barrière épithéliale due à des microabrasions provenant possiblement de frictions coïtales ou de lésions suite à une ITS. De plus, l'environnement inflammatoire généré, entre autres, par les TNFs ou par l'activité soutenue des Th17 en début d'infection, peut jouer un rôle dans le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale (220).

Les études sur la transmission du SIV chez les macaques rhésus et du VIH chez l'humain ont permis de déterminer que les DCs et LCs à la surface des muqueuses sont les premiers types cellulaires à être exposés et possiblement infectés au VIH. Le récepteur lectine de type C DC-SIGN lie la gp120 virale qui est hautement glycolysée (221). Ceci favorise l'attachement du virion à la surface cellulaire sans toutefois infecter la cellule. Les récepteurs DC-SIGN sont fortement exprimés à la surface des DCs immatures puisqu'ils permettent la capture de pathogènes essentiels au rôle de capteur de l'environnement de ces cellules. Les DCs immatures ont une grande capacité d'endocytose et de dégradation en vue de la présentation antigénique. Toutefois, les virus ne sont pas toujours endocytés et restent alors intacts à la surface cellulaire permettant le transfert des virions à des cellules cibles. Ce processus de transfert sans réplication du virus est nommé *trans-infection*. Les DCs matures sont plus réfractaires à l'infection, dû à leur expression de facteurs de restriction comme SAMHD1 (222), et ont une meilleure capacité de transfert par des mécanismes n'impliquant pas des lectines. Étant mature, la capacité d'endocytose est diminuée, mais ces DCs peuvent internaliser les virus dans des structures multivésiculaires où les virions seront conservés afin d'être transportés aux OLS où ils seront exocytés dans un exosome vers des lymphocytes Teff CD4⁺CCR5⁺ résidents, ce qui facilitera l'infection systémique (50). De plus, l'infection des DCs permet la formation de synapse infectieuse avec les lymphocytes T adjacents dans laquelle la concentration de récepteurs et corécepteurs du VIH est augmentée, favorisant l'infection des lymphocytes T (223). Des études ont démontré que les DCs et les LCs résidant dans les muqueuses génitales expriment davantage à leur surface les récepteurs DC-SIGN et Langerin respectivement, les rendant ainsi plus accessibles au virus (221, 224). D'autres types cellulaires expriment des molécules de surface qui peuvent également faciliter l'attachement extracellulaire du VIH tels que le récepteur GalCer, les *Heparan Sulfate Proteoglycans* (HSPG), une famille de glycoprotéines de surface, et les récepteurs mannose qui sont exprimés par les macrophages et les cellules

épithéliales, tout comme l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ responsable du déplacement au GALT des lymphocytes T et B. Des études chez les macaques rhésus ont démontré que le blocage d' $\alpha 4\beta 7$ et des récepteurs lectine de type C par des anticorps permettait une réduction de la charge virale plasmatique et mucoale (225).

Dans le modèle d'étude du SIV, il a été démontré que, suite à la transmission du virus, les cellules cibles préférentielles étaient une sous-population des lymphocytes T $CD4^+$ soit les Th17 $CCR6^+$ (226, 227). De plus, de fortes doses de SIV dans la muqueuse vaginale entraînent une augmentation de la production de la chimiokine MIP-3 α , par les cellules épithéliales (228). Le principal ligand de cette chimiokine est le récepteur CCR6 qui est exprimé par les DCs et LCs immatures, les pDCs, les macrophages et les Th17, provoquant leur migration vers les cellules épithéliales de la muqueuse. D'autres études ont démontré que le blocage précoce de MIP-3 α préviendrait le recrutement et l'établissement de ces populations cellulaires tout en réduisant l'environnement inflammatoire ce qui diminuerait les chances d'infection (50).

L'établissement d'une infection systémique conduit finalement à un épuisement massif des lymphocytes T $CD4^+$ dont principalement les Th17 dans les muqueuses. La perte des Th17 entraîne un débalancement immunitaire favorisant les lymphocytes Tregs chez les personnes infectées (229). Lors de l'infection, ou dans des conditions inflammatoires, certaines populations de DCs produisent l'enzyme IDO en réponse au IFN- α et aux agonistes du TLR (228). Cette enzyme est la clé qui permet la régulation entre les Tregs et les Th17. Une augmentation d'IDO cause un débalancement entre ces deux populations cellulaires résultant en une déplétion des Th17 et une expansion graduelle des Tregs (6, 50). La production de cette enzyme contribue donc à la persistance d'un état inflammatoire dans le contexte d'une infection chronique au VIH (230).

De récentes études au niveau des populations cellulaires résidentes aux muqueuses ont mis en lumière l'implication des LCs, des DCs et des macrophages dans la sélection de la souche fondatrice du virus suite à leur contact avec celui-ci. Même si les macrophages ne sont pas infectés de manière efficace par le virus, ces études ont démontré que cette population cellulaire semble jouer un rôle important dans la dissémination et la transmission du virus à d'autres cellules (231, 232).

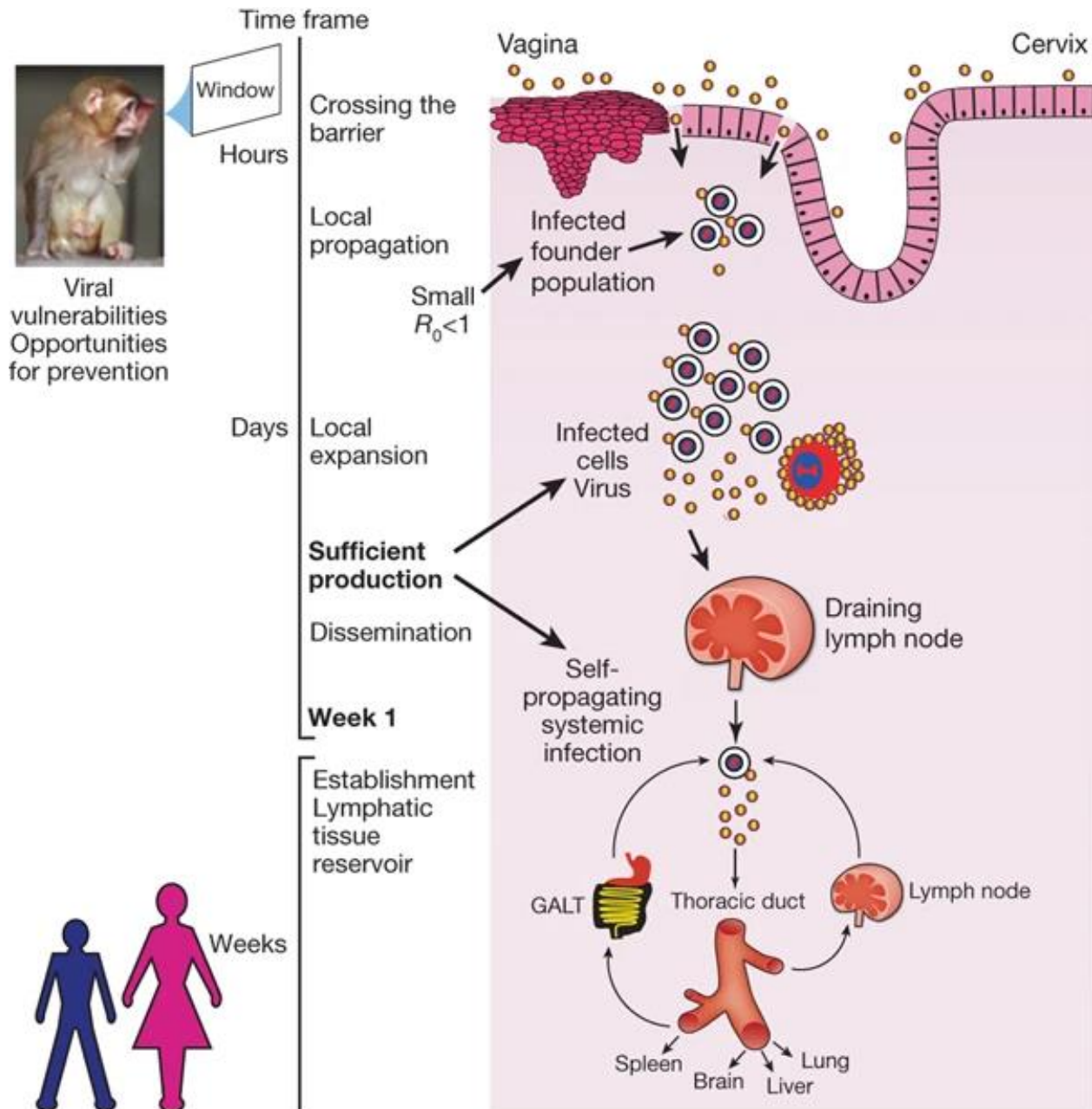


Figure 8. Modèle de transmission du SIV chez le rhesus macaque

En quelques heures, le virus traverse la barrière épithéliale via divers mécanismes afin d'atteindre les populations cellulaires cibles. La petite population infectée initialement est principalement composée de lymphocytes T $CD4^+$ résidents. La production de MIP-3 α entraîne le recrutement des pDCs qui sécrètent à leur tour du MIP-1 β ce qui cause un recrutement massif de cellules cibles. Une expansion locale est nécessaire à la dissémination dans les organes lymphoïdes drainants. Ainsi, le virus atteindra la circulation sanguine ce qui permettra d'établir une infection secondaire aux organes lymphatiques secondaires puis une infection systémique. Reproduction avec la permission de Springer Nature, Nature (50), numéro de licence : 5124890677752. Copyrights 2010.

4 Immunité Naturelle au sein des travailleuses du sexe de la cohorte béninoise

4.1 Les individus hautement exposés séronégatifs (HESN)

Il existe une minorité de personnes qui sont exposées de façon répétée au VIH, mais qui ne développent pas l'infection. Ces personnes sont considérées comme hautement exposées au VIH et séronégatives (*Highly Exposed SeroNegative*, HESN) et sont donc négatives pour la présence des IgG ciblant la protéine gp120 de l'enveloppe virale ainsi que pour la présence d'ARN viral dans leur sang, malgré une haute exposition répétée au virus. Ces individus peuvent être regroupés par type d'exposition au VIH. Parmi eux, se retrouvent (i) les individus exposés non sexuellement tels que les nourrissons nés de mères séropositives ou les utilisateurs de drogues injectables, (ii) les couples sérodiscordants dont un des deux partenaires est infecté par le VIH, (iii) les personnes ayant des relations sexuelles à haut risque telles que les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (HARSAH) et les travailleuses du sexe (CSW) (233, 234). L'étude des groupes de HESNs fournit des données très utiles pour l'identification d'un modèle d'immunité naturelle ainsi que des facteurs contribuant à leur protection contre le VIH. Ces données pourraient être utilisées dans l'élaboration d'une stratégie préventive contre la maladie. Les deux groupes de HESNs les plus étudiés sont ceux des travailleuses du sexe et les couples sérodiscordants, car les détails précis de leur exposition sont connus. De plus, plusieurs études portant sur les HESNs CSWs ont été faites sur des cohortes de femmes africaines, car elles s'infectaient de manière hétérosexuelle. Les HESNs CSWs du Bénin seront davantage détaillés dans la prochaine section.

4.2 Description de la cohorte de travailleuses du sexe béninoise

Le Bénin est un pays d'Afrique de l'Ouest dont la capitale officielle est Porto-Novo, mais sa plus grande ville est Cotonou. Selon ONUSIDA 2020, la prévalence du VIH chez les travailleuses du sexe au Bénin est d'environ 8,5% (1).

En collaboration avec d'autres groupes de recherche, notre laboratoire a établi une cohorte de CSWs fortement exposée au VIH. Dans cette cohorte de CSWs (n = 281), des femmes ont été

identifiées comme étant séropositives (n = 129) et on y référera dans les textes suivants comme étant le groupe « CSWs HIV⁺ ». De plus, des femmes CSWs non infectées (n = 152) ont aussi été identifiées dans ce groupe et parmi elles, certaines ont été classifiées comme étant HESNs lorsqu'elles demeuraient séronégatives après quatre ans ou plus de travail sexuel. Ces femmes ont été recrutées lors de leur suivi dans une clinique pour les travailleurs du sexe à Cotonou. Lors de leur inscription, les participantes ont été invitées à répondre à un questionnaire démographique et comportemental détaillé sur leur travail et leurs habitudes de vie. Un autre groupe de femmes non infectées et faiblement exposées au VIH a été recruté dans la population générale afin de servir de population contrôle (n = 70), on y référera alors comme étant « Non CSWs HIV⁻ ». Ces participantes ont été inscrites dans une clinique de santé générale de Cotonou où elles ont répondu à un questionnaire spécifique à leur situation. Toutes ces femmes ont donné préalablement leur consentement par écrit. Les Non CSWs HIV⁻ ont effectué une seule visite de suivi alors que les groupes de CSWs ont été suivis à chaque trois mois sur une période de trois ans.

À chaque visite, les participantes ont subi un examen de santé général et gynécologique, ce qui a permis (i) le diagnostic d'éventuelles vaginoses bactériennes, ulcères génitaux, cervicites, etc.; (ii) le dépistage de possibles ITS telles que la gonorrhée, la chlamydia, l'herpès simplex de type II (HSV-2) et le VIH-1; (iii) de procéder à des prélèvements d'échantillons sérologiques et cervico-vaginaux tel que le lavage cervico-vaginal (CVL) et la cytobrosse. Les femmes séropositives ont été informées de leurs status cliniques et ont reçu des conseils sur divers aspects de la transmission du VIH puis dirigées vers les programmes nationaux de traitement ART. De plus, elles ont reçu un traitement si elles avaient des infections connexes.

Lors du choix des participantes pour les études au laboratoire, les femmes qui étaient mineures (moins de 18 ans), enceintes, menstruées, sous contraceptifs oraux, positives pour le HSV-2 ou présentant des co-infections ont été exclues.

4.3 Études HESNs CSWs

L'étude des groupes de HESNs comme modèle d'immunité naturelle contre le VIH est très importante dans l'élaboration d'une stratégie préventive contre la maladie. Toutefois, il n'y a pas de mécanisme précis connu permettant d'expliquer la protection immunitaire dont bénéficient les HESNs contre le virus. Cette réponse semble impliquer plusieurs facteurs tels que des

polymorphismes génétiques, l'immunité innée ainsi que l'immunité systémique et muqueuse. Parmi ces facteurs, plusieurs visent à limiter l'entrée du VIH dans les cellules (86). Il a été démontré dans plusieurs cohortes de HESNs que leur résistance naturelle au VIH impliquerait la capacité de l'hôte à orchestrer des populations cellulaires dynamiques afin de maintenir des conditions inflammatoires basses au site d'exposition (4, 235-237). En effet, il a été démontré que la présence de protéines neutralisantes dans la muqueuse génitale des HESNs telles que des protéases et de hauts niveaux de facteurs anti-inflammatoires, ce qui pourrait leur conférer une certaine protection (6, 238, 239).

Dans une cohorte de HESNs CSWs du Kenya, une réduction de l'activation immunitaire définie par une expression réduite de CD69 chez les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ a été observée chez les HESNs comparativement aux CSWs HIV⁻. Cette diminution concorde avec la fréquence élevée des lymphocytes Tregs présents chez les HESNs ce qui pourrait contribuer à une régulation immunitaire plus efficace (236, 240). De plus, chez ces individus les lymphocytes T CD4⁺ semblent posséder une plus grande capacité à proliférer et à produire de l'IL-2 et autres cytokines en réponse aux peptides de l'enveloppe virale p24 (241). Dans plusieurs études effectuées sur des groupes de HESNs, il a été démontré, au niveau de la muqueuse génitale et en plus petites proportions au niveau systémique, l'existence de lymphocytes T CD4⁺ polyfonctionnels et CD8⁺ cytotoxique ayant une réponse spécifique au VIH-1 (242, 243).

Dans la cohorte de CSWs du Bénin, il a été observé que les niveaux de BAFF soluble étaient plus bas chez les HESNs que chez les Non CSWs HIV⁻ et les CSWs HIV⁺ lors de l'étude sur le compartiment sanguin et génital. Ces faibles niveaux solubles n'ont pas altéré la fréquence des précurseurs de lymphocytes B de la MZ dans le sang dont les niveaux sont similaires à ceux observés chez les Non CSWs HIV⁻. Cependant, le taux de cellules exprimant BAFF à leur surface était plus élevé dans le compartiment sanguin des HESNs, mais l'expression par ces cellules est plus faible que pour les deux autres groupes. Ceci pourrait impliquer une régulation de l'expression et de la libération de BAFF qui semble permettre de conserver un certain niveau d'homéostasie au sein des populations de lymphocytes B du sang. Dans le compartiment génital, le taux de cellules exprimant BAFF à leur surface était réduit, mais elles exprimaient davantage cette molécule. Ceci correspond avec le faible taux de lymphocytes B MZ exprimant CD1c retrouvé dans l'exocol. Toutefois, des populations de lymphocytes B MZ exprimant CD1c capables de se lier plus

facilement à la gp120 glycosylée ont été identifiées dans le TGF chez les HESNs. Cette capacité pourrait permettre aux populations B innées de type CD1c⁺ de transférer le virus aux populations cibles, mais aussi d'avoir une production rapide d'anticorps reconnaissant la protéine Env (244). Chez les femmes CSWs VIH⁺, des niveaux élevés de BAFF soluble dans le sang et le TGF ont été observés. Ces résultats concordent avec les niveaux observés dans la cohorte HARSAH ainsi que dans la cohorte de progresseurs classiques et rapides infectés par le VIH (245). Des études ont démontré que la présence de Nef soluble peut moduler directement l'expression de BAFF à la surface des cellules et son relargage par les MoDCs ce qui pourrait expliquer en partie les niveaux élevés observés dans la cohorte béninoise (246). La surexpression de BAFF chez les CSWs VIH⁺ entraîne une hyperglobulinémie qui pourrait être liée à une augmentation des lymphocytes B innés de la MZ de type précurseur exprimant IL-10 (247). Ces observations concordent avec le dérèglement du compartiment des lymphocytes B et l'altération de la réponse humorale chez les patients atteints du VIH (244, 245).

Les études de la cohorte de HESNs CSWs de Côte d'Ivoire ont permis d'établir l'existence d'anticorps neutralisants IgA ayant une réponse spécifique au VIH et qui permettraient de bloquer la transcytose du virus à travers la barrière épithéliale (248-250). Cette observation a aussi été démontrée dans les cohortes du Kenya et de l'Italie dans les deux compartiments, sanguin et muqueux (251, 252). Toutefois, il n'a pas été possible de détecter suffisamment d'IgA1 et IgA2 spécifiques aux glycoprotéines de l'enveloppe dans le CVL des HESNs du Bénin (244). À ce jour, les études sur le sujet rapportent des résultats contradictoires et c'est pour cette raison que le rôle de protection de ces anticorps contre le VIH reste encore controversé (248). Dans la cohorte béninoise il a été possible de détecter des IgG spécifiques aux glycoprotéines de l'enveloppe du VIH, neutralisant, et ayant une activité ADCC dans le sang et dans le CVL chez les CSWs VIH⁺, mais pas chez les HESNs (253). Il a toutefois été possible de détecter chez certaines HESNs des anticorps IgG1 qui réagissaient contre la protéine gp41 de l'enveloppe (244). Ces anticorps proviennent probablement des lymphocytes B de première ligne (254) et réagissent donc aussi contre le microbiome, comme la plupart des anticorps réagissant contre gp41 sont connus pour le faire (255). Cette observation laisse supposer que l'immunité naturelle des HESNs n'est probablement pas médiée par l'activité neutralisante des IgG ou par la réponse ADCC et pourrait impliquer d'autres fonctions des immunoglobulines conférant ainsi un certain niveau de protection comme le laissent supposer toutes ces études (256).

L'immunité naturelle au VIH des HESNs est associée à un profil inflammatoire bas dans le compartiment sanguin et génital (3, 6, 238). Lors de précédentes études effectuées au laboratoire, il a été observé que les HESNs par rapport aux CSWs HIV⁺ possédaient de faibles taux de cytokines pro-inflammatoires tels que l'IL-1 α , l'IFN- γ et le TNF- α ainsi que de chimiokines telles que *monokine induced by IFN- γ* (MIG) et de *IFN- γ induced protein 10* (IP-10) dans des échantillons de CVL (4, 235). Ces deux dernières molécules se lient au récepteur CXCR3 qui permet le recrutement des lymphocytes T. Cela pourrait induire une certaine résistance chez les HESNs en diminuant le recrutement de cellules cibles du VIH (3). De plus, il a été observé chez les HESNs, qu'elles possédaient un polymorphisme d'IRF-1, résultant en une plus petite production de celui-ci. Cette réduction de production permet d'induire une diminution de la réponse à IFN- γ et diminue le risque d'infection au VIH (257, 258). Il a aussi été observé chez les HESNs qu'elles sécrétaient de plus hauts niveaux de β -chimiokines au niveau des muqueuses telles que MIP-1 α , MIP-1 β /CCL4 et RANTES qui sont associés à la prévention de l'infection, car elles ont la capacité à entrer en compétition avec le virus en se liant au corécepteur CCR5 lorsqu'elles sont présentes en grande concentration (4, 119, 235, 259).

Pour permettre la procréation, le TGF doit devenir tolérant au liquide séminal ce qui augmente les risques d'ITS, le système immunitaire doit alors augmenter sa surveillance en recrutant des cellules comme les DC et les granulocytes. De plus, le liquide séminal contient des médiateurs tels que l'IL-10, le TGF- β et la prostaglandine qui induisent un profil plus tolérogénique du TGF (260). Dans une cohorte de CSWs de Porto Rico, il a été observé qu'une exposition répétée au liquide séminal peut augmenter l'expression d'IFN- ϵ dans le TGF chez les HESNs ce qui diminue leur susceptibilité au VIH (261). Dans la cohorte kényane de CSWs, certaines HESNs ont séroconverti de façon tardive suite à un arrêt du travail du sexe, ce qui laisse supposer que ce statut implique une réponse immunitaire en lien avec une activité sexuelle maintenue et une exposition constante aux antigènes (262).

Dans la cohorte béninoise, les HESNs présentaient des niveaux élevés d'IL-10 et de HLA-G solubles par rapport aux Non CSWs HIV⁻ en créant un environnement de type immunorégulateur lorsque l'augmentation d'IL-10 est modérée. Cela pourrait diminuer la susceptibilité au VIH en réduisant la disponibilité des cellules cibles au site initial de l'infection. Toutefois, cette arme pourrait être un couteau à double tranchant puisqu'une augmentation élevée d'IL-10 pourrait

maintenir une activation et une dérégulation cellulaire chronique entravant l'éradication du virus comme les résultats sur les CSWs HIV⁺ le démontrent. En effet, la progression de l'infection est associée à un déséquilibre entre les cellules effectrices et celles régulatrices qui est causé par le maintien des hauts niveaux d'IL-10. De plus, la présence élevée d'IFN- α dans les échantillons de CVL des HESNs comparativement aux autres groupes a été observée ce qui pourrait être essentiel pour maintenir l'homéostasie immunitaire antivirale (263). En effet, les interférons stimulent une famille de gènes appelés gènes stimulés par l'IFN (ISG) qui ont des effets d'interférences avec de multiples virus à de nombreuses étapes du cycle de réplication. Les ISGs comprennent plusieurs facteurs de restriction dont Trim5 α , APOBEC3A, SAMHD1, *myxovirus resistance protein B* (MxB) et Tetherin (264).

Les niveaux élevés d'IFN- α et d'IL-10 observés dans le TGF des HESNs béninoises pourraient contribuer à un profil antiviral et immunorégulateur chez ces individus. Ces observations concordent avec la présence de cellules myéloïdes HLA-DR⁺ des HESNs du Bénin exprimant davantage de TLR7, IFN- α , IL-10 et HLA-G que les deux autres groupes (263). Parmi ces cellules myéloïdes, une sous-population ayant un profil HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ exprimant de hauts niveaux d'IFN- α et de molécules associées à l'immunorégulation telles que l'IL-10, HLA-G, ILT4 and CD103 a été observée. Cette sous-population myéloïde provient possiblement de MoDCs tolérogéniques ou DC-10 et concorderait donc avec les fréquences élevées de lymphocytes Tregs et Tr1 aux muqueuses qui expriment de hauts niveaux de *Programmed cell Death-1* (PD-1) (263).

5 Les monocytes

Les monocytes sont des cellules de l'immunité innée qui participent à la défense de première ligne contre les virus, les bactéries, les mycètes et les infections parasitaires. Ils participent également à l'immunité adaptative grâce à leur capacité de phagocytose et de présentation d'antigène (265).

Les monocytes étaient originalement classés comme des cellules précurseurs des DC et des macrophages, ce qui a été remis en cause lors de la découverte de sous-populations de DCs et de macrophages provenant directement de progéniteurs de la moelle osseuse et qui étaient indépendants de la présence de monocytes comme les pDCs et les LCs (266). Les monocytes sont maintenant étudiés comme cellules immunitaires capables de fonctionner à la fois comme cellules effectrices et comme cellules précurseurs. Leur grande plasticité leur permet de se différencier en une vaste gamme de phénotypes cellulaires dont macrophages, MoDCs, ostéoclastes et microglies selon les cytokines et l'environnement inflammatoire (162).

5.1 Les sous-populations monocytaires

Les monocytes sont les plus grosses cellules mononucléées circulantes dans le sang et elles possèdent un phénotype hétérogène relié à leur développement. Les monocytes chez la souris et l'humain possèdent une morphologie particulière caractérisée par leur forme irrégulière, leur gros noyau ovale ou en forme de fer à cheval et des vésicules cytoplasmiques à granulosité variable (267). La classification originale des monocytes était basée sur leur morphologie et leur cytochimie. Les avancées de tri cellulaire induit par fluorescence (FACS) permettent maintenant de baser cette classification sur leurs marqueurs d'expression dont principalement l'expression de CD14 et CD16 (268). La glycoprotéine membranaire CD14 agit comme protéine accessoire au TLR4 en tant que corécepteur pour les LPS des bactéries Gram- (269). Le récepteur CD16 (Fc γ RIII) appartient à la superfamille des récepteurs de la fraction cristallisable (FcR) des IgG qui est impliquée dans la réponse ADCC. Cette réponse est un mécanisme de défense immunitaire qui permet la lyse de cellules cibles, marquées par des anticorps, par des cellules effectrices comme les macrophages, et les neutrophiles et les NKs qui reconnaissent ces IgG. Le récepteur CD16 est aussi exprimé par les NKs, permettant d'activer la lyse des cellules cibles, ainsi que par les

macrophages et neutrophiles qui l'utilisent pour le nettoyage de pathogènes opsonisés par des Ac (268). Les monocytes sont subdivisés en sous-populations selon leur expression différentielle de ces deux marqueurs, représentant un gradient de différenciation. Il existe trois sous-populations principales de monocytes soit les classiques CD14⁺CD16⁻, les intermédiaires CD14⁺CD16⁺ et les non-classiques CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ (162). Ces sous-populations se différencient par leur niveau d'expression des niveaux de récepteurs chimiokine CCR2 et du récepteur de la fractalkine CX3CR1. En effet, CCR2 est hautement exprimé par la majorité des monocytes classiques alors que le récepteur CX3CR1 est au plus bas à ce stade augmentant graduellement chez les monocytes intermédiaires et les monocytes non-classiques alors que CCR2 diminue inversement (270).

Les monocytes sont des populations cellulaires très bien conservées qui sont présentes chez toutes les espèces de vertébrés. Ils représentent 10% des leucocytes du sang périphérique chez l'humain et 4% chez la souris. Chez cette dernière, les sous-populations monocytaires sont différenciées principalement grâce à l'expression d'antigène lymphocytaire 6 C (Ly6C) et l'équivalent des monocytes classiques a été identifié comme étant Ly6C^{high} et celui des monocytes non classiques Ly6C^{low}. Similairement à l'humain, le récepteur CX3CR1 est hautement exprimé chez les Ly6C^{low} et CCR2 est hautement exprimé chez les Ly6C^{high} (270). À ce jour, il n'y a pas de consensus sur un équivalent murin pour les monocytes intermédiaires humains (271).

5.2 Les monocytes classiques

Les monocytes classiques constituent la majorité de la population monocyttaire, soit 90% des monocytes totaux du sang périphérique chez l'humain. Ces cellules expriment fortement à leur surface le récepteur chimiokine CCR2, le récepteur TLR4 ainsi que la L-lectine (CD62L) et l'intégrine CD11b (162). Toutefois, ces monocytes expriment peu le récepteur CX3CR1 ainsi que HLA-DR. L'analyse de leur transcriptome a permis de mettre en évidence l'expression élevée de gènes pour les récepteurs *low-density lipoprotein receptor* (LDLR), *scavenger receptor class B type-1* (SCARB1) et *Stabilin-1* (STAB1). Ceux-ci permettent une meilleure fonction phagocytaire aux monocytes classiques, ce qui est une de leurs fonctions principales (272). Ils ont également une activité métabolique supérieure de l'enzyme myéloperoxydase et une plus grande production de l'ion superoxyde qui leur permet de détruire les bactéries phagocytées. De plus, les monocytes

classiques sont capables de produire de hauts niveaux d'IL-10, mais de faibles niveaux de TNFs (273).

5.3 Les monocytes non-classiques

Les monocytes non-classiques représentent 2-10% des monocytes totaux du sang périphérique chez l'humain. Ces cellules possèdent peu de granules et expriment peu CCR2 et CD11b. Cependant, leur rôle principal consiste essentiellement à patrouiller « patrolling » afin de détecter des signaux inflammatoires et de prévenir les dommages tissulaires (162). À cet effet, elles possèdent davantage de molécules d'activation HLA-DR à leur surface ainsi que les TLR-7/8 qui permettent de détecter les acides nucléiques et les virus. Lors de la phagocytose de débris cellulaires nécrosés à la surface de l'endothélium, cela peut activer leurs TLR-7/8, leur faisant produire des cytokines comme CCL3 et CCL5 et chimiokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , IL-1 β et IL-6 qui permettent, entre autres, le recrutement de neutrophiles au site de nécrose tissulaire (274). Lors de l'activation par des produits bactériens comme les LPS, les monocytes non-classiques produisent de faibles niveaux de cytokines pro-inflammatoires et davantage de facteurs anti-inflammatoires ainsi que des facteurs de réparation tissulaire. Leur faible réponse aux LPS comparativement aux monocytes classiques est, entre autres, liée à leur expression plus basse de CD14 (275). Elles expriment également fortement les récepteurs CX3CR1, CXCR4 et *lymphocyte function-associated antigen 1* (LFA-1) qui leur permettent d'interagir avec l'endothélium. Ce sont des cellules hautement migratoires puisqu'elles expriment grandement les gènes codant pour le cytosquelette. De plus, leur forte expression du récepteur CD16, qui est connu pour activer la régulation négative de la voie métabolique dépendante du TLR-MyD88, les rend tolérantes à la septicémie (276). Ces monocytes représentent également une source alternative d'IFN- α produit à la suite de l'activation des TLRs agonistes de virus (277). Ils ont aussi la capacité de produire une réponse anti-inflammatoire tolérogénique via leur récepteur ILT-4 qui se lie à HLA-G et induit la différenciation de lymphocytes T CD4⁺ en Tr1 (275).

5.4 Les monocytes intermédiaires

Les monocytes intermédiaires représentent 2-5% des monocytes totaux du sang périphérique chez l'humain. Ces monocytes possèdent des fonctions se situant entre celles des classiques et des non-classiques et comprennent la stimulation et la prolifération des lymphocytes T ainsi que la production de ROS (278). Ils expriment de hauts niveaux de CMH-II dont sa chaîne γ (CD74) et HLA-DR pour leur fonction d'APC ainsi que les molécules de costimulation CD80 et CD86 pour leur liaison avec les lymphocytes T. Ils expriment également à leur surface des récepteurs chimiokiniques tels que CX3CR1 et CCR5 ainsi que des molécules d'adhésion cellulaire de type intégrine comme *intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1) et CD11c. Suite à l'activation par des LPS, les intermédiaires sont capables de produire de l'IL-10 en plus grande quantité que toutes les autres sous-populations de monocytes (162).

5.5 Recrutement des monocytes dans les tissus

Les monocytes sont continuellement générés à partir de la moelle osseuse depuis des cellules précurseurs hématopoïétiques. Le développement des monocytes du compartiment sanguin à partir des cellules précurseurs dépend du facteur de croissance M-CSF. Le récepteur CCR2 est nécessaire à la sortie des monocytes de la moelle osseuse vers la circulation sanguine, impliquant un gradient de ses ligands soit les cytokines CCL2 et CCL7 qui peuvent provenir de multiples sources. Une fois dans la circulation sanguine, les monocytes classiques passent environ une journée à circuler dans le sang avant que la majorité de ceux-ci quitte le compartiment sanguin pour les tissus ou induisent l'apoptose (279). Seulement une petite proportion des monocytes classiques transite vers le stade intermédiaire où ils passeront en moyenne 4.3 jours dans la circulation avant de devenir des monocytes non-classiques. Ceux-ci passeront environ 7.4 jours à patrouiller les vaisseaux sanguins avant de les quitter pour aller dans les tissus ou d'activer un programme de mort cellulaire (280). De plus, la prolifération, la différenciation et la survie des monocytes dépendent du facteur de transcription NR4A1. En effet, l'expression de NR4A1 est nécessaire pour la génération et la survie des monocytes non-classiques dans le sang et dans les tissus. Des expériences chez la souris ont démontré que celles déficientes en NR4A1 possédaient 90% moins de monocytes Ly6C^{low} (281).

Dans des conditions normales, de grandes populations de monocytes classiques sont maintenues dans les réservoirs comme la moelle osseuse, la rate et les poumons afin d'être disponibles pour un déploiement immédiat pour répondre à une infection ou à une blessure (282). Ces monocytes assurent également la maintenance des populations de macrophages et de DCs dans certains tissus. En effet, les macrophages résidents produisent CCL2 et CCL7, ce qui permet d'assurer la maintenance de leur population en recrutant des monocytes CCR2⁺ vers les tissus (283). Les monocytes non-classiques se déplacent dans la circulation sanguine en patrouillant à la surface de l'endothélium vasculaire. Ils sont donc les premiers à détecter des signaux inflammatoires et à y répondre (284). Les monocytes intermédiaires circulent dans le compartiment sanguin sans toutefois patrouiller activement l'endothélium vasculaire. Ils possèdent à la fois des capacités phagocytaires et anti-inflammatoires ainsi que de hauts niveaux intracellulaires d'IL-1 β et de TNF- α (285).

Le recrutement des monocytes à un site d'inflammation est crucial à la défense de l'hôte. Durant l'inflammation, les monocytes non-classiques circulant dans le sang sont recrutés dans les tissus inflammés en réponse à un signal chimiokinique. Ce processus très régulé comprenant une cascade de plusieurs étapes est appelé la diapédèse. De plus, l'expression différentielle des récepteurs chimiokiniques à la surface des différentes sous-populations de monocytes suggère qu'elles peuvent être recrutées dans différentes régions anatomiques (266). Les monocytes classiques peuvent aussi être recrutés, suite à un stimulus inflammatoire, dans les tissus non lymphoïdes via la liaison du récepteur CCR2 avec son ligand CCL2. Une fois stimulés, ces monocytes produisent des cytokines proinflammatoires qui causent une augmentation de l'activation immunitaire et permettent la destruction rapide des pathogènes. Malgré l'efficacité de ce processus, il implique des dommages tissulaires importants (275).

Le récepteur CX3CR1 à la surface des monocytes non-classiques ainsi que ses ligands C-X-C chimiokiniques (CXCL) CX3CL1 et CXCL12 sont nécessaires à la migration de ces cellules vers les tissus inflammés. La chimiokine CX3CL1 ou fractalkine, est une glycoprotéine transmembranaire exprimée constitutivement dans plusieurs organes tels que le cœur, le cerveau et le pancréas. Lorsqu'elle est clivée de la surface cellulaire, elle se retrouve soluble et possède des propriétés chimioattractantes. Sa forme membranaire est également retrouvée à la surface des cellules endothéliales vasculaires et permet la migration transendothéliale des monocytes CD16⁺.

L'interaction entre le ligand et le récepteur de la fractalkine induit la production de cytokines pro-inflammatoires IL-6, *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1) et metalloprotéinase 9 (MMP-9) (275).

Chez l'humain, toutes les sous-populations de monocytes se différencient *in vitro* en MoDC. Ces populations possèdent une signature transcriptomique différente selon le type de monocyte dont ils proviennent (286). Les monocytes non-classiques, en présence de facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF) et IL-4 *in vitro*, se différencient rapidement à la suite de leur migration transendothéliale et acquièrent préférentiellement des caractéristiques de DCs et une forte expression de molécules de co-stimulation (287). D'autres études *in vitro* ont démontré que les MoDCs provenant de la différenciation des non-classiques expriment des molécules telles que CD103, *retinoic acid synthesizing enzyme* (RALDH) et TCF4 qui sont des marqueurs typiques des DCs retrouvés aux muqueuses (288). En effet, cette expression préférentielle de RALDH est hautement exprimée par les DCs exprimant CD103 aux muqueuses et jouant un rôle dans l'homéostasie (286). L'enzyme RALDH permet la métabolisation de la vitamine A de l'alimentation en AR qui, à son tour, induit l'expression de molécules telle que l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ et le récepteur chimiokinique CCR9 qui permettent le ralliement « homing » aux intestins (289). De plus, le AR est important pour le développement et la maintenance des OLS ainsi que le contrôle de l'induction de Tregs contribuant au maintien de l'homéostasie aux intestins (290). Des études ont démontré qu'une augmentation de l'expression de NR4A1 menait à une diminution d'activation des MoDCs ainsi que des lymphocytes T (291). (284). Il a été démontré chez la souris que le facteur de transcription NR4A3 est nécessaire pour diriger la différenciation des monocytes en MoDCs et leur permettre d'acquérir leurs caractéristiques migratoires nécessaires à leurs fonctions (292).

5.6 Les monocytes dans le contexte du VIH

Environ deux semaines après l'entrée du virus dans l'organisme, les lymphocytes T CD8⁺ commencent à s'accumuler alors que les lymphocytes T CD4⁺ subissent une déplétion dans l'intestin engendrant l'augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale. Cette augmentation de la perméabilité permet la translocation de produits bactériens vers la circulation sanguine qui contribue à l'activation des monocytes circulants. Cette activation engendre des

perturbations dans les sous-populations alors que la fréquence des intermédiaires et non-classiques augmente (293). Les phénotypes des monocytes sont modifiés par cette activation ce qui diminue l'efficacité de leurs fonctions effectrices. En effet, les monocytes suractivés peuvent produire des quantités aberrantes de cytokines telles que TNF- α , IL-1 β et IL-6 ce qui engendre une plus grande activation du système immunitaire (294). Ils peuvent également produire de façon aberrante des chimiokines qui causent le recrutement d'autres monocytes de façon non spécifique dans les tissus (295). Ces effets peuvent aussi être causés par une infection directe des monocytes par le virus, principalement via CD4 et le co-récepteur CCR5 pour les classiques et CXCR4 pour les non-classiques (162). L'infection des monocytes diminue leurs capacités à présenter des antigènes aux lymphocytes T causé par une diminution de l'expression de leur CMH-II ainsi qu'une inhibition de la formation de complexes CMH-antigène (296).

De manière générale, les monocytes sont réfractaires à l'infection au VIH puisqu'ils possèdent de faibles niveaux de désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP) disponibles, dus à leur destruction par le facteur de restriction SAMHD1. Les dNTP sont nécessaires à la rétrotranscription du VIH ce qui pourrait expliquer, en partie, la résistance des monocytes au virus (297). Un autre mécanisme de restriction chez les monocytes est médié par la voie β -caténine/TCF4 qui agit comme facteur de restriction de la réplication virale au niveau transcriptomique (298). L'ADN viral est détecté dans moins de 1% des monocytes du compartiment sanguin chez les individus infectés (299). Plusieurs études ont démontré que les monocytes classiques sont plus permissifs à l'infection au VIH et davantage d'ADN viral est détecté dans cette sous-population comparativement aux intermédiaires et non-classiques. Ceci concorde avec le fait que les monocytes classiques expriment des niveaux de CCR5 plus élevés que les deux autres sous-populations, ce qui pourrait faciliter l'entrée du VIH dans la cellule (300).

Après plusieurs mois ou années d'infection non traitée au VIH, la charge virale augmente graduellement alors que la déplétion des lymphocytes T CD4⁺ en nombre et en fonction continue. Similairement, les monocytes sont dérégulés, augmentant le profil pro-inflammatoire au détriment du profil phagocytaire (301). De plus, les monocytes du compartiment sanguin deviennent anergiques dû à une constante activation et à des niveaux inflammatoires élevés (302). Chez les patients infectés chroniquement ne recevant pas d'ART et les patients en phase SIDA, l'augmentation des monocytes intermédiaires et non-classiques peut atteindre des proportions de

30-50% du compartiment des monocytes alors que chez les individus en santé, cette proportion se situe entre 5-10% (294). Cette augmentation observée chez les individus séropositifs est probablement causée par les hauts niveaux de M-CSF qui induit la maturation dont l'expansion des monocytes CD16⁺ (162). Après un an d'ART, les monocytes intermédiaires reviennent à des niveaux de production de cytokines normaux diminuant ainsi la suractivation immunitaire et l'inflammation produites en réponse au virus. Toutefois, les dérégulations au niveau des proportions des sous-populations demeurent, malgré le traitement (303).

Les changements dans les sous-populations de monocytes sont associés à de multiples maladies, incluant les infections bactériennes et virales, les maladies auto-immunes et l'inflammation chronique. Il a été observé que les monocytes intermédiaires sont plus abondants dans les infections bactériennes causant la septicémie, dans la dengue, dans la maladie de Crohn, dans certaines maladies cardiovasculaires et dans l'arthrite rhumatoïde. Tandis que, les non-classiques sont plus prévalents dans des conditions de parodontite et réduites dans les crises cardiaques (304). Ces différents changements peuvent avoir de multiples répercussions sur la réponse immunitaire et ses possibles dérèglements. Ainsi, l'altération dans les ratios de sous-populations de monocytes lors de conditions pathologiques peut aussi influencer l'immunité médiée par les MoDCs, tel que suggéré dans le présent travail.

6 Hypothèses et objectifs de recherche

En regard de toutes les données sur les HESNs, nous pensons qu'une meilleure compréhension de l'immunité de ces femmes, plus précisément, au site initial de l'infection pourrait aider au développement de nouvelles stratégies préventives et donc aider au contrôle de l'infection au VIH. Le présent travail a pour but de continuer à approfondir les connaissances de l'immunité naturelle des HESNs béninoises. Notre **hypothèse générale** est que le maintien d'une basse activité inflammatoire dans le TGF des HESNs est associé avec la présence de populations à profil régulateur. Ainsi, les populations de cellules MoDCs à profil « tolérogénique/régulateur » exprimant IL-10 et IFN- α , observées au niveau du TGF des HESNs pourraient contribuer à induire un potentiel antiviral et réguler une réponse immune au site initial de la transmission du VIH. Notre **hypothèse spécifique** est qu'il existe une différence phénotypique au niveau des populations de monocytes qui pourrait être impliquée dans la génération de ces MoDCs. Afin de tester cette hypothèse, l'**objectif principal** de mon projet est de caractériser le phénotype des monocytes du sang circulant et de déterminer les niveaux de cytokines/chimiokines présents des milieux sanguin et génital. Les **objectifs spécifiques** pour y arriver sont, pour les HESNs Béninoises et populations contrôle (CSWs HIV⁻ avec travail du sexe sur 2.5-5 ans, CSWs HIV⁺, Non CSWs HIV⁻) :

1. Caractériser le transcriptome des monocytes totaux du sang circulant par RNA-seq
2. Caractériser l'expression de molécules antivirales et tolérogéniques/régulatrices par les monocytes du sang circulant par cytométrie en flux
3. Caractériser le profil des cytokines/chimiokines dans le sérum/plasma et lavage cervico-vaginal

L'immunité naturelle des HESNs semble toutefois dépendre d'une exposition fréquente au virus et le maintien d'un profil « tolérogénique/régulateur ». De ce fait, nous avons identifié cinq HESNs Béninoises ayant séroconverti. Nous avons donc eu la chance d'avoir accès à des échantillons de participantes nouvellement séroconverties et de pouvoir suivre leur progression sur plusieurs visites avant cette séroconversion. L'**hypothèse spécifique** pour cette partie de mon projet de recherche est que la modulation de certains facteurs immunitaires muqueux et périphériques clés sont associés à cette séroconversion. L'**objectif spécifique** pour cette partie a donc été de:

1. Caractériser le profil des cytokines/chimiokines dans le sérum/plasma et lavage cervico-vaginal.

Chapitre 2

Les profils génétique et moléculaire des monocytes sont associés à différentes fonctions effectrices et régulatrices de l'immunité naturelle au VIH-1 chez les femmes HESNs (*en préparation*)

Mise en contexte

Lors d'une étude précédente du laboratoire, nous avons identifié, dans le TGF des HESNs, une population de DCs tolérogéniques exprimant des niveaux élevés de molécules immunorégulatrices et antivirales. Le profil de ces DCs tolérogéniques est semblable à celui des MoDCs de type DC-10 et pourrait favoriser la différenciation des lymphocytes Tregs et Tr1 retrouvés dans la muqueuse génitale des HESNs. Nous pensons que ces MoDCs contribuent à l'orchestration d'un profil antiviral mais régulé aux portes d'entrées du VIH, favorisant ainsi une réponse efficace sans excès d'inflammation. Dans ce travail, nous avons voulu caractériser les monocytes du compartiment sanguin afin de déterminer s'ils possédaient un profil différentiel pouvant générer ces DCs tolérogéniques observés précédemment dans le TGF.

Contribution des auteurs

Auteurs: Laurence Blondin-Ladrie, Lyvia Fourcade, Alessandro Modica, [¶]Matheus Aranguren[¶], Nicolas de Montigny, Annie-Claude Labbé, Michel Alary, Fernand Guédou, Johanne Poudrier, Michel Roger.

❖ **Statut de l'article** : en préparation, sera soumis à l'automne 2021.

❖ **Expériences effectuées, analyses des données statistiques et présentation des figures** :

- J'ai réalisé toute l'analyse des données cliniques des participantes sélectionnées pour cette étude. J'ai également effectué la caractérisation phénotypique des monocytes au FACS ainsi que l'analyse des données de cytométrie en flux et l'analyse du transcriptome (RNA-seq) – Contribution 80%.
- Lyvia Fourcade a effectué le marquage et l'isolation des monocytes par tri cellulaire en vue de leur analyse transcriptomique (RNA-seq) – Contribution 5%.
- Alessandro Modica et Matheus Aranguren ont participé à la caractérisation phénotypique des monocytes – Contribution 5%.
- Nicolas de Montigny a effectué les analyses statistiques ainsi que le montage des figures – Contribution 5%.
Johanne Poudrier et Michel Roger ont supervisé toutes les expériences et les analyses.

❖ **Contribution en approvisionnement de réactifs, de matériels et d'outils d'analyses** :

Annie-Claude Labbé, Michel Alary, Fernand Guédou, Johanne Poudrier et Michel Roger.

Raphaëlle Lambert et Patrick Gendron, de la plateforme génomique et informatique de l'IRIC (Montréal), ont respectivement participé à l'extraction, amplification et séquençage de l'ARN et à l'analyse transcriptomique des monocytes.

❖ **Rédaction de l'article** : Laurence Blondin-Ladrie, Johanne Poudrier et Michel Roger

Résumé

Notre laboratoire et d'autres équipes de recherche ont recruté un groupe de travailleuses du sexe (CSWs) à Cotonou (Bénin), dans lequel nous avons identifié des femmes dites hautement exposées séronégatives (HESN), qui ne deviennent pas infectées par le VIH, et ce après plus de sept ans de travail sexuel actif. L'étude de ce groupe de femmes HESNs pourrait fournir d'importants indices pour le développement de stratégies préventives étant donné qu'elles représentent un modèle d'immunité naturelle au VIH. Les HESNs Béninoises ont une réponse inflammatoire contrôlée au niveau du tractus génital et des profils antiviraux qui ont été associés avec la résistance à l'infection. Le mécanisme de régulation précis de cette réponse, chez ces femmes, demeure inconnu. Ainsi, nous avons découvert que le tractus génital féminin (FGT) des HESNs présente des fréquences élevées de populations myéloïdes HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ exprimant un profil rappelant celui « tolérogénique/régulateur » observé chez les cellules dendritiques dérivées de monocytes (MoDC) de type DC10. Étant donné l'importance capitale des MoDCs dans l'orchestration de l'homéostasie immunitaire aux sites mucosaux, nous en sommes venus à l'hypothèse que les MoDCs contribuent à la génération de cette réponse antivirale et régulatrice au site de transmission initial du VIH. Nous avons donc considéré que la caractérisation des monocytes du compartiment sanguin des HESNs et du milieu inflammatoire était critique à une meilleure compréhension de la nature « tolérogénique/régulatrice » de ces MoDCs. Nous avons procédé à l'analyse transcriptomique par RNA-seq des monocytes totaux ainsi qu'à la caractérisation par cytométrie en flux, FACS, des sous-populations monocytaires présentes dans le compartiment sanguin des HESNs Béninoises et des groupes contrôles (TS non-infectées au VIH avec travail du sexe sur 2.5-5 ans, TS infectées au VIH, femmes non-infectées au VIH de la population générale). Nos observations préliminaires suggèrent un profil moléculaire différent chez les monocytes des HESNs. Ceux-ci pourraient refléter des fonctions antivirales et tolérogéniques en lien avec les observations faites chez les MoDCs dans le FGT. Fait intéressant, nous avons observé différents profils d'expression génique associés à une activité phagocytaire dépendante d'anticorps (ADCP). Ce genre de signature a récemment été associé à une diminution des risques d'acquisition du VIH et à une augmentation de l'efficacité vaccinale dans l'essai RV144.

Mots-clés : VIH-1, HESN, travailleuse du sexe, monocyte, MoDC, fonction effectrice, fonctions régulatrices.

Abstract

We have previously reported that the female genital tract (FGT) of Beninese HIV highly-exposed seronegative (HESN) commercial sex workers (CSWs), presented elevated frequencies of a myeloid HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ population exhibiting a profile reminiscent of “tolerogenic” monocyte derived dendritic cells (MoDC). In order to assess whether a differential profile of monocytes may be involved in the generation of these genital MoDCs, we have herein characterized the blood monocyte compartment of Beninese HESNs (HIV-uninfected ≥ 10 years CSWs) and relevant controls (HIV-uninfected 2.5-5 years CSWs herein termed “early HESNs”), HIV-infected CSWs, low-risk HIV-uninfected women from the general population). Transcriptomic analyses by RNASeq of total sorted blood monocytes demonstrate that in comparison to the control groups, HESNs present increased expression levels of FCGR2C, FCAR, ITGAX, ITGAM, CR2, CD68 and CD163 genes, associated with effector functions. Moreover, we found increased expression levels of genes associated with protection/control against SHIV/HIV such as CCL3, CCL4, CCL5, BHLHE40 and TNFSF13, as well as with immune regulation such as IL-10, Ahr, CD83 and the orphan nuclear receptor (NR)4A1, NR4A2 and NR4A3. Through multicolour flow-cytometry analyses, we noticed that frequencies of intermediate and non-classical monocyte populations tended to be elevated in the blood of HESNs, and exhibited increased expression levels of effector CD16, CD11c, CD11b as well as regulatory HLA-G, IL-10, IFN- α markers when compared to HIV-uninfected women from the general population and/or HIV-infected CSWs. Linear regression analyses show that expression levels of these markers are modulated in time for early HESN and HESNs. This profile is compatible with that of tolerogenic MoDC previously reported in the FGT of HESNs, and likely confers an enormous advantage to HESNs in their resistance to HIV infection.

Keywords HIV, resistance, highly exposed seronegative (HESN), Commercial sex workers, monocytes, effector functions, regulatory functions **Word count in abstract:** 274

1 Introduction

Most HIV infections are acquired through heterosexual intercourse, and in sub-Saharan Africa, 59% of new infections affect women (1). We and others have established cohorts of heavily HIV-exposed African female commercial sex workers (CSWs), in which some women remain HIV-uninfected after more than 7 years of active sex work (248). The study of these HIV-1 highly-exposed seronegative (HESN) women, who constitute a model of natural immunity to HIV, provides an exceptional opportunity to determine important clues for the development of preventive strategies, which at the moment, remain the best solutions to eradicate the pandemic. We have previously reported that Beninese HESN CSWs present a low-inflammatory profile in their female genital tract (FGT) (4, 235). We found this low-inflammatory profile to be concomitant with important anti-viral and regulatory features. Notably, Beninese HESNs presented elevated frequencies of an endocervical myeloid HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ population, expressing high levels of anti-viral (TLR7, IFN- α) and immunoregulatory (IL-10, HLA-G, ILT4) molecules (263). Concomitantly, we found elevated frequencies of endocervical T regulatory (Treg) and Tr1 (CD49b⁺LAG3⁺) cells, expressing high levels of PD-1 and IL-10, reflective of their active state (305, 306). These are in agreement with the elevated frequencies of Tregs previously reported in the blood of Kenyan HESNs (240). The HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ population described in the FGT of Beninese HESNs, is reminiscent of tolerogenic monocyte derived dendritic cells (MoDCs) or “DC-10” (307), that produce high amounts of IL-10, express high levels of HLA-G and ILT-4 and can induce Tr1 via an IL-10–dependent ILT4/HLA-G pathway (172). In addition, both IL-10 and IFN- α promote Tr1 differentiation (308). The increase in frequencies of tolerogenic or “DC-10-like” MoDCs endowed with tolerogenic as well as IL-10 and IFN- α producing capacities is likely to contribute to the overall protection from HIV in HESNs, by orchestrating potent anti-viral and regulatory activities at a major portal of entry for HIV.

Genital tolerogenic MoDCs are possibly derived from blood monocytes, known to demonstrate developmental plasticity as they differentiate into macrophages, MoDC or osteoclasts depending on the inflammatory milieu (reviewed in (162)). In human, monocytes are categorized in 3 main populations based on their expression levels of CD14 and CD16, each representing a stage of differentiation (162). They are the predominant CD14⁺CD16⁻ classical, and to a lesser extent CD14⁺CD16⁺ intermediate and CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical populations. Further

distinction refers to differential expression levels of chemokine receptors CCR2 and fractalkine receptor CX3CR1. CCR2 is highly expressed by the classical majority, while CX3CR1 is lower at this stage and rises while CCR2 goes down on the non-classical minority. Classical monocytes mainly recirculate or migrate into tissues via CCR2 to address an assault and/or replenish monocyte derived macrophage and/or MoDC populations, whereas CX3CR1 allows for non-classical monocytes to patrol for endothelial integrity. Studies on mouse Ly6C^{low} monocytes, which are considered as the murine analogs of human non-classical monocytes, whereas Ly6C^{hi} correspond to classical monocytes, demonstrated that the former are enriched within capillaries and scavenge micro particles and necrotic debris from their luminal side in a steady state (270).

Orphan nuclear receptor (NR)4A1 (Nur77), NR4A2 (Nurr1) and NR4A3 (NOR1) are transcriptional regulators of differentiation, proliferation and apoptosis genes. The transition from classical to intermediate and non-classical monocytes depends on NR4A1 expression (271), necessary to their generation and survival, as they are being reduced by 90% in NR4A1-deficient mice (281). Furthermore, recent studies of NR4A3-deficient mice show that NR4A3 is required to skew monocyte differentiation toward MoDCs and allows the acquisition of migratory characteristics required for MoDC function (292).

In order to start addressing whether a differential profile of monocytes may be involved in the generation of tolerogenic MoDCs, we have herein characterized the blood monocyte compartment of Beninese HESNs (HIV-uninfected ≥ 10 years CSWs) and compared to that of relevant controls (HIV-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESN” ie: beyond the immune activation generated by ≤ 1 year sex work (309) and possibly evolving towards an HESN status, HIV-infected CSWs, low-risk HIV-uninfected women from the general population). The fact that NR4As are pivotal to monocyte differentiation, prompted us to explore expression levels of these factors along with those associated with the anti-viral and regulatory profile we previously described for genital tolerogenic MoDCs. Based on transcriptomic and multicolour flow-cytometry analyses, we report that blood monocytes from HESNs present elevated expression levels of NR4As, as well as anti-viral and regulatory markers when compared to the other groups. Moreover, we found increased expression levels of markers associated with effector functions. Altogether, our observations suggest that the differential profile of blood monocytes from HESNs reflects enhanced effector, anti-viral and regulatory functions. This profile is compatible with that of tolerogenic MoDC previously reported

in the FGT of HESNs, and likely confers an enormous advantage to HESNs in their resistance to HIV infection.

2 Methods

Study populations. Non-CSW control women at low risk for exposure were enrolled from a general health clinic in Cotonou, Benin. Female CSWs were recruited through a dedicated sex worker clinic in Cotonou. Women were invited to participate in the study as they attended clinics. Women were excluded from the study if, they were less than 18 years old, menstruating or pregnant. At enrolment, participants were asked to answer a questionnaire about demographic information, sexual behaviour, duration of sex work, number of sex partners, condom use, vaginal douching practices, and reproductive history. Each participant underwent a genital examination by a physician. Vaginal specimens were obtained for diagnosis of candidiasis, trichomoniasis and bacterial vaginosis by microscopic examination and HSV infection by PCR. Endocervical swabs were obtained to test for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection using BD ProbeTec ET system (Strand Displacement Assay, Becton Dickinson, Heidelberg, Germany). Peripheral blood was taken for HIV, syphilis, HSV and progesterone testing by immunoassays. HIV-1 positivity was defined by the presence of HIV-1 specific IgG tested with Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (Organon Teknika, Boxtel, The Netherlands). Non-reactive samples were considered HIV seronegative, whereas reactive samples were tested with Genie II HIV-1/HIV-2 (Bio-Rad, Hercules, CA). Genie II dually reactive samples (to HIV-1 and HIV-2) and discordant samples (Vironostika reactive/Genie II non-reactive) were further tested by INNO-LIA HIV I/II Score (Innogenetics NV, Technologiepark 6, Gent, Belgium). HSV infection and shedding was determined by testing for HSV-specific antibodies in the serum and for the presence of HSV in the CVLs of the women by PCR assay. In the present study, samples were selected from 9 HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs), 11 HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”, 10 HIV-1-infected CSWs and 7 HIV-1-uninfected non-CSW control women from the general population for characterisation by flow-cytometry of blood monocytes. For the transcriptomic analyses of sorted total blood monocytes, samples from 4 HESNs and 3 from each other groups were selected. The four study groups were all in the follicular phase of their menstrual cycle as

determined by progesterone levels, not taking oral contraception, and had no co-infection, bacterial vaginosis, trichomoniasis or candidiasis.

Ethics statement. Written informed consent was obtained from all subjects who participated in the study. The methods reported in this paper were performed in accordance with the relevant guidelines and regulations and all experimental protocols were approved by the Comité National Provisoire d'Éthique de la Recherche en Santé in Cotonou and the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) Research Ethics Committees.

Sample collection and preparation. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from whole blood by centrifugation on Ficoll gradients, washed and suspended in freezing medium (90% heat inactivated fetal bovine serum (hi-FBS), 10% dimethyl-sulfoxide (DMSO)) and kept in liquid nitrogen until use. Plasma and serum were kept frozen at -80 °C until use.

Multicolour Flow-Cytometry analyses. PBMCs samples were thawed, washed in IMDM followed by 1x PBS and processed for flow-cytometry. Briefly, each sample of PBMCs was separated in two for intracellular and intranuclear staining. Live/dead exclusion was performed using Aqua-LIVE/DEAD Fixable Stain (Invitrogen Life technologies, Eugene, OR, USA). Non-specific binding sites were blocked using fluorescence-activated cell sorting (FACS) buffer (1x PBS, 2% hi-FBS, and 0.1% sodium azide) supplemented with 20% hi-FBS and 10 µg mouse and/or rat IgG (Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA) and 8 µg Human BD FcBlock (BD Biosciences) per million cells. The following conjugated mouse and/or rat anti-human monoclonal antibodies were used for detection of surface markers: anti-HLA-G-PerCP-eFluor710 (eBiosciences), anti-HLA-DR-BB515, anti-CD16-BUV737, anti-CD14-BV786, anti-CD123-BV711, anti-CD83-BV650, anti-CD11b-BUV395, anti-CCR2-BV421, rat-anti-CX3CR1- BV421 (BD Biosciences), anti-CD11c-Pe/Cy5.5 (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific), anti-ILT4-AF594 (R&D systems). For the detection of intracellular markers, the following conjugated mouse and/or rat anti-human monoclonal antibodies were used: anti-CCL3-APC, anti-IFN- α -PE, rat-anti-IL-10-Pe/Cy7 (Biolegend). For detection of the intranuclear marker NR4A1, the following conjugated human anti-mouse monoclonal antibody was used: anti-Nurr77 (NR4A1)-PE (Miltenyi Biotec). This human REA clone anti-mouse Nurr77 (NR4A1) IgG1 antibody cross-reacts with human NR4A1 as specified by MACS Miltenyi Biotec. We have previously validated this reagent (210). Intracellular labelling was performed using the Cytotfix/Cytoperm Fixation/Permeabilization kit

and perm/wash buffer (BD-Biosciences). Intracellular non-specific binding sites were blocked using perm/wash buffer containing 20% hi-FBS, 50% rat serum and 20 ug mouse IgG. Intranuclear labelling was performed using the FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, CA, USA), and non-specific binding sites were blocked using 20% hi-FBS. Cells were kept at 4°C in 1.25% paraformaldehyde for 18 hours prior to analysis. Data acquisition of 5×10^4 events per sample was performed with LSRFortessa (BD-Biosciences), and analysis was done with FlowJo 7.6.3 software (TreeStar, Ashland, OR, USA). All stainings were compared to that of fluorescence minus one (FMO) values and isotype controls. Anti-mouse Ig(κ) and Anti-Rat Ig(κ) Compbeads Plus (BD Biosciences) were used to optimize fluorescence compensation settings. CS&T beads (BD Biosciences) were routinely used to calibrate the LSRFortessa to exclude the possibility of instrument-related fluorescence intensity changes over time, and we verified consistency prior to each data acquisition session using application settings based on Rainbow beads (BD Biosciences).

Cell Sorting of Total Blood Monocytes, RNA Isolation and Sequencing. PBMCs samples were thawed, washed with IMDM followed by 1x PBS and processed for flow-cytometry, as stated above. Cells were stained using the following conjugated mouse anti-human monoclonal antibodies: anti-CD19/CD3/CD56-BV650, anti HLA-DR-PE-Cy7, anti-CD14-BV786 (BD-Biosciences) and anti-CD11c-PE-Cy5.5 (eBiosciences). Total CD14⁺ monocytes were sorted using a FACSAriaIII apparatus (BD-Biosciences) and kept at -80 °C in trizol (Invitrogen Life technologies) prior to sequencing. Total monocytes were sent to IRIC's Genomics Core Facility for RNA extraction, sequencing, transcriptomic profiling and analysis. Libraries were prepared using Clontech Ultra Low RNA SMARTer v4 (Takara) and sequenced on a HiSeq2000. Genes with adjusted p-values based on false discovery rate (FDR) values <0.05 were considered to be differentially expressed. Gene expression levels were compared using raw read counts and the negative binomial distribution model implemented in DESeq2, a differential expression analysis package developed for R.

Statistical analyses. Data from HESNs were compared separately to those of HIV-uninfected 2.5-5 year CSWs, HIV-infected CSWs and HIV-uninfected non-CSWs. The p-values used to infer statistical significance of difference between groups was determined by unpaired Student's T-test when continuous variables were normally distributed or by Mann-Whitney U test otherwise. The

D'Agostino-Pearson normality test was used to determine whether the values were sampled from a Gaussian distribution. Analyses were performed using R version 3.6.3 for Windows (310). Data manipulations were done using the R packages tidyverse (311) and reshape2 (312). Figures were produced using the R packages ggplot2 (313), ggfortify (314, 315), gridExtra (316), ggpubr (317) and cowplot (318).

3 Results

Socio-demographic characteristics of the study groups. The socio-demographic characteristics of female CSWs and non-CSWs are shown in Table 1. There were no statistical differences for age between HESNs, HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs” and HIV-infected CSWs. There was a highly significant difference between the duration of sex work between HESNs, HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs” and HIV-infected CSWs. All women were practicing vaginal douching. Average number of clients and condom use were not significantly different between the CSWs groups.

Transcriptomic analyses by RNA-Seq of total sorted blood monocytes from HESNs reveal distinct effector and regulatory capacities. Live total CD14⁺ monocytes were sorted from the PBMC samples of HESNs and relevant controls. RNA was extracted, purified and submitted to a total transcriptomic analysis by RNA-Seq. Based on our previous observations with HESNs (4, 235, 263), and the gene signature associated with protective vaccine regimen (319), we herein present a heatmap selected for transcripts of interferon stimulated genes (ISG), Toll-Like Receptor (TLR) genes, genes associated with effector functions and protection/control against SHIV/HIV, and genes associated with tolerogenicity and immune regulation. As shown in Fig. 1A, there is great variability between groups for this selected gene expression profile and p-values for statistical t-test between each group pairs is shown in Fig. Supp.1. HESNs as well as early HESNs and women from the general population do not present a significant IFN signature, which is prevalent in the HIV-infected CSWs group. Albeit, that of HESNs is notable when compared to early HESNs and women from the general population. Strikingly, HESNs present increased expression levels of gene transcripts for the antibody Fc Receptors (FcR) FCGR2C and FCAR, as well as for Complement binding Receptors such as ITGAX, ITGAM and CR2 when compared to the other groups (Fig. 1B). Transcripts for the Scavenger Receptors CD68 and CD163 genes were also increased for

HESNs when compared to the other groups. Interestingly, monocytes from HIV-infected CSWs presented increased expression levels of gene transcripts for distinct FcRs such as FCGR3A, FCGR1A, FCGR1B, FCGR2A and complement receptor CR1 when compared to HESNs and the other groups. Importantly, HESNs present increased expression levels of genes shown to be associated with protection/control against SHIV/HIV such as CCL3, CCL4, CCL5, the transcription factor basic helix-loop-helix family member e40 (BHLHE40) and TNFSF13, which encodes the growth factor A proliferation inducing ligand (APRIL), as well as with immune regulation such as IL-10, the IL-10 regulatory transcription factor aryl hydrocarbon receptor (Ahr), CD83 and the orphan nuclear receptors NR4A1, NR4A2 and NR4A3 when compared to the other groups (Fig. 1C-D). Altogether, these observations suggest that blood monocytes of HESNs are endowed with a unique profile suggestive of distinct effector, protective and regulatory capacities when compared to the other groups.

Multicolour flow-cytometry analyses expose important effector and regulatory capacities in blood monocytes from HESNs. In the same line of idea as described above, we have performed multicolour flow-cytometry analyses on blood monocytes of each group of participants by using selected panels of monoclonal antibody (mAb) cocktails targeting important markers we previously associated with effector, anti-viral and immunoregulatory properties in HESNs (4, 235, 263). Total, as well as CD14⁺CD16⁻ classical, CD14⁺CD16⁺ intermediate and CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocyte populations were assessed with these mAb panels. Gating strategies as well as the differential CCR2 and CX3CR1 expression profiles of monocyte populations are provided in Fig. Supp.2 and 3, respectively. Consistent with the elevated gene expression levels of NR4A1 (Fig.1), flow-cytometry analyses demonstrate a trend towards slightly elevated relative frequencies of intermediate and non-classical monocyte populations, which highly express NR4A1 (271, 281), in the blood of HESNs when compared to women from the general population (Fig.2A). This was also observed for HIV-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs” and HIV-infected CSWs. Moreover, NR4A1 expression levels tended to be slightly greater for these populations in HESNs, early HESNs and HIV-infected CSWs when compared to women from the general population (Fig.2D-E), and the pattern of CD83 expression was similar (Supp.3). Upon analysis of CD16 (FCRG3A), we found that as for HIV-infected CSWs, intermediate and non-classical monocytes from HESNs and early HESNs presented elevated expression levels when compared to women from the general population (Fig.3C-D). Linear regression analyses show that this is more obvious

in early HESNs when compared to HESNs (Fig.3G-H). Also, HLA-DR surface expression levels tended to be more elevated in intermediate and non-classical monocytes of HESNs and early HESNs when compared to both HIV-infected CSWs and women from the general population (Fig.3K-L). As for CD16, linear regression analyses show that this is more obvious in early HESNs when compared to HESNs (Fig.3O-P). In a similar scheme, CD11b (ITGAM) protein expression levels were slightly elevated in all monocyte populations of HESNs and early HESNs when compared to both HIV-infected CSWs and women from the general population (Fig.4A-D). As for CD16 and HLA-DR, linear regression analyses show that this is more obvious in early HESNs when compared to HESNs (Fig.4E-H). CD11c (ITGAX) protein expression levels by monocyte populations of HESNs and early HESNs presented a similar profile to that of CD11b when compared to women from the general population and HIV-infected CSWs (Fig.4I-L). Linear regression analyses show that for intermediate and non-classical monocytes, this is more accentuated in early HESNs when compared to HESNs (Fig.4O-P).

Upon assessment of HLA-G surface expression levels, we clearly show that they are significantly increased by all monocyte populations of HESNs when compared to women from the general population and HIV-infected CSWs (Fig.5A-D). Although, we find a trend for this increase by monocytes from early HESNs, linear regression analyses depict that this is greater in the HESNs group (Fig.5E-H). *Ex vivo* IL-10 intracellular expression levels were comparable amongst all HIV-uninfected groups and tended to be higher than that observed on monocytes from HIV-infected CSWs (Fig.5I-L), especially when comparing to classical monocytes from HESNs (Fig.5J). Linear regression analyses show that *ex vivo* IL-10 expression levels are greater for HESNs when compared to early HESNs (Fig.5M-P). Consistent with our data obtained through selected transcriptomic analyses, these flow-cytometry results demonstrate that monocytes from HESNs bear important effector and regulatory capacities. We find that early HESNs are also endowed with a similar profile. These features seem to be shared characteristics of HIV highly exposed individuals, and are likely to confer an important advantage in their fight against HIV infection. Although, certain features observed in monocytes from HESNs and/or early HESNs were comparable to those of monocytes from HIV-infected CSWs, these are likely to reflect frequent HIV and/or microbial exposure.

Flow-cytometry analyses suggest that monocytes and plasmacytoid DC (pDC) anti-viral capacities are preserved in HESNs when compared to HIV-infected CSWs. Assessment of *ex vivo* intracellular IFN- α expression levels demonstrates a significant increase by all monocyte populations from HESNs, and a trend for early HESNs when compared to monocytes from women of the general population (Fig.6A-D). Linear regression analyses show that this expression profile seems to drop with increasing years of sex work above 12 years (Fig.6E-H). We have taken advantage of our staining cocktails to track pDC relative frequencies (Fig.7A), and their HLA-DR expression levels (Fig.7B), CD83 expression levels (Fig.7C) and *ex vivo* intracellular IFN- α expression levels (Fig.7D) in the blood of HESNs and controls. We find that the latter is significantly elevated in HESNs when compared to HIV-infected CSWs (Fig.7D). This is in contrast to that observed for monocyte populations, whereby *ex vivo* intracellular IFN- α expression levels were not diminished for HIV-infected CSWs, the pattern clearly showing dichotomy amongst this group when compared to HESNs (Fig.6A-D). These results demonstrate that monocytes and pDC from HESNs, and to some extent early HESNs, are endowed with anti-viral capacities, which are likely to contribute to their battle against HIV infection.

4 Discussion

We have characterized the blood monocyte compartment of Beninese HESNs and relevant controls (“early HESNs”, HIV-infected CSWs, low-risk HIV-negative women from the general population). Based on previous observations (4, 235, 263), we have herein concentrated our efforts on expression profiles of genes and proteins associated with effector functions, protection/control against HIV, anti-viral capacities and with tolerogenicity and immune regulation. Together, our transcriptomic and flow-cytometry analyses provide strong evidence that total blood monocytes of HESNs are endowed with a unique profile suggestive of distinct effector, protective and regulatory capacities when compared to the other groups.

Interestingly, a gene signature associated with partial protection in several non-human primate (NHP) vaccine trials (319) was recently reported in a human trial using the partially protective human RV144 vaccine regimen when compared to the non-protective human HVTN 505 vaccine regimen (320). This enriched gene signature is associated with a decreased risk of HIV acquisition and increased vaccine efficacy. Importantly, transcriptomic analyses of PBMCs from

vaccinees with the RV144 regimen (321), show this gene signature is primarily expressed by myeloid cells, and especially monocytes, and involves molecules associated with effector functions such as antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP), suggested to be a potential mechanism of vaccine protection. As such, robust ADCP responses were reported in the South-African RV144 vaccine trial Africa (85). Remarkably, our data show that monocytes from HESNs present increased expression of distinct FcRs as well as complement and scavenger receptors, all of which are solicited in the course of ADCP (322). It is thus mandatory that we explore ADCP efficiency in our cohort. Of interest, HESNs present increased transcripts for the FCGR2C gene, encoding a low-affinity IgG FcR, which polymorphisms were shown to associate with HIV protection in the Thai RV144 vaccine trial (323). Intriguingly, when a similar vaccine regimen was tested in South Africa in the HVTN702 trial, an allele shown to be protective in Thai vaccinees was rather significantly associated with increased odds of disease progression (324). The Thai and South African populations are distinctly different at the FCGR2C gene locus (323, 324), and whether polymorphisms confer protection in Beninese HESNs is of major interest and needs further attention.

Unlike monocytes from HESNs, we show that those from HIV-infected CSWs rather present increased gene transcripts for IgG activating FcRs such as FCGR1A, FCGR2A and FCGR3A, and this possibly reflects the overall inflammation we previously described for these individuals (248). Consistently, upon assessment of CD16 surface expression (FCGR3A), we find non-classical monocytes from HESNs present lower levels when compared to that of HIV-infected CSWs, but still significantly elevated when compared to women from the general population. This is compatible with our findings with blood NK cells of HESNs, which bear elevated surface levels of CD16 (325). CD16 is required for antibody-dependent cell cytotoxicity (ADCC) by NK cells (326) and has been shown to be indispensable for ADCC activity by monocytes (327). Interestingly, blood derived IgG1 and IgG3-mediated ADCC activity toward the HIV Env V1V2 region was shown to correlate with protection in the Thai RV144 trial (84, 328). These findings suggest that HESNs have strong ADCC capacities, which could contribute to their protection against HIV infection. However, when using highly sensitive and HIV-1 specific assays we found no HIV-1 specific IgG mediating ADCC or neutralizing activities in the blood or genital samples of Beninese HESNs in contrast to HIV-infected CSWs (253). It is possible however that ADCC activities in HESNs be mediated by IgG endowed with cross-reactivity, that were discarded for our

assays. As such, we have detected some IgG1 with HIV Envelope (Env) gp41 subunit reactivity in genital samples of Beninese HESNs (244), which could be derived from cross-reactive, possibly first-line B-cell pools, as most gp41 Abs are known to cross-react with microbiota(255). These observations may imply that natural immunity to HIV in Beninese HESNs is not mediated by HIV-1 highly specific IgG neutralizing or ADCC responses, and may involve other Abs and/or responses, such as ADCP as stated above, that can confer some level of protection, as is now being suggested by a growing body of evidence (256, 329, 330).

As such, it was shown that in certain RV144 vaccinees, non-neutralizing IgA blocked *in vitro* binding of HIV Env glycoproteins to Galactosylceramide (GalCer), and mediated *in vitro* ADCP by monocytes (254). Also, it was recently shown that the gp41-specific broadly neutralizing antibody 2F5 under the IgA isotype (2F5-IgA), which triggers ADCC and cooperates with 2F5-IgG to increase HIV-1-infected cell lysis (331), induces ADCP not only of gp41-coated beads but also of primary HIV-1-infected cells in a FCRA1-dependent manner (332). Importantly, we report that monocytes from HESNs distinctively express increased gene transcripts for the IgA FcR FCRA when compared to the other groups. Unfortunately, we did not assess HIV-1 reactivity of IgA in the blood of Beninese HESNs, and upon assessment of genital samples, we could not detect substantial IgA1 or IgA2 reactivity to HIV Env in HESNs (244). To date, studies have reported contradictory results regarding anti-HIV-1 specific IgA responses in various cohorts with HESNs (248). Discrepancies are likely to result from factors such as the relatively small sample size and/or the different techniques used to detect Env-reactive Abs. Also, the fact that most genital Igs are found in the mucus (333), may preclude substantial detection of certain Ig isotypes in genital samples. It is thus mandatory that we deploy further efforts in order to better characterize IgA reactivity in blood and genital samples from Beninese HESNs.

Overall, our data suggest that ADCP, and perhaps ADCC activities by monocytes are likely to contribute to protection in Beninese HESNs. However, factors such as genetics, inflammatory status, opsonisation length, frequency and type of other phagocytes, as well as combination of expression of FcR and complement receptors, scavenger receptors, antibody specificity, isotype, subclass, and glycoforms may all influence the outcome of these responses (322), and deserve further investigation.

Along with increased ADCP potential, the RV144-associated gene signature also showed that SEMA4A, SLC36A1, SERINC5, IL17RA, CTSD, CD68 and GAA were the most protective genes, and mostly expressed by monocytes (321). This prompted us to investigate as to levels of expression of these genes in our total monocyte RNA-Seq data bank. We found that along for the scavenger receptor CD68 (Fig.1), CTSD and GAA (Fig. Supp.4) transcripts were significantly or tended to be increased, respectively, in monocytes from HESNs when compared to women from the general population. Moreover, gene transcripts for SERINC5 and GAA were significantly or tended to be increased, respectively, in monocytes from HESNs when compared to HIV-infected CSWs. Interestingly, TNFSF13, the gene encoding A proliferation-inducing ligand (APRIL), was found to be of the most protective genes in the NHP trials (319), and we found the expression levels of this gene to be increased in monocytes from HESNs when compared to the other groups. Of interest, APRIL has been associated with slower HIV disease progression in LTNP (334). Therefore, our data show that natural immunity to HIV in HESNs shares some highly protective features elicited by vaccine regimens known to confer some level of protection in human and NHP.

Our observations also suggest that the differential molecular profile of blood monocytes from HESNs reflects regulated functions, which is compatible with our previous observations in the FGT of these individuals (263). As such gene transcripts encoding IL-10, as well as transcription factors involved in regulation of IL-10 such as BHLHE40 (335), recently shown to confer protection in the NHP trials (319), and Ahr (336) were increased in monocytes from HESNs when compared to the other groups. Importantly, gene expression levels of NR4A1 were most pronounced for HESNs, as were those of NR4A2 and NR4A3 when compared to the other groups. The elevated expression levels of NR4A1-3 may allow for more regulated functions, as has been found for Tregs (337), and non-classical monocyte populations (271, 281). Furthermore, we have recently described that marginal zone precursor (MZp) B-cells highly express NR4As and are endowed with a Breg function, which involves CD83 signalling (210). CD83 being a regulatory molecule (338), which expression is directly modulated by NR4As (339). Growing evidence support that expression levels of NR4As are affected in pathogenic contexts (340), and synthetic regulation of NR4As expression is currently used for treating patients with certain leukemia/lymphomas (341) and could be envisaged for immunomodulatory purposes. In this view, it has been shown that increasing NR4A1 expression levels lead to diminished MoDC and T-cell activation profiles (291).

The increased NR4A1 gene transcripts we found in total monocytes from HESNs is consistent with the elevated frequencies of intermediate and non-classical populations, and their elevated NR4A1 protein expression levels (271, 281). However, in contrast to NR4A1 gene expression, these latter features were also observed for early HESNs and HIV-infected CSWs when compared to women from the general population. NR4As are early induced transcription factors in response to a multitude of activating stimuli, and observations on gene transcripts vs protein expression may involve several contributing factors (342), which identification is out of the scope of the present study.

Frequencies of intermediate/non-classical monocytes are expanded in blood in the context of several infectious diseases including HIV infection (162), and possibly frequent HIV exposure as suggested by our data. Moreover, this is also reported in the context of malaria (343), which is endemic in Benin and may help at the interpretation of our findings. Intermediate monocytes appear to bear elevated antigen presentation and inflammatory potential (344), while non-classical monocytes are known to sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8, and are important sources of CCL3, CCL5 and IFN- α (275, 345). They also have the capacity to generate anti-inflammatory tolerogenic responses via HLA-G/ILT4 (275). These are consistent with our findings with HESNs. Although our RNA-Seq analyses show that gene transcripts encoding total HLA-G and LILRB2 (ILT4) are more pronounced in monocytes from HIV-infected CSWs when compared to HESNs, analyses by flow-cytometry show significantly elevated expression levels of total HLA-G by all monocyte populations from HESNs, when compared to HIV-infected CSWs. This is consistent with the high levels of released soluble HLA-G we found in the blood of HIV-infected CSWs from the same cohort (346).

We believe alterations in the ratios of monocyte populations may dramatically influence MoDC-mediated immunity. In human, there are contradictory results as to whether non-classical monocytes differentiate into macrophages (277) or MoDCs (286) *in vitro*. MoDCs derived from non-classical monocytes presented a differential transcriptomic signature and expressed CD103, RALDH2 and TCF4 typical of mucosal DCs thought to play a role in mucosal homeostasis (286). Furthermore, in a model of transendothelial migration (288), non-classical monocytes preferentially acquired DC features. Suggesting that the elevated frequencies of non-classical

monocytes bearing a regulatory/tolerogenic profile may confer an advantage to HESNs, by generating MoDCs with similar features.

The events involved in increasing frequencies of intermediate and non-classical monocytes presenting effector/regulatory and anti-viral profiles in the blood of HESNs have yet to be determined and are likely to be multifactorial. Because of the cross-sectional design, the present study cannot address whether the blood monocyte profile of HESNs has a protective role against HIV infection. Although comparison between HESNs and early HESNs, which sex work period goes from 2.5 to 5 years, controls to some extent for the effects of sex work itself on monocyte immunology, a sex work period of four years was previously considered enough to confer an HESN status. We prefer to design these individuals as potentially evolving towards an HESN status. The total monocyte gene expression profile of these early HESNs differed from that of HESNs, and the flow-cytometry analyses showed variation in time for certain markers, but the overall regulatory/tolerogenic profile was attributable to HESNs. Longitudinal studies and further phenotypic and functional characterizations are required to confirm markers with a protective role. Based on our observations, the differential molecular profile of blood monocytes from HESNs reflects enhanced effector, anti-viral and regulatory functions and seems concomitant with natural immunity against HIV. Harnessing such populations could lead to novel preventive strategies.

Author's Contributions: LBL managed all the parameters regarding the study participants, performed the flow-cytometry experiments, analyzed the data and wrote the article. LBL and LF prepared the samples for the sorting of monocytes and RNA-Seq (IRIC). AM and MA helped with the flow-cytometry experiments. AC-L, MA, LG and MR established the Beninese cohort. NdeM performed statistical analyses and produced graphs and layouts. JP and MR designed the experiments, analyzed the data and wrote the article. All authors revised the last version of the manuscript.

Financial support: This work was supported by grant # PJT-148529 from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) and by the Réseau SIDA from the Fonds de Recherche du Québec en Santé (FRQS).

Acknowledgements: We are grateful to Raphaële Lambert, Jennifer Huber and Patrick Gendron (IRIC Genomic and Bioinformatics core facilities) for RNA-Seq transcriptomic and data analyses, respectively. We are grateful to Dre Dominique Gauchat and the CRCHUM flow-cytometry core facility. We are grateful to Floriane Point for help with flow-cytometry analyses.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

5 References

1. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics 2020 fact sheet. Available online: www.unaids.org (accessed on 03/04/2021).
2. Fourcade, L.; Poudrier, J.; Roger, M. Natural Immunity to HIV: A Template for Vaccine Strategies. *Viruses* **2018**, *10*, doi:10.3390/v10040215.
3. Lajoie, J.; Poudrier, J.; Massinga-Loembe, M.; Guédou, F.; Agossa-Gbenafa, C.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Roger, M. Differences in immunoregulatory cytokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments of HIV-1-infected commercial sex workers in Benin. *Mucosal Immunol* **2008**, *1*, 309-316, doi:10.1038/mi.2008.18.
4. Lajoie, J.; Poudrier, J.; Massinga Loembe, M.; Guédou, F.; Leblond, F.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Roger, M. Chemokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments are associated with HIV-1 infection in women from Benin. *J Clin Immunol* **2010**, *30*, 90-98, doi:10.1007/s10875-009-9343-3.
5. Thibodeau, V.; Fourcade, L.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Roger, M. Highly-Exposed HIV-1 seronegative Female Commercial Sex Workers sustain in their genital mucosa increased frequencies of tolerogenic myeloid and regulatory T-cells. *Sci Rep* **2017**, *7*, 43857, doi:10.1038/srep43857.
6. Attanasio, J.; Wherry, E.J. Costimulatory and Coinhibitory Receptor Pathways in Infectious Disease. *Immunity* **2016**, *44*, 1052-1068, doi:10.1016/j.immuni.2016.04.022.
7. Khaitan, A.; Kravietz, A.; Mwamzuka, M.; Marshed, F.; Ilmet, T.; Said, S.; Ahmed, A.; Borkowsky, W.; Unutmaz, D. FOXP3+Helios+ Regulatory T Cells, Immune Activation, and Advancing Disease in HIV-Infected Children. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2016**, *72*, 474-484, doi:10.1097/qai.0000000000001000.
8. Card, C.M.; McLaren, P.J.; Wachihi, C.; Kimani, J.; Plummer, F.A.; Fowke, K.R. Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells. *J Infect Dis* **2009**, *199*, 1318-1322, doi:10.1086/597801.
9. Amodio, G.; Gregori, S. Human tolerogenic DC-10: perspectives for clinical applications. *Transplant Res* **2012**, *1*, 14, doi:10.1186/2047-1440-1-14.
10. Gregori, S.; Tomasoni, D.; Pacciani, V.; Scirpoli, M.; Battaglia, M.; Magnani, C.F.; Hauben, E.; Roncarolo, M.G. Differentiation of type 1 T regulatory cells (Tr1) by

- tolerogenic DC-10 requires the IL-10-dependent ILT4/HLA-G pathway. *Blood* **2010**, *116*, 935-944, doi:10.1182/blood-2009-07-234872.
11. Levings, M.K.; Sangregorio, R.; Galbiati, F.; Squadrone, S.; de Waal Malefyt, R.; Roncarolo, M.G. IFN-alpha and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells. *J Immunol* **2001**, *166*, 5530-5539, doi:10.4049/jimmunol.166.9.5530.
 12. Wacleche, V.S.; Tremblay, C.L.; Routy, J.P.; Ancuta, P. The Biology of Monocytes and Dendritic Cells: Contribution to HIV Pathogenesis. *Viruses* **2018**, *10*, doi:10.3390/v10020065.
 13. Polletti, S.; Natoli, G. Understanding Spontaneous Conversion: The Case of the Ly6C(-) Monocyte. *Immunity* **2017**, *46*, 764-766, doi:10.1016/j.immuni.2017.04.010.
 14. Mildner, A.; Schönheit, J.; Giladi, A.; David, E.; Lara-Astiaso, D.; Lorenzo-Vivas, E.; Paul, F.; Chappell-Maor, L.; Priller, J.; Leutz, A.; et al. Genomic Characterization of Murine Monocytes Reveals C/EBP β Transcription Factor Dependence of Ly6C(-) Cells. *Immunity* **2017**, *46*, 849-862 e847, doi:10.1016/j.immuni.2017.04.018.
 15. Hanna, R.N.; Carlin, L.M.; Hubbeling, H.G.; Nackiewicz, D.; Green, A.M.; Punt, J.A.; Geissmann, F.; Hedrick, C.C. The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C- monocytes. *Nat Immunol* **2011**, *12*, 778-785, doi:10.1038/ni.2063.
 16. Boulet, S.; Daudelin, J.F.; Odagiu, L.; Pelletier, A.N.; Yun, T.J.; Lesage, S.; Cheong, C.; Labrecque, N. The orphan nuclear receptor NR4A3 controls the differentiation of monocyte-derived dendritic cells following microbial stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2019**, *116*, 15150-15159, doi:10.1073/pnas.1821296116.
 17. Lajoie, J.; Kimani, M.; Plummer, F.A.; Nyamiobo, F.; Kaul, R.; Kimani, J.; Fowke, K.R. Association of sex work with reduced activation of the mucosal immune system. *J Infect Dis* **2014**, *210*, 319-329, doi:10.1093/infdis/jiu023.
 18. Doyon-Laliberté, K.; Chagnon-Choquet, J.; Byrns, M.; Aranguren, M.; Memmi, M.; Chrobak, P.; Stagg, J.; Poudrier, J.; Roger, M. NR4A Expression by Human Marginal Zone B-Cells. *Antibodies (Basel)* **2019**, *8*, doi:10.3390/antib8040050.
 19. R Core Team *R: A language and environment for statistical computing.* , Vienna, Austria, 2020.
 20. Wickham, H.; Averick, M.; Bryan, J.; Chang, W.; McGowan, L.D.A.; François, R.; Grolemund, G.; Hayes, A.; Henry, L.; Hester, J.; et al. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*.

21. Wickham, H. Reshaping Data with the reshape Package. *Journal of Statistical Software, Articles* **2007**, *21*, 1-20, doi:10.18637/jss.v021.i12.
22. Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*; Springer-Verlag New York: 2016.
23. Horikoshi, M.; Tang, Y. ggfortify: Data Visualization Tools for Statistical Analysis Results. **2018**.
24. Tang, Y.; Horikoshi, M.; Li, W. ggfortify: Unified Interface to Visualize Statistical Result of Popular R Packages. *The R Journal* **2016**, *8*, 474-485, doi:10.32614/RJ-2016-060.
25. Auguie, B. gridExtra: Miscellaneous Functions for "Grid" Graphics. **2015**.
26. Kassambara, A. ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. **2020**.
27. Wilke, C.; Fox, S.J.; Bates, T.; Manalo, K.; Lang, B.; Barrett, M.; Stoiber, M.; A, P.; Denney, B.; Hesselberth, J.; et al. wilkelab/cowplot: 1.1.1. **2021**, doi:10.5281/zenodo.4411966.
28. Ehrenberg, P.K.; Shangguan, S.; Issac, B.; Alter, G.; Geretz, A.; Izumi, T.; Bryant, C.; Eller, M.A.; Wegmann, F.; Apps, R.; et al. A vaccine-induced gene expression signature correlates with protection against SIV and HIV in multiple trials. *Sci Transl Med* **2019**, *11*, doi:10.1126/scitranslmed.aaw4236.
29. Rerks-Ngarm, S.; Pitisuttithum, P.; Nitayaphan, S.; Kaewkungwal, J.; Chiu, J.; Paris, R.; Premisri, N.; Namwat, C.; de Souza, M.; Adams, E.; et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* **2009**, *361*, 2209-2220, doi:10.1056/NEJMoa0908492.
30. Shangguan, S.; Ehrenberg, P.K.; Geretz, A.; Yum, L.; Kundu, G.; May, K.; Fourati, S.; Nganou-Makamdop, K.; Williams, L.D.; Sawant, S.; et al. Monocyte-derived transcriptome signature indicates antibody-dependent cellular phagocytosis as the primary mechanism of vaccine-induced protection against HIV-1. *bioRxiv* **2021**, 2021.2005.2012.443737, doi:10.1101/2021.05.12.443737.
31. Gray, G.E.; Huang, Y.; Grunenberg, N.; Laher, F.; Roux, S.; Andersen-Nissen, E.; De Rosa, S.C.; Flach, B.; Randhawa, A.K.; Jensen, R.; et al. Immune correlates of the Thai RV144 HIV vaccine regimen in South Africa. *Sci Transl Med* **2019**, *11*, doi:10.1126/scitranslmed.aax1880.

32. Tay, M.Z.; Wiehe, K.; Pollara, J. Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis in Antiviral Immune Responses. *Front Immunol* **2019**, *10*, 332, doi:10.3389/fimmu.2019.00332.
33. Li, S.S.; Gilbert, P.B.; Tomaras, G.D.; Kijak, G.; Ferrari, G.; Thomas, R.; Pyo, C.W.; Zolla-Pazner, S.; Montefiori, D.; Liao, H.X.; et al. FCGR2C polymorphisms associate with HIV-1 vaccine protection in RV144 trial. *J Clin Invest* **2014**, *124*, 3879-3890, doi:10.1172/jci75539.
34. Lassaunière, R.; Paximadis, M.; Ebrahim, O.; Chaisson, R.E.; Martinson, N.A.; Tiemessen, C.T. The FCGR2C allele that modulated the risk of HIV-1 infection in the Thai RV144 vaccine trial is implicated in HIV-1 disease progression. *Genes Immun* **2019**, *20*, 651-659, doi:10.1038/s41435-018-0053-9.
35. Zhao, N.Q.; Vendrame, E.; Ferreira, A.M.; Seiler, C.; Ranganath, T.; Alary, M.; Labbé, A.C.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Holmes, S.; et al. Natural killer cell phenotype is altered in HIV-exposed seronegative women. *PLoS One* **2020**, *15*, e0238347, doi:10.1371/journal.pone.0238347.
36. Abel, A.M.; Yang, C.; Thakar, M.S.; Malarkannan, S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol* **2018**, *9*, 1869, doi:10.3389/fimmu.2018.01869.
37. Yeap, W.H.; Wong, K.L.; Shimasaki, N.; Teo, E.C.; Quek, J.K.; Yong, H.X.; Diong, C.P.; Bertoletti, A.; Linn, Y.C.; Wong, S.C. CD16 is indispensable for antibody-dependent cellular cytotoxicity by human monocytes. *Sci Rep* **2016**, *6*, 34310, doi:10.1038/srep34310.
38. Haynes, B.F.; Gilbert, P.B.; McElrath, M.J.; Zolla-Pazner, S.; Tomaras, G.D.; Alam, S.M.; Evans, D.T.; Montefiori, D.C.; Karnasuta, C.; Sutthent, R.; et al. Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. *N Engl J Med* **2012**, *366*, 1275-1286, doi:10.1056/NEJMoal113425.
39. Kim, J.H.; Excler, J.L.; Michael, N.L. Lessons from the RV144 Thai phase III HIV-1 vaccine trial and the search for correlates of protection. *Annu Rev Med* **2015**, *66*, 423-437, doi:10.1146/annurev-med-052912-123749.
40. Batrville, L.A.; Richard, J.; Veillette, M.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Guédou, F.; Kaufmann, D.E.; Poudrier, J.; Finzi, A.; Roger, M. Short communication: Anti-HIV-1 envelope immunoglobulin Gs in blood and cervicovaginal samples of Beninese commercial sex workers. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2014**, *30*, 1145-1149, doi:10.1089/aid.2014.0163.
41. Fourcade, L.; Sabourin-Poirier, C.; Perraud, V.; Faucher, M.C.; Chagnon-Choquet, J.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Roger, M. Natural Immunity to HIV is associated with Low BLyS/BAFF levels and low frequencies of innate marginal zone like

- CD1c+ B-cells in the genital tract. *PLoS Pathog* **2019**, *15*, e1007840, doi:10.1371/journal.ppat.1007840.
42. Williams, W.B.; Liao, H.X.; Moody, M.A.; Kepler, T.B.; Alam, S.M.; Gao, F.; Wiehe, K.; Trama, A.M.; Jones, K.; Zhang, R.; et al. HIV-1 VACCINES. Diversion of HIV-1 vaccine-induced immunity by gp41-microbiota cross-reactive antibodies. *Science* **2015**, *349*, aab1253, doi:10.1126/science.aab1253.
 43. Mayr, L.M.; Su, B.; Moog, C. Non-Neutralizing Antibodies Directed against HIV and Their Functions. *Front Immunol* **2017**, *8*, 1590, doi:10.3389/fimmu.2017.01590.
 44. Tomaras, G.D.; Yates, N.L.; Liu, P.; Qin, L.; Fouda, G.G.; Chavez, L.L.; Decamp, A.C.; Parks, R.J.; Ashley, V.C.; Lucas, J.T.; et al. Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia. *J Virol* **2008**, *82*, 12449-12463, doi:10.1128/jvi.01708-08.
 45. Vaidya, N.K.; Ribeiro, R.M.; Liu, P.; Haynes, B.F.; Tomaras, G.D.; Perelson, A.S. Correlation Between Anti-gp41 Antibodies and Virus Infectivity Decay During Primary HIV-1 Infection. *Front Microbiol* **2018**, *9*, 1326, doi:10.3389/fmicb.2018.01326.
 46. Wills, S.; Hwang, K.K.; Liu, P.; Dennison, S.M.; Tay, M.Z.; Shen, X.; Pollara, J.; Lucas, J.T.; Parks, R.; Rerks-Ngarm, S.; et al. HIV-1-Specific IgA Monoclonal Antibodies from an HIV-1 Vaccinee Mediate Galactosylceramide Blocking and Phagocytosis. *J Virol* **2018**, *92*, doi:10.1128/jvi.01552-17.
 47. Duchemin, M.; Khamassi, M.; Xu, L.; Tudor, D.; Bomsel, M. IgA Targeting Human Immunodeficiency Virus-1 Envelope gp41 Triggers Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Cross-Clade and Cooperates with gp41-Specific IgG to Increase Cell Lysis. *Front Immunol* **2018**, *9*, 244, doi:10.3389/fimmu.2018.00244.
 48. Duchemin, M.; Tudor, D.; Cottignies-Calamarte, A.; Bomsel, M. Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis of HIV-1-Infected Cells Is Efficiently Triggered by IgA Targeting HIV-1 Envelope Subunit gp41. *Front Immunol* **2020**, *11*, 1141, doi:10.3389/fimmu.2020.01141.
 49. Gunn, B.; Schneider, J.; Shansab, M.; Bastian, A.R.; Fahrback, K.; Smith, A.t.; Mahan, A.; Karim, M.; Licht, A.; Zvonar, I.; et al. Enhanced binding of antibodies generated during chronic HIV infection to mucus component MUC16. *Mucosal Immunol* **2016**, *9*, 1549-1558, doi:10.1038/mi.2016.8.
 50. Liu, Y.; Li, X.; Han, Y.; Qiu, Z.; Song, X.; Li, B.; Zhang, H.; Wang, H.; Feng, K.; Liu, L.; et al. High APRIL Levels Are Associated With Slow Disease Progression and Low Immune

- Activation in Chronic HIV-1-Infected Patients. *Front Med (Lausanne)* **2020**, *7*, 299, doi:10.3389/fmed.2020.00299.
51. Huynh, J.P.; Lin, C.C.; Kimmey, J.M.; Jarjour, N.N.; Schwarzkopf, E.A.; Bradstreet, T.R.; Shchukina, I.; Shpynov, O.; Weaver, C.T.; Taneja, R.; et al. Bhlhe40 is an essential repressor of IL-10 during Mycobacterium tuberculosis infection. *J Exp Med* **2018**, *215*, 1823-1838, doi:10.1084/jem.20171704.
 52. Zhu, J.; Luo, L.; Tian, L.; Yin, S.; Ma, X.; Cheng, S.; Tang, W.; Yu, J.; Ma, W.; Zhou, X.; et al. Aryl Hydrocarbon Receptor Promotes IL-10 Expression in Inflammatory Macrophages Through Src-STAT3 Signaling Pathway. *Front Immunol* **2018**, *9*, 2033, doi:10.3389/fimmu.2018.02033.
 53. Bandukwala, H.S.; Rao, A. 'Nurr'ishing Treg cells: Nr4a transcription factors control Foxp3 expression. *Nat Immunol* **2013**, *14*, 201-203, doi:10.1038/ni.2546.
 54. Fujimoto, Y.; Tedder, T.F. CD83: a regulatory molecule of the immune system with great potential for therapeutic application. *J Med Dent Sci* **2006**, *53*, 85-91.
 55. Duren, R.P.; Boudreaux, S.P.; Conneely, O.M. Genome Wide Mapping of NR4A Binding Reveals Cooperativity with ETS Factors to Promote Epigenetic Activation of Distal Enhancers in Acute Myeloid Leukemia Cells. *PLoS One* **2016**, *11*, e0150450, doi:10.1371/journal.pone.0150450.
 56. Chen, L.; Fan, F.; Wu, L.; Zhao, Y. The nuclear receptor 4A family members: mediators in human disease and autophagy. *Cell Mol Biol Lett* **2020**, *25*, 48, doi:10.1186/s11658-020-00241-w.
 57. Boudreaux, S.P.; Duren, R.P.; Call, S.G.; Nguyen, L.; Freire, P.R.; Narayanan, P.; Redell, M.S.; Conneely, O.M. Drug targeting of NR4A nuclear receptors for treatment of acute myeloid leukemia. *Leukemia* **2019**, *33*, 52-63, doi:10.1038/s41375-018-0174-1.
 58. Tel-Karthaus, N.; Kers-Rebel, E.D.; Looman, M.W.; Ichinose, H.; de Vries, C.J.; Ansems, M. Nuclear Receptor Nur77 Deficiency Alters Dendritic Cell Function. *Front Immunol* **2018**, *9*, 1797, doi:10.3389/fimmu.2018.01797.
 59. Safe, S.; Jin, U.H.; Morpurgo, B.; Abudayyeh, A.; Singh, M.; Tjalkens, R.B. Nuclear receptor 4A (NR4A) family - orphans no more. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2016**, *157*, 48-60, doi:10.1016/j.jsbmb.2015.04.016.
 60. Dobbs, K.R.; Crabtree, J.N.; Dent, A.E. Innate immunity to malaria-The role of monocytes. *Immunol Rev* **2020**, *293*, 8-24, doi:10.1111/imr.12830.

61. Kapellos, T.S.; Bonaguro, L.; Gemünd, I.; Reusch, N.; Saglam, A.; Hinkley, E.R.; Schultze, J.L. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol* **2019**, *10*, 2035, doi:10.3389/fimmu.2019.02035.
62. Carlin, L.M.; Stamatiades, E.G.; Auffray, C.; Hanna, R.N.; Glover, L.; Vizcay-Barrena, G.; Hedrick, C.C.; Cook, H.T.; Diebold, S.; Geissmann, F. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell* **2013**, *153*, 362-375, doi:10.1016/j.cell.2013.03.010.
63. Thomas, G.; Tacke, R.; Hedrick, C.C.; Hanna, R.N. Nonclassical patrolling monocyte function in the vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2015**, *35*, 1306-1316, doi:10.1161/atvbaha.114.304650.
64. Lajoie, J.; Massinga Loembe, M.; Poudrier, J.; Guédou, F.; Pépin, J.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Roger, M. Blood soluble human leukocyte antigen G levels are associated with human immunodeficiency virus type 1 infection in Beninese commercial sex workers. *Hum Immunol* **2010**, *71*, 182-185, doi:10.1016/j.humimm.2009.11.007.
65. Boyette, L.B.; Macedo, C.; Hadi, K.; Elinoff, B.D.; Walters, J.T.; Ramaswami, B.; Chalasani, G.; Taboas, J.M.; Lakkis, F.G.; Metes, D.M. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS One* **2017**, *12*, e0176460, doi:10.1371/journal.pone.0176460.
66. Wacleche, V.S.; Cattin, A.; Goulet, J.P.; Gauchat, D.; Gosselin, A.; Cleret-Buhot, A.; Zhang, Y.; Tremblay, C.L.; Routy, J.P.; Ancuta, P. CD16(+) monocytes give rise to CD103(+)RALDH2(+)TCF4(+) dendritic cells with unique transcriptional and immunological features. *Blood Adv* **2018**, *2*, 2862-2878, doi:10.1182/bloodadvances.2018020123.
67. Randolph, G.J.; Sanchez-Schmitz, G.; Liebman, R.M.; Schäkel, K. The CD16(+) (FcgammaRIII(+)) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting. *J Exp Med* **2002**, *196*, 517-527, doi:10.1084/jem.20011608.

6 Figure Legends

Table 1. Distribution of demographic and sexual behavior characteristics in HIV-1 uninfected non-CSWs, HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”, HESNs and HIV-1 infected CSWs. *p-value for comparisons between HESNs and the two other CSW groups were calculated with Mann Whitney U test for age and duration of sex work; Unpaired T-test for the number of clients; Fisher’s exact test for condom use and vaginal douching. CSW, commercial sex worker; HIV, human immunodeficiency virus; HESN, HIV Highly-Exposed Seronegative; N, number of participants; NA, non-applicable; NS, non-significant; SD, standard deviation.

	Non CSWs HIV-	CSWs HIV-	HESN	CSWs HIV+	*p-value
	N = 10	N = 11	N = 10	N = 12	
Age, mean (SD), years	34 (6,5)	34 (7,6)	44 (7,9)	45 (9)	NS
Duration of sex work (SD), years	N/A	4 (0,9)	12 (3,7)	9 (4,5)	0,001337
Number of clients past week, mean (SD)	N/A	15 (14,5)	12 (14,4)	18 (22,5)	NS
Condom always used with clients past week	N/A	7	8	9	NS
Vaginal douching	10	11	10	12	NS

Figure 1. Selected transcriptomic analyses by RNA-Seq of total sorted live blood monocytes.

(A) The heatmap shows total live monocytes expression levels of gene transcripts, which panel was selected based on our previous observations with the Beninese cohort (4, 235, 263) and the gene signature associated with protective vaccine regimen (319, 321). **(B)** Selected gene transcripts clustered for effector function. **(C)** Selected gene transcripts clustered for regulation markers. **(D)** Selected gene transcripts clustered for protection. Data are presented as the mean value of samples from 3 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 3 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 4 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 3 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs).

Figure

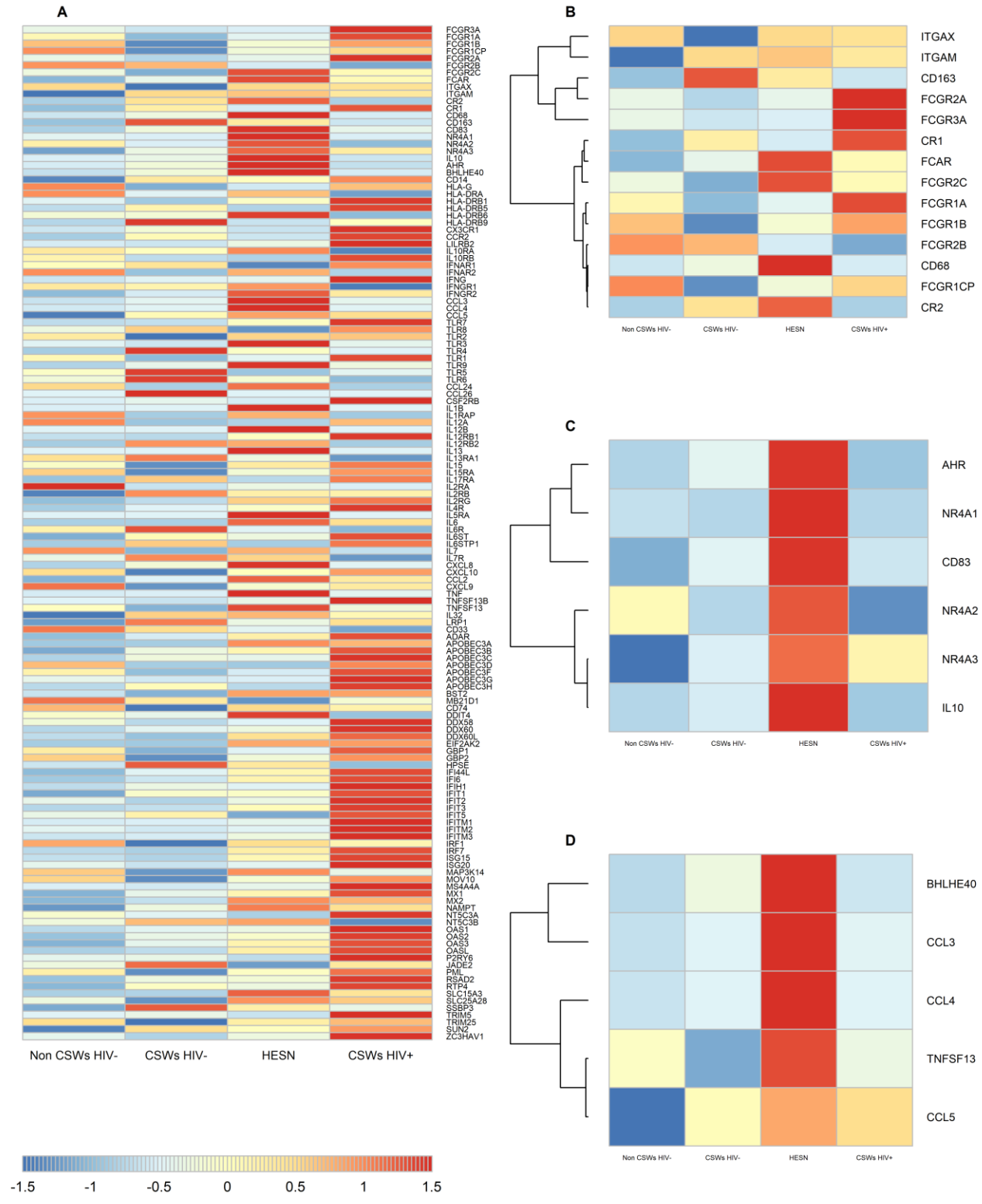


Figure 2. Flow-cytometry analyses of relative frequencies of live blood monocyte populations and NR4A1 protein expression levels. (A) Relative frequencies of CD14⁺CD16⁻ classical, CD14⁺CD16⁺ intermediate and CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocyte populations were calculated vs total live CD14⁺ monocytes. (B-E) Levels of expression of NR4A1, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by (B) total, (C) classical, (D) intermediate and (E) non-classical monocytes. Data are presented as the mean value ± SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * (p < 0.05), ** (p < 0.01), *** (p < 0.001). (F-I) Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs).

Figure 2

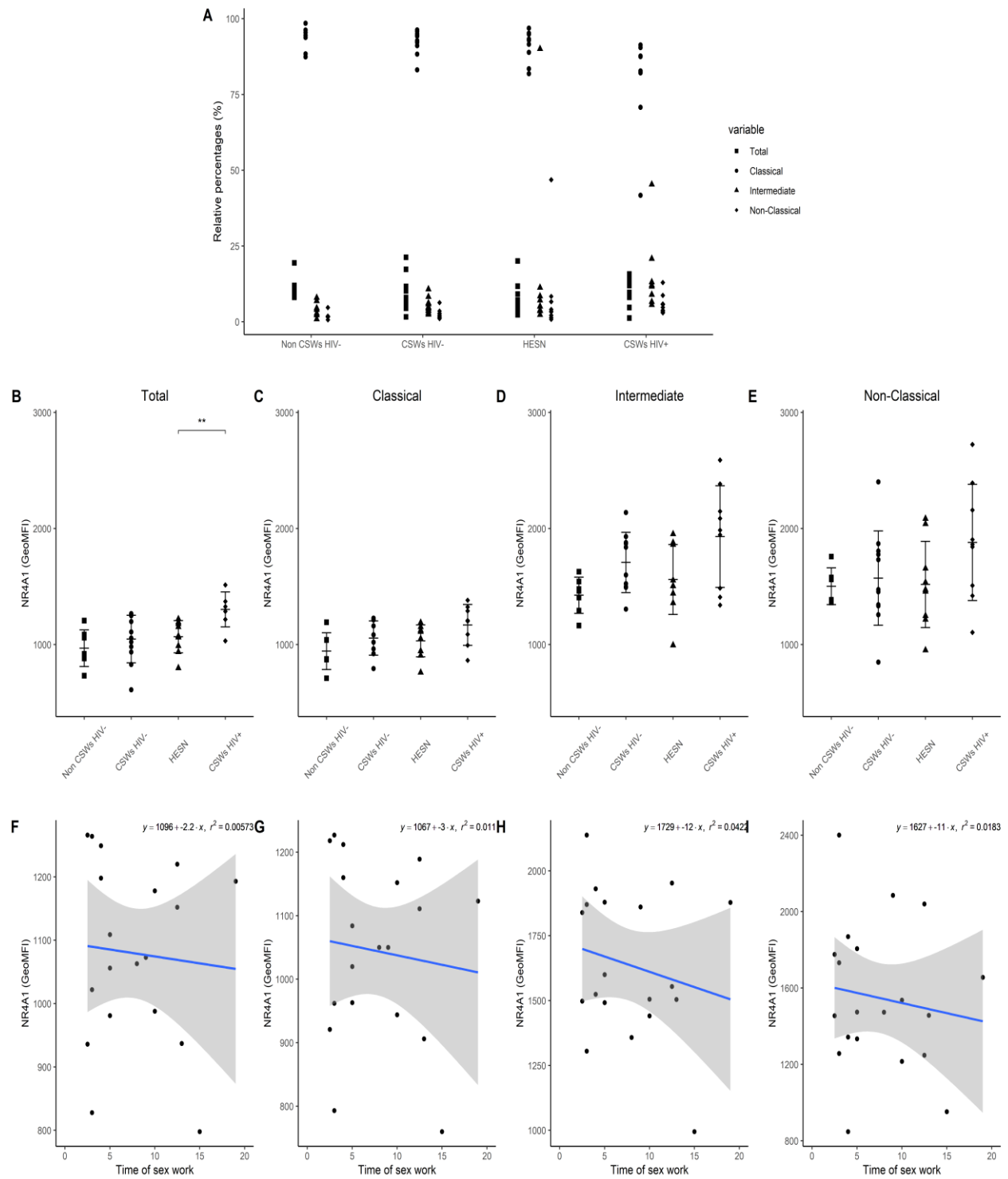


Figure 3. Flow-cytometry analyses of CD16 and HLA-DR expression levels by live blood monocyte populations. (A-D) Levels of expression of CD16 and (I-L) HLA-DR proteins, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by (A, I) CD14⁺ total, (B, J) CD14⁺CD16⁻ classical, (C, K) CD14⁺CD16⁺ intermediate and (D, L) CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocytes. Data are presented as the mean value \pm SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$). (E-H, M-P) Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs).

Figure 3

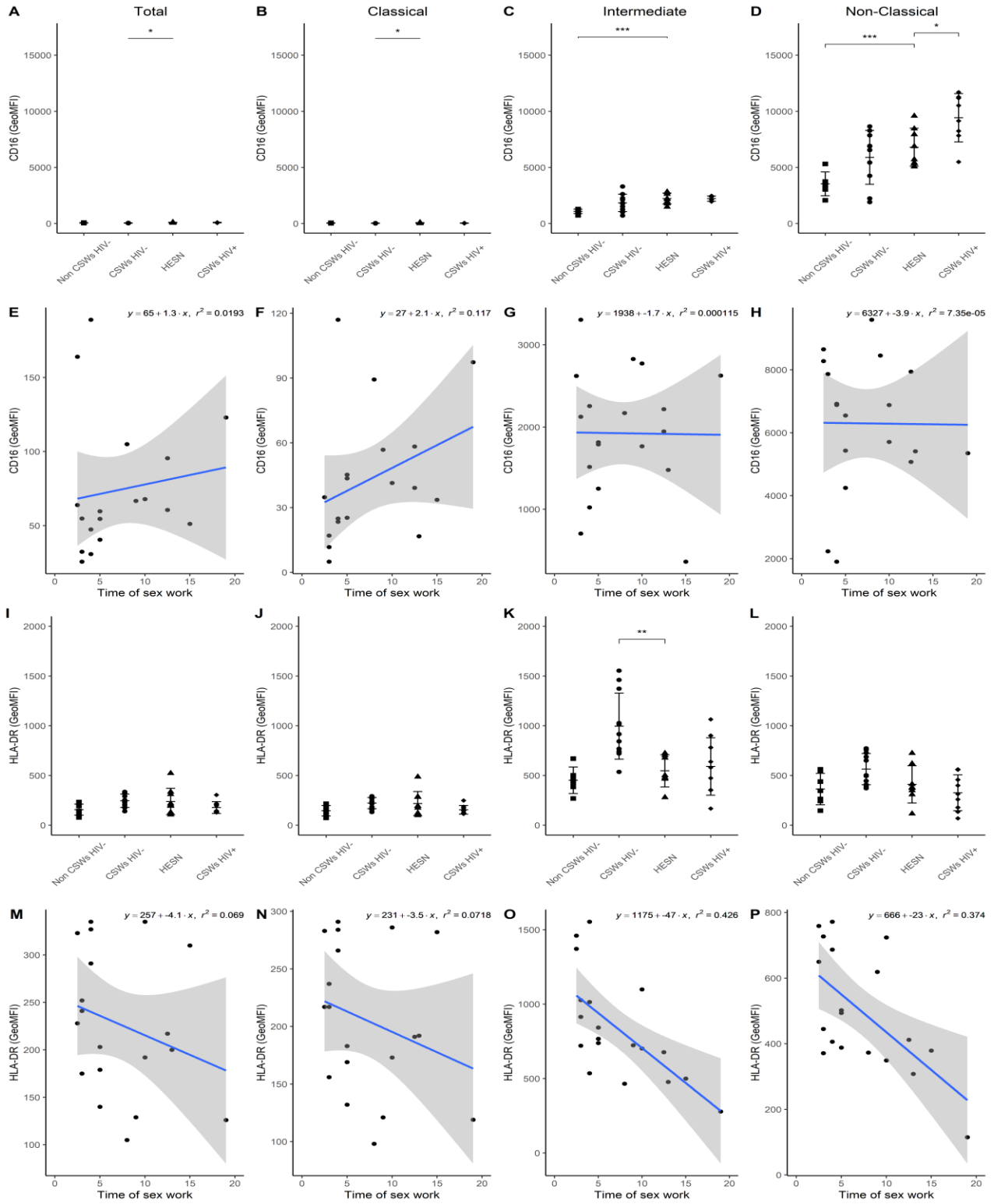


Figure 4. Flow-cytometry analyses of CD11b and CD11c expression levels by live blood monocyte populations. (A-D) Levels of expression of CD11b and (I-L) CD11c proteins, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by (A, I) CD14⁺ total, (B, J) CD14⁺CD16⁻ classical, (C, K) CD14⁺CD16⁺ intermediate and (D, L) CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocytes. Data are presented as the mean value \pm SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$). (E-H, M-P) Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs).

Figure 4

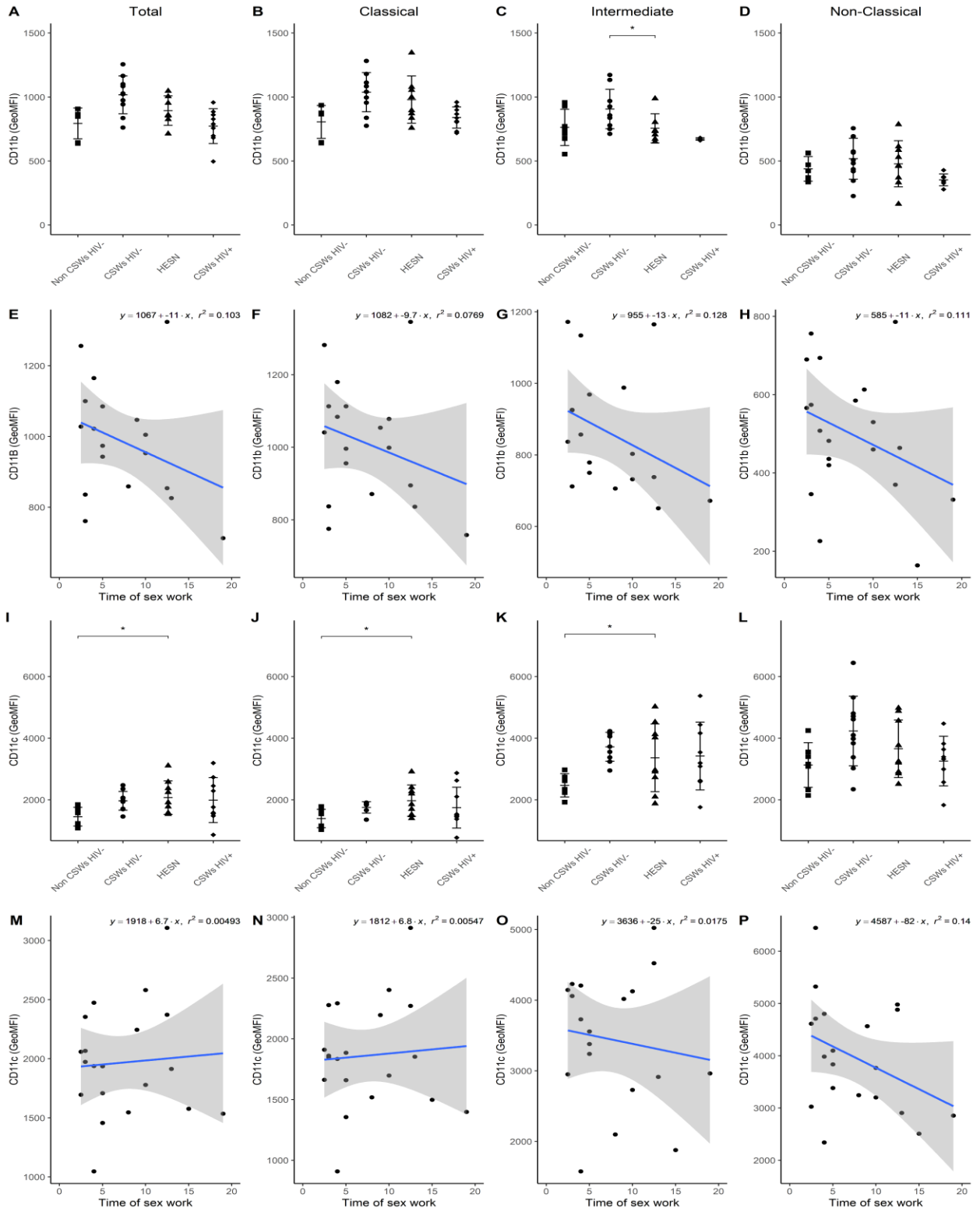


Figure 5. Flow-cytometry analyses of HLA-G and IL-10 expression levels by live blood monocyte populations. (A-D) Levels of expression of surface HLA-G and (I-L) *ex vivo* IL-10 proteins, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by (A, I) CD14⁺ total, (B, J) CD14⁺CD16⁻ classical, (C, K) CD14⁺CD16⁺ intermediate and (D, L) CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocytes. Data are presented as the mean value ± SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * (p < 0.05), ** (p < 0.01), *** (p < 0.001). (E-H, M-P) Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs).

Figure 5

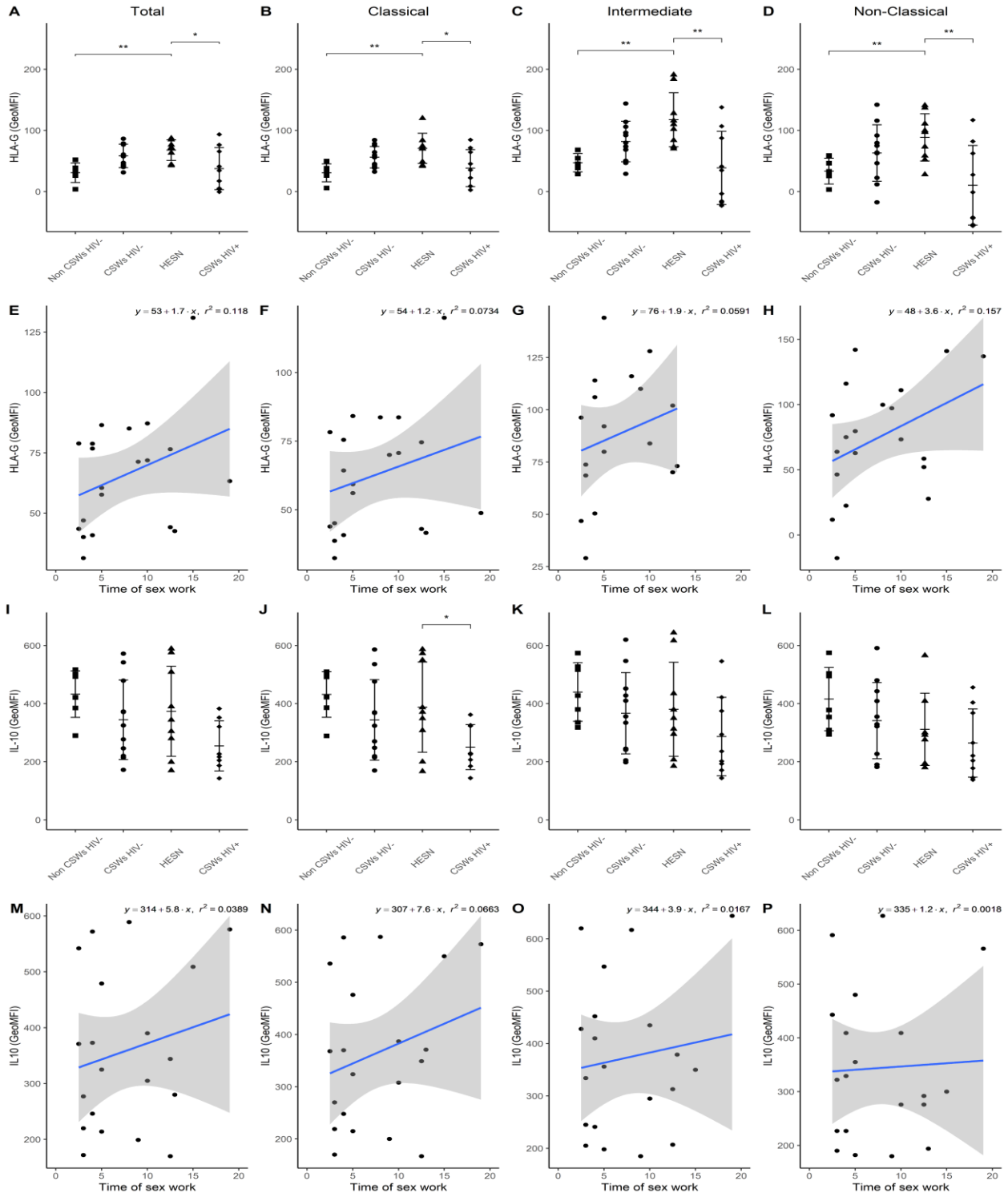


Figure 6. Flow-cytometry analyses of IFN- α expression levels by live blood monocyte populations. (A-D) Levels of expression of *ex vivo* IFN- α proteins, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by **(A)** CD14⁺ total, **(B)** CD14⁺CD16⁻ classical, **(C)** CD14⁺CD16⁺ intermediate and **(D)** CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocytes. Data are presented as the mean value \pm SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$). **(E-H)** Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs).

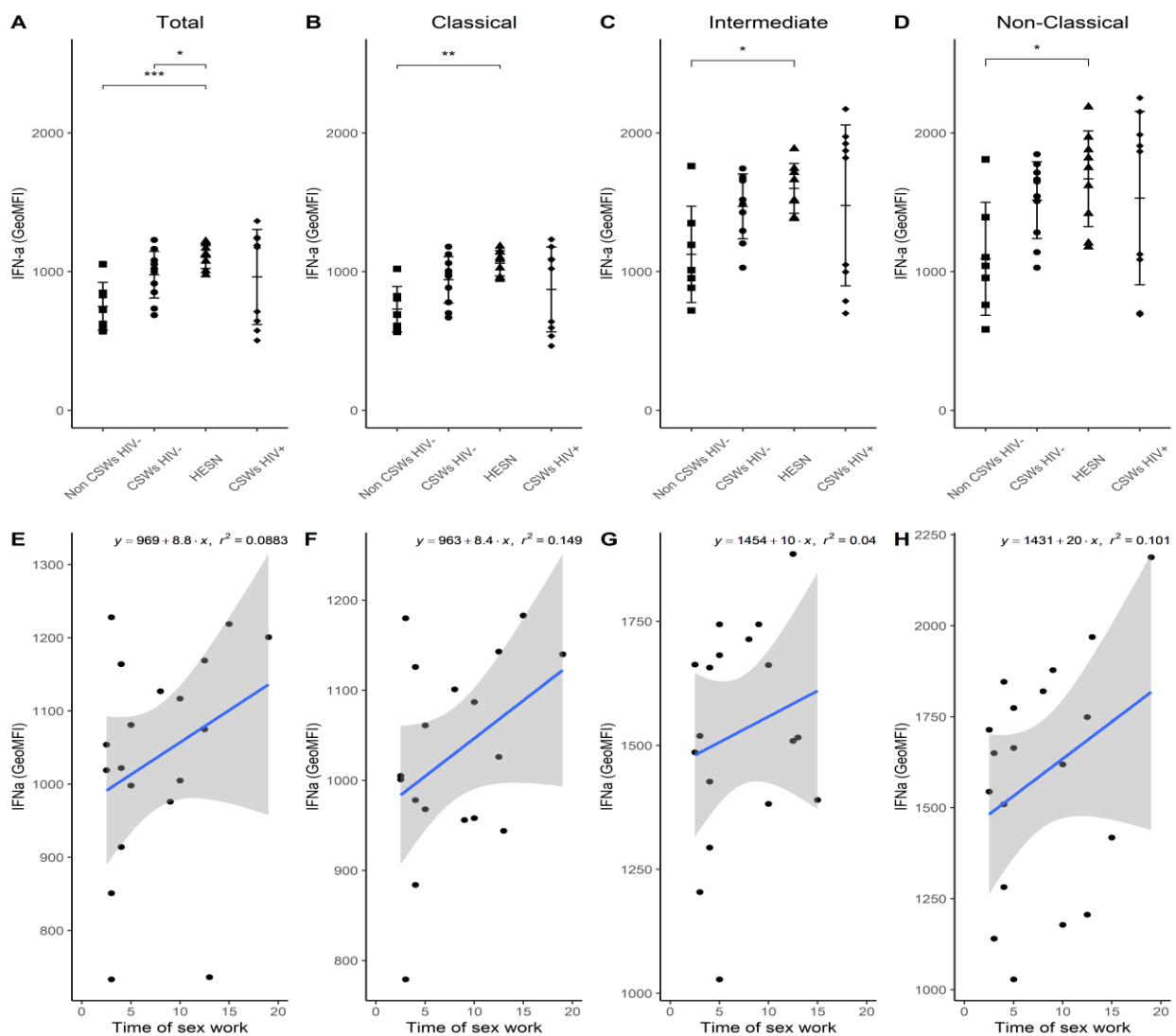
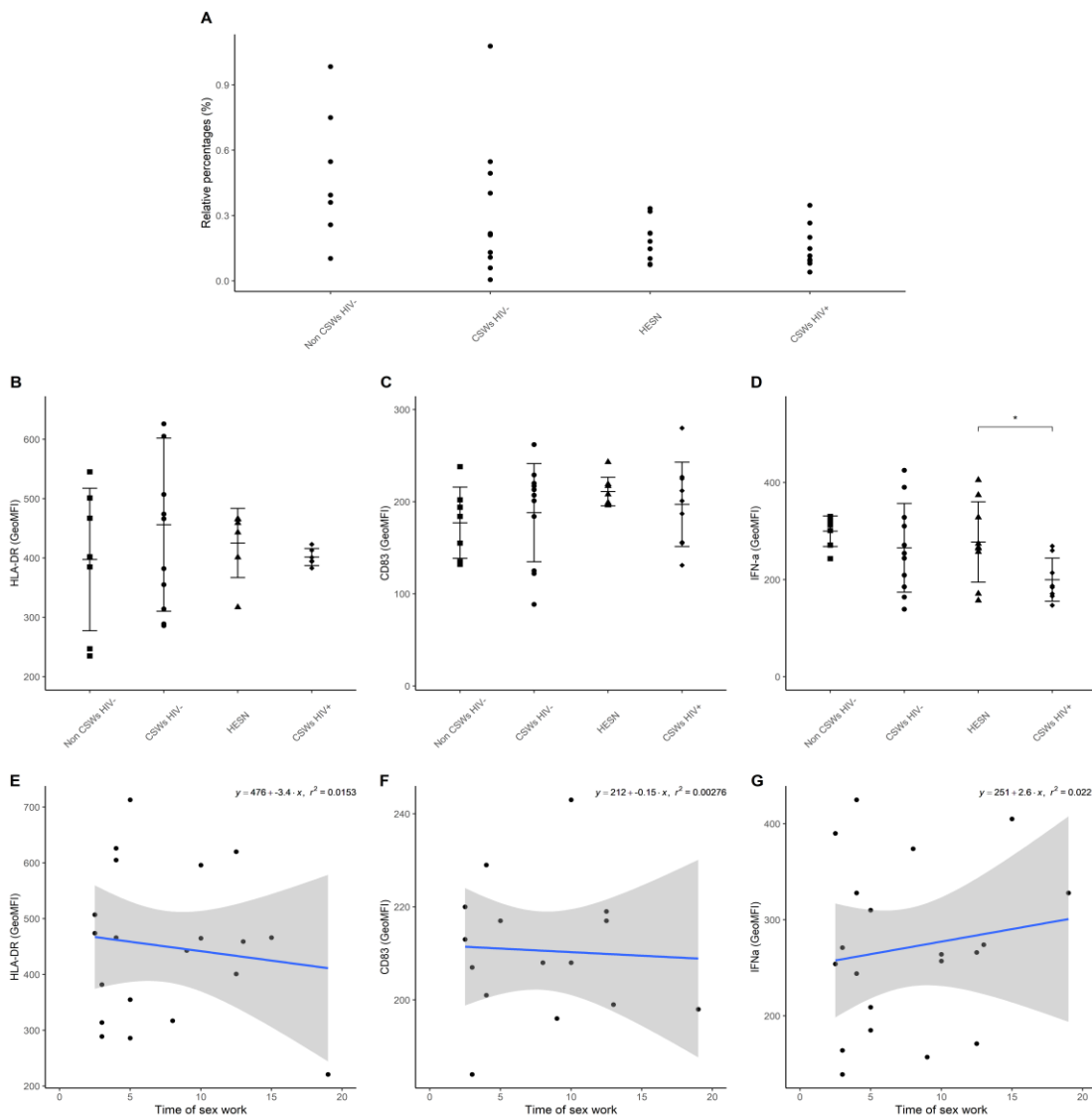


Figure 7. Flow-cytometry analyses of pDCs. (A) pDC relative frequencies were calculated vs total live PBMCs, (B) HLA-DR, (C) CD83 and (D) *ex vivo* intracellular IFN- α expression levels as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI). Data are presented as the mean value \pm SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$). (E-G) Linear regression analyses are shown for CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”) and HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs).



Supplementary Figure 1. RNA-seq p-values for t-test statistical analysis between each group.

The table shows comparison between total live monocytes expression levels of gene transcripts between groups. The genes shown are the same that were used to generate the heatmap on Fig.1. The statistical t-test analysis compares the average of each group and expresses the degree of similarity between the two groups compared on a range between 0 and 1.

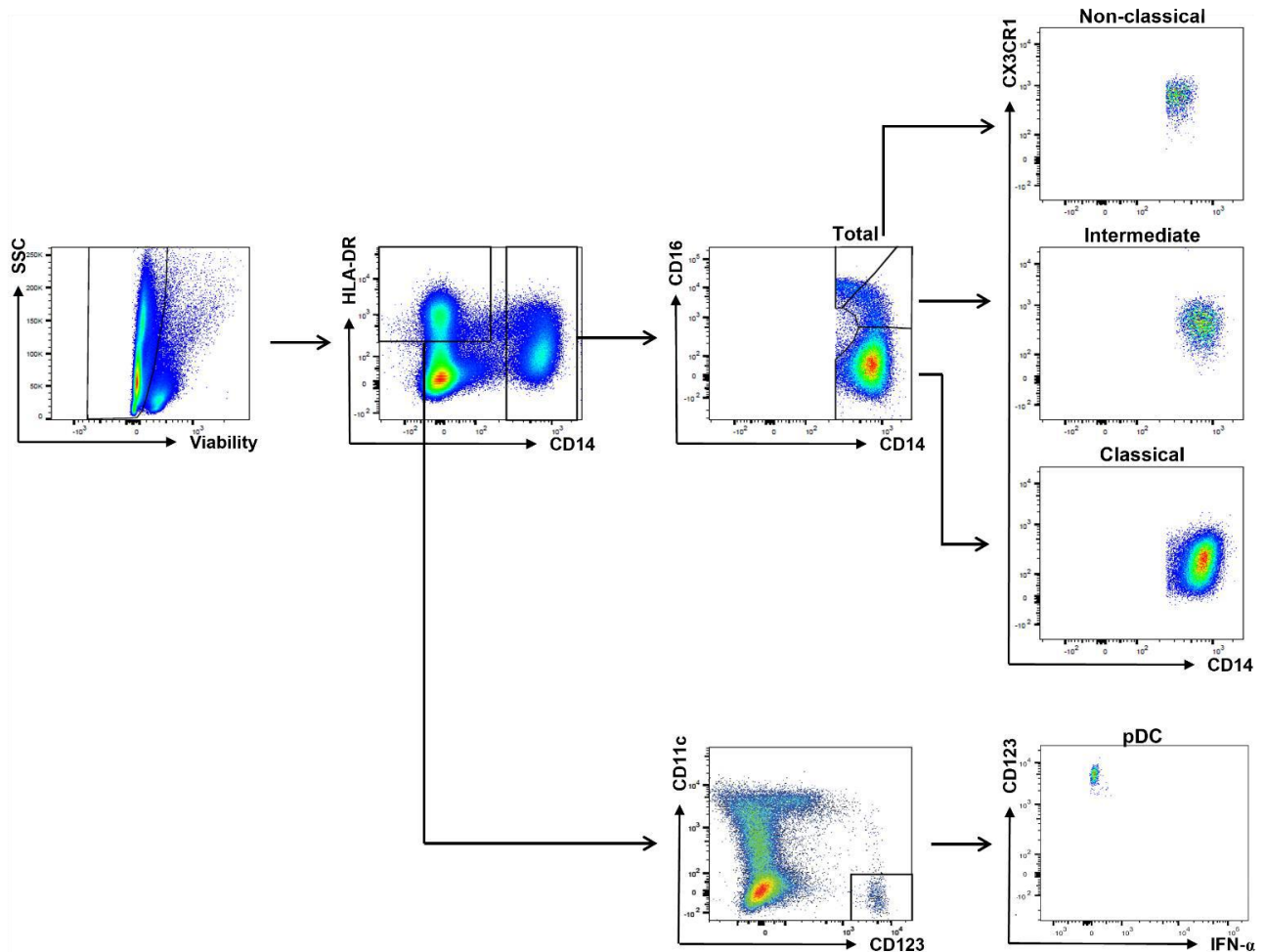
Gene	T-test p-values					
	HESN vs early HESNs	HESN vs CSWs HIV-	HESN vs CSWs HIV+	early HESNs vs Non CSWs HIV-	CSWs HIV+ vs Non CSWs HIV-	CSWs HIV+ vs early HESNs
MS4A4A	0,025600	0,743475	0,030281	0,051750	0,000035	0,012569
IFI6	0,044440	0,158431	0,038867	0,453699	0,000115	0,000509
CCL5	0,000109	0,231726	0,532421	0,004833	0,000899	0,567550
NAMPT	0,000056	0,017556	0,255576	0,056485	0,002579	0,215726
OASL	0,129503	0,248448	0,097793	0,627474	0,002746	0,004944
IL2RG	0,030602	0,015822	0,392151	0,995086	0,003413	0,001072
IL2RB	0,004985	0,825593	0,826045	0,002763	0,008652	0,659664
IFITM3	0,742601	0,735324	0,001074	0,528154	0,009411	0,000308
IFI44L	0,157600	0,583580	0,214485	0,355983	0,011630	0,073528
IFIH1	0,510735	0,261131	0,000356	0,727934	0,011104	0,014136
CX3CR1	0,131548	0,027332	0,000006	0,641141	0,011059	0,020333
NR4A3	0,001796	0,195633	0,444067	0,036151	0,011842	0,596362
OAS3	0,584340	0,993751	0,027389	0,589113	0,011733	0,026821
CCL3	0,000074	0,085989	0,110730	0,014877	0,010962	0,902886
IFITM2	0,532650	0,784758	0,000490	0,385105	0,012602	0,000169
LRP1	0,139670	0,087413	0,291903	0,002647	0,015527	0,512305
ISG15	0,497324	0,196997	0,134146	0,634561	0,043581	0,005301
SSBP3	0,192960	0,838554	0,519146	0,137106	0,467693	0,395191
GBP1	0,122774	0,660220	0,073924	0,052809	0,955945	0,025966
GBP2	0,035060	0,156618	0,060550	0,000739	0,667942	0,000990
MOV10	0,278799	0,146476	0,173948	0,017158	0,893809	0,004917
FCGR1B	0,282444	0,193042	0,438320	0,025141	0,702772	0,037873
FCGR1CP	0,327163	0,111944	0,646599	0,016368	0,568760	0,040848
FCGR1A	0,055248	0,611185	0,022480	0,017650	0,900189	0,005243
IL6R	0,471325	0,404668	0,636516	0,980042	0,252898	0,191458
ADAR	0,394595	0,446785	0,163663	0,864254	0,035968	0,031229
FCGR2A	0,182900	0,719974	0,026748	0,311715	0,515687	0,063204
FCGR3A	0,289658	0,797534	0,011288	0,406851	0,227267	0,022771
FCGR2C	0,134175	0,032485	0,401442	0,678401	0,454713	0,193774
FCGR2B	0,388701	0,148778	0,770467	0,666397	0,547597	0,248470

IL10	0,411957	0,339484	0,190396	0,974920	0,719284	0,714339
CR1	0,892742	0,244387	0,037020	0,239493	0,045455	0,356364
TLR5	0,161203	0,006787	0,222841	0,306252	0,756546	0,136080
RSAD2	0,717178	0,732502	0,100799	0,504137	0,067314	0,193688
EIF2AK2	0,099450	0,038832	0,898834	0,841656	0,078155	0,028265
IL1B	0,000617	0,000353	0,000327	0,819159	0,833062	0,984081
NR4A2	0,071380	0,074547	0,008764	0,834645	0,587856	0,401352
BHLHE40	0,000109	0,012331	0,001475	0,102383	0,304161	0,498093
CCR2	0,183279	0,057548	0,004021	0,712635	0,213779	0,327837
IL12A	0,212950	0,653404	0,021669	0,388520	0,375461	0,053462
RTP4	0,780995	0,747963	0,305522	0,992497	0,522480	0,480635
IL1RAP	0,826715	0,235408	0,227946	0,399032	0,389335	0,983901
TLR1	0,286264	0,928530	0,118179	0,251049	0,739821	0,098071
TLR6	0,643964	0,290901	0,499653	0,629109	0,285817	0,083097
CXCL8	0,004187	0,206541	0,076340	0,082827	0,200834	0,610576
CXCL9	0,272617	0,349650	0,732987	0,053018	0,428212	0,201667
CXCL10	0,037142	0,242676	0,081593	0,001739	0,599239	0,003616
HPSE	0,824696	0,331574	0,889434	0,517557	0,922595	0,405314
IL15	0,456199	0,030957	0,384244	0,007397	0,973279	0,002454
TLR2	0,491734	0,022009	0,828683	0,173404	0,378169	0,012167
DDX60	0,424964	0,440719	0,012654	0,913821	0,151609	0,084551
DDX60L	0,296918	0,041487	0,431100	0,435139	0,080588	0,004710
IL7R	0,187311	0,902693	0,587507	0,226321	0,403767	0,674230
IL6ST	0,967855	0,485394	0,116681	0,506145	0,148575	0,382606
IRF1	0,098435	0,039549	0,797543	0,000476	0,154715	0,020611
JADE2	0,722583	0,090228	0,219890	0,245565	0,457411	0,640145
CD14	0,354330	0,571622	0,287502	0,152067	0,060433	0,618453
CD74	0,294496	0,543937	0,854706	0,111574	0,376407	0,429525
CD83	0,003687	0,055316	0,028822	0,233924	0,342540	0,787441
HLA-G	0,314232	0,718832	0,484598	0,183466	0,703202	0,289017
HLA-DRA	0,167816	0,804367	0,430442	0,109402	0,037111	0,588661
HLA-DRB9	0,982894	0,219242	0,546619	0,263193	0,574922	0,526469
HLA-DRB5	0,452506	0,390905	0,073730	0,128855	0,018740	0,352181
HLA-DRB6	0,898827	0,722540	0,629225	0,848960	0,760577	0,898332
HLA-DRB1	0,722458	0,961748	0,322162	0,690560	0,595861	0,299243
MB21D1	0,320701	0,556129	0,587080	0,640376	0,612010	0,964007
IFNGR1	0,040802	0,554541	0,015564	0,128924	0,905958	0,067270
AHR	0,050846	0,006123	0,000566	0,618070	0,257851	0,479110
IL6	0,107234	0,039160	0,813799	0,816007	0,159145	0,066343
NT5C3A	0,442148	0,365948	0,003611	0,967766	0,065871	0,043950
ZC3HAV1	0,404388	0,919577	0,201814	0,355096	0,757849	0,168053
DDX58	0,257457	0,612757	0,034484	0,496351	0,447043	0,107249
TLR4	0,516635	0,120382	0,823439	0,458729	0,653395	0,183355

IL15RA	0,619018	0,557112	0,194782	0,305806	0,506952	0,059288
IL2RA	0,210272	0,146468	0,617871	1,000000	0,410839	0,335237
DDIT4	0,051564	0,085948	0,005780	0,680569	0,601386	0,296377
IFIT2	0,323199	0,469249	0,065167	0,733390	0,508019	0,262328
IFIT3	0,841810	0,966044	0,042684	0,812126	0,106670	0,038484
IFIT1	0,718533	0,500741	0,119315	0,335730	0,079552	0,376270
IFIT5	0,113555	0,100525	0,021550	0,910371	0,633211	0,509390
SLC25A28	0,335431	0,376933	0,897906	0,079270	0,280827	0,449911
IFITM1	0,822423	0,832001	0,005684	0,678662	0,024482	0,002899
IRF7	0,721788	0,181101	0,195711	0,400694	0,130172	0,008496
TRIM5	0,813012	0,766734	0,579152	0,615609	0,463683	0,796176
SLC15A3	0,081248	0,103099	0,436116	0,774366	0,294845	0,394590
P2RY6	0,302349	0,507532	0,018169	0,660472	0,275092	0,087011
IL10RA	0,317222	0,291923	0,015494	0,954065	0,243975	0,171615
CD163	0,302081	0,257823	0,605222	0,040945	0,568874	0,099230
NR4A1	0,097681	0,042487	0,046982	0,874267	0,904077	0,966359
OAS1	0,546225	0,549230	0,004162	0,945983	0,049986	0,023355
OAS2	0,986141	0,638440	0,022814	0,661616	0,040010	0,070758
TNFSF13B	0,555513	0,859765	0,049977	0,665911	0,244257	0,074269
PML	0,432950	0,148488	0,171874	0,037739	0,661256	0,004924
ISG20	0,489810	0,822226	0,066535	0,372238	0,341265	0,039301
IL32	0,132361	0,780243	0,583212	0,207720	0,307811	0,786852
IL4R	0,999547	0,555277	0,089820	0,597552	0,128539	0,021946
ITGAM	0,290241	0,914256	0,858393	0,336328	0,369138	0,943580
ITGAX	0,844126	0,076341	0,721686	0,164894	0,902894	0,156709
TNFSF13	0,602494	0,188882	0,485031	0,512304	0,917107	0,538123
CD68	0,052764	0,134074	0,089934	0,541836	0,668648	0,839070
CCL2	0,019876	0,199269	0,705327	0,235587	0,046321	0,365094
NT5C3B	0,429666	0,746590	0,312832	0,615879	0,909995	0,491814
MAP3K14	0,133765	0,004809	0,084415	0,306358	0,964755	0,274189
TRIM25	0,666390	0,051336	0,857366	0,029622	0,786867	0,033257
BST2	0,509792	0,077409	0,788335	0,357225	0,368384	0,041843
IL12RB1	0,436113	0,632662	0,121240	0,226876	0,542669	0,042250
CD33	0,732828	0,682863	0,801649	0,980816	0,571176	0,509170
LILRB2	0,398354	0,748918	0,001874	0,258043	0,052753	0,000603
FCAR	0,020167	0,046270	0,169467	0,587759	0,273400	0,535976
IFNAR2	0,825517	0,481766	0,507808	0,682642	0,709847	0,967255
IL10RB	0,200616	0,641495	0,009402	0,387317	0,295770	0,032691
IFNAR1	0,336636	0,078214	0,037356	0,538416	0,366520	0,747190
IFNGR2	0,009632	0,149656	0,525321	0,193202	0,043259	0,420453
MX2	0,184556	0,134349	0,910778	0,990330	0,219932	0,165990
MX1	0,401739	0,810175	0,244665	0,532811	0,060238	0,160418
IL17RA	0,803492	0,200358	0,114354	0,369875	0,244539	0,765150

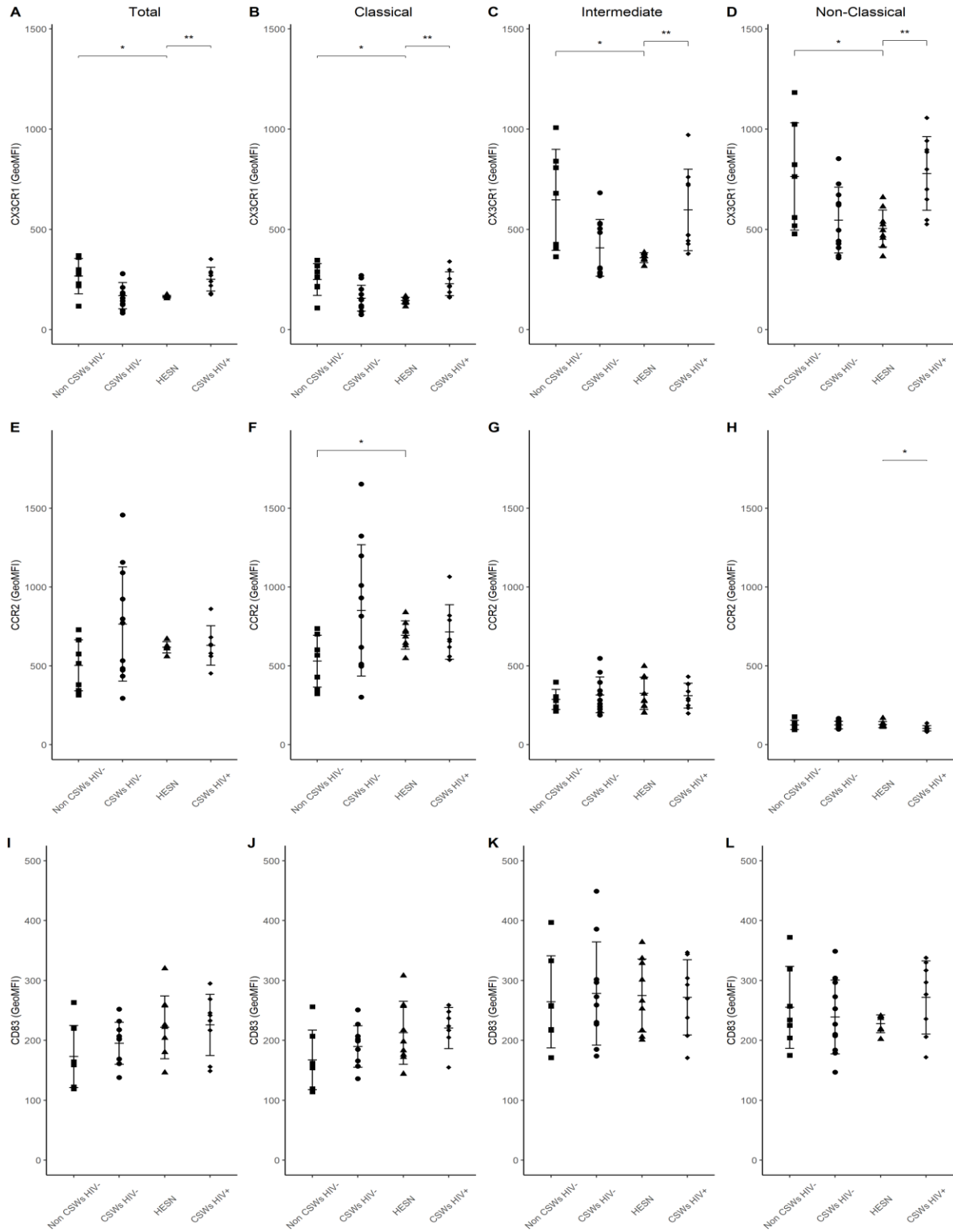
CSF2RB	0,298386	0,697769	0,004485	0,488344	0,132845	0,014069
SUN2	0,529487	0,884232	0,646330	0,447554	0,298517	0,753839
APOBEC3A	0,142761	0,055611	0,574535	0,805480	0,049093	0,013296
APOBEC3B	0,313442	0,524368	0,369887	0,659511	0,070448	0,124727
APOBEC3C	0,433327	0,514556	0,014016	0,840936	0,157036	0,070733
APOBEC3F	0,013185	0,548406	0,004195	0,051315	0,927278	0,022796
APOBEC3G	0,081731	0,363435	0,007534	0,352974	0,514065	0,077076
TLR7	0,450700	0,871631	0,019219	0,541750	0,179897	0,029115
TLR8	0,083374	0,001053	0,000346	0,230078	0,141212	0,761527
IL13RA1	0,874814	0,055102	0,158463	0,118992	0,155418	0,000865
IL12RB2	0,490259	0,946012	0,443433	0,527913	1,000000	0,483636
CR2	1,000000	0,885777	1,000000	0,870586	1,000000	0,862165
IL5RA	0,656267	0,597669	0,624048	1,000000	1,000000	1,000000
TLR9	0,114534	0,396480	0,429733	0,393112	0,366313	0,953794
TLR3	0,851221	0,715386	0,739628	0,889517	0,912311	0,974460
IL13	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
IL12B	0,346053	0,275920	0,293171	1,000000	1,000000	1,000000
TNF	NA	NA	NA	NA	NA	NA
CCL26	1,000000	0,885777	1,000000	0,870578	1,000000	0,862165
CCL24	0,939068	0,420845	0,443179	0,517209	0,539587	1,000000
IL7	0,562068	0,731096	0,871932	0,373240	0,468038	0,855020
IFNG	0,733829	0,843310	0,541836	0,870592	0,374746	0,417499
IL6STP1	1,000000	0,885777	0,856485	0,870581	0,844457	0,970325
CCL4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
APOBEC3D	0,549710	0,969551	0,617124	0,524289	0,881173	0,587594
APOBEC3H	1,000000	0,508297	0,322987	0,532720	0,360801	0,740434

Supplementary Figure 2. Flow-cytometry gating strategy. Doublets were initially discarded through SSCW-SSCH and FSCW-FSCH gating. Lineage negative live cells were then selected, and total CD14⁺ monocyte populations were identified by CD14⁺CD16⁻ classical, CD14⁺CD16⁺ intermediate and CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical profiles, which are CX3CR1 low to high, respectively. Live CD14⁻HLA-DR⁺ pDCs could be identified by their CD11c⁻CD123⁺ profile.

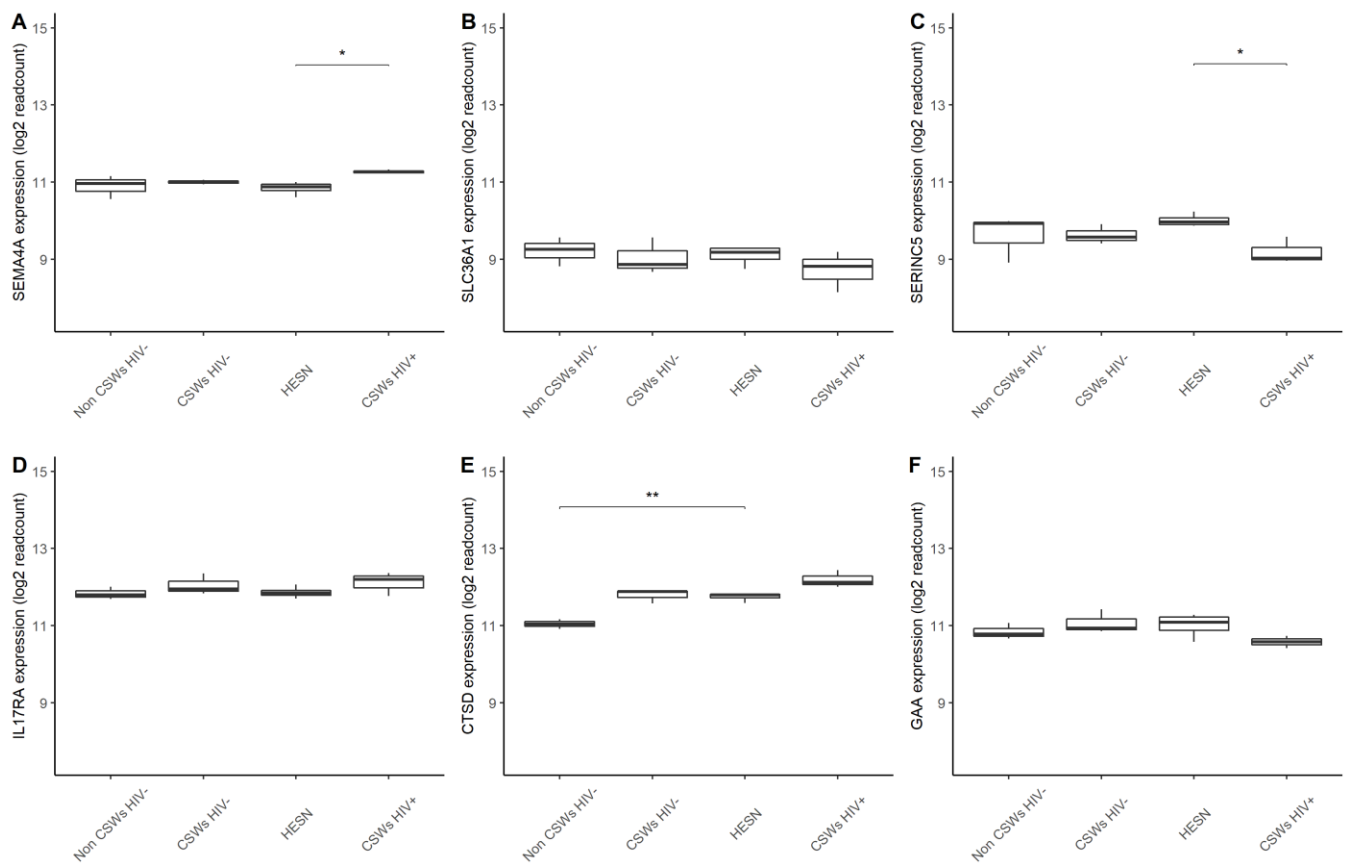


Supplementary Figure 3. Flow-cytometry analyses of CX3CR1, CCR2 and CD83 expression levels by live blood monocyte populations. (A-D) Levels of expression of CX3CR1, **(E-H)** CCR2, **(I-L)** CD83 proteins, as determined by geometric mean fluorescence intensity (GeoMFI), by **(A, E, I)** CD14⁺ total, **(B, F, J)** CD14⁺CD16⁻ classical, **(C, G, K)** CD14⁺CD16⁺ intermediate and **(D, H, L)** CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classical monocytes. Data are presented as the mean value \pm SD of samples from 7 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 9 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 11 HESNs (HIV-1-uninfected \geq 10 years CSWs), and 9 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$).

Supplementary Figure 3.



Supplementary Figure 4. RNA-Seq analyses of gene transcripts highly associated with protection in vaccine regimens. Gene expression levels of (A) SEMA4A, (B) SLC36A1, (C) SERINC5, (D) IL17RA, (E) CTSD and (F) GAA by total live CD14⁺ monocytes. Data are presented as the mean value of samples from 3 Non CSWs HIV- (HIV-1-uninfected control women from the general population), 3 CSWs HIV- (HIV-1-uninfected 2.5-5 years CSWs “early HESNs”), 4 HESNs (HIV-1-uninfected ≥ 10 years CSWs), and 3 CSWs HIV+ (HIV-1-infected CSWs). Significance levels are shown as * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$).



Chapitre 3

Étude de l'immunité périphérique et mucosale durant la séroconversion au VIH (en progression)

Mise en contexte

En accord avec nos résultats trouvés chez les HESNs de la cohorte béninoise, le fait que certains individus demeurent séronégatifs malgré une très haute exposition au virus suggère que des facteurs immunitaires et génétiques de l'hôte lui confèrent une certaine immunité naturelle. Les HESNs béninoises ont un profil inflammatoire bas et contrôlé au niveau du tractus génital, et il y a augmentation des pourcentages relatifs de populations de cellules T CD4⁺ régulatrices ainsi que de cellules dendritiques présentant un fort potentiel à la fois antiviral et immunorégulateur. Aussi, de concert avec de faibles taux du facteur pro-inflammatoire BAFF, les HESNs présentent des lymphocytes B innés capables de lier la gp120 dans leur tractus génital. De plus, des IgG1 reconnaissant la gp41 ont été identifiées dans le tractus génital de plusieurs HESNs. L'immunité naturelle des HESNs semble toutefois nécessiter une exposition fréquente au virus et le maintien de ces populations ayant un profil « tolérogénique/régulateur ». De ce fait, dans notre cohorte, cinq HESNs Béninoises ont séroconverti.

À la suite de ces observations, nous avons voulu identifier des facteurs immunitaires mucosaux et périphériques clés pouvant être associés à cette séroconversion. Pour ce faire, dans un premier temps, nous avons caractérisé l'environnement sanguin et génital quant à la modulation du profil des cytokines/chimiokines préalablement associé à la résistance chez les HESNs ainsi que des éléments de l'immunité humorale chez ces individus tout au long de leurs suivis jusqu'à leur séroconversion.

Contribution des auteurs

Auteurs: **Laurence Blondin-Ladrie**, Lyvia Fourcade, Nicolas de Montigny, Annie-Claude Labbé, Michel Alary, Fernand Guédou, Johanne Poudrier, Michel Roger.

❖ **Statut de l'article** : en progression.

❖ **Expériences effectuées, analyses des données statistiques et présentation des figures** :

- J'ai réalisé toute l'analyse des données cliniques des participantes sélectionnées pour cette étude. J'ai également réalisé la majorité des expériences présentées dans cet article, leurs analyses statistiques et le montage des figures – Contribution 80%.
- Lyvia Fourcade a participé à la supervision de ce travail– Contribution 5 %.
- Nicolas de Montigny a effectué les analyses statistiques ainsi que le montage des figures – Contribution 5%.

Johanne Poudrier et Michel Roger ont supervisé toutes les expériences et les analyses.

❖ **Contribution en approvisionnement de réactifs, de matériels et d'outils d'analyses** :

Annie-Claude Labbé, Michel Alary, Fernand Guédou, Johanne Poudrier et Michel Roger.

❖ **Rédaction de l'article** : Laurence Blondin-Ladrie, Johanne Poudrier et Michel Roger.

1 Matériel et méthode

Le groupe d'étude. Les femmes travailleuses du sexe (CSWs) ont été recrutées dans une clinique dédiée aux travailleuses du sexe à Cotonou, au Bénin. Les femmes ont été invitées à participer à l'étude alors qu'elles attendaient à la clinique. Les femmes de moins de 18 ans ou enceintes ont été exclues de l'étude. Elles ont été invitées à répondre à un questionnaire portant sur leurs informations démographiques, leur comportement sexuel, le nombre d'années de travail sexuel, le nombre de clients par semaine, leurs habitudes par rapport au port du condom, leurs pratiques de douche vaginale. Toutes les participantes ont subi un examen gynécologique par un médecin. Lors de cet examen, des échantillons vaginaux ont été récoltés à des fins de diagnostic et d'examen microscopique pour détecter la candidose, la trichomonase et la vaginose bactérienne, et par réaction en chaîne de la polymérase (PCR) pour l'infection par le HSV. Des écouvillons endocervicaux ont également été obtenus lors de cet examen afin de détecter la présence de *Neisseria gonorrhoea* et de *Chlamydia trachomatis* (système BD ProbeTec Et). Des échantillons sanguins ont été prélevés et testés afin de déterminer le statut VIH-1, syphilis et le niveau de progestérone. La positivité du VIH-1 était définie par la présence d'IgG spécifiques du VIH-1 testés avec Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (Organon Teknika, Boxtel, Pays-Bas). Les échantillons non réactifs ont été considérés séronégatifs pour le VIH, tandis que les échantillons réactifs ont été testés avec le gène Genie II VIH-1/VIH-2 (Bio-Rad, Hercules, CA). Les participantes ayant leurs règles, présentant de la fièvre, une inflammation vaginale visible ou une infection n'ont pas été retenues pour l'étude. Aucune de ces femmes n'était une consommatrice de drogues injectables. Toutes les travailleuses du sexe de l'étude ne prenaient pas de contraceptifs oraux, n'avaient pas de co-infections, de vaginose bactérienne, de trichomonase ou de candidose. Les participantes ont été suivies aux trois mois. Parmi elles, deux participantes ont été identifiées comme « Early converter » puisqu'elles ont séroconverti un an et demi après leur début de travail sexuel. Trois autres participantes ont séroconverti après plus de huit ans de travail sexuel et ont donc été identifiées comme « HESN converter ».

Consentement éthique. Un consentement écrit a été obtenu de la part de toutes les participantes de cette étude. La méthode utilisée dans cette étude a été effectuée en accord avec les lignes directrices ainsi que la réglementation en vigueur. Tous les protocoles expérimentaux ont été approuvés par le Comité national provisoire d'éthique de la recherche en santé de Cotonou et le comité d'éthique en recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM).

Prélèvement et préparation des échantillons. Les échantillons de CVL ont été obtenus des participantes par un médecin en utilisant une seringue de 10 ml remplie d'une solution stérile de tampon phosphate injectée directement sur les parois vaginales. Le CVL a ensuite été collecté et transféré immédiatement dans 20 ml de RPMI-1640 puis gardé sur glace jusqu'à un maximum d'une heure avant d'être traité. Les échantillons ont été centrifugés à 1500 RPM pour 10 minutes afin d'en retirer les cellules et les débris cellulaires. Les échantillons sanguins (cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC), sérums et plasma) et génitaux (cellules endocervicales et exocervicales/vaginales ainsi que CVL) ont été prélevés à différents temps avant et lors de la visite de séroconversion des cinq participantes ayant séroconverti faisant partie de la cohorte de travailleuse du sexe béninoises. Les spécimens ont été prélevés sur plusieurs visites. Les PBMCs et cellules génitales ont été cryopréservées dans l'azote liquide, alors que le plasma, le sérum et le CVL ont été congelés à -80 °C jusqu'à leur utilisation.

Mesure des cytokines/chimiokines. Les mesures des niveaux des cytokines dans les échantillons de CVL et de sérum ont été déterminés en utilisant le *Cytokine Human Magnetic 25-Plex Panel* (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Vienne, Autriche) ce qui nous a permis de mesurer simultanément : Eotaxin, GM-CSF, IFN- α , INF- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17a, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, MCP-1, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES et TNF- α . Pour cette portion de notre étude, seuls des résultats préliminaires de chimiokines et IFN- α seront présentés car il doit y avoir reprise du test pour clarifier certains aspects des résultats. La mesure des niveaux de BAFF dans les échantillons de CVL et de sérum a été effectuée en utilisant le *ProcartaPlex Human Basic Kit* (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Vienne, Autriche). L'analyse a été réalisée sur un Luminex® 200 System (Luminex Corporation, Austin, TX, USA). La concentration finale de chaque cytokine a été obtenue comme suit : concentration obtenue avec l'analyse Luminex (pg ml⁻¹) / (facteur de concentration du CVL) * volume total de CVL concentré.

Le facteur de concentration du CVL est calculé comme suit : volume initiale / volume final (après concentration). La limite de détection pour chaque analyte a été déterminée par les points extrêmes de la courbe standard. La valeur de 0 pg/ml a été attribuée à toutes les mesures d'un échantillon sous la limite de détection.

Détection des concentrations d'un isotype d'immunoglobuline dans le CVL. Le niveau total d'isotype d'immunoglobuline IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2 a été mesuré dans le CVL en utilisant le test multiplex Milliplex Map Kit avec les billes magnétiques d'isotype d'immunoglobuline humaine Magnetic Bead panel by EMD Millipore (Billerica, USA) en utilisant le protocole du fabricant. La réactivité HIV-gp41 a été détectée en se basant sur la méthode décrite précédemment (347, 348). Le CVL non concentré et le sérum ont été incubés avec des billes d'agarose-protéine G (ThermoFisher) pendant 18 heures à 4°C en rotation puis élué avec un tampon d'éluion (ThermoFisher) pour récolter les IgG. Le surnageant restant a été récupéré et incubé avec des billes d'agarose-protéine M (InVitrogen) et élué pour récolter les IgA. Le reste du surnageant a été utilisé pour détecter la réactivité des IgM. La solution obtenue a ensuite été neutralisée à l'aide de TRIS 1M pH 7.5 (ThermoFisher) et incubée avec des microsphères magnétiques (Radix) recouvertes de gp120 M.CONSD11 et de MN gp41 (NIH AIDS-Reagent program) pendant 18 heures à 4°C en rotation. Suite à l'incubation, les billes ont été incubées avec des IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4 (Southern Biotech), IgM, IgA1, IgA2 (eBioscience) anti-humains de souris conjuguées avec le fluorochrome PE. L'analyse a été réalisée sur un Luminex® 200 System (Luminex Corporation, Austin, TX, USA). Pour cette portion de notre étude, seuls des résultats préliminaires de IgG1 liant la gp41 seront présentés car il doit y avoir reprise du test pour clarifier certains aspects des résultats.

Analyses statistiques. Les données de concentration de cytokines des « Early converter » et des « HESN converter » effectuées en duplicata ont été calculées selon les formules décrites précédemment puis la moyenne par visite a été conservée pour réaliser les graphiques. Ces calculs et graphiques ont été effectués dans R version 3.6.3 pour Windows (310). Les manipulations de données ont été faites en utilisant les modules « tidyverse » (311). Les figures ont été produites à l'aide des modules « ggplot2 » (313) et « cowplot » (318).

2 Résultats

Caractéristiques socio-démographiques et comportements sexuels chez les « early converter » et les « HESN converter ». Un résumé des données sociodémographiques des « early converter » et des « HESN converter » est démontré dans le tableau 1. Les participantes étaient toutes âgées entre 35 et 54 ans lors de la séroconversion et pratiquaient toutes la douche vaginale de 2-5 fois par semaine. Une différence importante entre les deux groupes est en ce qui a trait au port du condom où les « early converter » ont rapporté utiliser le condom la moitié du temps lors de leurs 7 derniers jours de travail tandis que les « HESN converter » ont rapporté l'avoir toujours utilisé. Une autre disparité importante entre les deux groupes est le nombre de grossesses se situant entre 2-7 pour les « HESN converter » et 12-13 pour les « early converter ».

Concentration de chimiokines dans le sérum des « early converter » et des « HESN converter ». Basés sur les précédentes études démontrant d'importantes différences dans les profils chimiokiniques du compartiment sanguin et génital de ces femmes séroconvertrices (4), nous avons examiné les profils de ces molécules dans le sérum des cinq participantes ayant séroconverti. Chez les « HESN converter » et les « early converter », les niveaux de MIP-1 α semblent diminuer à mesure que le moment de la séroconversion se rapproche (figure 9 A). Toutefois, cette molécule n'a pas été détectée chez une des participantes de chaque groupe de « converter ». Des observations semblables quant au profil d'expression sont faites pour MIP-1 β pour toutes les participantes sauf une « early converter » (figure 9 B). En général, les niveaux de MCP-1 étaient stables avec des augmentations ponctuelles chez toutes les participantes (figure 9 C). Les niveaux de MIG (figure 9 D) et d'IP-10 (figure 9 E) étaient relativement stables à travers toutes les visites d'une même participante avec de légères variations pour les « HESN converter » alors que chez les « early converter », le niveau des premières visites était environ le même que pour les niveaux observés chez les « HESN converter », mais augmentait drastiquement à la visite de séroconversion. Ces observations suggèrent donc que les niveaux de MIP-1 α et MIP-1 β , préalablement associés à la protection lorsque élevés, ont tendance à diminuer vers la séroconversion chez les « HESN converter », au détriment de probable élévation de facteurs à potentiel pro-inflammatoire tels que MIG et IP-10.

Concentration de chimiokines dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Nous avons également examiné les profils de ces mêmes cinq molécules dans le CVL des participantes. Nous avons principalement détecté des niveaux de MIP-1 α (figure 10 A), MIP-1 β (figure 10 B) et IP-10 (figure 10 E) chez les participantes 643 et 684 faisant partie des « early converter » et des « HESN converter » respectivement. Chez ces deux participantes, les niveaux les plus élevés de MIP-1 α et MIP-1 β ont été détectés environ un an avant la séroconversion et diminuaient par la suite. Les niveaux de MCP-1 étaient variables pour toutes les participantes et aucune tendance ne semble s'en dégager (figure 10 C). De plus, les participantes 638 et 641 ont des visites où il n'a pas été possible de détecter cette molécule. Les niveaux les plus élevés pour MIG étaient chez la participante 643 « early converter » alors que chez les autres participantes, il n'a été détecté qu'à une seule visite avant la séroconversion (figure 10 D). Ces observations suggèrent donc que, semblable à ce que nous voyons dans le sérum, les niveaux de MIP-1 α et MIP-1 β ont tendance à diminuer vers la séroconversion chez les « HESN converter » au détriment de probable élévation de facteurs à potentiel pro-inflammatoire tels que MIG et IP-10.

Concentration d'interféron-alpha (IFN- α) dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Basés sur les précédentes études démontrant des niveaux élevés d'IFN- α dans le TGF des HESNs associés à l'immunité naturelle au VIH (4), nous avons aussi examiné les profils de cette molécule dans le CVL des cinq participantes ayant séroconverti. Chez les « early converter », la plus grande concentration s'observait à la visite de séroconversion tandis que chez les « HESN converter » toutes semblaient avoir une augmentation ponctuelle d'IFN- α environ 3-6 mois avant la séroconversion (figure 11), et qui tendait à diminuer. Ces observations suggèrent que les niveaux d'IFN- α ont tendance à augmenter chez les « early converter » vers la séroconversion. Chez les « HESN converter », des niveaux à la baisse pour cette molécule semblent associés à la séroconversion.

Concentration de B Lymphocyte Stimulator/B cell activation factor (BAFF) et niveaux d'immunoglobuline (IgG1) reconnaissant la protéine gp41 de l'enveloppe virale du VIH dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Basés sur les précédentes études démontrant des bas niveaux de BAFF dans le TGF des HESNs associés à l'immunité naturelle au VIH ainsi que des IgG1 ciblant la gp41 du VIH chez les HESNs (244), nous avons observé l'expression de ces molécules dans le CVL des participantes. Les niveaux de BAFF ont été détectés uniquement chez les « HESN converter » et les niveaux les plus élevés étaient lors de la visite de séroconversion (figure 12 A). Dans le CVL, les niveaux de fluorescence d'IgG1 ciblant la protéine de l'enveloppe virale gp41 ont été détectés à toutes les visites sauf une et étaient très variables au sein d'un même individu (figure 12 B).

3 Discussion

Comprendre l'immunité mucoale et son lien avec l'immunité systémique est important pour la création d'une stratégie permettant de bloquer l'entrée du VIH au site de contact initial ainsi que sa dissémination. Le profil d'expression des chimiokines est sensiblement différent entre les deux compartiments tels qu'observés lors des dernières études (4). Nous avons profité de l'occasion unique qui s'offrait à nous d'observer la progression temporelle des profils d'expression de molécules d'intérêts dans les études antérieures de notre laboratoire.

Dans une étude antérieure du laboratoire sur la même cohorte, les « HIV-1-uninfected CSWs » ou HESNs possédaient de plus hauts niveaux de MIP-1 α et MIP-1 β , dans les compartiments sanguin et génital, que les « HIV-1-infected CSWs » et les « HIV-1-uninfected non-CSWs » (4). Ces résultats étaient en accord avec d'autres études démontrant que l'augmentation de β -chimiokines dans le sérum avait un effet protecteur contre le VIH puisque ces chimiokines compétitionnent avec le virus pour le co-récepteur CCR5 (349). Le profil général observé chez les deux groupes de séroconvertrices pour ces deux molécules est une diminution de la concentration, dans les deux compartiments, en approche de la séroconversion. Cela laisse penser que ces individus subissent une perte de cet effet protecteur des β -chimiokines au fur et à mesure que leur séroconversion approche. Davantage d'études sur une plus grande population seraient nécessaires afin de confirmer cette observation et d'en tirer des conclusions plus précises.

Dans la même étude antérieure de notre laboratoire, il a été observé que les niveaux de MIG étaient plus élevés dans les deux compartiments chez les « HIV-1-infected CSWs » comparativement aux deux groupes non infectés et que cette augmentation était accrue dans le CVL (4). Ce résultat concordait avec l'augmentation de l'inflammation dans le TGF causant un plus grand recrutement de cellules immunitaires à ce site dû au chimiotactisme causé par l'inflammation (235). Pour les niveaux détectés avant la séroconversion des deux compartiments chez les séroconvertrices, les résultats sont similaires à ceux observés chez les « HIV-1-uninfected CSWs ». Toutefois, chez les « early converter », une augmentation des niveaux d'expression de MIG est observée lors de la dernière visite, soit celle de séroconversion. Cette augmentation de chimiokine inflammatoire pourrait favoriser la progression de la maladie en promouvant la réplication virale et demande davantage d'investigation (155).

Un des constats les plus répandus parmi l'étude des groupes de travailleuses du sexe HESNs est le maintien d'un niveau inflammatoire bas dans le TGF tel que présenté dans l'introduction de ce mémoire dans la section 5 (5). Toutefois, lors de nos dernières études au laboratoire, il a été observé que les HESNs possédaient de plus hauts niveaux d'IFN- α dans leur compartiment génital que les « HIV-1-infected CSWs » (263). Ainsi, l'expression de l'IFN- α pourrait jouer un rôle critique dans le maintien de l'homéostasie de la réponse immunitaire ainsi que dans l'activité antivirale au site d'entrée du virus. Les interférons induits possèdent la capacité d'augmenter la régulation positive des gènes codant pour les molécules faisant partie de la famille des ISGs qui pourraient interférer avec plusieurs virus à différents moments de leur cycle répliatif (350). Chez les « HESN converter », les niveaux d'IFN- α sont semblables à ceux observés chez les HESNs dans une autre étude de notre laboratoire (263), outre l'augmentation ponctuelle 3-6 mois avant la séroconversion. Il est intéressant de noter que cette augmentation d'IFN- α semble suivre les augmentations ponctuelles de MCP-1 et MIG d'environ trois mois pour certains individus « HESN converter ». Pour les niveaux observés chez les « early converter », ceux-ci ressemblent davantage à ceux observés chez les « HIV-1-infected CSWs » qui possédaient les niveaux les plus élevés observés précédemment (263).

De concert avec les faibles niveaux inflammatoires observés précédemment dans le TGF des HESNs, d'autres études de notre laboratoire ont permis de mettre en évidence le faible niveau de BAFF soluble détecté dans les compartiments sanguin (351) et génital des HESNs. Dans ce dernier, la fréquence de cellules exprimant BAFF à leur surface était plus faible que celle observée dans les deux autres groupes. Cependant, les cellules qui exprimaient BAFF à leur surface en exprimaient de plus hauts niveaux ce qui laisse penser que l'augmentation de l'expression au niveau génital est requise tout en étant contrôlée afin de prévenir les effets délétères (244). Les fréquences observées lors des dernières visites des « HESN converter » concordent avec les niveaux élevés de BAFF soluble observés précédemment chez les « HIV-1-infected CSWs ». Alors que les niveaux plus faibles, voire absents, concordent davantage avec le profil observé chez les HESNs (244). Des études supplémentaires devraient être faites afin de déterminer la fréquence de cellules et leur expression de BAFF en surface afin de compléter ces observations et de vérifier s'il y a une modulation dans le temps.

La plupart des Igs sont retrouvées dans le mucus (333). Malheureusement, dû aux techniques de prélèvement de CVL utilisées dans notre cohorte, le mucus a été retiré avant la collecte d'échantillons. Toutefois, il nous a été possible, dans une étude antérieure, de détecter la présence d'IgG1 réagissant à la gp41 dans le CVL de certaines HESNs (244). Outre quelques visites, la majorité des « HESN convertir » possédaient des niveaux de ces IgG1 plus élevés que la population normale béninoise qui se trouve à une MFI de 2000 dont les données ont été récoltées en utilisant la même méthodologie sur la même cohorte dans une précédente étude (244). Ces IgG1 réagissant à la gp41 pourraient provenir d'une réponse à la flore commensale de la part des lymphocytes B de première ligne étant donné que la majorité des anticorps visant la gp41 réagissent de façon croisée « cross reaction » avec le microbiome (254, 255).

Ces résultats de caractérisation du milieu cytokinique dans le compartiment sanguin et génital ainsi que la détection d'IgG1 ciblant la gp41 de l'enveloppe virale dans le CVL de ces participantes séroconvertrices représentent les premiers pas dans la caractérisation des événements pouvant mener à la séroconversion chez ces individus. Étant donné le faible nombre de participantes dans chacun des deux groupes, il n'est pas possible, pour le moment, de tirer des conclusions précises, appuyées par des tests statistiques, des mécanismes impliqués qui pourraient causer cette séroconversion. Pour ce faire, ce travail devrait être poursuivi à une plus grande échelle avec plus de participantes par groupe ce qui n'était pas possible pour nous étant donné que notre accès est limité à une partie de la cohorte. Toutefois, ce que nous observons est que les profils des « early convertir » semblent différents de ceux des « HESN convertir » puisque ces dernières semblent perdre certains facteurs associés à la protection et augmenter certaines molécules inflammatoires à l'approche de la séroconversion. Ce travail de caractérisation demande de continuer les recherches au niveau cellulaire afin de déterminer s'il y a, là aussi, des différences entre les deux groupes et des profils qui semblent s'en dégager.

4 Figures

Tableau 1. Caractéristiques socio-démographiques et comportements sexuels chez les « early convertir » et les « HESN convertir ». Les données ont été collectées sous forme de questionnaire avant l'examen gynécologique par un médecin. La moyenne du nombre de clients lors des 7 derniers jours a été obtenue en calculant la moyenne géométrique de chaque participante pour les visites disponibles.

	Early convertir		HESN convertir		
	638	643	641	676	684
No de participante	638	643	641	676	684
Âge à la séroconversion (années)	39	42	54	35	39
Pays d'origine	Bénin	Bénin	Ghana	Nigéria	Nigéria
Plus haut niveau d'étude complété	Primaire	Non scolarisée	Primaire	Secondaire	Primaire
Statut matrimonial	Divorcée	Divorcée	Veuve	Célibataire	Veuve
Âge lors de la première relation sexuelle (années)	15	22	17	18	17
Nombre de grossesses	12	13	7	2	6
Nombre d'enfants nés vivants	8	11	2	1	5
Excisé (âge en années)	non	non	non	oui (1an)	oui (1an)
Subi des transfusion sanguines	non	non	non	non	non
Prise de contraceptifs oraux	non	non	non	non	non
Douche vaginale	oui	oui	oui	oui	oui
Fréquence douche vaginale par semaine	3x	2x	2x	5x	3x
Âge lors de la première relation sexuelle payée (années)	N/A	40	40	19	25
Durée travail du sexe à la séroconversion (années)	1,5	1,25	8,75	10	9
Lieu de travail	Hôtels	Hôtels	Maison close	Maison close	Maison close
Moyenne du nombre de clients lors des 7 derniers jours de travail	24	12	22	9	25
Moyenne de nouveaux clients lors des 7 derniers jours de travail (%)	23,3	93,7	40,2	71,4	39,6
Utilisation du condom lors des 7 derniers jours de travail	1/2 du temps	1/2 du temps	toujours	toujours	toujours
Rapports sexuels par voie orale	non	non	non	non	non
Rapports sexuels par voie anale	non	non	non	non	non

Figure 9. Concentration de chimiokines dans le sérum des « early converter » et des « HESN converter ». Concentration de MIP-1 α (A), MIP-1 β (B), MCP-1 (C), MIG (D), IP-10 (E) dans le sérum des participantes. Les participantes ont été séparées en deux groupes selon le temps de travail avant la séroconversion et les données ont été ordonnées selon le temps de travail sexuel en années à chaque visite. La dernière visite de chaque participante représente la visite de séroconversion. Les concentrations des chimiokines sont exprimées en pg/ml. Les échantillons qui se trouvaient sous la limite de détection de l'appareil ont été ajustés à une valeur de 0. Les valeurs de concentration représentent la moyenne de duplicatas. HESN, *HIV-1 Highly Exposed SeroNegative*; MIP, *Macrophage Inflammatory Protein*; MCP, *Monocyte Chemotactic Protein*; MIG, *Monokine Induced by Gamma interferon*; IP, *Interferon-inducible Protein*.

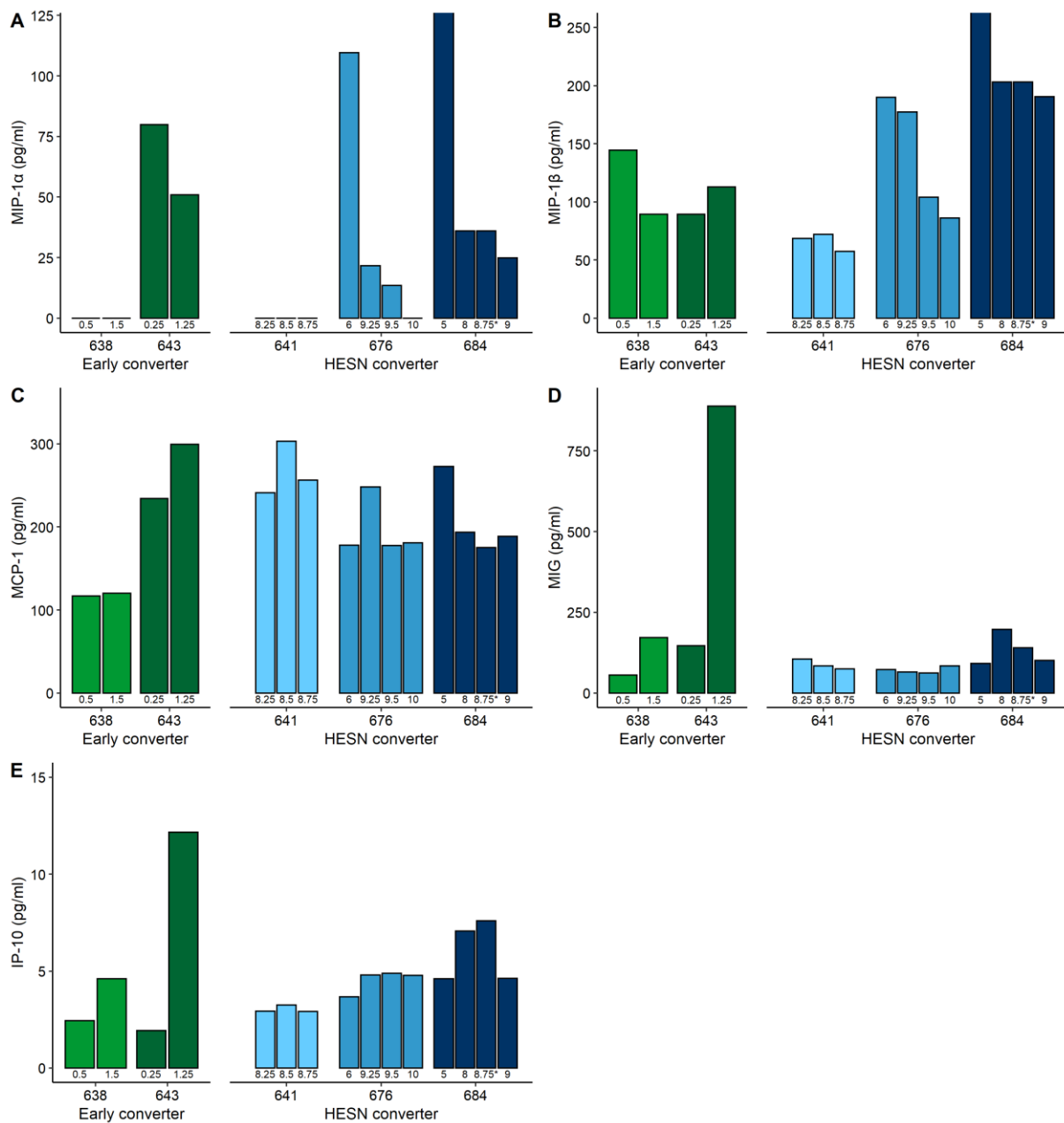


Figure 10. Concentration de chimiokines dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Concentration de MIP-1 α (A), MIP-1 β (B), MCP-1 (C), MIG (D), IP-10 (E) dans le CVL des participantes. Les participantes ont été séparées en deux groupes selon le temps de travail avant la séroconversion et les données ont été ordonnées selon le temps de travail sexuel en années à chaque visite. La dernière visite de chaque participante représente la visite de séroconversion. Les concentrations des chimiokines sont exprimées en pg/ml. Les échantillons qui se trouvaient sous la limite de détection de l'appareil ont été ajustés à une valeur de 0. Les valeurs de concentration représentent la moyenne de duplicatas. HESN, *HIV-1 Highly Exposed SeroNegative*; MIP, *Macrophage Inflammatory Protein*; MCP, *Monocyte Chemoattractic Protein*; MIG, *Monokine Induced by Gamma interferon*; IP, *Interferon-inducible Protein*.

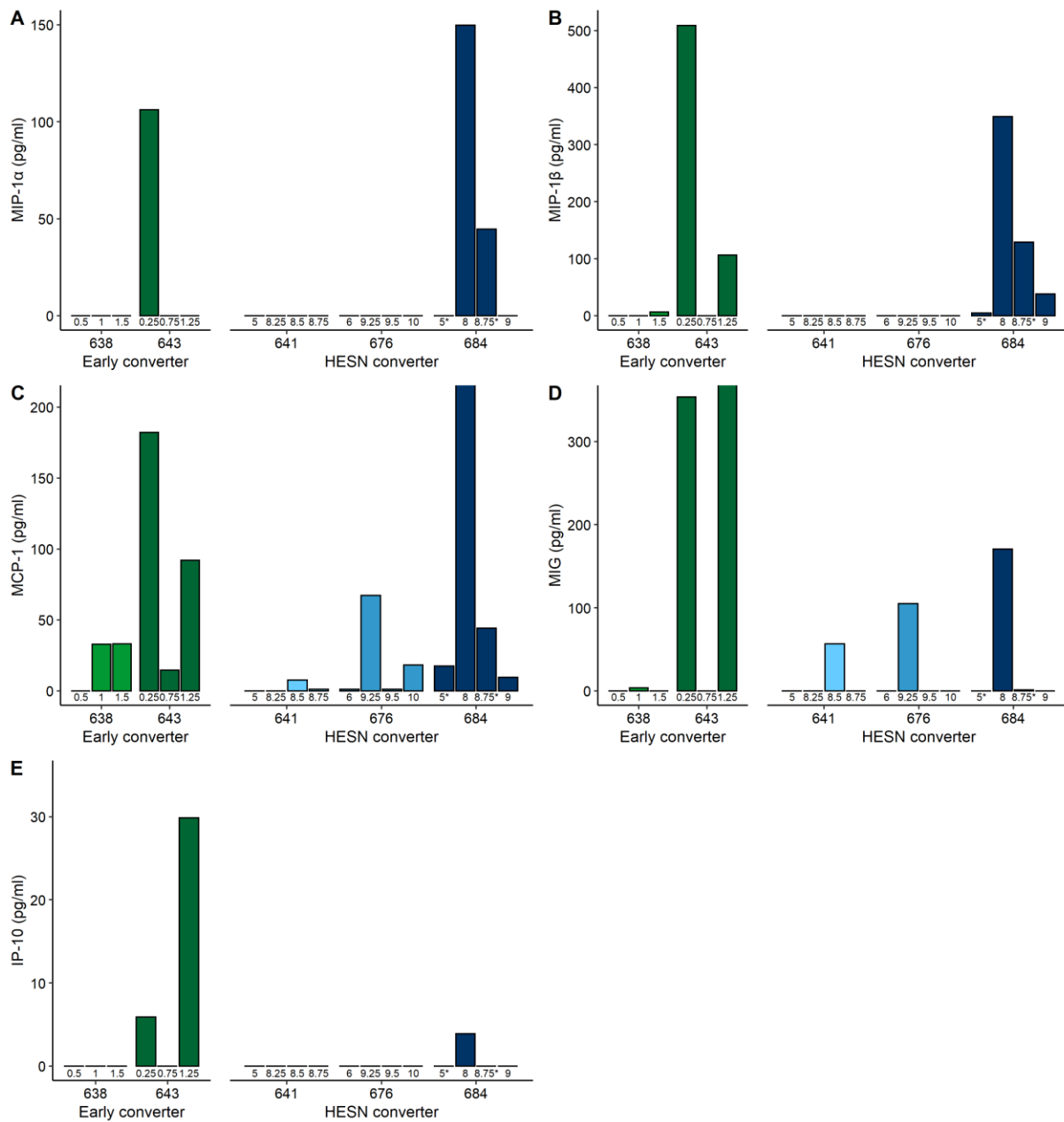


Figure 11. Concentration d'interféron-alpha (IFN- α) dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Concentration d'IFN- α dans le CVL des participantes. Les participantes ont été séparées en deux groupes selon le temps de travail avant la séroconversion et les données ont été ordonnées selon le temps de travail sexuel en années à chaque visite. La dernière visite de chaque participante représente la visite de séroconversion. Les concentrations des chimiokines sont exprimées en pg/ml. Les échantillons qui se trouvaient sous la limite de détection de l'appareil ont été ajustés à une valeur de 0. Les valeurs de concentration représentent la moyenne des duplicatas. HESN, *HIV-1 Highly Exposed SeroNegative*; IFN, Interféron.

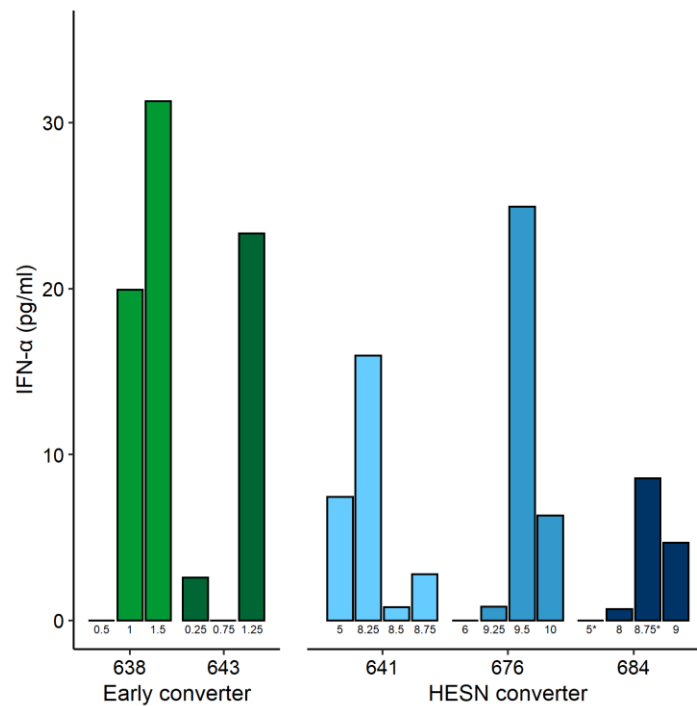
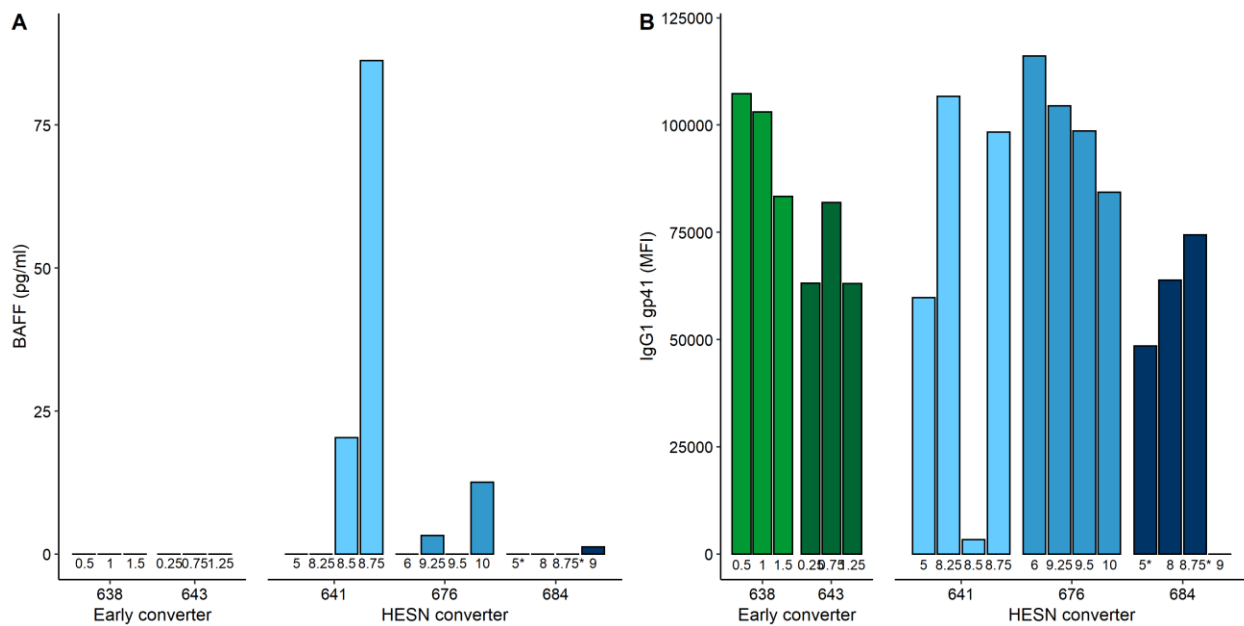


Figure 12. Concentration de B Lymphocyte Stimulator/B cell activation factor (BAFF) et niveaux d'immunoglobuline (IgG1) reconnaissant la protéine gp41 de l'enveloppe virale du VIH dans les lavages cervico-vaginaux (CVL) des « early converter » et des « HESN converter ». Concentration de BAFF (A) et niveau d'IgG1 reconnaissant la gp41 du VIH (B) dans le CVL. Les participantes ont été séparées en deux groupes selon le temps de travail avant la séroconversion et les données ont été ordonnées selon le temps de travail sexuel en années à chaque visite. La dernière visite de chaque participante représente la visite de séroconversion. Les concentrations de BAFF sont exprimées en pg/ml et les niveaux d'IgG1 reconnaissant la gp41 du VIH sont exprimés en moyenne d'intensité de fluorescence (MFI). Les échantillons qui se trouvaient sous la limite de détection de l'appareil ont été ajustés à une valeur de 0. Les valeurs de concentration représentent la moyenne de duplicatas. HESN, HIV-1 Highly Exposed SeroNegative; BAFF, B cell activation factor; Ig, immunoglobuline.



Chapitre 4

Discussion

L'étude des facteurs associés à la résistance au VIH chez des personnes ayant une immunité naturelle au virus pourrait fournir des informations utiles à la conception de stratégies préventives et thérapeutiques.

Nos précédentes études, ainsi que d'autres, ont démontré que l'immunité naturelle au VIH chez les HESNs est associée à un environnement inflammatoire bas au niveau du TGF qui prévient une activation immunitaire excessive et préserve l'intégrité de la barrière mucoale, ce qui contribue à leur protection contre le virus. Le maintien de ce niveau inflammatoire bas semble être associé à la présence de populations de MoDCs à profil « tolérogénique/régulateur » qui contribuent à orchestrer un potentiel antiviral et régulateur au site initial de la transmission du VIH. Pour approfondir notre compréhension des mécanismes impliqués dans ce profil « tolérogénique/régulateur », nous avons caractérisé les monocytes du compartiment sanguin.

1 Les monocytes associés à différentes fonctions effectrices et régulatrices de l'immunité naturelle chez les HESNs

Tel que mentionné dans l'introduction, l'infection au VIH s'accompagne généralement d'une augmentation de la proportion de monocytes intermédiaires et non-classiques, altérant ainsi la génération des MoDCs (286). Jusqu'à présent, très peu d'études ont évalué le profil des sous-populations de monocytes et leur différenciation en MoDCs dans le contexte d'immunité naturelle au VIH. Une meilleure compréhension de la nature de ces sous-populations et de la manière dont elles sont sollicitées pour générer des MoDCs afin de lutter contre le VIH semble importante pour la conception d'approches préventives.

Le premier article présenté fait suite aux études effectuées dans le compartiment génital des femmes de la cohorte béninoise où des fréquences élevées de cellules myéloïdes endocervicales

HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ exprimant de hauts niveaux de molécules antivirales comme IFN- α et TLR7 ainsi que de molécules immunorégulatrices comme IL-10, HLA-G et ILT4 ont été observées (263). Simultanément, nous avons observé une fréquence élevée de Tregs endocervicaux ainsi que de Tr1 (CD49b⁺LAG3⁺) exprimant de hauts niveaux de PD-1 et d'IL-10 (305, 306). Selon nos observations, cette sous-population myéloïde semble provenir de monocytes présentant un profil tolérogénique qui serait conservé lors de leur différenciation en MoDCs (307). Ce profil rappelle celui des DC-10, une sous-population de DCs, qui possède la capacité de sécréter de grandes quantités d'IL-10 en plus d'exprimer de hauts niveaux d'HLA-G et d'ILT4. Aussi, l'IL-10 ainsi que l'IFN- α favorisent l'induction des DCs tolérogénique et l'augmentation de l'expression d'ILT4 et HLA-G à leur surface. L'interaction entre ILT4 et HLA-G favorise la différenciation des lymphocytes T en Tr1 grâce aux niveaux élevés d'IL-10 produits par les DCs tolérogénique (172). La fréquence élevée de MoDCs de type tolérogénique ou DC-10 engendrerait donc un environnement tolérogénique dans le TGF via la production IL-10 et d'IFN- α . Cet environnement semble être un facteur clé dans l'orchestration de la réponse antivirale et régulatrice au site initial de l'infection et semble ainsi contribuer à la résistance des HESNs au virus.

1.1 Profil moléculaire de monocytes totaux du compartiment sanguin

Dans un premier temps, nous avons établi les groupes contrôles avec lesquels nos résultats sur les HESNs allaient être comparés. Lors de nos précédentes études, une période de 4 ans de travail sexuel actif était suffisante pour identifier ces individus comme étant HESN. Cependant, nous avons préféré, dans le cadre de la présente étude, désigner ces individus comme évoluant vers un statut HESN d'où l'appellation « early HESN » pour les travailleuses du sexe ayant 2,5 à 5 ans de travail actif sans infection au VIH. Ce groupe a donc été utilisé comme population contrôle afin de déterminer les effets du travail sexuel en lui-même sur l'immunologie de l'hôte. De plus, des études faites sur la cohorte Kényane ont démontré que le début du travail sexuel entraîne de nombreux changements dans le système immunitaire dont une augmentation importante de l'inflammation dans le TGF, mais l'inflammation semble diminuer après un an (309). C'est pourquoi nous avons sélectionné des participantes ayant un temps de travail sexuel de plus d'un an pour le groupe des « early HESN ». Nous avons sélectionné pour cette étude, des HESNs ayant plus de huit ans de travail sexuel afin d'être plus conservateurs dans nos observations. Nous avons

aussi comparé ces HESNs à deux autres groupes de contrôle soit les femmes de la population béninoise n'étant pas infectées par le VIH ne pratiquant pas le travail du sexe et des travailleuses du sexe infectées par le VIH.

Nous avons ensuite procédé à l'étude du transcriptome par RNA-seq des monocytes totaux du compartiment sanguin pour les différents groupes. Ainsi, nous avons basé notre analyse de ces résultats d'expression différentielle sur les ISGs, les gènes codant pour les TLRs, des gènes qui sont associées à des fonctions effectrices des gènes associés au contrôle et à la protection contre le VIH/SIV. Nous avons également analysé l'expression différentielle pour des gènes associés à la régulation immunitaire et à un profil tolérogénique chez les monocytes.

1.1.1 Les gènes associés à des fonctions effectrices

Récemment, dans l'essai vaccinal RV144 chez l'humain, une signature génique a été identifiée chez certains individus qui permettait d'augmenter l'efficacité vaccinale et de diminuer le risque d'acquisition du VIH pour ces individus (321). Cette signature avait préalablement été identifiée lors d'un essai vaccinal sur des primates non humains (NHP) (319). Le vaccin RV144 qui confère une protection partielle à l'infection au VIH semble être plus efficace que le vaccin non protecteur HVTN505 (320). La signature génique observée chez les participants de l'essai vaccinal RV144 a été principalement détectée chez les cellules myéloïdes et plus particulièrement chez les monocytes impliqués dans des fonctions effectrices telles que l'ADCP (321). Ceci suggère que le mécanisme de protection vaccinale est en lien avec cette activité ADCP. En effet, une forte réponse ADCP a été rapportée dans l'essai vaccinal RV144 en Afrique du Sud (85).

La superfamille des FcRs se lie à la fraction cristallisable des anticorps ayant reconnu leur cible. On reconnaît de façon importante, les FcRs se liant aux IgG pour activer (FcγRIA, B/CD64, FcγRIIA, C/CD32, FcγRIII/CD16) ou inhiber (FcγRIIB) les fonctions ADCC et ADCP. Le récepteur CD32 se trouve à la surface de cellules myéloïdes incluant les monocytes, les macrophages et les DCs et est associé à la fonction ADCP. Cette fonction induit la phagocytose de la cellule cible ce qui permet la présentation antigénique et la stimulation de sécrétion de cytokines inflammatoires. Le CD16 se trouve principalement à la surface des NKs, mais également des macrophages, des neutrophiles et des sous-populations intermédiaires et non-classiques des monocytes et est associé à l'activité ADCC. Cette activité implique le relâche de granules cytotoxiques pour détruire la cellule cible. Ces deux fonctions sont des mécanismes de défense

immunitaire exercés par des cellules effectrices et l'immunocompétence à exercer une de ces deux fonctions dépend de plusieurs facteurs, dont le statut inflammatoire et la qualité des Acs (322).

Nous avons constaté que les HESNs présentaient une augmentation par rapport aux groupes contrôles de l'expression de certains gènes associés à des fonctions effectrices telles que ceux codant pour les récepteurs se liant au complément ITGAX, ITGAM et CR2, ainsi que les *scavenger receptors* CD68 et CD163. Ces molécules sont toutes sollicitées dans la fonction ADCP (322). De plus, les gènes codant pour les FcRs CD32C (FCGR2C), se liant aux IgG et CD89 (FCAR), se liant aux IgA, étaient surexprimés chez les HESNs, tandis que les monocytes des CSWs HIV⁺ présentaient une plus grande expression de gènes codant pour CD16 (FCGR3A), CD64 (FCGR1A et FCGR1B) et CD32A (FCGR2A). L'expression élevée de ces gènes chez les CSWs HIV⁺ pourrait refléter l'état inflammatoire décrit précédemment chez ces individus (248). Les résultats observés chez les HESNs concordent avec le fait que des polymorphismes au niveau du gène FCGR2C, codant pour CD32C ayant une faible affinité pour les IgG, sont associés à une plus grande résistance au VIH dans des essais cliniques pour le régime vaccinale RV144 en Thaïlande (323). Fait intéressant, les populations de participants à l'essai clinique du régime vaccinale RV144 en Thaïlande et en Afrique du Sud (HVTN702) possédaient des polymorphismes au locus du gène FCGR2C qui étaient protecteurs dans l'étude thaïlandaise alors qu'ils étaient associés à des réponses opposées en Afrique du Sud (323, 324).

Une étude portant sur les effets de la progression du VIH sur les macrophages et les monocytes a démontré que l'expression du récepteur CD163 par les monocytes intermédiaires est augmentée chez les individus infectés par le VIH avec une charge virale détectable et est associée à la progression de la maladie. Cependant, ce récepteur ne pouvait pas être détecté chez les individus non infectés ou chez les individus infectés ayant une virémie indétectable (352). Il est donc intéressant d'observer une augmentation de l'expression du gène codant pour ce récepteur chez les HESNs alors qu'il n'avait pas été détecté chez les gens non infectés dans cette étude. De plus, la forme soluble de ce récepteur a aussi été associée à une augmentation de l'activation des monocytes chez les contrôleurs élités qui maintiennent une charge virale indétectable sans ART (353). Cette augmentation de l'activation des monocytes chez les HESNs béninoises pourrait être liée à une certaine forme de régulation, mais davantage d'études seraient nécessaires afin de vérifier que cette

activation n'est pas délétère comme dans le cas des gens infectés par le virus chez qui il est associé à des défauts dans la fonction monocytaire, les empêchant de présenter des antigènes (296).

1.1.2 Les gènes associés à la protection et au contrôle

Nous avons ensuite observé une expression plus élevée, chez les HESNs comparativement aux autres groupes, des gènes associés à la protection et au contrôle contre le VIH comme CCL3, CCL4, CCL5 et TNFSF13, qui code pour le facteur de croissance *A proliferation inducing ligand* (APRIL). Le facteur de croissance APRIL, avec BAFF, favorise la survie des cellules sécrétrices d'anticorps de type IgA (354). Lors de l'essai vaccinal NHP, il a été déterminé que le gène TNFSF13 faisait partie des gènes les plus protecteurs contre le virus (319). APRIL a aussi été associé à une progression plus lente de l'infection au VIH chez les populations de LTNPs (334).

1.1.3 Les gènes associés à des fonctions régulatrices

Nous avons également observé une expression élevée, chez les HESNs par rapport aux groupes contrôles, des gènes associés à la régulation immunitaire telle qu'IL-10 ainsi que les facteurs de transcription *basic helix-loop-helix family member e40* (BHLHE40) et le facteur *aryl hydrocarbon receptor* (Ahr) qui régulent les niveaux d'IL-10 (335, 336). Dans l'essai vaccinal NHP, il a été déterminé que BHLHE40 avait un effet protecteur contre le VIH (319).

De plus, nous avons observé une augmentation, chez les HESNs par rapport aux groupes contrôles, de l'expression du gène codant pour la molécule de surface immunorégulatrice CD83 dont l'expression est directement influencée par la famille NR4A (210). Cette observation est corrélée avec l'augmentation de l'expression de NR4A1, NR4A2 et NR4A3 qui étaient plus exprimés chez les HESNs. Tel qu'observé au niveau des Tregs, nous avons récemment caractérisé les lymphocytes B de la MZ et observé qu'ils exprimaient fortement la famille NR4A ce qui leur permettait d'induire une fonction régulatrice chez les lymphocytes B via la signalisation impliquant CD83 (210). L'expression élevée des membres de la famille NR4A pourrait donc permettre une meilleure régulation de certaines fonctions immunitaires au sein de populations monocytaires, et lymphocytaires Bregs et Tregs (281, 337). De plus en plus de preuves supportent le fait que les niveaux d'expression de NR4A sont affectés dans des conditions pathologiques, et des régulateurs synthétiques des molécules de cette famille, tel que le dihydroergotamine (DHE), sont actuellement

utilisés pour traiter des patients atteints de certaines formes de leucémie ou de lymphome (341). Cela pourrait donc être une avenue intéressante dans l'élaboration de traitements contre le VIH.

En se basant sur ces premières observations, les monocytes totaux du compartiment sanguin des HESNs semblent posséder un profil moléculaire distinct des autres groupes contrôles suggérant des fonctions effectrices, protectrices et régulatrices spécifiques à ce groupe. Pour mieux comprendre ces profils moléculaires, nous avons décidé de caractériser les sous-populations de monocytes par cytométrie en flux afin de déterminer si ces régulations géniques se reflétaient dans les profils d'expression cellulaires.

1.2 Phénotype des sous-populations de monocytes du compartiment sanguin

L'augmentation de la transcription génique pour les gènes de la famille NR4A chez les HESNs, comparativement aux participantes Non-CSWs VIH⁻, concorde avec les fréquences élevées de protéines NR4A1 exprimées dans le noyau des sous-populations de monocytes intermédiaires et non-classiques observés chez ces participantes (271, 281). Cependant, des observations similaires ont également été faites chez les CSWs VIH⁺, comparativement aux participantes Non-CSWs VIH⁻. Les NR4A font partie des facteurs de transcription induits rapidement en réponse à une multitude de stimuli et engendrent plusieurs voies d'activation (342). Il semble alors logique d'observer une telle augmentation dans le contexte d'une infection au VIH où le système immunitaire subit des déséquilibres importants et possiblement des niveaux inflammatoires élevés. Il serait donc intéressant de pousser plus loin l'étude de cette famille de facteurs de transcriptions dans le contexte du VIH et de l'immunité des HESNs.

Tel que mentionné dans l'introduction, les monocytes intermédiaires ont une fonction d'APC et un potentiel inflammatoire alors que les non-classiques jouent plutôt un rôle de patrouille « patrolling », détectent les acides nucléiques via leurs TLR-7/8 et sont une source importante de CCL3, CCL4 et IFN- α (275, 345). Ils ont également la capacité de générer une réponse anti-inflammatoire tolérogénique via la liaison HLA-G/ILT4 et l'induction des Tr1 (275). Dans nos analyses de FACS, HLA-G était plus exprimé à la surface de toutes les sous-populations de monocytes chez les HESNs comparativement aux CSWs VIH⁺. Toutefois, l'analyse du RNA-seq révèle que la transcription des gènes encodant pour HLA-G et LILRB2 (ILT4) était plus prononcée pour les monocytes totaux des CSWs VIH⁺. Ceci concorde avec l'élévation d'HLA-G soluble

détectée précédemment dans le compartiment sanguin des CSWs VIH⁺ provenant de la même cohorte (346). Ceci pourrait impliquer une régulation de l'expression et de la libération de HLA-G qui semble permettre de conserver un certain niveau d'homéostasie au sein des populations de monocytes du sang.

De plus, nous avons observé que les monocytes non-classiques des HESNs présentaient des niveaux inférieurs du récepteur CD16 comparativement à ceux observés chez les CSWs HIV⁺, mais tout de même significativement plus élevés que ceux observés chez les Non-CSWs HIV⁻. Ces observations sont compatibles avec nos observations sur les NKs du compartiment sanguin des HESNs qui présentent des fréquences élevées de CD16 (325). Le récepteur CD16 est requis pour la fonction ADCC des NKs et il a été démontré qu'il était également indispensable pour la même fonction chez les monocytes (326, 327). Lors de l'essai vaccinal RV144 en Thaïlande, des anticorps IgG1 et IgG3 du compartiment sanguin ont été démontrés comme ayant un effet de médiateur pour la fonction ADCC de reconnaissance de la région V1V2 de l'enveloppe du VIH et conféraient ainsi un effet protecteur (84, 328). Ces résultats, mis ensemble, suggèrent que les HESNs possèdent une grande capacité ADCC qui pourrait contribuer à leur protection contre l'infection au VIH.

Toutefois, des tests faits au laboratoire, en utilisant une technique très spécifique et hautement sensible au VIH, sur les anticorps présents à la muqueuse génitale et dans le compartiment sanguin n'ont détecté aucune présence d'IgG médiant une réponse ADCC ou une activité neutralisante chez les HESNs comparativement au CSWs HIV⁺ (253). Il est toutefois possible que l'activité ADCC chez les HESNs soit médiée par des IgG réagissant de manière croisée et n'étaient pas de ce fait extrêmement spécifiques au VIH et ont donc été écartés lors des tests. En effet, lors d'études subséquentes, il avait été possible de détecter des IgG1 réagissant à la gp41 de l'enveloppe virale dans des échantillons génitaux de certaines HESNs (244). Ces IgG1 anti-gp41 pourraient provenir des lymphocytes B de première ligne et liant l'enveloppe du VIH, présents aux muqueuses, étant donné que la plupart des anticorps réagissant à la gp41 proviennent d'une réaction croisée avec la microflore (255). Ces observations pourraient impliquer que l'immunité naturelle des HESNs au VIH n'est pas médiée par des IgG hautement spécifiques au VIH engendrant une réponse ADCC ou neutralisante, mais pourrait impliquer d'autres anticorps et/ou d'autres types de réponses comme la réponse ADCP (256, 329, 330).

1.3 L'impact du phénotype différentiel des monocytes dans la génération des MoDCs

Suite à nos observations lors de la caractérisation des monocytes du compartiment sanguin des HESNs, nous pensons qu'une modification des ratios des sous-populations pourrait influencer la différenciation de celles-ci en MoDCs et avoir des répercussions sur les réponses immunitaires médiées. En effet, des études sur la différenciation des monocytes non-classiques en MoDCs démontrent qu'ils possèdent une signature transcriptionnelle typique des DCs retrouvés aux muqueuses et qui jouent un rôle important dans l'homéostasie de l'immunité mucoale. Les fréquences élevées de monocytes non-classiques ayant un profil « tolérogénique/régulateur » détectés chez les HESNs pourraient conférer un avantage à ces femmes en générant des MoDCs ayant un profil similaire. Toutefois, les événements menant à cette augmentation des sous-populations d'intermédiaires et de non-classiques présentant un profil « effecteur/régulateur » et antiviral requièrent davantage d'études afin d'être élucidés et leur cause est probablement multifactorielle. Des études ont démontré que l'environnement dans lequel se trouvent les monocytes lors de leur différenciation influence leur phénotype de MoDC. En effet, des monocytes traités avec de l'IL-10 ou IFN- α sont capables, *in vitro*, de se différencier en MoDCs tolérogéniques exprimant davantage à leur surface ILT3 et ILT4 leur permettant d'induire la différenciation des lymphocytes en Tr1 (355, 356).

L'analyse des régressions linéaires démontre que plusieurs marqueurs sont modulés à travers le temps entre les « early HESN » et les HESNs conférant potentiellement un avantage aux HESNs dans la résistance au VIH. De plus amples études longitudinales devraient être effectuées afin de dégager des corrélations entre la durée du travail sexuel et la résistance au VIH, étant donné que la séparation des groupes entre « early HESN » et HESNs crée un intervalle de temps entre 5 et 8 ans qui n'a pas été caractérisé dans cette étude. De plus, une avenue intéressante afin d'élucider les événements générant ces augmentations de sous-populations monocytaires serait d'étudier l'effet de co-infections dont la malaria dans ces populations monocytaires chez les HESNs. En effet, la malaria, qui est endémique au Bénin, a été déterminée comme étant en cause pour l'augmentation des fréquences des monocytes intermédiaires et non-classiques retrouvées dans le sang lors de son infection (343).

2 Immunité périphérique et mucoale durant la séroconversion au VIH

À la suite des observations précédentes, nous avons voulu suivre la progression des facteurs immunitaires mucoaux et périphériques clés pouvant être associés à la séroconversion. Pour ce faire, dans un premier temps, nous avons caractérisé l'environnement sanguin et génital quant à la modulation du profil des cytokines et des chimiokines préalablement associées à la résistance chez les HESNs. De plus, nous avons également caractérisé des éléments de l'immunité humorale chez les individus des deux groupes de séroconvertrices tout au long de leurs suivis jusqu'à leur séroconversion. Ainsi, nous avons caractérisé la progression temporelle des profils d'expression de molécules d'intérêts dans les études antérieures de notre laboratoire.

2.1 Les chimiokines dans le CVL et le sérum des femmes séroconvertrices

Nous avons d'abord observé l'expression des β -chimiokines dans le compartiment sanguin et génital des deux groupes de séroconvertrices puisque ces chimiokines ont été identifiées dans d'autres études comme ayant un effet protecteur contre le VIH grâce à leur capacité de compétition avec le corécepteur du virus, CCR5 (349). Le profil général chez les deux groupes de séroconvertrices pour les chimiokines MIP-1 α et MIP-1 β , dans le sérum et le CVL, diminuait graduellement à l'approche de la séroconversion. Des études antérieures sur la même cohorte avaient observé de plus hauts niveaux chez les HESNs que chez les groupes contrôles (4). Ceci suggère que les participantes séroconvertrices semblent subir une perte de l'effet protecteur des β -chimiokines au fur et à mesure que leur séroconversion approche.

Nous avons également désiré caractériser l'environnement inflammatoire de ces individus. Notre laboratoire ainsi que d'autres ont observé qu'une faible production de cytokines pro-inflammatoires aux muqueuses génitales des HESNs pourrait probablement les aider à résister à l'infection par le VIH en maintenant un contrôle de l'immunité au site initial de l'infection (3, 4, 235, 236, 239, 357). Le maintien d'un environnement inflammatoire bas au niveau du TGF prévient une activation immunitaire excessive et préserve l'intégrité de la barrière mucoale (5). De ce fait, les niveaux de MIG détectés chez les « HESN convertir » étaient stables et semblables à ceux de la population générale béninoise observés dans une étude antérieure (235). Cependant, chez les

« early converter », il y avait une augmentation spontanée de MIG à la visite de séroconversion. Ce résultat implique une augmentation de l'inflammation en réponse au VIH dans le TGF causant un plus grand recrutement de cellules immunitaires à ce site (235).

2.2 L'interféron- α dans le CVL des femmes séroconverttrices

Nous avons également observé des niveaux semblables d'IFN- α chez les « HESN converter » à ceux observés chez les HESNs dans une autre étude de notre laboratoire, outre l'augmentation ponctuelle 3-6 mois avant la séroconversion. Lors de cette dernière étude, il avait été observé que les HESNs possédaient de plus hauts niveaux d'IFN- α dans leur compartiment génital que les « HIV-1-infected CSWs » (263). Ainsi, l'expression de l'IFN- α pourrait jouer un rôle critique dans le maintien de l'homéostasie immunitaire antivirale des facteurs de restriction dans les cellules cibles. Les interférons de type 1 induits possèdent la capacité d'augmenter la régulation positive des gènes codant pour les molécules faisant partie de la famille des ISGs qui pourraient interférer avec plusieurs virus à différents moments de leur cycle répliatif (350). Des études *in vitro* ont démontré que l'IFN-I régule l'activité antivirale du facteur de restriction SAMHD1 (358). Dans le contexte d'une infection par le VIH, l'IFN, produit via une liaison aux TLR-7/8, favorise une réponse inflammatoire en régulant l'expression des ISGs à la hausse (359). Des études chez le Rhésus macaque ont démontré que le blocage du récepteur de l'IFN-I causait la régulation à la baisse des gènes responsables de la réponse antivirale, une augmentation de la taille du réservoir du SIV et une accélération de la déplétion des lymphocytes T CD4⁺ provoquant la phase SIDA plus rapidement (360). De plus, lors d'inflammation chronique, l'augmentation de l'IFN-I peut avoir un effet délétère en augmentant les niveaux de BAFF, contribuant ainsi à la dérégulation du compartiment des lymphocytes B (5).

2.3 Les niveaux de BAFF et d'immunoglobuline dans le CVL des femmes séroconverttrices

Lors d'études précédentes, nous avons observé, dans le TGF des HESNs, que la fréquence de cellules exprimant BAFF à leur surface était plus faible que celle observée dans les groupes contrôles. Cependant, les cellules qui exprimaient BAFF à leur surface en exprimaient de plus hauts

niveaux ce qui laisse penser que l'environnement inflammatoire bas jouerait un rôle dans la régulation à la hausse de l'expression de BAFF au niveau génital, mais que son relargage devrait être contrôlé afin d'en prévenir les effets délétères (244). De plus, il a été démontré que les monocytes, en réponse à la gp120 soluble se liant aux lectines de surface ou à d'autres récepteurs tels que CD4, CCR5 ou CXCR4, peuvent augmenter leur expression de BAFF (361). Dans une étude de notre laboratoire, le niveau d'expression de BAFF membranaire était élevé à la surface des monocytes totaux des HESNs, mais moindre que celui observé chez les DCs (351). D'autres études utilisant des cultures de monocytes appauvris en pDC ont démontré que la réponse des monocytes au VIH ne se rendait pas à l'expression accrue de BAFF mentionnée plus tôt. De plus, la sécrétion de BAFF par les monocytes classiques et intermédiaires est possible uniquement en réponse à IFN-I (361). Les fréquences observées lors des dernières visites des « HESN convertir » concordent avec les niveaux élevés de BAFF soluble observés précédemment chez les « HIV-1-infected CSWs » ainsi que dans la cohorte HARSAH et chez les progresseurs classiques et rapides infectés au VIH (245). Alors que les niveaux plus faibles, voir absents, concordent davantage avec le profil observé chez les HESNs (244). Des facteurs directs et indirects peuvent moduler l'expression de BAFF. En effet, dans une autre étude précédente de notre laboratoire, il a été démontré que Nef soluble pouvait moduler directement l'expression et le relargage de BAFF par les MoDCs (246). D'autres études sur le VIH ont décrit une régulation positive de BAFF en réponse à Env par les macrophages (362). De plus, des éléments de la translocation bactérienne tels que les LPS sont connus pour augmenter l'expression et la libération de BAFF (246, 363).

Dans une étude précédente, nous avons observé que la surexpression de BAFF dans le sang de progresseurs infectés concordait avec l'hyperglobulémie et la fréquence élevée des lymphocytes B innés de la MZ observée chez ces individus (247). À la suite de ces observations sur BAFF, notre laboratoire a cherché à caractériser les anticorps et leur capacité à reconnaître la gp120 et la gp41 du VIH. Il a été possible de détecter des IgG1 et des IgA1 reconnaissant la gp120 et la gp41 ainsi que des IgG2, IgG3, IgA2 et IgM reconnaissant la gp41 de l'enveloppe virale dans des échantillons de CVL pour la majorité des CSWs HIV⁺. Cependant, il a uniquement été possible d'observer des IgG1 réactifs à la gp41 chez certaines HESNs (244). La plupart des Igs sont retrouvées dans le mucus (333). Malheureusement, dû aux techniques de prélèvement de CVL utilisés dans notre cohorte, le mucus a été retiré avant la collecte d'échantillons. Cela pourrait expliquer en partie que

nous n'ayons pas détecté davantage d'Igs réactives à la gp41 ou la gp120 de l'enveloppe alors que dans d'autres cohortes de HESNs, il avait été possible de les détecter (249-252).

Dans la présente étude, outre quelques visites, la majorité des « HESN convertir » possédaient des niveaux de ces IgG1 plus élevés que la population normale béninoise. Étant donné que la majorité des Ac localisés dans les muqueuses interagissent avec la flore commensale de l'hôte, ces IgG1 réagissant à la gp41 pourraient provenir d'une réponse à celle-ci de la part des lymphocytes B de première ligne (254, 255). Il est possible que ces anticorps participent à une réponse ADCC en réagissant de manière croisée contre le VIH ou en médiant d'autres réponses comme ADCP conférant un certain niveau de protection aux HESNs (256, 329, 330). Des études de fonctionnalités des Igs présents à la muqueuse vaginale des HESNs devraient être effectuées afin de déterminer leur possible implication dans l'une de ces deux réponses. De plus, il a été démontré qu'un arrêt du travail du sexe chez les HESNs entraîne leur séroconversion lors de la reprise de celui-ci. Cette séroconversion a été observée même si les HESNs possédaient préalablement une réponse spécifique au VIH (262). Ainsi, une exposition fréquente au VIH semble nécessaire au maintien de la réponse innée de première ligne chez ces individus.

Ces résultats représentent les premiers pas dans la caractérisation des événements pouvant mener à la séroconversion chez ces individus. Étant donné le peu de participantes dans chacun des deux groupes, il n'est pas possible, pour le moment, de tirer des conclusions précises, appuyées par des tests statistiques, des mécanismes impliqués qui pourraient causer cette séroconversion et davantage d'études seront nécessaires. Toutefois, ce que nous observons est que les profils des « early convertir » semblent différents de ceux des « HESN convertir ». De plus, chez ces individus des changements comme la perte de facteurs associés à la protection au détriment de certaines molécules inflammatoires semble se profiler bien avant la séroconversion risquant d'impacter le profil des populations cellulaires présentes dans le compartiment sanguin et génital.

Conclusion

Les travaux présentés dans cette étude avaient pour objectif de caractériser les monocytes du compartiment sanguin et leur implication dans la génération de MoDCs de type tolérogénique ou DC-10 ainsi que d'étudier l'environnement chimiokinique et les Igs présents dans le compartiment sanguin et génital lors de la séroconversion.

Dans un premier temps, nous avons établi que les monocytes totaux du compartiment sanguin des HESNs semblent posséder un profil moléculaire distinct des autres groupes contrôles. En effet, les monocytes présentaient une augmentation de gènes associés à des fonctions effectrices dont plusieurs de ces gènes avaient été associés à des effets protecteurs dans divers essais vaccinaux grâce à leur implication dans la fonction ADCP. De plus, les monocytes des HESNs présentaient une augmentation de gènes de protection/contrôle de l'infection et de régulation. Cette augmentation de l'activation des monocytes chez les HESNs béninoises pourrait être liée à une certaine forme de régulation en lien avec cette activité ADCP et pourrait conférer au HESNs un avantage dans la résistance au virus. La caractérisation des sous-populations monocytaires des HESNs démontre une proportion légèrement élevée de non-classiques comparé aux autres sous-populations de monocytes sanguins. Ces sous-populations exprimaient davantage de molécules effectrices et régulatrices, suggérant un lien avec les MoDCs tolérogéniques observées.

Finalement, nous avons eu la chance de commencer la caractérisation du milieu chimiokinique et des Igs lors de la séroconversion au VIH. Ainsi, nous avons observé un profil différentiel entre les deux groupes à l'étude soit, les « early converter » et les « HESN converter ». De plus, des modifications de l'environnement chimiokinique et des Igs semblent se produire bien avant la séroconversion telle qu'une diminution des β -chimiokines dans le compartiment sanguin et mucosal. Ces résultats sont préliminaires et davantage de recherche sera nécessaire pour comprendre tous les mécanismes impliqués dans la séroconversion.

La présente étude nous a permis d'améliorer notre compréhension des mécanismes impliqués dans la résistance des HESNs béninoises à l'infection par le VIH. Ces connaissances pourraient aider à la conception d'immunothérapie cellulaire qui consiste à administrer à l'hôte, des MoDCs tolérogénique préalablement sensibilisées *in vitro* aux ARN viraux (364) ou à d'autres approches combinées qui utilisent un puissant médicament antirétroviral avec des MoDCs stimulés pour réactiver des réservoirs viraux (365, 366). Ces avenues semblent prometteuses pour la découverte d'un traitement thérapeutique.

Perspectives

Premièrement, une **caractérisation de l'activité ADCP par les monocytes** serait à envisager. En effet, les résultats préliminaires du chapitre 2 nous ont permis de constater que plusieurs gènes augmentés étaient en lien avec l'activité ADCP des monocytes. De plus, plusieurs essais vaccinaux avaient relié certains gènes à un effet protecteur contre le VIH. Ainsi, il serait intéressant de caractériser cette activité sur les sous-populations de monocytes, en vue de déterminer la dominance du profil ADCP spécifique à notre cohorte.

Deuxièmement, une **caractérisation du potentiel de différenciation des monocytes et sous-populations en MoDCs** serait nécessaire. Ceci permettrait de déterminer si le profil « tolérogénique/régulateur » des MoDCs provient, en effet, du profil différentiel observé chez les monocytes. Les résultats présentés au chapitre 2 ont démontré une preuve indirecte de ce mécanisme lors de l'identification d'un phénotype moléculaire plutôt tolérogénique et régulateur particulier aux monocytes des HESNs et qui pourrait, de ce fait, participer à la génération de ces MoDCs. Toutefois, il s'agit ici de faire une preuve directe de ces observations en effectuant la différenciation de chacune de ces sous-populations en MoDCs afin d'étudier leurs phénotypes.

Troisièmement, il serait intéressant de **caractériser d'avantage la séroconversion afin d'évaluer, de façon longitudinale et individuelle, les profils « tolérogéniques/régulateurs » observés chez les HESNs, lors de la séroconversion**. Nos observations initiales des séroconvertrices nous laissent supposer que des modifications de la réponse immunitaire semblent se profiler bien avant la séroconversion. Les monocytes et les MoDCs par leur profil « tolérogénique/régulateur » participent activement au maintien immunitaire observé chez les HESNs. Il serait donc pertinent de procéder à l'analyse transcriptomique et par cytométrie en flux des monocytes du sang circulant et MoDCs génitales chez les HESNs ayant séroconverties et de suivre les modulations de ces populations tout au long des visites des participantes jusqu'à leur séroconversion.

Références bibliographiques

1. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics 2020 fact sheet. 2020 [Available from: www.unaids.org.
2. Bomsel M, Tudor D, Drillet AS, Alfsen A, Ganor Y, Roger MG, et al. Immunization with HIV-1 gp41 subunit virosomes induces mucosal antibodies protecting nonhuman primates against vaginal SHIV challenges. *Immunity*. 2011;34(2):269-80.
3. Lajoie J, Juno J, Burgener A, Rahman S, Mogk K, Wachihi C, et al. A distinct cytokine and chemokine profile at the genital mucosa is associated with HIV-1 protection among HIV-exposed seronegative commercial sex workers. *Mucosal Immunology*. 2012;5(3):277-87.
4. Lajoie J, Poudrier J, Massinga Loembe M, Guédou F, Leblond F, Labbé AC, et al. Chemokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments are associated with HIV-1 infection in women from Benin. *Journal of clinical immunology*. 2010;30(1):90-8.
5. Blondin-Ladrie L, Aranguren M, Doyon-Laliberté K, Poudrier J, Roger M. The Importance of Regulation in Natural Immunity to HIV. *Vaccines*. 2021;9(3):271.
6. Poudrier J, Thibodeau V, Roger M. Natural Immunity to HIV: A Delicate Balance between Strength and Control. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012;2012:875821.
7. Trifonova RT, Lieberman J, van Baarle D. Distribution of immune cells in the human cervix and implications for HIV transmission. *American journal of reproductive immunology*. 2014;71(3):252-64.
8. Fowke KR, Nagelkerke NJ, Kimani J, Simonsen JN, Anzala AO, Bwayo JJ, et al. Resistance to HIV-1 infection among persistently seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya. *Lancet*. 1996;348(9038):1347-51.
9. Iqbal SM, Ball TB, Levinson P, Maranan L, Jaoko W, Wachihi C, et al. Elevated elafin/trappin-2 in the female genital tract is associated with protection against HIV acquisition. *AIDS*. 2009;23(13):1669-77.
10. Center for Disease Control. A cluster of Kaposi's sarcoma and Pneumocystis carinii pneumonia among homosexual male residents of Los Angeles and Orange Counties, California. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. 1982;31(23):305-7.
11. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *The New England journal of medicine*. 1981;305(24):1425-31.
12. Masur H, Michelis MA, Greene JB, Onorato I, Stouwe RA, Holzman RS, et al. An outbreak of community-acquired Pneumocystis carinii pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *The New England journal of medicine*. 1981;305(24):1431-8.
13. Center for Disease Control. Prevention of acquired immune deficiency syndrome (AIDS): report of inter-agency recommendations. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. 1983;32(8):101-3.
14. Center for Disease Control. Unexplained immunodeficiency and opportunistic infections in infants--New York, New Jersey, California. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. 1982;31(49):665-7.

15. Center for Disease Control. Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)--United States. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. 1982;31(37):507-8, 13-4.
16. Case K. Nomenclature: human immunodeficiency virus. *Annals of internal medicine*. 1986;105(1):133.
17. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220(4599):868-71.
18. Montagnier L. Historical essay. A history of HIV discovery. *Science*. 2002;298(5599):1727-8.
19. Huet T, Cheynier R, Meyerhans A, Roelants G, Wain-Hobson S. Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1. *Nature*. 1990;345(6273):356-9.
20. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *The Lancet Infectious diseases*. 2011;11(1):45-56.
21. Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2011;1(1):a006841.
22. Hirsch VM, Olmsted RA, Murphey-Corb M, Purcell RH, Johnson PR. An African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2. *Nature*. 1989;339(6223):389-92.
23. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*. 2010;46(1):5-14.
24. Gelderblom HR. Assembly and morphology of HIV: potential effect of structure on viral function. *AIDS*. 1991;5(6):617-37.
25. Gelderblom HR, Ozel M, Pauli G. Morphogenesis and morphology of HIV. Structure-function relations. *Archives of virology*. 1989;106(1-2):1-13.
26. Darlix JL, Godet J, Ivanyi-Nagy R, Fossé P, Mauffret O, Mély Y. Flexible nature and specific functions of the HIV-1 nucleocapsid protein. *Journal of molecular biology*. 2011;410(4):565-81.
27. Brady J, Kashanchi F. Tat gets the "green" light on transcription initiation. *Retrovirology*. 2005;2:69.
28. Freed EO. HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. *Virology*. 1998;251(1):1-15.
29. Jacks T, Power MD, Masiarz FR, Luciw PA, Barr PJ, Varmus HE. Characterization of ribosomal frameshifting in HIV-1 gag-pol expression. *Nature*. 1988;331(6153):280-3.
30. Hallenberger S, Bosch V, Angliker H, Shaw E, Klenk HD, Garten W. Inhibition of furin-mediated cleavage activation of HIV-1 glycoprotein gp160. *Nature*. 1992;360(6402):358-61.
31. Emerman M, Malim MH. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology. *Science*. 1998;280(5371):1880-4.
32. Musumeci D, Riccardi C, Montesarchio D. G-Quadruplex Forming Oligonucleotides as Anti-HIV Agents. *Molecules*. 2015;20(9):17511-32.
33. Sattentau QJ, Moore JP. The role of CD4 in HIV binding and entry. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*. 1993;342(1299):59-66.
34. Naif HM. Pathogenesis of HIV Infection. *Infectious disease reports*. 2013;5(Suppl 1):e6.
35. Moore JP, Trkola A, Dragic T. Co-receptors for HIV-1 entry. *Current opinion in immunology*. 1997;9(4):551-62.
36. Telesnitsky A, Goff SP. Reverse Transcriptase and the Generation of Retroviral DNA. In: Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE, editors. *Retroviruses*. Cold Spring Harbor NY: © 1997, Cold Spring Harbor Laboratory Press.; 1997.
37. Greene WC, Peterlin BM. Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy. *Nature medicine*. 2002;8(7):673-80.

38. Freed EO. HIV-1 replication. Somatic cell and molecular genetics. 2001;26(1-6):13-33.
39. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. Nature Reviews Disease Primers. 2015;1(1):15035.
40. Moir S, Chun T-W, Fauci AS. Pathogenic Mechanisms of HIV Disease. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2011;6(1):223-48.
41. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. The New England journal of medicine. 2011;364(20):1943-54.
42. Maartens G, Celum C, Lewin SR. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. Lancet. 2014;384(9939):258-71.
43. Lazarus E, Ot wombe K, Dietrich J, Andrasik MP, Morgan CA, Kublin JG, et al. Vaginal practices among women at risk for HIV acquisition in Soweto, South Africa. South Afr J HIV Med. 2019;20(1):866-.
44. Alcaide ML, Rodriguez VJ, Fischl MA, Jones DL, Weiss SM. Addressing intravaginal practices in women with HIV and at-risk for HIV infection, a mixed methods pilot study. Int J Womens Health. 2017;9:123-32.
45. Pantaleo G, Fauci AS. IMMUNOPATHOGENESIS OF HIV INFECTION. Annual Review of Microbiology. 1996;50(1):825-54.
46. Derdeyn CA, Silvestri G. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. Current opinion in immunology. 2005;17(4):366-73.
47. Hladik F, McElrath MJ. Setting the stage: host invasion by HIV. Nature reviews Immunology. 2008;8(6):447-57.
48. Lester RT, Yao XD, Ball TB, McKinnon LR, Kaul R, Wachih C, et al. Toll-like receptor expression and responsiveness are increased in viraemic HIV-1 infection. AIDS. 2008;22(6):685-94.
49. Li Q, Estes JD, Schlievert PM, Duan L, Brosnahan AJ, Southern PJ, et al. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. Nature. 2009;458(7241):1034-8.
50. Haase AT. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. Nature. 2010;464(7286):217-23.
51. McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. Nature reviews Immunology. 2010;10(1):11-23.
52. Mowat AM, Viney JL. The anatomical basis of intestinal immunity. Immunological reviews. 1997;156:145-66.
53. Grossman Z, Meier-Schellersheim M, Paul WE, Picker LJ. Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. Nature medicine. 2006;12(3):289-95.
54. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. The Journal of clinical investigation. 1998;101(4):746-54.
55. Carrington M, Alter G. Innate immune control of HIV. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012;2(7):a007070-a.
56. Phillips AN. Reduction of HIV concentration during acute infection: independence from a specific immune response. Science. 1996;271(5248):497-9.
57. Clark SJ, Saag MS, Decker WD, Campbell-Hill S, Roberson JL, Veldkamp PJ, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. The New England journal of medicine. 1991;324(14):954-60.

58. Cooper DA, Gold J, Maclean P, Donovan B, Finlayson R, Barnes TG, et al. Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet*. 1985;1(8428):537-40.
59. Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev*. 1993;57(1):183-289.
60. Mammano F, Labrosse B. Évolution du tropisme des populations virales dans l'histoire naturelle de l'infection par le VIH. *Virologie*. 2007;11(2):95-106.
61. Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, Price DA, Taylor JH, Beilman GJ, et al. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *The Journal of experimental medicine*. 2004;200(6):749-59.
62. Chu C, Selwyn PA. Complications of HIV infection: a systems-based approach. *American family physician*. 2011;83(4):395-406.
63. McCutchan JA. Virology, immunology, and clinical course of HIV infection. *Journal of consulting and clinical psychology*. 1990;58(1):5-12.
64. Phair JP. Keynote address: variations in the natural history of HIV infection. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 1994;10(8):883-5.
65. Sheppard HW, Ascher MS, McRae B, Anderson RE, Lang W, Allain JP. The initial immune response to HIV and immune system activation determine the outcome of HIV disease. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 1991;4(7):704-12.
66. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *Journal of virology*. 1994;68(7):4650-5.
67. Khanlou H, Salmon-Ceron D, Sicard D. [Characteristics of rapid progressors in HIV infection]. *Annales de medecine interne*. 1997;148(2):163-6.
68. Deeks SG, Walker BD. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity*. 2007;27(3):406-16.
69. Poropatich K, Sullivan DJ, Jr. Human immunodeficiency virus type 1 long-term non-progressors: the viral, genetic and immunological basis for disease non-progression. *The Journal of general virology*. 2011;92(Pt 2):247-68.
70. Walker BD, Yu XG. Unravelling the mechanisms of durable control of HIV-1. *Nature reviews Immunology*. 2013;13(7):487-98.
71. Imami N, Westrop SJ, Grageda N, Herasimtschuk AA. Long-Term Non-Progression and Broad HIV-1-Specific Proliferative T-Cell Responses. *Front Immunol*. 2013;4:58-.
72. Lopez-Galindez C, Pernas M, Casado C, Olivares I, Lorenzo-Redondo R. Elite controllers and lessons learned for HIV-1 cure. *Current opinion in virology*. 2019;38:31-6.
73. Bailey JR, Williams TM, Siliciano RF, Blankson JN. Maintenance of viral suppression in HIV-1-infected HLA-B*57+ elite suppressors despite CTL escape mutations. *The Journal of experimental medicine*. 2006;203(5):1357-69.
74. den Uyl D, van der Horst-Bruinsma IE, van Agtmael M. Progression of HIV to AIDS: a protective role for HLA-B27? *AIDS Reviews*. 2004;6(2):89-96.
75. Lamine A, Caumont-Sarcos A, Chaix ML, Saez-Cirion A, Rouzioux C, Delfraissy JF, et al. Replication-competent HIV strains infect HIV controllers despite undetectable viremia (ANRS EP36 study). *AIDS*. 2007;21(8):1043-5.
76. Anglemeyer A, Rutherford GW, Easterbrook PJ, Horvath T, Vitória M, Jan M, et al. Early initiation of antiretroviral therapy in HIV-infected adults and adolescents: a systematic review. *AIDS*. 2014;28 Suppl 2:S105-18.

77. Kostense S, Raaphorst FM, Joling J, Notermans DW, Prins JM, Danner SA, et al. T cell expansions in lymph nodes and peripheral blood in HIV-1-infected individuals: effect of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2001;15(9):1097-107.
78. Iyidogan P, Anderson KS. Current perspectives on HIV-1 antiretroviral drug resistance. *Viruses*. 2014;6(10):4095-139.
79. Esté JA, Cihlar T. Current status and challenges of antiretroviral research and therapy. *Antiviral research*. 2010;85(1):25-33.
80. Nguyen VK, Greenwald ZR, Trottier H, Cadieux M, Goyette A, Beauchemin M, et al. Incidence of sexually transmitted infections before and after preexposure prophylaxis for HIV. *AIDS*. 2018;32(4):523-30.
81. Smith DK, Grohskopf LA, Black RJ, Auerbach JD, Veronese F, Struble KA, et al. Antiretroviral postexposure prophylaxis after sexual, injection-drug use, or other nonoccupational exposure to HIV in the United States: recommendations from the U.S. Department of Health and Human Services. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. 2005;54(RR-2):1-20.
82. Herrera C, Shattock RJ. Candidate microbicides and their mechanisms of action. *Current topics in microbiology and immunology*. 2014;383:1-25.
83. Robb ML, Rerks-Ngarm S, Nitayaphan S, Pitisuttithum P, Kaewkungwal J, Kunasol P, et al. Risk behaviour and time as covariates for efficacy of the HIV vaccine regimen ALVAC-HIV (vCP1521) and AIDSVAX B/E: a post-hoc analysis of the Thai phase 3 efficacy trial RV 144. *The Lancet Infectious diseases*. 2012;12(7):531-7.
84. Kim JH, Excler JL, Michael NL. Lessons from the RV144 Thai phase III HIV-1 vaccine trial and the search for correlates of protection. *Annual review of medicine*. 2015;66:423-37.
85. Gray GE, Huang Y, Grunenberg N, Laher F, Roux S, Andersen-Nissen E, et al. Immune correlates of the Thai RV144 HIV vaccine regimen in South Africa. *Science translational medicine*. 2019;11(510).
86. Bruxelle JF, Trattinig N, Mureithi MW, Landais E, Pantophlet R. HIV-1 Entry and Prospects for Protecting against Infection. *Microorganisms*. 2021;9(2).
87. Karuna ST, Corey L. Broadly Neutralizing Antibodies for HIV Prevention. *Annual review of medicine*. 2020;71:329-46.
88. Liu Y, Cao W, Sun M, Li T. Broadly neutralizing antibodies for HIV-1: efficacies, challenges and opportunities. *Emerging microbes & infections*. 2020;9(1):194-206.
89. Kulkarni V, Ruprecht RM. Mucosal IgA Responses: Damaged in Established HIV Infection-Yet, Effective Weapon against HIV Transmission. *Front Immunol*. 2017;8:1581-.
90. Wira CR, Rodriguez-Garcia M, Patel MV. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nature reviews Immunology*. 2015;15(4):217-30.
91. Yeaman GR, Collins JE, Fanger MW, Wira CR, Lydyard PM. CD8+ T cells in human uterine endometrial lymphoid aggregates: evidence for accumulation of cells by trafficking. *Immunology*. 2001;102(4):434-40.
92. Pudney J, Quayle AJ, Anderson DJ. Immunological microenvironments in the human vagina and cervix: mediators of cellular immunity are concentrated in the cervical transformation zone. *Biology of reproduction*. 2005;73(6):1253-63.
93. Iwasaki A. Antiviral immune responses in the genital tract: clues for vaccines. *Nature reviews Immunology*. 2010;10(10):699-711.
94. Evans J, Salamonsen LA. Inflammation, leukocytes and menstruation. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 2012;13(4):277-88.

95. Yang X, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Ovarian and endometrial immunity during the ovarian cycle. *Journal of reproductive immunology*. 2019;133:7-14.
96. Oertelt-Prigione S. Immunology and the menstrual cycle. *Autoimmunity Reviews*. 2012;11(6):A486-A92.
97. Richards JS. The Ovarian Cycle. *Vitamins and hormones*. 2018;107:1-25.
98. King AE, Critchley HOD. Oestrogen and progesterone regulation of inflammatory processes in the human endometrium. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2010;120(2):116-26.
99. Medina-Estrada I, Alva-Murillo N, López-Meza JE, Ochoa-Zarzosa A. Immunomodulatory Effects of 17 β -Estradiol on Epithelial Cells during Bacterial Infections. *Journal of immunology research*. 2018;2018:6098961.
100. Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2014;289(3):479-89.
101. Aldunate M, Srbinovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramsland PA, Gugasyan R, et al. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Frontiers in physiology*. 2015;6:164.
102. Mijac VD, Dukić SV, Opavski NZ, Dukić MK, Ranin LT. Hydrogen peroxide producing lactobacilli in women with vaginal infections. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2006;129(1):69-76.
103. Amabebe E, Anumba DOC. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Frontiers in medicine*. 2018;5:181.
104. Aral SO, Over M, Manhart L, Holmes KK. Sexually Transmitted Infections. In: Jamison DT, Breman JG, Measham AR, Alleyne G, Claeson M, Evans DB, et al., editors. *Disease Control Priorities in Developing Countries*. Washington DC, New York: © The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank Group.; 2006.
105. Mwatelah R, McKinnon LR, Baxter C, Abdool Karim Q, Abdool Karim SS. Mechanisms of sexually transmitted infection-induced inflammation in women: implications for HIV risk. *Journal of the International AIDS Society*. 2019;22 Suppl 6(Suppl Suppl 6):e25346.
106. McKinnon LR, Achilles SL, Bradshaw CS, Burgener A, Crucitti T, Fredricks DN, et al. The Evolving Facets of Bacterial Vaginosis: Implications for HIV Transmission. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2019;35(3):219-28.
107. Lambert JA, John S, Sobel JD, Akins RA. Longitudinal analysis of vaginal microbiome dynamics in women with recurrent bacterial vaginosis: recognition of the conversion process. *PLoS One*. 2013;8(12):e82599.
108. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, Garland SM, Morris MB, Moss LM, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *The Journal of infectious diseases*. 2006;193(11):1478-86.
109. Masese L, Baeten JM, Richardson BA, Bukusi E, John-Stewart G, Graham SM, et al. Changes in the contribution of genital tract infections to HIV acquisition among Kenyan high-risk women from 1993 to 2012. *AIDS*. 2015;29(9):1077-85.
110. van de Wijgert JH, Morrison CS, Brown J, Kwok C, Van Der Pol B, Chipato T, et al. Disentangling contributions of reproductive tract infections to HIV acquisition in African Women. *Sexually transmitted diseases*. 2009;36(6):357-64.
111. Cole AM. Innate host defense of human vaginal and cervical mucosae. *Current topics in microbiology and immunology*. 2006;306:199-230.

112. Shukair SA, Allen SA, Cianci GC, Stieh DJ, Anderson MR, Baig SM, et al. Human cervicovaginal mucus contains an activity that hinders HIV-1 movement. *Mucosal Immunology*. 2013;6(2):427-34.
113. Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology*. 2008;1(3):183-97.
114. Gipson IK, Ho SB, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Zhan Q, Torlakovic E, et al. Mucin genes expressed by human female reproductive tract epithelia. *Biology of reproduction*. 1997;56(4):999-1011.
115. Barros C, Vigil P, Herrera E, Arguello B, Walker R. Selection of morphologically abnormal sperm by human cervical mucus. *Archives of andrology*. 1984;12 Suppl:95-107.
116. Elstein M. Functions and physical properties of mucus in the female genital tract. *British medical bulletin*. 1978;34(1):83-8.
117. Hashemi FB, Mollenhauer J, Madsen LD, Sha BE, Nacken W, Moyer MB, et al. Myeloid-related protein (MRP)-8 from cervico-vaginal secretions activates HIV replication. *AIDS*. 2001;15(4):441-9.
118. Lee-Huang S, Huang PL, Sun Y, Huang PL, Kung HF, Blithe DL, et al. Lysozyme and RNases as anti-HIV components in beta-core preparations of human chorionic gonadotropin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(6):2678-81.
119. Novak RM, Donoval BA, Graham PJ, Boksa LA, Spear G, Hershov RC, et al. Cervicovaginal levels of lactoferrin, secretory leukocyte protease inhibitor, and RANTES and the effects of coexisting vaginoses in human immunodeficiency virus (HIV)-seronegative women with a high risk of heterosexual acquisition of HIV infection. *Clinical and vaccine immunology*. 2007;14(9):1102-7.
120. Hein M, Valore EV, Helmig RB, Uldbjerg N, Ganz T. Antimicrobial factors in the cervical mucus plug. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187(1):137-44.
121. McNeely TB, Shugars DC, Rosendahl M, Tucker C, Eisenberg SP, Wahl SM. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 infectivity by secretory leukocyte protease inhibitor occurs prior to viral reverse transcription. *Blood*. 1997;90(3):1141-9.
122. Fahrbach KM, Malykhina O, Stieh DJ, Hope TJ. Differential binding of IgG and IgA to mucus of the female reproductive tract. *PLoS One*. 2013;8(10):e76176.
123. Wira CR, Patel MV, Ghosh M, Mukura L, Fahey JV. Innate immunity in the human female reproductive tract: endocrine regulation of endogenous antimicrobial protection against HIV and other sexually transmitted infections. *American journal of reproductive immunology*. 2011;65(3):196-211.
124. Wira CR, Fahey JV. A new strategy to understand how HIV infects women: identification of a window of vulnerability during the menstrual cycle. *AIDS*. 2008;22(15):1909-17.
125. Kutteh WH, Moldoveanu Z, Mestecky J. Mucosal immunity in the female reproductive tract: correlation of immunoglobulins, cytokines, and reproductive hormones in human cervical mucus around the time of ovulation. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 1998;14 Suppl 1:S51-5.
126. Luster AD. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Current opinion in immunology*. 2002;14(1):129-35.
127. Tayal V, Kalra BS. Cytokines and anti-cytokines as therapeutics--an update. *European journal of pharmacology*. 2008;579(1-3):1-12.
128. Rodriguez-Garcia M, Shen Z, Barr FD, Boesch AW, Ackerman ME, Kappes JC, et al. Dendritic cells from the human female reproductive tract rapidly capture and respond to HIV. *Mucosal Immunology*. 2017;10(2):531-44.

129. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(7):533-44.
130. Grant-Tschudy KS, Wira CR. Paracrine mediators of mouse uterine epithelial cell transepithelial resistance in culture. *Journal of reproductive immunology*. 2005;67(1-2):1-12.
131. Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert DW, Vasiliou V. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Human genomics*. 2010;5(1):30-55.
132. Fensterl V, Sen GC. Interferons and viral infections. *Biofactors*. 2009;35(1):14-20.
133. Raman D, Sobolik-Delmaire T, Richmond A. Chemokines in health and disease. *Experimental cell research*. 2011;317(5):575-89.
134. Rancez M, Couëdel-Courteille A, Cheynier R. Chemokines at mucosal barriers and their impact on HIV infection. *Cytokine & growth factor reviews*. 2012;23(4-5):233-43.
135. Gao D, Wu J, Wu YT, Du F, Aroh C, Yan N, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses. *Science*. 2013;341(6148):903-6.
136. Nazli A, Kafka JK, Ferreira VH, Anipindi V, Mueller K, Osborne BJ, et al. HIV-1 gp120 induces TLR2- and TLR4-mediated innate immune activation in human female genital epithelium. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2013;191(8):4246-58.
137. Schlaepfer E, Audigé A, Joller H, Speck RF. TLR7/8 triggering exerts opposing effects in acute versus latent HIV infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2006;176(5):2888-95.
138. Malim MH, Emerman M. HIV-1 accessory proteins--ensuring viral survival in a hostile environment. *Cell host & microbe*. 2008;3(6):388-98.
139. Langbein L, Grund C, Kuhn C, Praetzel S, Kartenbeck J, Brandner JM, et al. Tight junctions and compositionally related junctional structures in mammalian stratified epithelia and cell cultures derived therefrom. *European journal of cell biology*. 2002;81(8):419-35.
140. Blaskewicz CD, Pudney J, Anderson DJ. Structure and function of intercellular junctions in human cervical and vaginal mucosal epithelia. *Biology of reproduction*. 2011;85(1):97-104.
141. Meng W, Takeichi M. Adherens junction: molecular architecture and regulation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2009;1(6):a002899.
142. Nazli A, Chan O, Dobson-Belaire WN, Ouellet M, Tremblay MJ, Gray-Owen SD, et al. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation. *PLoS Pathogen*. 2010;6(4):e1000852.
143. Zeng R, Li X, Gorodeski GI. Estrogen abrogates transcervical tight junctional resistance by acceleration of occludin modulation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(10):5145-55.
144. Gonzalez SM, Aguilar-Jimenez W, Su RC, Rugeles MT. Mucosa: Key Interactions Determining Sexual Transmission of the HIV Infection. *Front Immunol*. 2019;10:144.
145. Hickey DK, Patel MV, Fahey JV, Wira CR. Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections. *Journal of reproductive immunology*. 2011;88(2):185-94.
146. Hart KM, Murphy AJ, Barrett KT, Wira CR, Guyre PM, Pioli PA. Functional expression of pattern recognition receptors in tissues of the human female reproductive tract. *Journal of reproductive immunology*. 2009;80(1-2):33-40.
147. Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, Hirota Y, Nose E, Morimoto C, et al. Expression of toll-like receptors 2, 3, 4, and 9 genes in the human endometrium during the menstrual cycle. *Journal of reproductive immunology*. 2007;74(1-2):53-60.

148. Yao Y, Xu XH, Jin L. Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. *Front Immunol.* 2019;10:792.
149. Ning F, Liu H, Lash GE. The Role of Decidual Macrophages During Normal and Pathological Pregnancy. *American journal of reproductive immunology.* 2016;75(3):298-309.
150. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *International journal of molecular sciences.* 2017;18(7).
151. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy.* 2017;2:17023-.
152. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature reviews Immunology.* 2003;3(1):23-35.
153. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology.* 2018;233(9):6425-40.
154. Givan AL, White HD, Stern JE, Colby E, Guyre PM, Wira CR, et al. Flow Cytometric Analysis of Leukocytes in the Human Female Reproductive Tract: Comparison of Fallopian Tube, Uterus, Cervix, and Vagina. *American Journal of Reproductive Immunology.* 1997;38(5):350-9.
155. Wira CR, Fahey JV, Sentman CL, Pioli PA, Shen L. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunological reviews.* 2005;206:306-35.
156. Kaldensjö T, Petersson P, Tolf A, Morgan G, Broliden K, Hirbod T. Detection of intraepithelial and stromal Langerin and CCR5 positive cells in the human endometrium: potential targets for HIV infection. *PLoS One.* 2011;6(6):e21344.
157. Salamonsen LA, Zhang J, Brasted M. Leukocyte networks and human endometrial remodelling. *Journal of reproductive immunology.* 2002;57(1-2):95-108.
158. Chambers M, Rees A, Cronin JG, Nair M, Jones N, Thornton CA. Macrophage Plasticity in Reproduction and Environmental Influences on Their Function. *Front Immunol.* 2020;11:607328.
159. Shen R, Richter HE, Clements RH, Novak L, Huff K, Bimczok D, et al. Macrophages in vaginal but not intestinal mucosa are monocyte-like and permissive to human immunodeficiency virus type 1 infection. *Journal of virology.* 2009;83(7):3258-67.
160. Merad M, Sathe P, Helft J, Miller J, Mortha A. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annual review of immunology.* 2013;31:563-604.
161. Di Pucchio T, Chatterjee B, Smed-Sörensen A, Clayton S, Palazzo A, Montes M, et al. Direct proteasome-independent cross-presentation of viral antigen by plasmacytoid dendritic cells on major histocompatibility complex class I. *Nature immunology.* 2008;9(5):551-7.
162. Wacleche VS, Tremblay CL, Routy JP, Ancuta P. The Biology of Monocytes and Dendritic Cells: Contribution to HIV Pathogenesis. *Viruses.* 2018;10(2).
163. Guiducci C, Ott G, Chan JH, Damon E, Calacsan C, Matray T, et al. Properties regulating the nature of the plasmacytoid dendritic cell response to Toll-like receptor 9 activation. *The Journal of experimental medicine.* 2006;203(8):1999-2008.
164. Galicia G, Gommerman JL. Plasmacytoid dendritic cells and autoimmune inflammation. *Biological chemistry.* 2014;395(3):335-46.
165. Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, Vacca C, Belladonna ML, Bianchi R, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nature immunology.* 2011;12(9):870-8.
166. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science.* 2010;327(5966):656-61.

167. Schlitzer A, McGovern N, Ginhoux F. Dendritic cells and monocyte-derived cells: Two complementary and integrated functional systems. *Seminars in cell & developmental biology*. 2015;41:9-22.
168. Reynolds G, Haniffa M. Human and Mouse Mononuclear Phagocyte Networks: A Tale of Two Species? *Front Immunol*. 2015;6:330.
169. Bigley V, McGovern N, Milne P, Dickinson R, Pagan S, Cookson S, et al. Langerin-expressing dendritic cells in human tissues are related to CD1c⁺ dendritic cells and distinct from Langerhans cells and CD141^{high} XCR1⁺ dendritic cells. *Journal of leukocyte biology*. 2015;97(4):627-34.
170. Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends in Immunology*. 2002;23(9):445-9.
171. Comi M, Amodio G, Gregori S. Interleukin-10-Producing DC-10 Is a Unique Tool to Promote Tolerance Via Antigen-Specific T Regulatory Type 1 Cells. *Front Immunol*. 2018;9:682.
172. Gregori S, Tomasoni D, Pacciani V, Scirpoli M, Battaglia M, Magnani CF, et al. Differentiation of type 1 T regulatory cells (Tr1) by tolerogenic DC-10 requires the IL-10-dependent ILT4/HLA-G pathway. *Blood*. 2010;116(6):935-44.
173. Chang CC, Ciubotariu R, Manavalan JS, Yuan J, Colovai AI, Piazza F, et al. Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nature immunology*. 2002;3(3):237-43.
174. Granot T, Senda T, Carpenter DJ, Matsuoka N, Weiner J, Gordon CL, et al. Dendritic Cells Display Subset and Tissue-Specific Maturation Dynamics over Human Life. *Immunity*. 2017;46(3):504-15.
175. Shen R, Kappes JC, Smythies LE, Richter HE, Novak L, Smith PD. Vaginal myeloid dendritic cells transmit founder HIV-1. *Journal of virology*. 2014;88(13):7683-8.
176. Zajonc DM, Elsliger MA, Teyton L, Wilson IA. Crystal structure of CD1a in complex with a sulfatide self antigen at a resolution of 2.15 Å. *Nature immunology*. 2003;4(8):808-15.
177. Iliev ID, Spadoni I, Mileti E, Matteoli G, Sonzogni A, Sampietro GM, et al. Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut*. 2009;58(11):1481-9.
178. Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annual review of immunology*. 2009;27:669-92.
179. Morante-Palacios O, Fondelli F, Ballestar E, Martínez-Cáceres EM. Tolerogenic Dendritic Cells in Autoimmunity and Inflammatory Diseases. *Trends in Immunology*. 2021;42(1):59-75.
180. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations (*). *Annual review of immunology*. 2010;28:445-89.
181. Holtmeier W, Kabelitz D. gammadelta T cells link innate and adaptive immune responses. *Chemical immunology and allergy*. 2005;86:151-83.
182. Sallusto F, Zielinski CE, Lanzavecchia A. Human Th17 subsets. *European Journal of Immunology*. 2012;42(9):2215-20.
183. Yagi H, Nomura T, Nakamura K, Yamazaki S, Kitawaki T, Hori S, et al. Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *International immunology*. 2004;16(11):1643-56.
184. Mai J, Wang H, Yang XF. Th 17 cells interplay with Foxp3⁺ Tregs in regulation of inflammation and autoimmunity. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. 2010;15:986-1006.
185. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clinical and experimental immunology*. 2007;148(1):32-46.
186. O'Garra A, Vieira PL, Vieira P, Goldfeld AE. IL-10-producing and naturally occurring CD4⁺ Tregs: limiting collateral damage. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(10):1372-8.

187. Jetten AM. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nuclear receptor signaling*. 2009;7:e003.
188. Bannard O, Kraman M, Fearon D. Pathways of memory CD8+ T-cell development. *European journal of immunology*. 2009;39(8):2083-7.
189. Shresta S, Pham CT, Thomas DA, Graubert TA, Ley TJ. How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? *Current opinion in immunology*. 1998;10(5):581-7.
190. Saba E, Grivel JC, Vanpouille C, Brichacek B, Fitzgerald W, Margolis L, et al. HIV-1 sexual transmission: early events of HIV-1 infection of human cervico-vaginal tissue in an optimized ex vivo model. *Mucosal Immunology*. 2010;3(3):280-90.
191. Johansson EL, Rudin A, Wassén L, Holmgren J. Distribution of lymphocytes and adhesion molecules in human cervix and vagina. *Immunology*. 1999;96(2):272-7.
192. White HD, Crassi KM, Givan AL, Stern JE, Gonzalez JL, Memoli VA, et al. CD3+ CD8+ CTL activity within the human female reproductive tract: influence of stage of the menstrual cycle and menopause. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1997;158(6):3017-27.
193. Yeaman GR, Guyre PM, Fanger MW, Collins JE, White HD, Rathbun W, et al. Unique CD8+ T cell-rich lymphoid aggregates in human uterine endometrium. *Journal of leukocyte biology*. 1997;61(4):427-35.
194. Arruvito L, Sanz M, Banham AH, Fainboim L. Expansion of CD4+CD25+and FOXP3+ regulatory T cells during the follicular phase of the menstrual cycle: implications for human reproduction. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2007;178(4):2572-8.
195. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2013;131(4):959-71.
196. Pillai S, Cariappa A. The follicular versus marginal zone B lymphocyte cell fate decision. *Nature reviews Immunology*. 2009;9(11):767-77.
197. Scapini P, Nardelli B, Nadali G, Calzetti F, Pizzolo G, Montecucco C, et al. G-CSF-stimulated neutrophils are a prominent source of functional B_{LyS}. *The Journal of experimental medicine*. 2003;197(3):297-302.
198. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001;97(1):198-204.
199. Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM, He B, Schaffer A, Casali P, et al. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through B_{LyS} and APRIL. *Nature immunology*. 2002;3(9):822-9.
200. Lavie F, Miceli-Richard C, Quillard J, Roux S, Leclerc P, Mariette X. Expression of BAFF (B_{LyS}) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjögren's syndrome. *The Journal of pathology*. 2004;202(4):496-502.
201. Panchanathan R, Choubey D. Murine BAFF expression is up-regulated by estrogen and interferons: implications for sex bias in the development of autoimmunity. *Molecular immunology*. 2013;53(1-2):15-23.
202. Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nature reviews Immunology*. 2013;13(2):118-32.
203. De Silva NS, Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. *Nature reviews Immunology*. 2015;15(3):137-48.
204. Oliver AM, Martin F, Kearney JF. IgM^{high}CD21^{high} lymphocytes enriched in the splenic marginal zone generate effector cells more rapidly than the bulk of follicular B cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1999;162(12):7198-207.
205. Moir S, Fauci AS. Insights into B cells and HIV-specific B-cell responses in HIV-infected individuals. *Immunological reviews*. 2013;254(1):207-24.

206. Weill JC, Weller S, Reynaud CA. Human marginal zone B cells. *Annual review of immunology*. 2009;27:267-85.
207. Ansel KM, Ngo VN, Hyman PL, Luther SA, Förster R, Sedgwick JD, et al. A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature*. 2000;406(6793):309-14.
208. Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, Rawlings DJ, Isenberg DA, Ehrenstein MR, et al. CD19(+)/CD24(hi)/CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients. *Immunity*. 2010;32(1):129-40.
209. Rosser EC, Mauri C. Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity*. 2015;42(4):607-12.
210. Doyon-Laliberté K, Chagnon-Choquet J, Byrns M, Aranguren M, Memmi M, Chrobak P, et al. NR4A Expression by Human Marginal Zone B-Cells. *Antibodies (Basel)*. 2019;8(4).
211. Brandtzaeg P, Farstad IN, Johansen FE, Morton HC, Norderhaug IN, Yamanaka T. The B-cell system of human mucosae and exocrine glands. *Immunological reviews*. 1999;171(1):45-87.
212. Johansson M, Lycke NY. Immunology of the human genital tract. *Current opinion in infectious diseases*. 2003;16(1):43-9.
213. Li Z, Palaniyandi S, Zeng R, Tuo W, Roopenian DC, Zhu X. Transfer of IgG in the female genital tract by MHC class I-related neonatal Fc receptor (FcRn) confers protective immunity to vaginal infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(11):4388.
214. Muldoon KA, King R, Zhang W, Birungi J, Nanfuka M, Tibengana S, et al. Sexual Health Consequences of Forced Sexual Debut Among Ugandan Women in HIV Serodiscordant Partnerships: Results From the HAARP Study. *Journal of interpersonal violence*. 2018;33(11):1731-47.
215. Mwinnyaa G, Gray RH, Grabowski MK, Ssekasanvu J, Ndyababo A, Ssekubugu R, et al. Brief Report: Age-Disparate Relationships and HIV Prevalence Among Never Married Women in Rakai, Uganda. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2018;79(4):430-4.
216. Adimora AA, Hughes JP, Wang J, Haley DF, Golin CE, Magnus M, et al. Characteristics of multiple and concurrent partnerships among women at high risk for HIV infection. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2014;65(1):99-106.
217. Carlos S, Lopez-Del Burgo C, Burgueño E, Martinez-Gonzalez MA, Osorio A, Ndarabu A, et al. Male condom use, multiple sexual partners and HIV: a prospective case-control study in Kinshasa (DRC). *AIDS Care*. 2017;29(6):772-81.
218. Bomsel M. Transcytosis of infectious human immunodeficiency virus across a tight human epithelial cell line barrier. *Nature medicine*. 1997;3(1):42-7.
219. Fontenot D, He H, Hanabuchi S, Nehete PN, Zhang M, Chang M, et al. TSLP production by epithelial cells exposed to immunodeficiency virus triggers DC-mediated mucosal infection of CD4+ T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(39):16776-81.
220. Cleret-Buhot A, Zhang Y, Planas D, Goulet JP, Monteiro P, Gosselin A, et al. Identification of novel HIV-1 dependency factors in primary CCR4(+)/CCR6(+)/Th17 cells via a genome-wide transcriptional approach. *Retrovirology*. 2015;12:102.
221. Geijtenbeek TB, Kwon DS, Torensma R, van Vliet SJ, van Duijnhoven GC, Middel J, et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell*. 2000;100(5):587-97.
222. Malim MH, Bieniasz PD. HIV Restriction Factors and Mechanisms of Evasion. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012;2(5):a006940.
223. McDonald D. Dendritic Cells and HIV-1 Trans-Infection. *Viruses*. 2010;2(8):1704-17.

224. Hong PW, Flummerfelt KB, de Parseval A, Gurney K, Elder JH, Lee B. Human immunodeficiency virus envelope (gp120) binding to DC-SIGN and primary dendritic cells is carbohydrate dependent but does not involve 2G12 or cyanovirin binding sites: implications for structural analyses of gp120-DC-SIGN binding. *Journal of virology*. 2002;76(24):12855-65.
225. Byrreddy SN, Kallam B, Arthos J, Cicala C, Nawaz F, Hiatt J, et al. Targeting $\alpha 4\beta 7$ integrin reduces mucosal transmission of simian immunodeficiency virus and protects gut-associated lymphoid tissue from infection. *Nature medicine*. 2014;20(12):1397-400.
226. Miller CJ, Li Q, Abel K, Kim EY, Ma ZM, Wietgreffe S, et al. Propagation and dissemination of infection after vaginal transmission of simian immunodeficiency virus. *Journal of virology*. 2005;79(14):9217-27.
227. Stieh DJ, Matias E, Xu H, Fought AJ, Blanchard JL, Marx PA, et al. Th17 Cells Are Preferentially Infected Very Early after Vaginal Transmission of SIV in Macaques. *Cell host & microbe*. 2016;19(4):529-40.
228. Shang L, Duan L, Perkey KE, Wietgreffe S, Zupancic M, Smith AJ, et al. Epithelium-innate immune cell axis in mucosal responses to SIV. *Mucosal Immunology*. 2017;10(2):508-19.
229. Rodriguez-Garcia M, Barr FD, Crist SG, Fahey JV, Wira CR. Phenotype and susceptibility to HIV infection of CD4+ Th17 cells in the human female reproductive tract. *Mucosal Immunology*. 2014;7(6):1375-85.
230. Favre D, Mold J, Hunt PW, Kanwar B, Loke P, Seu L, et al. Tryptophan catabolism by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 alters the balance of TH17 to regulatory T cells in HIV disease. *Science translational medicine*. 2010;2(32):32ra6.
231. Dupont M, Sattentau QJ. Macrophage Cell-Cell Interactions Promoting HIV-1 Infection. *Viruses*. 2020;12(5).
232. Bertram KM, Botting RA, Baharlou H, Rhodes JW, Rana H, Graham JD, et al. Identification of HIV transmitting CD11c(+) human epidermal dendritic cells. *Nature communications*. 2019;10(1):2759.
233. Horton RE, McLaren PJ, Fowke K, Kimani J, Ball TB. Cohorts for the study of HIV-1-exposed but uninfected individuals: benefits and limitations. *The Journal of infectious diseases*. 2010;202 Suppl 3:S377-81.
234. Meyers AF, Fowke KR. International symposium on natural immunity to HIV: a gathering of the HIV-exposed seronegative clan. *The Journal of infectious diseases*. 2010;202 Suppl 3:S327-8.
235. Lajoie J, Poudrier J, Massinga-Loembe M, Guédou F, Agossa-Gbenafa C, Labbé AC, et al. Differences in immunoregulatory cytokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments of HIV-1-infected commercial sex workers in Benin. *Mucosal Immunology*. 2008;1(4):309-16.
236. Card CM, Ball TB, Fowke KR. Immune quiescence: a model of protection against HIV infection. *Retrovirology*. 2013;10:141.
237. Chege D, Chai Y, Huibner S, Kain T, Wachih C, Kimani M, et al. Blunted IL17/IL22 and pro-inflammatory cytokine responses in the genital tract and blood of HIV-exposed, seronegative female sex workers in Kenya. *PLoS One*. 2012;7(8):e43670.
238. Schellenberg JJ, Plummer FA. The Microbiological Context of HIV Resistance: Vaginal Microbiota and Mucosal Inflammation at the Viral Point of Entry. *International journal of inflammation*. 2012;2012:131243.
239. Yao XD, Omange RW, Henrick BM, Lester RT, Kimani J, Ball TB, et al. Acting locally: innate mucosal immunity in resistance to HIV-1 infection in Kenyan commercial sex workers. *Mucosal Immunology*. 2014;7(2):268-79.

240. Card CM, McLaren PJ, Wachihhi C, Kimani J, Plummer FA, Fowke KR. Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells. *The Journal of infectious diseases*. 2009;199(9):1318-22.
241. Alimonti JB, Koesters SA, Kimani J, Matu L, Wachihhi C, Plummer FA, et al. CD4+ T cell responses in HIV-exposed seronegative women are qualitatively distinct from those in HIV-infected women. *The Journal of infectious diseases*. 2005;191(1):20-4.
242. Fowke KR, Kaul R, Rosenthal KL, Oyugi J, Kimani J, Rutherford WJ, et al. HIV-1-specific cellular immune responses among HIV-1-resistant sex workers. *Immunology and cell biology*. 2000;78(6):586-95.
243. Kaul R, Plummer FA, Kimani J, Dong T, Kiama P, Rostron T, et al. HIV-1-specific mucosal CD8+ lymphocyte responses in the cervix of HIV-1-resistant prostitutes in Nairobi. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2000;164(3):1602-11.
244. Fourcade L, Sabourin-Poirier C, Perraud V, Faucher MC, Chagnon-Choquet J, Labbé AC, et al. Natural Immunity to HIV is associated with Low BLyS/BAFF levels and low frequencies of innate marginal zone like CD1c+ B-cells in the genital tract. *PLoS Pathogen*. 2019;15(6):e1007840.
245. Fontaine J, Chagnon-Choquet J, Valcke HS, Poudrier J, Roger M. High expression levels of B lymphocyte stimulator (BLyS) by dendritic cells correlate with HIV-related B-cell disease progression in humans. *Blood*. 2011;117(1):145-55.
246. Chagnon-Choquet J, Gauvin J, Roger J, Fontaine J, Poudrier J, Roger M. HIV Nef promotes expression of B-lymphocyte stimulator by blood dendritic cells during HIV infection in humans. *The Journal of infectious diseases*. 2015;211(8):1229-40.
247. Gauvin J, Chagnon-Choquet J, Poudrier J, Roger M. Fluctuations in Blood Marginal Zone B-Cell Frequencies May Reflect Migratory Patterns Associated with HIV-1 Disease Progression Status. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155868.
248. Fourcade L, Poudrier J, Roger M. Natural Immunity to HIV: A Template for Vaccine Strategies. *Viruses*. 2018;10(4).
249. Kaul R, Trabattoni D, Bwayo JJ, Arienti D, Zagliani A, Mwangi FM, et al. HIV-1-specific mucosal IgA in a cohort of HIV-1-resistant Kenyan sex workers. *AIDS*. 1999;13(1):23-9.
250. Devito C, Broliden K, Kaul R, Svensson L, Johansen K, Kiama P, et al. Mucosal and Plasma IgA from HIV-1-Exposed Uninfected Individuals Inhibit HIV-1 Transcytosis Across Human Epithelial Cells. *The Journal of Immunology*. 2000;165(9):5170.
251. Bélec L, Ghys PD, Hocini H, Nkengasong JN, Tranchot-Diallo J, Diallo MO, et al. Cervicovaginal secretory antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that block viral transcytosis through tight epithelial barriers in highly exposed HIV-1-seronegative African women. *The Journal of infectious diseases*. 2001;184(11):1412-22.
252. Hocini H, Bomsel M. Infectious human immunodeficiency virus can rapidly penetrate a tight human epithelial barrier by transcytosis in a process impaired by mucosal immunoglobulins. *The Journal of infectious diseases*. 1999;179 Suppl 3:S448-53.
253. Batrville LA, Richard J, Veillette M, Labbé AC, Alary M, Guédou F, et al. Short communication: Anti-HIV-1 envelope immunoglobulin Gs in blood and cervicovaginal samples of Beninese commercial sex workers. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2014;30(11):1145-9.
254. Wills S, Hwang KK, Liu P, Dennison SM, Tay MZ, Shen X, et al. HIV-1-Specific IgA Monoclonal Antibodies from an HIV-1 Vaccinee Mediate Galactosylceramide Blocking and Phagocytosis. *Journal of virology*. 2018;92(7).

255. Williams WB, Liao HX, Moody MA, Kepler TB, Alam SM, Gao F, et al. HIV-1 VACCINES. Diversion of HIV-1 vaccine-induced immunity by gp41-microbiota cross-reactive antibodies. *Science*. 2015;349(6249):aab1253.
256. Tomaras GD, Yates NL, Liu P, Qin L, Fouda GG, Chavez LL, et al. Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia. *Journal of virology*. 2008;82(24):12449-63.
257. Ball TB, Ji H, Kimani J, McLaren P, Marlin C, Hill AV, et al. Polymorphisms in IRF-1 associated with resistance to HIV-1 infection in highly exposed uninfected Kenyan sex workers. *AIDS*. 2007;21(9):1091-101.
258. Ji H, Ball TB, Ao Z, Kimani J, Yao X, Plummer FA. Reduced HIV-1 long terminal repeat transcription in subjects with protective interferon regulatory factor-1 genotype: a potential mechanism mediating resistance to infection by HIV-1. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2010;42(5):389-94.
259. Suresh P, Wanchu A, Bhatnagar A, Sachdeva RK, Sharma M. Spontaneous and antigen-induced chemokine production in exposed but uninfected partners of HIV type 1-infected individuals in North India. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2007;23(2):261-8.
260. Remes Lenicov F, Rodriguez Rodrigues C, Sabatté J, Cabrini M, Jancic C, Ostrowski M, et al. Semen promotes the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2012;189(10):4777-86.
261. Abdulhaqq SA, Zorrilla C, Kang G, Yin X, Tamayo V, Seaton KE, et al. HIV-1-negative female sex workers sustain high cervical IFN ϵ , low immune activation, and low expression of HIV-1-required host genes. *Mucosal Immunology*. 2016;9(4):1027-38.
262. Kaul R, Rowland-Jones SL, Kimani J, Dong T, Yang H-B, Kiama P, et al. Late seroconversion in HIV-resistant Nairobi prostitutes despite pre-existing HIV-specific CD8 $^{+}$ responses. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(3):341-9.
263. Thibodeau V, Fourcade L, Labbé AC, Alary M, Guédou F, Poudrier J, et al. Highly-Exposed HIV-1 seronegative Female Commercial Sex Workers sustain in their genital mucosa increased frequencies of tolerogenic myeloid and regulatory T-cells. *Scientific reports*. 2017;7:43857.
264. Doyle T, Goujon C, Malim MH. HIV-1 and interferons: who's interfering with whom? *Nature reviews Microbiology*. 2015;13(7):403-13.
265. Serbina NV, Jia T, Hohl TM, Pamer EG. Monocyte-mediated defense against microbial pathogens. *Annual review of immunology*. 2008;26:421-52.
266. Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14(6):392-404.
267. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature reviews Immunology*. 2005;5(12):953-64.
268. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*. 1989;74(7):2527-34.
269. Goyert SM, Ferrero E, Rettig WJ, Yenamandra AK, Obata F, Le Beau MM. The CD14 monocyte differentiation antigen maps to a region encoding growth factors and receptors. *Science*. 1988;239(4839):497-500.
270. Polletti S, Natoli G. Understanding Spontaneous Conversion: The Case of the Ly6C(-) Monocyte. *Immunity*. 2017;46(5):764-6.
271. Mildner A, Schönheit J, Giladi A, David E, Lara-Astiaso D, Lorenzo-Vivas E, et al. Genomic Characterization of Murine Monocytes Reveals C/EBP β Transcription Factor Dependence of Ly6C(-) Cells. *Immunity*. 2017;46(5):849-62 e7.

272. Anbazhagan K, Duroux-Richard I, Jorgensen C, Apparailly F. Transcriptomic network support distinct roles of classical and non-classical monocytes in human. *International reviews of immunology*. 2014;33(6):470-89.
273. Qu C, Brinck-Jensen NS, Zang M, Chen K. Monocyte-derived dendritic cells: targets as potent antigen-presenting cells for the design of vaccines against infectious diseases. *International Society for Infectious Diseases*. 2014;19:1-5.
274. Cros J, Cagnard N, Woollard K, Patey N, Zhang S-Y, Senechal B, et al. Human CD14^{dim} Monocytes Patrol and Sense Nucleic Acids and Viruses via TLR7 and TLR8 Receptors. *Immunity*. 2010;33(3):375-86.
275. Thomas G, Tacke R, Hedrick CC, Hanna RN. Nonclassical patrolling monocyte function in the vasculature. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015;35(6):1306-16.
276. Shalova IN, Kajiji T, Lim JY, Gómez-Piña V, Fernández-Ruiz I, Arnalich F, et al. CD16 regulates TRIF-dependent TLR4 response in human monocytes and their subsets. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2012;188(8):3584-93.
277. Boyette LB, Macedo C, Hadi K, Elinoff BD, Walters JT, Ramaswami B, et al. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS One*. 2017;12(4):e0176460.
278. Wong KL, Yeap WH, Tai JJ, Ong SM, Dang TM, Wong SC. The three human monocyte subsets: implications for health and disease. *Immunologic research*. 2012;53(1-3):41-57.
279. Veenhuis RT, Abreu CM, Shirk EN, Gama L, Clements JE. HIV replication and latency in monocytes and macrophages. *Seminars in immunology*. 2021:101472.
280. Patel AA, Zhang Y, Fullerton JN, Boelen L, Rongvaux A, Maini AA, et al. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *The Journal of experimental medicine*. 2017;214(7):1913-23.
281. Hanna RN, Carlin LM, Hubbeling HG, Nackiewicz D, Green AM, Punt JA, et al. The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C⁻ monocytes. *Nature immunology*. 2011;12(8):778-85.
282. Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity*. 2018;49(4):595-613.
283. Bain CC, Scott CL, Uronen-Hansson H, Gudjonsson S, Jansson O, Grip O, et al. Resident and pro-inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors. *Mucosal Immunology*. 2013;6(3):498-510.
284. Kratofil RM, Kubes P, Deniset JF. Monocyte Conversion During Inflammation and Injury. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2017;37(1):35-42.
285. Mukherjee R, Kanti Barman P, Kumar Thatoi P, Tripathy R, Kumar Das B, Ravindran B. Non-Classical monocytes display inflammatory features: Validation in Sepsis and Systemic Lupus Erythematosus. *Scientific reports*. 2015;5:13886.
286. Wacleche VS, Cattin A, Goulet JP, Gauchat D, Gosselin A, Cleret-Buhot A, et al. CD16(+) monocytes give rise to CD103(+)RALDH2(+)TCF4(+) dendritic cells with unique transcriptional and immunological features. *Blood advances*. 2018;2(21):2862-78.
287. Sánchez-Torres C, García-Romo GS, Cornejo-Cortés MA, Rivas-Carvalho A, Sánchez-Schmitz G. CD16⁺ and CD16⁻ human blood monocyte subsets differentiate in vitro to dendritic cells with different abilities to stimulate CD4⁺ T cells. *International immunology*. 2001;13(12):1571-81.
288. Randolph GJ, Sanchez-Schmitz G, Liebman RM, Schäkel K. The CD16(+) (FcγRIII(+)) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting. *The Journal of experimental medicine*. 2002;196(4):517-27.

289. Wacleche VS, Chomont N, Gosselin A, Monteiro P, Goupil M, Kared H, et al. The colocalization potential of HIV-specific CD8+ and CD4+ T-cells is mediated by integrin β 7 but not CCR6 and regulated by retinoic acid. *PLoS One*. 2012;7(3):e32964.
290. Zhang Z, Li J, Zheng W, Zhao G, Zhang H, Wang X, et al. Peripheral Lymphoid Volume Expansion and Maintenance Are Controlled by Gut Microbiota via RALDH+ Dendritic Cells. *Immunity*. 2016;44(2):330-42.
291. Tel-Karthauss N, Kers-Rebel ED, Looman MW, Ichinose H, de Vries CJ, Ansems M. Nuclear Receptor Nur77 Deficiency Alters Dendritic Cell Function. *Front Immunol*. 2018;9:1797.
292. Boulet S, Daudelin JF, Odagiu L, Pelletier AN, Yun TJ, Lesage S, et al. The orphan nuclear receptor NR4A3 controls the differentiation of monocyte-derived dendritic cells following microbial stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116(30):15150-9.
293. Kim WK, Sun Y, Do H, Autissier P, Halpern EF, Piatak M, Jr., et al. Monocyte heterogeneity underlying phenotypic changes in monocytes according to SIV disease stage. *Journal of leukocyte biology*. 2010;87(4):557-67.
294. Amirayan-Chevillard N, Tissot-Dupont H, Capo C, Brunet C, Dignat-George F, Obadia Y, et al. Impact of highly active anti-retroviral therapy (HAART) on cytokine production and monocyte subsets in HIV-infected patients. *Clinical and experimental immunology*. 2000;120(1):107-12.
295. Ancuta P, Kamat A, Kunstman KJ, Kim EY, Autissier P, Wurcel A, et al. Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS One*. 2008;3(6):e2516.
296. Anzinger JJ, Butterfield TR, Angelovich TA, Crowe SM, Palmer CS. Monocytes as Regulators of Inflammation and HIV-Related Comorbidities during cART. *Journal of Immunology Research*. 2014;2014:569819.
297. Triques K, Stevenson M. Characterization of restrictions to human immunodeficiency virus type 1 infection of monocytes. *Journal of virology*. 2004;78(10):5523-7.
298. Aljawai Y, Richards MH, Seaton MS, Narasipura SD, Al-Harhi L. β -Catenin/TCF-4 signaling regulates susceptibility of macrophages and resistance of monocytes to HIV-1 productive infection. *Current HIV research*. 2014;12(3):164-73.
299. Rabezanahary H, Clain J, Racine G, Andreani G, Benmadid-Laktout G, Borde C, et al. Early Antiretroviral Therapy Prevents Viral Infection of Monocytes and Inflammation in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques. *Journal of virology*. 2020;94(22):e01478-20.
300. Ellery PJ, Tippett E, Chiu YL, Paukovics G, Cameron PU, Solomon A, et al. The CD16+ monocyte subset is more permissive to infection and preferentially harbors HIV-1 in vivo. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2007;178(10):6581-9.
301. Jansen CA, De Cuyper IM, Steingrover R, Jurriaans S, Sankatsing SU, Prins JM, et al. Analysis of the effect of highly active antiretroviral therapy during acute HIV-1 infection on HIV-specific CD4 T cell functions. *AIDS*. 2005;19(11):1145-54.
302. Nabatanzi R, Cose S, Joloba M, Jones SR, Nakanjako D. Effects of HIV infection and ART on phenotype and function of circulating monocytes, natural killer, and innate lymphoid cells. *AIDS Research Therapy*. 2018;15(1):7.
303. Han J, Wang B, Han N, Zhao Y, Song C, Feng X, et al. CD14(high)CD16(+) rather than CD14(low)CD16(+) monocytes correlate with disease progression in chronic HIV-infected patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2009;52(5):553-9.
304. Thomas GD, Hamers AAJ, Nakao C, Marcovecchio P, Taylor AM, McSkimming C, et al. Human Blood Monocyte Subsets: A New Gating Strategy Defined Using Cell Surface Markers Identified by Mass Cytometry. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2017;37(8):1548-58.

305. Attanasio J, Wherry EJ. Costimulatory and Coinhibitory Receptor Pathways in Infectious Disease. *Immunity*. 2016;44(5):1052-68.
306. Khaitan A, Kravietz A, Mwamzuka M, Marshed F, Ilmet T, Said S, et al. FOXP3+Helios+Regulatory T Cells, Immune Activation, and Advancing Disease in HIV-Infected Children. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2016;72(5):474-84.
307. Amodio G, Gregori S. Human tolerogenic DC-10: perspectives for clinical applications. *Transplantation research*. 2012;1(1):14.
308. Levings MK, Sangregorio R, Galbiati F, Squadrone S, de Waal Malefyt R, Roncarolo MG. IFN-alpha and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2001;166(9):5530-9.
309. Lajoie J, Kimani M, Plummer FA, Nyamiobo F, Kaul R, Kimani J, et al. Association of sex work with reduced activation of the mucosal immune system. *The Journal of infectious diseases*. 2014;210(2):319-29.
310. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. . Vienna, Austria2020.
311. Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, McGowan LDA, François R, et al. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*.
312. Wickham H. Reshaping Data with the reshape Package. *Journal of Statistical Software, Articles*. 2007;21(12):1-20.
313. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*: Springer-Verlag New York; 2016.
314. Horikoshi M, Tang Y. *ggfortify: Data Visualization Tools for Statistical Analysis Results*. 2018.
315. Tang Y, Horikoshi M, Li W. *ggfortify: Unified Interface to Visualize Statistical Result of Popular R Packages*. *The R Journal*. 2016;8(2):474-85.
316. Auguie B. *gridExtra: Miscellaneous Functions for "Grid" Graphics*. 2015.
317. Kassambara A. *ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots*. 2020.
318. Wilke C, Fox SJ, Bates T, Manalo K, Lang B, Barrett M, et al. *wilkelab/cowplot: 1.1.1*. Zenodo; 2021.
319. Ehrenberg PK, Shangguan S, Issac B, Alter G, Geretz A, Izumi T, et al. A vaccine-induced gene expression signature correlates with protection against SIV and HIV in multiple trials. *Science translational medicine*. 2019;11(507).
320. Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J, Chiu J, Paris R, et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *The New England journal of medicine*. 2009;361(23):2209-20.
321. Shangguan S, Ehrenberg PK, Geretz A, Yum L, Kundu G, May K, et al. Monocyte-derived transcriptome signature indicates antibody-dependent cellular phagocytosis as the primary mechanism of vaccine-induced protection against HIV-1. *bioRxiv*. 2021:2021.05.12.443737.
322. Tay MZ, Wiehe K, Pollara J. Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis in Antiviral Immune Responses. *Front Immunol*. 2019;10:332.
323. Li SS, Gilbert PB, Tomaras GD, Kijak G, Ferrari G, Thomas R, et al. FCGR2C polymorphisms associate with HIV-1 vaccine protection in RV144 trial. *The Journal of clinical investigation*. 2014;124(9):3879-90.
324. Lassaunière R, Paximadis M, Ebrahim O, Chaisson RE, Martinson NA, Tiemessen CT. The FCGR2C allele that modulated the risk of HIV-1 infection in the Thai RV144 vaccine trial is implicated in HIV-1 disease progression. *Genes and immunity*. 2019;20(8):651-9.
325. Zhao NQ, Vendrame E, Ferreira AM, Seiler C, Ranganath T, Alary M, et al. Natural killer cell phenotype is altered in HIV-exposed seronegative women. *PLoS One*. 2020;15(9):e0238347.
326. Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol*. 2018;9:1869.

327. Yeap WH, Wong KL, Shimasaki N, Teo EC, Quek JK, Yong HX, et al. CD16 is indispensable for antibody-dependent cellular cytotoxicity by human monocytes. *Scientific reports*. 2016;6:34310.
328. Haynes BF, Gilbert PB, McElrath MJ, Zolla-Pazner S, Tomaras GD, Alam SM, et al. Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. *The New England journal of medicine*. 2012;366(14):1275-86.
329. Mayr LM, Su B, Moog C. Non-Neutralizing Antibodies Directed against HIV and Their Functions. *Front Immunol*. 2017;8:1590.
330. Vaidya NK, Ribeiro RM, Liu P, Haynes BF, Tomaras GD, Perelson AS. Correlation Between Anti-gp41 Antibodies and Virus Infectivity Decay During Primary HIV-1 Infection. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1326.
331. Duchemin M, Khamassi M, Xu L, Tudor D, Bomsel M. IgA Targeting Human Immunodeficiency Virus-1 Envelope gp41 Triggers Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Cross-Clade and Cooperates with gp41-Specific IgG to Increase Cell Lysis. *Front Immunol*. 2018;9:244.
332. Duchemin M, Tudor D, Cottignies-Calamarte A, Bomsel M. Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis of HIV-1-Infected Cells Is Efficiently Triggered by IgA Targeting HIV-1 Envelope Subunit gp41. *Front Immunol*. 2020;11:1141.
333. Gunn B, Schneider J, Shansab M, Bastian AR, Fahrback K, Smith At, et al. Enhanced binding of antibodies generated during chronic HIV infection to mucus component MUC16. *Mucosal Immunology*. 2016;9(6):1549-58.
334. Liu Y, Li X, Han Y, Qiu Z, Song X, Li B, et al. High APRIL Levels Are Associated With Slow Disease Progression and Low Immune Activation in Chronic HIV-1-Infected Patients. *Frontiers in medicine*. 2020;7:299.
335. Huynh JP, Lin CC, Kimmey JM, Jarjour NN, Schwarzkopf EA, Bradstreet TR, et al. Bhlhe40 is an essential repressor of IL-10 during Mycobacterium tuberculosis infection. *The Journal of experimental medicine*. 2018;215(7):1823-38.
336. Zhu J, Luo L, Tian L, Yin S, Ma X, Cheng S, et al. Aryl Hydrocarbon Receptor Promotes IL-10 Expression in Inflammatory Macrophages Through Src-STAT3 Signaling Pathway. *Front Immunol*. 2018;9:2033.
337. Bandukwala HS, Rao A. 'Nurr'ishing Treg cells: Nr4a transcription factors control Foxp3 expression. *Nature immunology*. 2013;14(3):201-3.
338. Fujimoto Y, Tedder TF. CD83: a regulatory molecule of the immune system with great potential for therapeutic application. *Journal of medical and dental sciences*. 2006;53(2):85-91.
339. Duren RP, Boudreaux SP, Conneely OM. Genome Wide Mapping of NR4A Binding Reveals Cooperativity with ETS Factors to Promote Epigenetic Activation of Distal Enhancers in Acute Myeloid Leukemia Cells. *PLoS One*. 2016;11(3):e0150450.
340. Chen L, Fan F, Wu L, Zhao Y. The nuclear receptor 4A family members: mediators in human disease and autophagy. *Cellular & molecular biology letters*. 2020;25(1):48.
341. Boudreaux SP, Duren RP, Call SG, Nguyen L, Freire PR, Narayanan P, et al. Drug targeting of NR4A nuclear receptors for treatment of acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2019;33(1):52-63.
342. Safe S, Jin UH, Morpurgo B, Abudayyeh A, Singh M, Tjalkens RB. Nuclear receptor 4A (NR4A) family - orphans no more. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2016;157:48-60.
343. Dobbs KR, Crabtree JN, Dent AE. Innate immunity to malaria-The role of monocytes. *Immunological reviews*. 2020;293(1):8-24.
344. Kapellos TS, Bonaguro L, Gemünd I, Reusch N, Saglam A, Hinkley ER, et al. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 2019;10:2035.

345. Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, Hanna RN, Glover L, Vizcay-Barrena G, et al. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell*. 2013;153(2):362-75.
346. Lajoie J, Massinga Loembe M, Poudrier J, Guédou F, Pépin J, Labbé AC, et al. Blood soluble human leukocyte antigen G levels are associated with human immunodeficiency virus type 1 infection in Beninese commercial sex workers. *Human immunology*. 2010;71(2):182-5.
347. Mkhize NN, Durgiah R, Ashley V, Archary D, Garrett NJ, Karim QA, et al. Broadly neutralizing antibody specificities detected in the genital tract of HIV-1 infected women. *AIDS*. 2016;30(7):1005-14.
348. Tomaras GD, Binley JM, Gray ES, Crooks ET, Osawa K, Moore PL, et al. Polyclonal B cell responses to conserved neutralization epitopes in a subset of HIV-1-infected individuals. *Journal of virology*. 2011;85(21):11502-19.
349. Lillard JW, Jr., Singh UP, Boyaka PN, Singh S, Taub DD, McGhee JR. MIP-1alpha and MIP-1beta differentially mediate mucosal and systemic adaptive immunity. *Blood*. 2003;101(3):807-14.
350. Verhoeven D, George MD, Hu W, Dang AT, Smit-McBride Z, Reay E, et al. Enhanced innate antiviral gene expression, IFN- α , and cytolytic responses are predictive of mucosal immune recovery during simian immunodeficiency virus infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2014;192(7):3308-18.
351. Sabourin-Poirier C, Fourcade L, Chagnon-Choquet J, Labbé AC, Alary M, Guédou F, et al. Blood B Lymphocyte Stimulator (BLyS)/BAFF levels may reflect natural immunity to HIV in highly exposed uninfected Beninese Commercial Sex Workers. *Scientific reports*. 2016;6:32318.
352. Fischer-Smith T, Tedaldi EM, Rappaport J. CD163/CD16 coexpression by circulating monocytes/macrophages in HIV: potential biomarkers for HIV infection and AIDS progression. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2008;24(3):417-21.
353. Pereyra F, Lo J, Triant VA, Wei J, Buzon MJ, Fitch KV, et al. Increased coronary atherosclerosis and immune activation in HIV-1 elite controllers. *AIDS*. 2012;26(18):2409-12.
354. von Bülow GU, van Deursen JM, Bram RJ. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity*. 2001;14(5):573-82.
355. LeMaoult J, Krawice-Radanne I, Dausset J, Carosella ED. HLA-G1-expressing antigen-presenting cells induce immunosuppressive CD4+ T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(18):7064-9.
356. Ristich V, Zhang W, Liang S, Horuzsko A. Mechanisms of prolongation of allograft survival by HLA-G/ILT4-modified dendritic cells. *Human immunology*. 2007;68(4):264-71.
357. Thibodeau V, Lajoie J, Labbé AC, Zannou MD, Fowke KR, Alary M, et al. High level of soluble HLA-G in the female genital tract of Beninese commercial sex workers is associated with HIV-1 infection. *PLoS One*. 2011;6(9):e25185.
358. Cribier A, Descours B, Valadão AL, Laguette N, Benkirane M. Phosphorylation of SAMHD1 by cyclin A2/CDK1 regulates its restriction activity toward HIV-1. *Cell reports*. 2013;3(4):1036-43.
359. Saitoh SI, Abe F, Kanno A, Tanimura N, Mori Saitoh Y, Fukui R, et al. TLR7 mediated viral recognition results in focal type I interferon secretion by dendritic cells. *Nature communications*. 2017;8(1):1592.
360. Sandler NG, Bosinger SE, Estes JD, Zhu RT, Tharp GK, Boritz E, et al. Type I interferon responses in rhesus macaques prevent SIV infection and slow disease progression. *Nature*. 2014;511(7511):601-5.
361. Gomez AM, Ouellet M, Tremblay MJ. HIV-1-triggered release of type I IFN by plasmacytoid dendritic cells induces BAFF production in monocytes. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2015;194(5):2300-8.

362. He B, Qiao X, Klasse PJ, Chiu A, Chadburn A, Knowles DM, et al. HIV-1 envelope triggers polyclonal Ig class switch recombination through a CD40-independent mechanism involving BAFF and C-type lectin receptors. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2006;176(7):3931-41.
363. Chu VT, Enghard P, Riemekasten G, Berek C. In vitro and in vivo activation induces BAFF and APRIL expression in B cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2007;179(9):5947-57.
364. Coelho AV, de Moura RR, Kamada AJ, da Silva RC, Guimarães RL, Brandão LA, et al. Dendritic Cell-Based Immunotherapies to Fight HIV: How Far from a Success Story? A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(12).
365. van der Sluis RM, van Montfort T, Pollakis G, Sanders RW, Speijer D, Berkhout B, et al. Dendritic cell-induced activation of latent HIV-1 provirus in actively proliferating primary T lymphocytes. *PLoS Pathogen*. 2013;9(3):e1003259.
366. van Montfort T, Speijer D, Berkhout B. Dendritic cells as natural latency reversing agent: A wake-up call for HIV-1. *Virulence*. 2017;8(8):1494-7.

Annexes

Annexe 1: Revue

The Importance of Regulation in Natural Immunity to HIV

Contribution détaillée des auteurs:

❖ Rédaction de l'article :

Laurence Blondin-Ladrie, Matheus Aranguren, Kim Doyon-Laliberté, Johanne Poudrier, Michel Roger.

Vaccines 2021, Special Issue, 9, 271, <https://doi.org/10.3390/vaccines9030271>

Laurence Blondin-Ladrie^{1,2}, Matheus Aranguren^{1,2}, Kim Doyon-Laliberté^{1,2}, Johanne Poudrier^{1,2*}, Michel Roger^{1,2,3*}.

¹Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Qc, Canada.

²Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie de l'Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada.

³Institut National de Santé Publique du Québec, Québec, Canada.

*co-seniorship

Word count in text: 7356

Word count in abstract: 151

Number of figures 1

Reference count: 197

Address correspondence to: Johanne Poudrier (johanne.poudrier@crchum.qc.ca); Michel Roger (michel.roger@ssss.gouv.qc.ca).

Abstract

Worldwide, most Human Immunodeficiency Virus (HIV) infections are acquired through heterosexual intercourse, and in sub-Saharan Africa, 59% of new HIV infections affect women. Vaccines and microbicides hold promise for preventing the acquisition of HIV. To this end, the study of HIV highly exposed seronegative (HESN) female commercial sex workers (CSWs), who constitute a model of natural immunity to HIV, provides an exceptional opportunity to determine important clues for the development of preventive strategies. Studies using both female genital tract (FGT) and peripheral blood samples of HESNs CSWs, have allowed identifying distinct features, notably low-inflammatory patterns associated with resistance to infection. How this seemingly regulated response is achieved at the initial site of HIV infection remains unknown. One hypothesis is that populations presenting regulatory profiles contribute to the orchestration of potent anti-viral and low-inflammatory responses at the initial site of HIV transmission. Here, we view to update our knowledge regarding this issue.

Keywords: natural immunity; HIV; highly exposed seronegative (HESN); regulatory cells

1 Introduction

Approximately 38 million people are living with HIV/Acquired Immuno-Deficiency Syndrome (AIDS) worldwide. Most HIV infections are acquired through heterosexual intercourse, and in Africa, 59% of new infections affect women [1]. There is currently no cure for HIV and the development of vaccines and microbicides remains the best solution to eradicate the pandemic. We believe that efforts to develop effective devices should aim at mimicking and/or soliciting innate and adaptive immune responses, such as those observed in the context of natural immunity to HIV. Among heavily HIV-exposed female commercial sex workers (CSWs), some women remain uninfected (resistant) despite several years of exposure. These HIV highly exposed seronegative (HESN) individuals therefore constitute an exceptional model of natural immunity to HIV. To this end, the comparison of samples from HESN CSWs and women involved in sex work but not yet HESN should always be considered to control the effects of sex work itself on genital immunology [2]. Several groups have identified HESN individuals among African female CSWs as well as among other CSW cohorts around the world [3–6]. Analyses of blood and genital samples from HESN CSWs have demonstrated potent anti-inflammatory conditions. We established a cohort of female CSWs in Benin and have identified individuals who remain HIV-uninfected after more than seven years of active prostitution. So far, analysis of the host response in the female genital tract (FGT) and in peripheral blood of Beninese HIV- infected and HESN CSWs allowed us to identify distinct features, notably inflammatory patterns associated with either susceptibility or resistance to infection. More precisely, we have shown that Beninese HESNs maintain low genital inflammatory conditions to prevent HIV infection [7,8], a feature which has also been observed in other groups of HESNs [3,5,6]. In agreement with these observations, we recently reported that B lymphocyte stimulator (BLyS)/B-cell activation factor (BAFF) levels were reduced in both blood [9] and FGT [10] of Beninese HESNs when compared to HIV-uninfected non-CSWs and HIV-infected CSWs. Interestingly, these HESNs presented elevated interferon (IFN)- α levels in their genital samples, which were concomitant with elevated frequencies of myeloid Human Leukocyte Antigen-DR isotype (HLA-DR)⁺ cells expressing high levels of regulatory molecules [11]. How this anti-viral but seemingly regulated response is achieved at the initial site of HIV infection remains unknown. We believe that populations presenting regulatory profiles may contribute to the

orchestration of potent anti-viral and low-inflammatory responses at the initial site of HIV transmission.

2 The FGT

The complexity of the FGT has been previously thoroughly reviewed [12]. To summarize, the FGT and associated lymphoid structures are part of the mucosal associated lymphoid tissue (MALT), which also includes the gastro-intestinal lymphoid tissue (GALT). As such, studies on the GALT have often been used to guide FGT investigations in different populations due to the difficulty in obtaining ethical consent and samples. A unique particularity of FGT immunity is that it is tightly regulated by a hormonal/inflammatory process throughout the menstrual cycle, having to deal with the pressure of procreation, as well as with commensal and pathogenic microbial control. The FGT is subdivided into phenotypically distinct upper and lower regions, which are separated by a transformation zone, which is highly populated by HIV target cells (see below). The upper FGT is composed of the uterine endometrium, fallopian tubes and the endocervix, which level of sterility depends on the menstrual phase. The upper FGT is covered by single layered columnar epithelial cells, it also presents lymphoid aggregates, which can vary during menstrual cycle and are composed of cluster of differentiation (CD)8⁺ T-cells surrounding a B-cell core, encapsulated by macrophages. The lower FGT consists of the non-sterile vagina and the ectocervix and is covered by a stratified squamous epithelium. It is in this region that is located the commensal microflora (see below). The first line of defense in the FGT is the acidic milieu and the mucus layer containing immune mediators, such as antimicrobial agents, antibodies (Abs), complement and cytokines, forming a chemical barrier [13]. Abs are pivotal to FGT mucosal immunity. Unlike the GALT where immunoglobulin (Ig)A predominate [14], at FGT mucosal sites, both IgA and IgG are produced, but IgG predominate [14,15]. IgG are produced locally in the lamina propria by local plasma cells or systemically and can be transported across epithelial cells, via the neonatal Fc receptor (FcRn), to the lumen [15]. Moreover, this transport is bidirectional, as FcRn can transport antigen complexed-IgG back from the lumen and thereafter solicit regional effector functions from leukocytes (see section on natural immunity) [14,15]. IgA, and to a lesser extent IgM, are produced locally, mainly as polymeric containing a joining J chain. Both can translocate across epithelial cells to generate luminal secretory IgA (SIgA) or IgM (SIgM) via the *polymeric Ig receptor* (pIgR).

Mucosal SIgA, and to some extent SIgM, can mediate protection by trapping, neutralizing and preventing transcytosis [14]. Moreover, in GALT, antigen complexed SIgA can be taken from the apical to basolateral side of the epithelium through M cells, and thereafter mediate leukocyte effector functions (see section on natural immunity) [14]. It is most likely that populations guarantying the function of M cells are present in the FGT, but have yet to be characterized.

Epithelial cells are pivotal to mucosal integrity and form an uninterrupted barrier between the lumen and underlying cells. Through cross-talk with sub-mucosal dendritic cells (DCs) and Langherans cells (LCs), epithelial cells contribute to the orchestration of innate and adaptive mucosal responses and maintenance of a homeostatic balance between tolerance vs defense [12,16–18]. As such, pattern recognition receptor (PRR) sensing, such as via Toll-like Receptors (TLRs), contributes to the production of chemokines and cytokines that help shape the outcome of innate and adaptive mucosal responses [12,16–18].

3 The FGT in the Context of HIV

The number of sexual partners and their risk characteristics as well as early sexual debut (before age 14) and the failure to use condoms are among the best documented behavioral risk factors for HIV sexual transmission [19]. Intravaginal practices such as cleansing or usage of products for hygienic or sexual reasons can also lead to increased HIV infection risk [20,21]. Among the most compelling biologic risk factors are the presence of vaginosis and sexually transmitted infections (STIs), high viral load and low CD4 lymphocyte counts in the infectious contact, and possibly viral virulence and tropism [19]. HIV can cross the epithelial barrier when the junctions between the epithelial cells are loosened due to pro-inflammatory factors such as tumor necrosis factor (TNF) [22] and/or by sustained activity of effector T-cells in the early stages of the infection [23]. Also, epithelial cells, which appear to be not infected, allow for endocytosis of the virus via the galactosylceramide receptor (GalCer), which is highly expressed at the luminal pole of epithelial cells, and can bind to the HIV Envelope (Env) glycoproteins gp120 and gp41 [24] permitting the transfer of the virus to sub-mucosal DC populations and transmission to CD4⁺ target T-cells [25–27]. Another way for endocytosis of HIV by FGT epithelial cells is via gp340, a scavenger receptor, activating TLR7 signaling then promoting the production of pro-inflammatory thymic stromal

lymphopoietin (TSLP), activating sub-mucosal DCs and promoting HIV transmission to CD4⁺ target T-cells [28].

Several reports in humans and non-human primates (NHP) have suggested that LCs and DCs at mucosal surfaces are of the earliest leukocytes to be exposed, and possibly infected by HIV or Simian Immunodeficiency Virus (SIV), and migrate to lamina propria and draining lymph nodes to facilitate transmission of the virus to permissive cells [16,27,29–32]. The virus can be internalized by mucosal LCs and DCs via C-type lectin receptors such as Langerin or Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin (DC-SIGN) (CD209), which are highly expressed by these populations and can bind to HIV Env [33–36]. After internalization, the virus can be transferred to CD4⁺ C-C Motif Chemokine Receptor (CCR)5⁺ effector target T-cells either locally or in lymphoid organs [32]. LCs can actually cluster with DCs to favor cross-presentation of HIV to CD8⁺ T-cells [33]. The HIV vaginal infection model was mostly developed by studying SIV infection in NHP [37,38]. In this model, it was shown that following vaginal transmission, the preferential target cells were CD4⁺ T-cells of the T helper (Th)17 lineage [39–41]. Strong doses of SIV in the vaginal mucosa were shown to cause an increase of the chemokine macrophage inflammatory protein-3 alpha (MIP-3 α)/Chemokine C-C motif ligand 20 (CCL20), produced by both murine [42] and human [43] mucosal epithelial cells, and which attracted populations such as plasmacytoid DC (pDC), Th17 and LC precursors at the cervical epithelium [38,43]. The principal ligand of CCL20 being CCR6, which is expressed by immature LC/DC, pDC and Th17 cells [44]. Studies demonstrated that early blocking of CCL20 prevented cellular recruitment and establishment of an inflammatory milieu, reducing infection despite repeated exposures to SIV [45,46].

It is now widely assumed that mucosal Th17 effectors are the main targets for HIV/SIV and massive depletion of these cells following infection establishment results in an eventual critical loss of balance favoring accumulation of cells with a T-cell regulatory (Treg) phenotype in HIV/SIV infected subjects [47–49]. In infectious or inflammatory conditions, certain DC populations produce the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), which is up-regulated by IFN- α and TLR agonists [42,50]. This enzyme is key in the regulation of the balance between Treg/Th17 [51]. Augmentation of IDO causes an imbalance in the ratio between Treg/Th17 marked by a depletion of Th17 and a gradual expansion of Tregs [19,23,38,40,46,52]. This imbalance

contributes to a persistent inflammatory state in the context of HIV chronic infection [49]. Moreover, this dysregulation is increased by altered CCR6⁺ cell homing patterns [53]. In humans, Th17 differentiation requires transcriptional regulator retinoic acid-related orphan receptor (ROR)Gt and differentiation factors such as transforming growth factor (TGF)- β , interleukin (IL)-1, IL-6, IL-21 and IL-23 [54–56]. Th17 cells produce IL-17, IL-21 and IL-22 to maintain the integrity of the epithelial barrier and defend the organism against bacterial and fungal pathogens [40]. Th17 express α 4 β 7 integrins at their surface to be able to interact with mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1), which mediates their homing to the gastrointestinal, respiratory and urogenital mucosa [57–60]. The α 4 β 7 integrin can also be used by certain strains of HIV to facilitate attachment. Although Th17 are the main targets of HIV, it has been shown that mucosa-resident LCs and DCs contribute to the selection process of the HIV founder strain [61,62]. Moreover, in a recent study, macrophages were shown to play an important role in dissemination and cell-to-cell transmission of the virus [63].

Overall, epithelial cells and sub-mucosal DCs and LCs, as well as macrophages, play critical roles in the establishment of HIV infection mainly through PRR sensing, including TLRs which expression and responsiveness are increased in the HIV context [64], and subsequent transmission to Th17 targets. Perturbed activities of these populations nourish the inflammatory context eventually leading to a breach in the Treg/Th17 homeostatic balance in the context of disease progression (reviewed in [16,19]). Of note, in healthy women, neutrophils constitute 10–20% of genital leukocytes. It has been recently shown that stimulation of these neutrophils with HIV-like particles induced the expansion of neutrophil extracellular traps (NETs). Furthermore, pre-formed genital NETs totally inactivated infectious HIV, suggesting an important role for neutrophil responses in the battle against HIV [65].

4 The FGT Microbiota in the HIV Context

In the past decade, the vaginal microbiome has emerged as a critical modulator of inflammation in the FGT and impacts on susceptibility versus protection against infections.

An indicator of a healthy microflora is characterized by a dominance of the genus *Lactobacillus* spp., which produces lactic acid rendering the environment acidic [66]. Another way that

lactobacilli protect the FGT against pathogens is by producing bacteriostatic compounds and antimicrobial peptides [67,68]. Their presence limits the colonization of the FGT by other microorganisms who have to compete for attachment to the epithelium [69].

Vaginal microbiota dysbiosis happens when the dominance of *Lactobacillus* spp. decreases [70]. This shift is marked by an increase in microbial diversity, which involves obligate and facultative anaerobes and more Gram-negative bacteria inducing bacterial vaginosis (BV) [70,71]. This dysbiosis is characterized by a decrease in production of lactic acid resulting in basification of the FGT (pH > 4.5). Another consequence of BV is an elevated level of mucin-degradative enzymes that watery the mucus layer [72]. Due to all of these changes, BV causes disruptions of the mucosal epithelium barrier, increases the inflammatory response and immune activation [73]. Altogether, BV has been reported to increase the risk of acquisition of HIV by approximately 1.5 fold [74]. Multiple studies tend to confirm the conclusions that BV increase inflammatory responses and recruitment of target CD4⁺ T-cells [75–78]. It has also been shown that BV can augment the risk of acquisition of STIs such as *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* [79]. Due to BV persistence [80] and recurrence even when treated [81] this condition can contribute to the population attributable risk (PAR) of HIV infection. In addition, two studies suggest that BV contributes even more to HIV PAR than any other genital condition, except Herpes simplex virus-2 (HSV-2), to HIV susceptibility [82,83]. Infection by the Human Papilloma Virus (HPV) causes activation of cervical CD4⁺ T-cells and a higher recruitment rate of T-cells to the FGT. The high levels of HIV target cells as well as lesions in the epithelium caused by the multiplication of HPV increase the susceptibility to HIV infection [84].

One of the major consequences of STIs is often the destruction of the mucosal barrier by inducing inflammation, damages to the epithelium, and massive recruitment of HIV target cells at the site of infection [85]. Even though they cause such trouble, some STIs, such as *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*, are difficult to diagnose because of the lack of symptoms in infected women. Studies have reported that there is a greater than three-fold higher risk of contracting HIV when the person already has an STI [86].

Recently, research on the gut and other niches' microbiota have described the virome's role in the microflora. Despite all the studies, the impact of the virome on the FGT remains unclear and must be studied further. Still it can be linked to bacterial variations and other health issues. More studies

on this matter could help better understand the interactions in the microflora that can shape the immunity of the FGT [87]. Overall, vaginal dysbiosis and inflammation increase the susceptibility of infection to HIV.

5 Natural Immunity to HIV Infection

Natural immunity to HIV infection is likely to be a multifactorial complex process, which involves environmentally and/or genetically determined factors [3–6]. It is now well accepted that protection against HIV infection in HESN female CSWs is linked with a low-inflammatory/activation profile both in blood and genital compartments [3,5,6]. It was shown that neutralizing proteins, such as anti-proteases and high levels of anti-inflammatory factors are found in the genital mucosa of HESN CSWs [5,88]. Moreover, genetic polymorphisms such as for the interferon regulatory factor (IRF)-1 have been shown to confer a lower infection risk by HIV [89,90]. Still, further exploration is required in order to fully harness elements of natural immunity, which will lead the path to designing preventive strategies. We and others have previously reviewed this concept (reviewed in [3–6,16,19]) and will therefore herein concentrate our efforts by presenting new aspects of natural immunity against HIV infection such as found in HESN female CSWs, and more particularly as regarding its regulation.

Although it is tempting to attribute a role for differential microbiota composition in the shaping of natural immunity to HIV of HESN individuals, current observations do not point to this fact (see Fowke, Broliden, and collaborators in the Vaccines 2021 Special Issue).

To allow procreation, the FGT must become tolerant to seminal fluids but this is accompanied by an increased risk of STIs. To reduce this risk, surveillance from the immune system is increased by recruitment of populations such as DCs and granulocytes as well as changes in the structure of epithelial surfaces [91]. However, the semen contains mediators, such as high levels of IL-10, TGF- β and Prostaglandin E2, inducing a more tolerogenic profile in the FGT [92,93]. In a cohort of CSWs from Puerto Rico, it was found that high exposure to seminal fluids may up-regulate type I IFN ϵ expression in the FGT of HESNs inducing changes that reduce HIV susceptibility, which might explain, in part, the HESN status in this cohort [94].

In a Spanish cohort of serodiscordant couples, it was observed that HESNs produce antibodies that can reduce the binding between HIV gp120 and host receptors $\alpha 4\beta 7$ and DC-SIGN, possibly reducing HIV spreading to the MALT [95].

In a cohort of heavily exposed women from Kenya, HIV-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocyte (CTL) and CD4⁺ T-cell poly-functional responses were found in HESN CSWs [96,97]. When compared to HIV-infected CSWs, CD4⁺ T-cells from these HESNs had a greater ability to proliferate in response to HIV p24 peptides [97,98]. Furthermore, when whole blood of HESNs and HIV-uninfected CSWs from this cohort were compared on a molecular basis, it was found that HESNs have lower expression levels of genes involved in T-cell receptor signaling and host factors required for HIV replication [99]. Moreover, in these same group of women as well as in those from Côte d'Ivoire, HESNs presented HIV Env-specific cross-clade neutralizing mucosal IgA, which blocked viral transcytosis through tight epithelial barriers [3,100,101]. We could not detect substantial IgA1 or IgA2 reactivity to HIV Env glycoproteins in the cervico-vaginal lavage (CVL)s of Beninese HESN CSWs [10]. To date, studies have reported contradictory results regarding anti-HIV-specific IgA responses in the genital tract of HESNs [3,10,100–105]. These discrepancies may be linked to the relatively small sample size and/or the different techniques used to detect Env-reactive Abs. Also, the fact that most genital Igs are found in the mucus [106], may preclude the detection of certain Ig isotypes in CVLs. Yet, we have previously detected anti-HIV Env-specific IgG with neutralizing and antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) functions in the blood and CVL samples from Beninese HIV-infected CSWs but not in those from HESNs [107]. However, we could detect IgG1 reactivity to gp41 in some HESNs [10], which could be derived from a microbiota reactive, possibly first-line B-cell pool [108], as most gp41 Abs are known to cross-react with microbiota [109]. These observations may imply that natural immunity to HIV in Beninese HESN CSWs is not mediated by IgG neutralizing or ADCC responses, and may involve other functions of Abs that can confer some level of protection, as is now being suggested by a growing body of evidence [110–112].

Analyses of correlates of protection from the RV144 vaccine trial had suggested that decreased HIV acquisition was linked to blood derived IgG1 and IgG3-mediated ADCC activity toward the HIV Env V1V2 region [113]. It was shown that RV144 vaccinees bearing certain HLA class II alleles such as DQB1*06 presented increased risk of HIV acquisition, and this was possibly linked

with elevated Env-specific IgA that interfered with ADCC activity. However, in RV144 vaccinees who did not bear predisposing HLA alleles, non-neutralizing Env-reactive IgA derived from blood memory B-cells blocked in vitro HIV Env binding to GalCer and mediated in vitro phagocytosis by monocytes. This suggests that the RV144 regimen may have induced a certain level of non-neutralizing IgA in some individuals, which conferred some level of protection [108]. Interestingly, this vaccination regimen was found to elicit more robust responses, notably IgG antibody-dependent cell phagocytosis (ADCP), in vaccinees from South-Africa [114]. The Env-reactivity and functional capacities of IgA were however not reported for the South African vaccinees. Unfortunately, mucosal samples were not collected during the RV144 trial and the reactivity of mucosal Igs have not been assessed. Nevertheless, lessons from the RV144 trial teach us that it is mandatory that we further the exploration of different Ig mediated effector capacities, especially those of ADCP, in HESN CSWs.

Passive immunization studies aiming at the prevention of HIV transmission are promising and have been recently extensively reviewed [115,116]. Administration of broadly neutralizing antibodies (bNAbs) has been shown to protect against HIV acquisition in some clinical trials, one of the most promising being the human monoclonal antibody (mAb) VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01). This bnAb vaccine is under clinical trial for preventing HIV infection in two groups, one being sexually active heterosexual adult women in sub-Saharan Africa and another being men or transgender people having sex with men in the USA, Brazil, and Peru. This study aims to determine minimal concentrations required for passive immunization through bNAbs at mucosal sites. As such, previous passive immunization studies aiming to assess the importance of mucosal Igs in the prevention of HIV transmission revealed them as important weapons [117].

In 2011, the group of Morgan Bomsel had elegantly shown that vaccination of NHP with HIV gp41 virosomes induced mucosal IgA and IgG, which blocked transcytosis and mediated ADCC, respectively, preventing systemic invasion following vaginal simian-HIV (SHIV) challenge [118]. Importantly, these animals lacked serum neutralizing antibody activity, highlighting the importance of effector antibodies at the mucosal portal of entry. A more recent study by this group has shown that gp41 specific IgA can induce ADCP by monocytes and neutrophils [119]. In another study, with NHP, the use of adjuvanted liposomes promoted ADCP mucosal responses by monocytes and neutrophils that protected from SHIV challenge [120]. Along the same lines,

refined passive immunization studies revealed full protection of rhesus macaques against SHIV challenge following administration of anti-HIV-1 neutralizing mucosal dIgA2 together with systemic IgG1 with the same epitope specificity [121,122]. Furthermore, mucosal dIgA1 was significantly more protective than dIgA2, highlighting the importance of characterizing different isotypes of IgA, as they differ predominantly in the hinge region and may confer varying effector functions [117]. The fact that these neutralizing Abs were poorly efficient when used alone implies that this passive immunization regimen requires first-line mucosal IgA in conjunction with systemic IgG to prevent virus acquisition.

6 Immunoregulatory Populations in the Context of Natural Immunity to HIV

6.1 Tolerogenic DCs

As has been described above, DC are known to be major players in mastering the orchestration of immune responsiveness. We have previously identified endocervical myeloid HLA-DR⁺ cells in the FGT of Beninese CSWs, which in HESNs expressed higher levels of IFN- α , TLR7 and immunoregulatory markers IL-10 and HLA-G when compared to both HIV-infected CSWs and HIV-uninfected non-CSWs [11]. Furthermore, we revealed a myeloid CD103⁺CD14⁺CD11c⁺ population in the FGT that increased in HESNs, and that expressed higher levels of IFN- α and IL-10. Interestingly, the majority of these myeloid CD103⁺CD14⁺CD11c⁺ IFN- α ⁺IL-10⁺ cells co-expressed HLA-G and Immunoglobulin-like transcript (ILT)-4. Importantly, this profile is reminiscent of tolerogenic DC-10 [123], which secrete high amounts of IL-10, express high levels of HLA-G and ILT-4 and can induce type 1 regulatory cells (Tr1) (CD49b⁺ Lymphocyte activation gene 3 (LAG-3⁺)) via an IL-10-dependent ILT4/HLA-G pathway [124]. Both IFN α and IL-10 are involved in differentiation of Tr1 [125,126] and in vitro studies have demonstrated that monocyte-derived DCs (MoDCs) treated with IL-10 and/or IFN α were rendered “tolerogenic” and up-regulated the inhibitory receptors ILT-3 and ILT-4, which promoted their capacity to induce Tr1 [127,128]. Furthermore, IL-10 is one of the key cytokines inducing HLA-G expression on myeloid cells [129]. The engagement of the inhibitory molecules ILT-2, ILT-3 and ILT-4 on myeloid cells by HLA-G prevents the up-regulation of costimulatory molecules, inhibits maturation and allows

them to promote the differentiation of regulatory T-cells [130–132]. The fact that myeloid HLA-DR⁺CD14⁺CD11c⁺ cells found in the FGT of Beninese HESNs also expressed high levels of CD103, suggests they could play a similar role to CD103⁺ DCs found throughout the gut lamina propria and thought to be most effective at promoting T regulatory responses and to play a central role in maintaining tolerance and tissue homeostasis [133].

The “DC-10-like” population found to be increased in the FGT of Beninese HESNs is likely to be derived from monocytes, and influenced by the low-inflammatory milieu (reviewed in [134]). For example, in the gut, most DCs are monocyte-derived and are involved in maintenance of homeostasis [133], and it is likely that this also occurs in the FGT as most DCs were shown to express CD14 [135]. In human, monocytes are categorized in three main populations based on their expression levels of CD14 and/or CD16, each representing a stage of differentiation, or more so transition as CD14 goes down and CD16 goes up. They are the predominant CD14⁺CD16⁻ classic, CD14⁺CD16⁺ intermediate and CD14^{low/dim}CD16⁺⁺ non-classic populations. Importantly, frequencies of non-classic monocytes are increased in blood in the context of several infectious diseases including HIV infection [134]. As such, non-classic monocytes are known to patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors [136]. Alterations in the classic vs. non-classic monocyte ratios during pathological conditions may dramatically influence MoDC-mediated immunity. In human, both classic and non-classic monocytes differentiate into MoDC in vitro and present a differential transcriptomic signature. As MoDC derived from non-classic monocytes express CD103, RALDH2 and TCF4 typical of mucosal DC and are thought to play a role in mucosal homeostasis [137]. Moreover, non-classic monocytes preferentially acquired DC features in a model of transendothelial migration [138]. As to whether the relative frequencies of blood monocyte populations are perturbed in HESNs, and whether a particular population is responsible for the generation of the “DC-10-like” population found in the FGT remains to be established.

6.2 Tregs and Tr1

Concomitant to the elevated frequencies of tolerogenic or DC10-like population in their FGT, Beninese HESN CSWs presented elevated frequencies of endocervical regulatory CD4⁺ Tregs [11]. Moreover, these endocervical Tregs expressed higher intensity of programmed cell death protein

(PD)-1, as well as IL-10 and cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4), and this was also found for Tr1 cells [11]. Although this could reflect T-cell exhaustion, we believe that these cells are in an active state [139,140], as reflected by their higher levels of IL-10 expression. These findings are in agreement with a previous study showing elevated frequencies of Tregs in the blood of HESNs from Kenya [141], a finding which has been recently extended (see Fowke, Broliden, and collaborators in the Vaccines 2021 Special Issue). The increase in tolerogenic DC-10-like and Treg populations likely confers an advantage to HESN individuals in preventing the establishment of HIV infection.

6.3 Importance of NR4As (Nuclear Receptors 4A)

Orphan nuclear receptor (NR)4A1 (Nur77), NR4A2 (Nurr1) and NR4A3 (NOR1) are transcriptional regulators of differentiation, proliferation, and apoptosis genes. They are important modulators of inflammatory responses and are necessary for monocyte differentiation and Treg development (reviewed in [142]). Importantly, studies of mouse Ly6Clow monocytes, which are considered to be the murine analogs of human non-classic monocytes, whereas Ly6Chi correspond to classic monocytes, demonstrated that the transition from Ly6Chi to Ly6Clow monocytes depends on NR4A1 expression [143], which is necessary for the generation and survival of Ly6Clow monocytes, which are being reduced by 90% in NR4A1-deficient mice [144]. Also, it has been shown that increased NR4A1 expression levels lead to diminished MoDC and T-cell activation [145]. Furthermore, recent studies with NR4A3-deficient mice show that NR4A3 expression is required to skew monocyte differentiation toward MoDCs and allows the acquisition of migratory characteristics required for MoDC function [146].

Since expression of NR4As is necessary for the maintenance of forkhead box P3 (FoxP3) expression and thereby essential for the development of Tregs, there have been reports of several studies where those genes are targeted to modulate Treg responses in cancer [147,148]. Interestingly, when the Tregs that infiltrate the tissue tumor are treated with camptothecin and a cyclooxygenase-2 inhibitor, the transcriptional activity and the induction of those genes are inhibited [148]. This phenomenon is beneficial in mice by breaking the immune tolerance mediated by Tregs that protect the tumor against cytotoxic CD8⁺ CTL cells. These observations help illustrate the potential of NR4A modulation. Thus, it could be possible to hypothesize that high

levels of expression of NR4As in immune cells in the FTG of HESN women could help in the maintenance of their low- inflammatory environment, shown to be an important factor in natural immunity against HIV. NR4A receptors are expressed early in response to physiological and pathological stimuli including inflammation. There is growing evidence suggesting that expression levels of NR4As are affected in the context of autoimmunity and infectious diseases. Synthetic regulation of NR4A expression is currently used for treating patients with certain leukemia/lymphomas, and could be envisaged for immunomodulatory purposes.

6.4 Innate B-Cells with Breg Potential

In the Kenyan CSWs cohort, late seroconversion occurred in some HESN CSWs and involved waning of responses due to reduced sexual activity and antigenic exposure [149]. These observations could be suggesting that natural immunity may involve innate type “antigen experienced” cell populations that require frequent re-exposure in order to be maintained in a given cellular niche. In this view, HIV Env gp120 binding innate CD1c⁺ B-cell populations were found in the FGT of Beninese HESNs [10], but as to whether they can confer some level of protection remains to be established. A subset of CD1c⁺ B-cells, known as marginal zone (MZ) B-cells, are involved in the early first-line defense against viruses [150]. In humans, MZ B-cells recirculate and have been found in front-line areas such as the sub epithelial lamina propria of the MALT [150]. By trafficking antigen, they promote Germinal Center (GC) reactions, which are essential for the development of effector and memory B-cells [151]. MZ B-cells can also be activated by T-independent signals from neutrophils, DC and/or MoDC, which can lead to class switch recombination (CSR) from IgM toward IgG or IgA [150]. The antibodies produced by these cells are often of low affinity and polyreactive; however, it has been described that they can bind to the HIV Env gp120 glycoprotein through surface lectins and/or polyreactive B-cell receptor (BCR) [152]. We recently showed that MZ and precursor MZ B-cells from the blood of healthy individuals express high levels of CD83 and nuclear receptors NR4A1, 2, 3 [153], which as mentioned above are important regulators of the inflammatory response. Importantly, precursor MZ B- cells demonstrated regulatory functions (Breg) and controlled T-cell proliferation following in vitro activation, and this was dependent on the immunoregulatory surface molecule CD83 [153]. As such, CD83 expression is directly modulated by NR4A1, 2, 3 transcription factors [154]. We thus

identified these molecules as potential Breg markers of precursor MZ B-cells, along with CD39/CD73 ectonucleotidases [153]. This is of interest, as yet potent Breg attributes mainly point to IL-10 production. However, in the HIV context, most B-cell populations are driven to over-express IL-10 [155]. As to whether the HIV Env gp120 binding innate CD1c⁺ B-cell population we found in the FGT of Beninese HESNs [10] possess Breg functions and contribute to the low-inflammatory genital profile described for HESNs is attractive but remains to be assessed.

MZ B-cells require BAFF for their selection, expansion, activation and T-independent CSR [150]. BAFF is found as both membrane and soluble forms, the main sources of BAFF being neutrophils, DC and Mo-DC, and to a lesser extent activated T-cells [156,157]. Excess of both membrane and soluble BAFF in the blood of Beninese HIV-infected CSWs has been associated with a dysregulation of the B-cell compartment [9]. Interestingly, Beninese HESNs had lower soluble BAFF levels in their blood and CVLs than HIV-infected CSW or HIV-uninfected non-CSW [9,10]. Also, the relative frequencies of BAFF expressing cells in the genital mucosa of these HESNs were smaller than those observed in the other groups [10]. These raised the possibility that the low levels of soluble BAFF measured in blood [9] and CVLs [10] of Beninese HESNs may be linked to the signals leading to BAFF release. As to whether these are related to advantageous genetic polymorphisms remains to be established. We have analyzed BAFF promoter -871, -2841 and -2701 mutations associated with elevated BAFF plasma levels and susceptibility to auto-immune diseases such as Systemic Lupus Erythematosus and hepatitis C associated cryoglobulinemia [158–160] in our Benin cohort and found no association. Sequencing the entire BAFF gene need thus to be envisaged. The lower BAFF levels found in Beninese HESNs did not alter the frequencies of precursor MZ B-cells in blood as they remained similar to those observed in HIV-uninfected individuals [9]. However, we did find lower frequencies of mature MZ B-cells in the blood of HESNs when compared to HIV-uninfected individuals, and this was also found for HIV-infected CSWs [9], which could be suggestive of an active peripheral recruitment and/or exhaustion. Implying that these populations are important in the fight against the virus.

Since the integrity of B-cells, and especially MZ, is closely linked to BAFF, the maintenance of low levels of BAFF in the vaginal mucosa of HESNs can be a key factor of natural immunity.

MZ B-cells are easily activated; it is, therefore, important for them to be controlled or they can lead to autoimmunity [161]. Importantly, it was previously described that invariant natural killer T-cells

(iNKT) have this potential [162]. These cells are quite efficient in the modulation of a majority of immune cells such as DC, Natural Killer (NK), T-cells and B-cells [163]. Interestingly, iNKT cells can be activated through glycolipid presentation, which can be mediated by MZ B-cells via CD1c [164]. Based on these observations, it is possible to think that iNKT and MZ-like B-cells play an important role in the maintenance of low-inflammatory conditions in the FGT of HESNs and it is important to study them more carefully in the context of HIV infection and natural immunity.

6.5 Natural Killer Cells

NK cells were shown to play an important role in natural immunity against HIV. NK cells are lymphoid cells that can rapidly respond against infected or transformed cells via potent cytotoxic activity [165]. This activity is mediated by a mix of inhibitory signals and stimulating signals, which are both transmitted by the Killer Immunoglobulin-like Receptors (KIR), which are cell surface receptors that bind to certain HLA molecules [165]. However, NK cells are also strategically placed in the immune response, allowing bridging of both innate and adaptive immunities. Indeed, by producing key cytokines and activating cells such as DCs, NK cells can help modulate the immune response on the infection site [165].

There are two main subsets of human NK cells: the CD56^{bright}CD16^{low} subset, which composes up to 10% of all NK cells and is mostly a proliferative subset specialized in cytokine production, and the CD56^{dim}CD16⁺ subset, which composes the other 90% and is responsible for the cytotoxic activity of NK cells [165]. HIV infection promotes an expansion of both a CD56^{dim}CD16⁻ and a CD56⁻CD16⁺ population that are highly dysfunctional, with lower cytotoxicity potential due to the changes of expression of certain NK receptors and with lower cytokine production [166,167]. It was recently shown that NK cells from the blood of HIV-infected women, most notably CD56^{dim} and CD56⁻ subsets, overexpress the T-cell Immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT) when compared to HIV-uninfected women [168]. Interestingly, TIGIT expression by NK cells correlated with a gain of function, as the TIGIT⁺ subsets expressed higher levels of certain markers associated with a more mature phenotype as well as a stronger cytotoxic activity when compared to the TIGIT⁻ subsets [168]. TIGIT is an exhaustion marker found in T-cells and NK cells in the context of certain malignancies and chronic infections [169,170]. TIGIT expression by memory T-cells correlated with HIV disease progression, with T-cells from elite controllers

expressing lower levels of TIGIT than viremic individuals or even ART- treated individuals [171], and a blockage of TIGIT expression by NK cells increased their anti-tumoral cytotoxicity by preventing cell exhaustion [170]. In Beninese HESN women, a slightly higher expression of TIGIT was found when compared to healthy donors [172]. As to whether this slight increase of TIGIT correlates with a gain of function remains to be established.

Several correlations were established between certain alleles of KIR genes and a better control of HIV infection. For instance, a group of HESN individuals from the Montreal Primary HIV Infection (PHI) cohort were shown to possess a higher frequency of KIR3DS1 homozygous individuals when compared to a group of HIV-infected individuals [173]. Moreover, they were found to possess a smaller frequency of other KIR alleles such as KIR2DS4*001, found to correlate with HIV transmission in serodiscordant couples [173,174]. Furthermore, certain HLA/KIR genotype combinations have been associated with a control of viral infection, such as the KIR3DL1*h/*y and HLA-B*57 being more frequently found in HESN than HIV-infected individuals [175]. HLA-B*57 is an HLA-B allele that possesses a mutation encoding for an isoleucine at position 80 of the protein and allows for HIV infection control through the generation of T-cells that respond better to viral epitopes during thymic selection. Furthermore, possession of both HLA-B*57 and KIR3DS1 alleles led to a stronger HIV protection when compared to possessing only one or the other, possibly by allowing for the generation (or “licensing”) of a polyfunctional NK cell subset that highly express IFN- γ , TNF- α and CD107a and thus could contribute to viral control [176–178].

While the HLA-B*57 allele is associated with a better control of HIV infection, its presence is equally associated with higher activation levels of CD56bright CD16low NK cells and non-classical CD14low/dimCD16⁺⁺ monocytes by bacterial TLR agonists [179]. Indeed, these cells were found to produce higher levels of proinflammatory molecules such as IFN- γ , IL-1 β and IL-6 in the presence of Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) such as Escherichia coli’s lipopolysaccharide (LPS) when compared to donors possessing other HLA alleles such as HLA-B*44, in vitro [179]. HLA-B*57 is found to correlate with a higher risk of sepsis-related death in HIV-infected and treated individuals [180]. Of importance, IL-6 correlates with a more severe clinical progression in several diseases, including HIV infection [181]. Indeed, IL-1 β enriched monocytes overexpress IL-6, which correlates with a higher mortality risk in HIV-infected and

treated individuals [182]. Furthermore, IL-6 excess is a prognostic of sepsis, and it is also related to the “cytokine storm syndrome” in several diseases and could lead to autoimmune manifestations via chronic inflammation (Reviewed in [183]) [184]. Thus, it is possible that while this HLA allele might protect from HIV infection, when it fails to do so, it could be deleterious to the individual.

Studies conducted with the Beninese CSWs cohort showed that while NK cells of HESN women did not cluster into a different subset when compared to uninfected women, they expressed higher levels of CD16 (FCGR3) [172]. CD16 is an Fc receptor that allows binding to IgG Fc portion, and whose binding is essential to ADCC activity by NK cells [165]. These findings suggest that NK cells from HESN women may have stronger ADCC capacities, which could be protective against HIV infection. ADCC was shown to correlate with the protection generated by the RV144 vaccination trial in Thailand, the only HIV vaccination trial that generated some form of protective immunity [185,186]. Moreover, elite controllers were found to have a stronger ADCC activity against HIV than normal progressors [187], and HIV-infected women who possessed CVL antibodies able to mediate ADCC were found to have a lower HIV RNA load in their genital tract [188]. As mentioned earlier, while no broadly neutralizing antibodies, nor Ig mediating ADCC activity were found in the blood or CVLs of Beninese HESNs (possibly due to lower levels and/or removal of the vaginal mucus prior to CVL sampling) [107], the possibility that other antibodies in their blood or mucosae could induce protective activity, notably IgG1 targeting gp41 and/or other antibodies produced by first-line B-cells such as the CD1c⁺ population [10], cannot be excluded. Besides, as mentioned earlier, ADCC is not the only protective mechanism that implies antibodies.

It is important to note that most of the studies presented above have been conducted with blood NK cells. Indeed, FGT NK cells differ from blood NK cells morphologically (the former are bigger and are more granular than the latter) and phenotypically (via the expression of CD69 and CD9, and levels of CD16 expression for example) [189,190]. These differences suggest that both subsets may possess different functions, and thus could contribute differently to HIV protection. Blood NK cells, notably the CD56^{bright}CD16⁻ subset, are able to secrete the β -chemokines CCL3, CCL4 and CCL5 (RANTES), which are CCR5 ligands [191]. Interestingly, we have shown that Beninese HESNs harbor higher levels of these molecules in their blood [8]. High levels of these molecules could be protective against HIV via a competition with the virus for CCR5, one of the co-receptors

necessary for viral entry [192]. Furthermore, uterine NK cells, mostly found in the FGT, were shown to inhibit HIV infection in vitro via the production of C-X-C Motif Chemokine Ligand (CXCL)12, a ligand for C-X-C chemokine receptor (CXCR)4, the other co-receptor used by HIV during infection [193]. While in vivo infections are almost exclusively done by CCR5- tropic (or R5) viruses, HIV-infected individuals harbor viruses tropic to both receptors, especially during late stages of infection (and even during treatment) [194]. Indeed, there is a phenotypic change between the Transmitted/Founder (T/F) virus and the myriad of quasispecies that are found in a viremic individual, with a tropism change from R5 to CXCR4-tropic (or X4), which correlates with progression to AIDS [194], although the mechanisms related to this phenotypic conversion remain to be elucidated. Nevertheless, viral resistance to CCR5 drugs such as Maraviroc is a testament of the importance of X4-tropic viruses in the infection and thus could reinforce the importance of uterine NK cells in inhibiting these types of viruses [195,196].

NK cells also seem to play a role in the rectal immunity to HIV. A higher frequency of NK cells in rectal mucosa (which resembles that of the FGT, with the lower expression of CD16 and a higher expression of CD56 compared to their blood counterparts) seem to correlate negatively with HIV-1 replication in this tissue, as opposed to MZ B-cells, which frequencies correlate positively with viral replication [190,197]. It was suggested that MZ could contribute to trans-infection of HIV given that as mentioned earlier, these cells can bind to virus particles via surface lectins such as $\alpha 4\beta 7$ and DC-SIGN [152]. We have shown that innate CD1c⁺ B-cells in the FGT have the capacity of binding to HIV Env gp120 [10]. However, the true potential of trans-infection by these cells has yet to be elucidated.

Interestingly, IL-17A levels correlated strongly to p24 production in the rectal model. This is of importance, since we have shown that Beninese HESN women harbor lower levels of IL-17 in their FGT when compared to non-HESN women [11]. IL-17A levels likely reflect the activity of Th17 T-cells, prime targets for HIV, at mucosal infection sites [39–41]. Thus, the lower levels of IL-17 in the FGT of HESNs could reflect lesser availability of Th17 target cells and/or regulated activity.

7 Conclusions

Natural immunity to HIV in HESN CSWs, such as that found at the FGT mucosal portal of entry, likely involves a strong capacity to generate efficient anti-viral responses while simultaneously preventing excessive inflammation. This probably implicates orchestration of first-line innate immune responses in conjunction with matured high-affinity adaptive responses. As depicted in Figure 1, local regulatory populations such as “DC-10”-like, Treg, Tr1, and possibly CD1c⁺ “Bregs (Regulatory B-cells)” may help shape and maintain a low-inflammatory genital milieu, which allows for balanced responses from effector populations. It is easy to think that since expression and activity of NR4A molecules can be modulated therapeutically, such strategies may be contemplated in modulating the mucosal environment at the genital portal of entry to prevent HIV infection. Also, contained BAFF levels likely contribute to maintaining the integrity of innate CD1c⁺ “MZ-like” B-cells, which capacity of binding to HIV Env and producing IgG and/or IgA, raises particular interest because MZ B-cells can acquire Ig somatic mutations and could be harnessed to increase HIV Env affinity in the optics of designing preventive strategies involving the generation of protective first-line responses in the FGT.

The understanding of the genetic, environmental, and cellular mechanisms which undercover the potent anti-viral but regulated immune responses that prevent excessive immune activation and recruitment of HIV target cells at the initial site of exposure in the context of natural immunity are mandatory to the design of preventive devices against HIV infection.

Acknowledgments: Figure 1 was created with BioRender.com.

Abbreviations :

HESN Highly Exposed Seronegative

CSW Commercial Sex Worker

FGT Female Genital Tract

MALT Mucosal Associated Lymphoid Tissue

PRR Pattern Recognition Receptor

TLR Toll-like Receptor

CVL Cervico-Vaginal Lavage

ADCC antibody-dependent cellular cytotoxicity

ADCP antibody-dependent cell phagocytosis
MoDC Monocyte-Derived Dendritic Cell
Tregs Regulatory T-cells
Tr1 T regulatory type 1
NR4A Nuclear Receptors 4A
Bregs Regulatory B-cells
BAFF B-cell Activation Factor
MZ Marginal Zone
iNKT Invariant Natural Killer T-cells
KIR Killer Immunoglobulin-like Receptors
TIGIT T-cell Immunoreceptor with Ig and ITIM domains

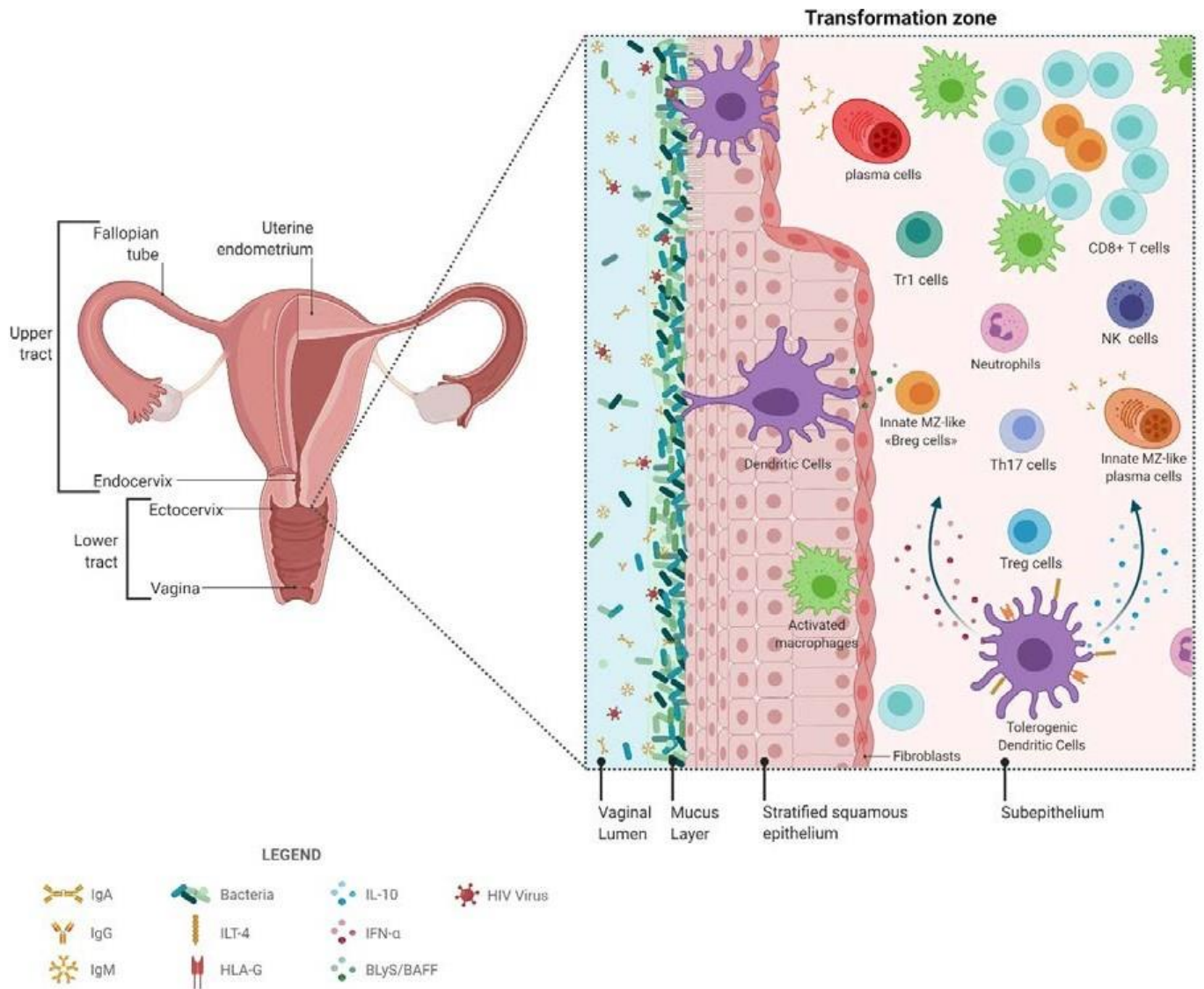


Figure 1 Active players in natural immunity to HIV.

8 References

1. UNAIDS. Global HIV & AIDS Statistics 2020 Fact Sheet. Available online: www.unaids.org (accessed on 17 March 2021).
2. Lajoie, J.; Kimani, M.; Plummer, F.A.; Nyamiobo, F.; Kaul, R.; Kimani, J.; Fowke, K.R. Association of Sex Work with Reduced Activation of the Mucosal Immune System. *J. Infect. Dis.* 2014, 210, 319–329. [CrossRef]
3. Fourcade, L.; Poudrier, J.; Roger, M. Natural Immunity to HIV: A Template for Vaccine Strategies. *Viruses* 2018, 10, 215. [CrossRef]
4. Fenizia, C.; Rossignol, J.F.; Clerici, M.; Biasin, M. Genetic and immune determinants of immune activation in HIV-exposed seronegative individuals and their role in protection against HIV infection. *Infect. Genet. Evol.* 2018, 66, 325–334. [CrossRef]
5. Schellenberg, J.J.; Plummer, F.A. The Microbiological Context of HIV Resistance: Vaginal Microbiota and Mucosal Inflammation at the Viral Point of Entry. *Int. J. Inflam.* 2012, 2012, 131243. [CrossRef]
6. Card, C.M.; Ball, T.B.; Fowke, K.R. Immune quiescence: A model of protection against HIV infection. *Retrovirology* 2013, 10, 141. [CrossRef] [PubMed]
7. Lajoie, J.; Poudrier, J.; Massinga-Loembe, M.; Guédou, F.; Agossa-Gbenafa, C.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Roger, M. Differences in immunoregulatory cytokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments of HIV-1-infected commercial sex workers in Benin. *Mucosal. Immunol.* 2008, 1, 309–316. [CrossRef] [PubMed]
8. Lajoie, J.; Poudrier, J.; Massinga Loembe, M.; Guédou, F.; Leblond, F.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Roger, M. Chemokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments are associated with HIV-1 infection in women from Benin. *J. Clin. Immunol.* 2010, 30, 90–98. [CrossRef] [PubMed]
9. Sabourin-Poirier, C.; Fourcade, L.; Chagnon-Choquet, J.; Labbé, A.-C.; Alary, M.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Roger, M. Blood B Lymphocyte Stimulator (BLyS)/BAFF levels may reflect natural immunity to HIV in highly exposed uninfected Beninese Commercial Sex Workers. *Sci. Rep.* 2016, 6, 32318. [CrossRef]
10. Fourcade, L.; Sabourin-Poirier, C.; Perraud, V.; Faucher, M.-C.; Chagnon-Choquet, J.; Labbé, A.-C.; Alary, M.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Roger, M. Natural Immunity to HIV is associated with Low BAFF levels and low frequencies of innate marginal zone like CD1c⁺ B-cells in the genital tract. *PLoS Pathog.* 2019, 15, e1007840. [CrossRef]
11. Thibodeau, V.; Fourcade, L.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Roger, M. Highly-Exposed HIV-1 seronegative Female Commercial Sex Workers sustain in their genital mucosa increased frequencies of tolerogenic myeloid and regulatory T-cells. *Sci. Rep.* 2017, 7, 43857. [CrossRef]

12. Wira, C.R.; Rodriguez-Garcia, M.; Patel, M.V. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nat. Rev. Immunol.* 2015, 15, 217–230. [CrossRef]
13. Kutteh, W.H.; Moldoveanu, Z.; Mestecky, J. Mucosal immunity in the female reproductive tract: Correlation of immunoglobulins, cytokines, and reproductive hormones in human cervical mucus around the time of ovulation. *Aids Res. Hum. Retrovir.* 1998, 14, S51–S55.
14. Horton, R.; Vidarsson, G. Antibodies and Their Receptors: Different Potential Roles in Mucosal Defense. *Front. Immunol.* 2013, 4, 200. [CrossRef] [PubMed]
15. Li, Z.; Palaniyandi, S.; Zeng, R.; Tuo, W.; Roopenian, D.C.; Zhu, X. Transfer of IgG in the female genital tract by MHC class I-related neonatal Fc receptor (FcRn) confers protective immunity to vaginal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 4388–4393. [CrossRef]
16. Poudrier, J.; Chagnon-Choquet, J.; Roger, M. Influence of dendritic cells on B-cell responses during HIV infection. *Clin. Dev. Immunol.* 2012, 2012, 592187. [CrossRef]
17. Quayle, A.J. The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells. *J. Reprod. Immunol.* 2002, 57, 61–79. [CrossRef]
18. Gribar, S.C.; Richardson, W.M.; Sodhi, C.P.; Hackam, D.J. No longer an innocent bystander: Epithelial toll-like receptor signaling in the development of mucosal inflammation. *Mol. Med.* 2008, 14, 645–659. [CrossRef] [PubMed]
19. Poudrier, J.; Thibodeau, V.; Roger, M. Natural Immunity to HIV: A delicate balance between strength and control. *Clin. Dev. Immunol.* 2012, 2012, 875821. [CrossRef]
20. Lazarus, E.; Otwombe, K.; Dietrich, J.; Andrasik, M.P.; Morgan, C.A.; Kublin, J.G.; Gray, G.E.; Isaacs, A.J.; Laher, F. Vaginal practices among women at risk for HIV acquisition in Soweto, South Africa. *S. Afr J. HIV Med.* 2019, 20, 866. [CrossRef]
21. Alcaide, M.L.; Rodriguez, V.J.; Fischl, M.A.; Jones, D.L.; Weiss, S.M. Addressing intravaginal practices in women with HIV and at-risk for HIV infection, a mixed methods pilot study. *Int. J. Women's Health* 2017, 9, 123–132. [CrossRef] [PubMed]
22. Grant-Tschudy, K.S.; Wira, C.R. Paracrine mediators of mouse uterine epithelial cell transepithelial resistance in culture. *J. Reprod. Immunol.* 2005, 67, 1–12. [CrossRef]
23. Cleret-Buhot, A.; Zhang, Y.; Planas, D.; Goulet, J.P.; Monteiro, P.; Gosselin, A.; Wacleche, V.S.; Tremblay, C.L.; Jenabian, M.A.; Routy, J.P.; et al. Identification of novel HIV-1 dependency factors in primary CCR4⁽⁺⁾CCR6⁽⁺⁾Th17 cells via a genome-wide transcriptional approach. *Retrovirology* 2015, 12, 102. [CrossRef] [PubMed]
24. Bomsel, M. Transcytosis of infectious human immunodeficiency virus across a tight human epithelial cell line barrier. *Nat. Med.* 1997, 3, 42–47. [CrossRef]
25. Hladik, F.; Sakchalathorn, P.; Ballweber, L.; Lentz, G.; Fialkow, M.; Eschenbach, D.; McElrath, M.J. Initial events in establishing vaginal entry and infection by human immunodeficiency virus type-1. *Immunity* 2007, 26, 257–270. [CrossRef]

26. Bouschbacher, M.; Bomsel, M.; Verronèse, E.; Gofflo, S.; Ganor, Y.; Dezutter-Dambuyant, C.; Valladeau, J. Early events in HIV transmission through a human reconstructed vaginal mucosa. *Aids* 2008, 22, 1257–1266. [CrossRef]
27. Gonzalez, S.M.; Aguilar-Jimenez, W.; Su, R.C.; Rugeles, M.T. Mucosa: Key Interactions Determining Sexual Transmission of the HIV Infection. *Front. Immunol.* 2019, 10, 144. [CrossRef]
28. Fontenot, D.; He, H.; Hanabuchi, S.; Nehete, P.N.; Zhang, M.; Chang, M.; Nehete, B.; Wang, Y.-H.; Wang, Y.-H.; Ma, Z.-M.; et al. TSLP production by epithelial cells exposed to immunodeficiency virus triggers DC-mediated mucosal infection of CD4⁺ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009, 106, 16776–16781. [CrossRef] [PubMed]
29. Rodriguez-Garcia, M.; Patel, M.V.; Wira, C.R. Innate and adaptive anti-HIV immune responses in the female reproductive tract. *J. Reprod. Immunol.* 2013, 97, 74–84. [CrossRef]
30. De Lara, L.M.; Parthasarathy, R.S.; Rodriguez-Garcia, M. Mucosal Immunity and HIV Acquisition in Women. *Curr. Opin. Physiol.* 2021, 19, 32–38. [CrossRef] [PubMed]
31. Pala, P.; Gomez-Roman, V.R.; Gilmour, J.; Kaleebu, P. An African perspective on mucosal immunity and HIV-1. *Mucosal Immunol.* 2009, 2, 300–314. [CrossRef]
32. Teijeira, A.; Russo, E.; Halin, C. Taking the lymphatic route: Dendritic cell migration to draining lymph nodes. *Semin. Immunopathol.* 2014, 36, 261–274. [CrossRef]
33. Van den Berg, L.M.; Cardinaud, S.; van der Aar, A.M.; Sprokholt, J.K.; de Jong, M.A.; Zijlstra-Willems, E.M.; Moris, A.; Geijtenbeek, T.B. Langerhans Cell-Dendritic Cell Cross-Talk via Langerin and Hyaluronic Acid Mediates Antigen Transfer and Cross-Presentation of HIV-1. *J. Immunol.* 2015, 195, 1763–1773. [CrossRef]
34. Den Dunnen, J.; Gringhuis, S.I.; Geijtenbeek, T.B. Innate signaling by the C-type lectin DC-SIGN dictates immune responses. *Cancer Immunol. Immunother.* 2009, 58, 1149–1157. [CrossRef]
35. Geijtenbeek, T.B.; Kwon, D.S.; Torensma, R.; van Vliet, S.J.; van Duijnhoven, G.C.; Middel, J.; Cornelissen, I.L.; Nottet, H.S.; KewalRamani, V.N.; Littman, D.R.; et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 2000, 100, 587–597. [CrossRef]
36. Gringhuis, S.I.; den Dunnen, J.; Litjens, M.; van der Vlist, M.; Geijtenbeek, T.B. Carbohydrate-specific signaling through the DC-SIGN signalosome tailors immunity to *Mycobacterium tuberculosis*, HIV-1 and *Helicobacter pylori*. *Nat. Immunol.* 2009, 10, 1081–1088. [CrossRef] [PubMed]
37. Miller, C.J.; Li, Q.; Abel, K.; Kim, E.Y.; Ma, Z.M.; Wietgreffe, S.; La Franco-Scheuch, L.; Compton, L.; Duan, L.; Shore, M.D.; et al. Propagation and dissemination of infection after vaginal transmission of simian immunodeficiency virus. *J. Virol.* 2005, 79, 9217–9227. [CrossRef] [PubMed]
38. Haase, A.T. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu. Rev. Med.* 2011, 62, 127–139. [CrossRef]

39. Kader, M.; Wang, X.; Piatak, M.; Lifson, J.; Roederer, M.; Veazey, R.; Mattapallil, J.J. Alpha4⁽⁺⁾beta7(hi)CD4⁽⁺⁾ memory T cells harbor most Th-17 cells and are preferentially infected during acute SIV infection. *Mucosal Immunol.* 2009, 2, 439–449. [CrossRef]
40. Cecchinato, V.; Franchini, G. Th17 cells in pathogenic simian immunodeficiency virus infection of macaques. *Curr. Opin. HIV Aids* 2010, 5, 141–145. [CrossRef]
41. Stieh, D.J.; Matias, E.; Xu, H.; Fought, A.J.; Blanchard, J.L.; Marx, P.A.; Veazey, R.S.; Hope, T.J. Th17 Cells Are Preferentially Infected Very Early after Vaginal Transmission of SIV in Macaques. *Cell Host Microbe* 2016, 19, 529–540. [CrossRef]
42. Shang, L.; Duan, L.; Perkey, K.E.; Wietgreffe, S.; Zupancic, M.; Smith, A.J.; Southern, P.J.; Johnson, R.P.; Haase, A.T. Epithelium- innate immune cell axis in mucosal responses to SIV. *Mucosal Immunol.* 2017, 10, 508–519. [CrossRef]
43. Cremel, M.; Berlier, W.; Hamzeh, H.; Cognasse, F.; Lawrence, P.; Genin, C.; Bernengo, J.-C.; Lambert, C.; Dieu-Nosjean, M.-C.; Delézay, O. Characterization of CCL20 secretion by human epithelial vaginal cells: Involvement in Langerhans cell precursor attraction. *J. Leukoc. Biol.* 2005, 78, 158–166. [CrossRef] [PubMed]
44. Schutyser, E.; Struyf, S.; Van Damme, J. The CC chemokine CCL20 and its receptor CCR6. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003, 14, 409–426. [CrossRef]
45. Li, Q.; Estes, J.D.; Schlievert, P.M.; Duan, L.; Brosnahan, A.J.; Southern, P.J.; Reilly, C.S.; Peterson, M.L.; Schultz-Darken, N.; Brunner, K.G.; et al. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. *Nature* 2009, 458, 1034–1038. [CrossRef] [PubMed]
46. Haase, A.T. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. *Nature* 2010, 464, 217–223. [CrossRef]
47. Rodriguez-Garcia, M.; Barr, F.D.; Crist, S.G.; Fahey, J.V.; Wira, C.R. Phenotype and susceptibility to HIV infection of CD4⁺ Th17 cells in the human female reproductive tract. *Mucosal Immunol.* 2014, 7, 1375–1385. [CrossRef]
48. Brenchley, J.M.; Paiardini, M.; Knox, K.S.; Asher, A.I.; Cervasi, B.; Asher, T.E.; Scheinberg, P.; Price, D.A.; Hage, C.A.; Kholi, L.M.; et al. Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. *Blood* 2008, 112, 2826–2835. [CrossRef] [PubMed]
49. Favre, D.; Lederer, S.; Kanwar, B.; Ma, Z.M.; Proll, S.; Kasakow, Z.; Mold, J.; Swainson, L.; Barbour, J.D.; Baskin, C.R.; et al. Critical loss of the balance between Th17 and T regulatory cell populations in pathogenic SIV infection. *PLoS Pathog.* 2009, 5, e1000295. [CrossRef]
50. Mellor, A.L.; Munn, D.H. IDO expression by dendritic cells: Tolerance and tryptophan catabolism. *Nat. Rev. Immunol.* 2004, 4, 762–774. [CrossRef]
51. Baban, B.; Chandler, P.R.; Sharma, M.D.; Pihkala, J.; Koni, P.A.; Munn, D.H.; Mellor, A.L. IDO activates regulatory T cells and blocks their conversion into Th17-like T cells. *J. Immunol.* 2009, 183, 2475–2483. [CrossRef]

52. Moreno-Fernandez, M.E.; Presicce, P.; Chougnet, C.A. Homeostasis and function of regulatory T cells in HIV/SIV infection. *J. Virol.* 2012, 86, 10262–10269. [CrossRef] [PubMed]
53. Loiseau, C.; Requena, M.; Mavigner, M.; Cazabat, M.; Carrere, N.; Suc, B.; Barange, K.; Alric, L.; Marchou, B.; Massip, P.; et al. CCR6(-) regulatory T cells blunt the restoration of gut Th17 cells along the CCR6-CCL20 axis in treated HIV-1-infected individuals. *Mucosal Immunol.* 2016, 9, 1137–1150. [CrossRef] [PubMed]
54. Ivanov, I.I.; McKenzie, B.S.; Zhou, L.; Tadokoro, C.E.; Lepelley, A.; Lafaille, J.J.; Cua, D.J.; Littman, D.R. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* 2006, 126, 1121–1133. [CrossRef] [PubMed]
55. Sallusto, F.; Zielinski, C.E.; Lanzavecchia, A. Human Th17 subsets. *Eur. J. Immunol.* 2012, 42, 2215–2220. [CrossRef]
56. Manel, N.; Unutmaz, D.; Littman, D.R. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor- β and induction of the nuclear receptor ROR γ . *Nat. Immunol.* 2008, 9, 641–649. [CrossRef] [PubMed]
57. Schweighoffer, T.; Tanaka, Y.; Tidswell, M.; Erle, D.J.; Horgan, K.J.; Luce, G.E.; Lazarovits, A.I.; Buck, D.; Shaw, S. Selective expression of integrin α 4 β 7 on a subset of human CD4⁺ memory T cells with Hallmarks of gut-tropism. *J. Immunol.* 1993, 151, 717–729.
58. Holmgren, J.; Czerkinsky, C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005, 11, S45–S53. [CrossRef] [PubMed]
59. Bienenstock, J.; McDermott, M.; Befus, D.; O’Neill, M. A common mucosal immunologic system involving the bronchus, breast and bowel. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1978, 107, 53–59. [CrossRef]
60. Gill, N.; Wlodarska, M.; Finlay, B.B. The future of mucosal immunology: Studying an integrated system-wide organ. *Nat. Immunol.* 2010, 11, 558–560. [CrossRef]
61. Bertram, K.M.; Botting, R.A.; Baharlou, H.; Rhodes, J.W.; Rana, H.; Graham, J.D.; Patrick, E.; Fletcher, J.; Plasto, T.M.; Truong, N.R.; et al. Identification of HIV transmitting CD11c⁺ human epidermal dendritic cells. *Nat. Commun.* 2019, 10, 2759. [CrossRef]
62. Hertoghs, N.; Nijmeijer, B.M.; van Teijlingen, N.H.; Fenton-May, A.E.; Kaptein, T.M.; van Hamme, J.L.; Kappes, J.C.; Kootstra, N.A.; Hahn, B.H.; Borrow, P.; et al. Sexually transmitted founder HIV-1 viruses are relatively resistant to Langerhans cell-mediated restriction. *PLoS ONE* 2019, 14, e0226651. [CrossRef]
63. Dupont, M.; Sattentau, Q.J. Macrophage Cell-Cell Interactions Promoting HIV-1 Infection. *Viruses* 2020, 12, 492. [CrossRef]
64. Lester, R.T.; Yao, X.D.; Ball, T.B.; McKinnon, L.R.; Kaul, R.; Wachih, C.; Jaoko, W.; Plummer, F.A.; Rosenthal, K.L. Toll-like receptor expression and responsiveness are increased in viraemic HIV-1 infection. *Aids* 2008, 22, 685–694. [CrossRef] [PubMed]

65. Barr, F.D.; Ochsenbauer, C.; Wira, C.R.; Rodriguez-Garcia, M. Neutrophil extracellular traps prevent HIV infection in the female genital tract. *Mucosal Immunol.* 2018, 11, 1420–1428. [CrossRef]
66. Aldunate, M.; Srbinovski, D.; Hearps, A.C.; Latham, C.F.; Ramsland, P.A.; Gugasyan, R.; Cone, R.A.; Tachedjian, G. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Front. Physiol.* 2015, 6, 164. [CrossRef] [PubMed]
67. Mijac, V.D.; Dukic', S.V.; Opavski, N.Z.; Dukic', M.K.; Ranin, L.T. Hydrogen peroxide producing lactobacilli in women with vaginal infections. *Eur. J. Obs. Gynecol. Reprod. Biol.* 2006, 129, 69–76. [CrossRef] [PubMed]
68. Amabebe, E.; Anumba, D.O.C. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Front. Med.* 2018, 5, 181. [CrossRef] [PubMed]
69. Borges, S.; Silva, J.; Teixeira, P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch. Gynecol. Obs.* 2014, 289, 479–489. [CrossRef]
70. Holmes, K.K.; Sparling, P.F.; Stamm, W.E.; Piot, P.; Wasserheit, J.N. *Sexually Transmitted Diseases*, 4th ed.; McGraw-Hill Medical: New York, NY, USA, 2008.
71. McClelland, R.S.; Lingappa, J.R.; Srinivasan, S.; Kinuthia, J.; John-Stewart, G.C.; Jaoko, W.; Richardson, B.A.; Yuhas, K.; Fiedler, T.L.; Mandaliya, K.N.; et al. Evaluation of the association between the concentrations of key vaginal bacteria and the increased risk of HIV acquisition in African women from five cohorts: A nested case-control study. *Lancet Infect. Dis.* 2018, 18, 554–564. [CrossRef]
72. Hoang, T.; Toler, E.; DeLong, K.; Mafunda, N.A.; Bloom, S.M.; Zierden, H.C.; Moench, T.R.; Coleman, J.S.; Hanes, J.; Kwon, D.S.; et al. The cervicovaginal mucus barrier to HIV-1 is diminished in bacterial vaginosis. *PLoS Pathog.* 2020, 16, e1008236. [CrossRef]
73. Eastment, M.C.; McClelland, R.S. Vaginal microbiota and susceptibility to HIV. *Aids* 2018, 32, 687–698. [CrossRef]
74. McKinnon, L.R.; Achilles, S.L.; Bradshaw, C.S.; Burgener, A.; Crucitti, T.; Fredricks, D.N.; Jaspan, H.B.; Kaul, R.; Kaushic, C.; Klatt, N.; et al. The Evolving Facets of Bacterial Vaginosis: Implications for HIV Transmission. *Aids Res. Hum. Retrovir.* 2019, 35, 219–228. [CrossRef]
75. Passmore, J.A.; Jaspan, H.B.; Masson, L. Genital inflammation, immune activation and risk of sexual HIV acquisition. *Curr. Opin. HIV Aids* 2016, 11, 156–162. [CrossRef]
76. Anahtar, M.N.; Byrne, E.H.; Doherty, K.E.; Bowman, B.A.; Yamamoto, H.S.; Soumillon, M.; Padavattan, N.; Ismail, N.; Moodley, A.; Sabatini, M.E.; et al. Cervicovaginal bacteria are a major modulator of host inflammatory responses in the female genital tract. *Immunity* 2015, 42, 965–976. [CrossRef] [PubMed]
77. Masson, L.; Passmore, J.A.; Liebenberg, L.J.; Werner, L.; Baxter, C.; Arnold, K.B.; Williamson, C.; Little, F.; Mansoor, L.E.; Naranbhai, V.; et al. Genital inflammation and the risk of HIV acquisition in women. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 61, 260–269. [CrossRef] [PubMed]

78. Gosmann, C.; Anahtar, M.N.; Handley, S.A.; Farcasanu, M.; Abu-Ali, G.; Bowman, B.A.; Padavattan, N.; Desai, C.; Droit, L.; Moodley, A.; et al. Lactobacillus-Deficient Cervicovaginal Bacterial Communities Are Associated with Increased HIV Acquisition in Young South African Women. *Immunity* 2017, 46, 29–37. [CrossRef] [PubMed]
79. Bautista, C.T.; Wurapa, E.; Sateren, W.B.; Morris, S.; Hollingsworth, B.; Sanchez, J.L. Bacterial vaginosis: A synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections. *Mil. Med. Res.* 2016, 3, 4. [CrossRef]
80. Lambert, J.A.; John, S.; Sobel, J.D.; Akins, R.A. Longitudinal Analysis of Vaginal Microbiome Dynamics in Women with Recurrent Bacterial Vaginosis: Recognition of the Conversion Process. *PLoS ONE* 2013, 8, e82599. [CrossRef]
81. Bradshaw, C.S.; Morton, A.N.; Hocking, J.; Garland, S.M.; Morris, M.B.; Moss, L.M.; Horvath, L.B.; Kuzevska, I.; Fairley, C.K. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J. Infect. Dis.* 2006, 193, 1478–1486. [CrossRef]
82. Masese, L.; Baeten, J.M.; Richardson, B.A.; Bukusi, E.; John-Stewart, G.; Graham, S.M.; Shafi, J.; Kiarie, J.; Overbaugh, J.; McClelland, R.S. Changes in the contribution of genital tract infections to HIV acquisition among Kenyan high-risk women from 1993 to 2012. *Aids* 2015, 29, 1077–1085. [CrossRef]
83. Van de Wijgert, J.H.; Morrison, C.S.; Brown, J.; Kwok, C.; Van Der Pol, B.; Chipato, T.; Byamugisha, J.K.; Padian, N.; Salata, R.A. Disentangling contributions of reproductive tract infections to HIV acquisition in African Women. *Sex. Trans. Dis.* 2009, 36, 357–364. [CrossRef]
84. Mbuya, W.; McHaro, R.; Mhizde, J.; Mnkai, J.; Mahenge, A.; Mwakatima, M.; Mwalongo, W.; Chiwerengo, N.; Hölscher, M.; Lennemann, T.; et al. Depletion and activation of mucosal CD4 T cells in HIV infected women with HPV-associated lesions of the cervix uteri. *PLoS ONE* 2020, 15, e0240154. [CrossRef]
85. Mwatelah, R.; McKinnon, L.R.; Baxter, C.; Abdool Karim, Q.; Abdool Karim, S.S. Mechanisms of sexually transmitted infection- induced inflammation in women: Implications for HIV risk. *J. Int. Aids Soc.* 2019, 22, e25346. [CrossRef] [PubMed]
86. Melo, M.G.; Sprinz, E.; Gorbach, P.M.; Santos, B.; Rocha, T.M.; Simon, M.; Almeida, M.; Lira, R.; Chaves, M.C.; Kerin, T.; et al. HIV-1 heterosexual transmission and association with sexually transmitted infections in the era of treatment as prevention. *Int. J. Infect. Dis.* 2019, 87, 128–134. [CrossRef] [PubMed]
87. Happel, A.U.; Varsani, A.; Balle, C.; Passmore, J.A.; Jaspan, H. The Vaginal Virome-Balancing Female Genital Tract Bacteriome, Mucosal Immunity, and Sexual and Reproductive Health Outcomes? *Viruses* 2020, 12, 832. [CrossRef] [PubMed]
88. Yao, X.D.; Omenge, R.W.; Henrick, B.M.; Lester, R.T.; Kimani, J.; Ball, T.B.; Plummer, F.A.; Rosenthal, K.L. Acting locally: Innate mucosal immunity in resistance to HIV-1 infection in Kenyan commercial sex workers. *Mucosal Immunol.* 2014, 7, 268–279. [CrossRef]

89. Ball, T.B.; Ji, H.; Kimani, J.; McLaren, P.; Marlin, C.; Hill, A.V.; Plummer, F.A. Polymorphisms in IRF-1 associated with resistance to HIV-1 infection in highly exposed uninfected Kenyan sex workers. *Aids* 2007, 21, 1091–1101. [CrossRef] [PubMed]
90. Ji, H.; Ball, T.B.; Ao, Z.; Kimani, J.; Yao, X.; Plummer, F.A. Reduced HIV-1 long terminal repeat transcription in subjects with protective interferon regulatory factor-1 genotype: A potential mechanism mediating resistance to infection by HIV-1. *Scand. J. Infect. Dis.* 2010, 42, 389–394. [CrossRef] [PubMed]
91. O’Leary, S.; Jasper, M.J.; Warnes, G.M.; Armstrong, D.T.; Robertson, S.A. Seminal plasma regulates endometrial cytokine expression, leukocyte recruitment and embryo development in the pig. *Reproduction* 2004, 128, 237–247. [CrossRef] [PubMed]
92. Monzani, M.V.; Coltro, G.; Sala, A. HPLC determination of ITF 188 and its metabolite ITF 1078 in urine after intranasal administration of new heparin salt ITF 1300 to dogs. *Boll. Chim. Farm.* 1997, 136, 272–274.
93. Remes Lenicov, F.; Rodriguez Rodrigues, C.; Sabatté, J.; Cabrini, M.; Jancic, C.; Ostrowski, M.; Merlotti, A.; Gonzalez, H.; Alonso, A.; Pasqualini, R.A.; et al. Semen Promotes the Differentiation of Tolerogenic Dendritic Cells. *J. Immunol.* 2012, 189, 4777–4786. [CrossRef] [PubMed]
94. Abdulhaqq, S.A.; Zorrilla, C.; Kang, G.; Yin, X.; Tamayo, V.; Seaton, K.E.; Joseph, J.; Garced, S.; Tomaras, G.D.; Linn, K.A.; et al. HIV-1-negative female sex workers sustain high cervical IFNE, low immune activation, and low expression of HIV-1-required host genes. *Mucosal Immunol.* 2016, 9, 1027–1038. [CrossRef] [PubMed]
95. Girard, A.; Rallón, N.; Benito, J.M.; Jospin, F.; Rodriguez, C.; Chanut, B.; Benjelloun, F.; Del Romero, J.; Verrier, B.; Lucht, F.; et al. A high mucosal blocking score is associated with HIV protection. *Aids* 2019, 33, 411–423. [CrossRef]
96. Alimonti, J.B.; Kimani, J.; Matu, L.; Wachihhi, C.; Kaul, R.; Plummer, F.A.; Fowke, K.R. Characterization of CD8 T-cell responses in HIV-1-exposed seronegative commercial sex workers from Nairobi, Kenya. *Immunol. Cell Biol.* 2006, 84, 482–485. [CrossRef] [PubMed]
97. Alimonti, J.B.; Koesters, S.A.; Kimani, J.; Matu, L.; Wachihhi, C.; Plummer, F.A.; Fowke, K.R. CD4⁺ T cell responses in HIV-exposed seronegative women are qualitatively distinct from those in HIV-infected women. *J. Infect. Dis.* 2005, 191, 20–24. [CrossRef]
98. McLaren, P.J.; Blake Ball, T.; Wachihhi, C.; Jaoko, W.; Kelvin, D.J.; Danesh, A.; Kimani, J.; Plummer, F.A.; Fowke, K.R. HIV-Exposed Seronegative Commercial Sex Workers Show a Quiescent Phenotype in the CD4⁺ T Cell Compartment and Reduced Expression of HIV-Dependent Host Factors. *J. Infect. Dis.* 2010, 202, S339–S344. [CrossRef]
99. Songok, E.M.; Luo, M.; Liang, B.; McLaren, P.; Kaefer, N.; Apidi, W.; Boucher, G.; Kimani, J.; Wachihhi, C.; Sekaly, R.; et al. Microarray Analysis of HIV Resistant Female Sex Workers Reveal a Gene Expression Signature Pattern Reminiscent of a Lowered Immune Activation State. *PLoS ONE* 2012, 7, e30048. [CrossRef]

100. Kaul, R.; Trabattoni, D.; Bwayo, J.J.; Arienti, D.; Zagliani, A.; Mwangi, F.M.; Kariuki, C.; Ngugi, E.N.; MacDonald, K.S.; Ball, T.B.; et al. HIV-1-specific mucosal IgA in a cohort of HIV-1-resistant Kenyan sex workers. *Aids* 1999, 13, 23–29. [CrossRef] [PubMed]
101. Devito, C.; Broliden, K.; Kaul, R.; Svensson, L.; Johansen, K.; Kiama, P.; Kimani, J.; Lopalco, L.; Piconi, S.; Bwayo, J.J.; et al. Mucosal and plasma IgA from HIV-1-exposed uninfected individuals inhibit HIV-1 transcytosis across human epithelial cells. *J. Immunol.* 2000, 165, 5170–5176. [CrossRef]
102. Alexander, R.; Mestecky, J. Neutralizing antibodies in mucosal secretions: IgG or IgA? *Curr. HIV Res.* 2007, 5, 588–593. [CrossRef]
103. Dorrell, L.; Hessel, A.J.; Wang, M.; Whittle, H.; Sabally, S.; Rowland-Jones, S.; Burton, D.R.; Parren, P.W. Absence of specific mucosal antibody responses in HIV-exposed uninfected sex workers from the Gambia. *Aids* 2000, 14, 1117–1122. [CrossRef] [PubMed]
104. Mestecky, J.; Wright, P.F.; Lopalco, L.; Staats, H.F.; Kozlowski, P.A.; Moldoveanu, Z.; Alexander, R.C.; Kulhavy, R.; Pastori, C.; Maboko, L.; et al. Scarcity or absence of humoral immune responses in the plasma and cervicovaginal lavage fluids of heavily HIV-1-exposed but persistently seronegative women. *Aids Res. Hum. Retrovir.* 2011, 27, 469–486. [CrossRef]
105. Yu, X.; Duval, M.; Lewis, C.; Gawron, M.A.; Wang, R.; Posner, M.R.; Cavacini, L.A. Impact of IgA Constant Domain on HIV-1 Neutralizing Function of Monoclonal Antibody F425A1g8. *J. Immunol.* 2013, 190, 205–210. [CrossRef] [PubMed]
106. Gunn, B.; Schneider, J.; Shansab, M.; Bastian, A.R.; Fahrback, K.; Smith, A.t.; Mahan, A.; Karim, M.; Licht, A.; Zvonar, I.; et al. Enhanced binding of antibodies generated during chronic HIV infection to mucus component MUC16. *Mucosal Immunol.* 2016, 9, 1549–1558. [CrossRef] [PubMed]
107. Batraverse, L.A.; Richard, J.; Veillette, M.; Labbé, A.C.; Alary, M.; Guédou, F.; Kaufmann, D.E.; Poudrier, J.; Finzi, A.; Roger, M. Short communication: Anti-HIV-1 envelope immunoglobulin Gs in blood and cervicovaginal samples of Beninese commercial sex workers. *Aids Res. Hum. Retrovir.* 2014, 30, 1145–1149. [CrossRef]
108. Wills, S.; Hwang, K.K.; Liu, P.; Dennison, S.M.; Tay, M.Z.; Shen, X.; Pollara, J.; Lucas, J.T.; Parks, R.; Rerks-Ngarm, S.; et al. HIV-1-Specific IgA Monoclonal Antibodies from an HIV-1 Vaccinee Mediate Galactosylceramide Blocking and Phagocytosis. *J. Virol.* 2018, 92, e01552-17. [CrossRef] [PubMed]
109. Williams, W.B.; Liao, H.X.; Moody, M.A.; Kepler, T.B.; Alam, S.M.; Gao, F.; Wiehe, K.; Trama, A.M.; Jones, K.; Zhang, R.; et al. HIV-1 VACCINES. Diversion of HIV-1 vaccine-induced immunity by gp41-microbiota cross-reactive antibodies. *Science* 2015, 349, aab1253. [CrossRef]
110. Mayr, L.M.; Su, B.; Moog, C. Non-Neutralizing Antibodies Directed against HIV and Their Functions. *Front. Immunol.* 2017, 8, 1590. [CrossRef]
111. Tomaras, G.D.; Yates, N.L.; Liu, P.; Qin, L.; Fouda, G.G.; Chavez, L.L.; Decamp, A.C.; Parks, R.J.; Ashley, V.C.; Lucas, J.T.; et al. Initial B-cell responses to transmitted human

- immunodeficiency virus type 1: Virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia. *J. Virol.* 2008, 82, 12449–12463. [CrossRef]
112. Vaidya, N.K.; Ribeiro, R.M.; Liu, P.; Haynes, B.F.; Tomaras, G.D.; Perelson, A.S. Correlation Between Anti-gp41 Antibodies and Virus Infectivity Decay During Primary HIV-1 Infection. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 1326. [CrossRef]
 113. Kim, J.H.; Excler, J.L.; Michael, N.L. Lessons from the RV144 Thai phase III HIV-1 vaccine trial and the search for correlates of protection. *Annu. Rev. Med.* 2015, 66, 423–437. [CrossRef] [PubMed]
 114. Gray, G.E.; Huang, Y.; Grunenberg, N.; Laher, F.; Roux, S.; Andersen-Nissen, E.; De Rosa, S.C.; Flach, B.; Randhawa, A.K.; Jensen, R.; et al. Immune correlates of the Thai RV144 HIV vaccine regimen in South Africa. *Sci. Transl. Med.* 2019, 11, eaax1880. [CrossRef] [PubMed]
 115. Bruxelle, J.-F.; Trattinig, N.; Mureithi, M.W.; Landais, E.; Pantophlet, R. HIV-1 Entry and Prospects for Protecting against Infection. *Microorganisms* 2021, 9, 228. [CrossRef] [PubMed]
 116. Karuna, S.T.; Corey, L. Broadly Neutralizing Antibodies for HIV Prevention. *Annu. Rev. Med.* 2020, 71, 329–346. [CrossRef] [PubMed]
 117. Kulkarni, V.; Ruprecht, R.M. Mucosal IgA Responses: Damaged in Established HIV Infection-Yet, Effective Weapon against HIV Transmission. *Front. Immunol.* 2017, 8, 1581. [CrossRef]
 118. Bomsel, M.; Tudor, D.; Drillet, A.S.; Alfsen, A.; Ganor, Y.; Roger, M.G.; Mouz, N.; Amacker, M.; Chalifour, A.; Diomede, L.; et al. Immunization with HIV-1 gp41 subunit virosomes induces mucosal antibodies protecting nonhuman primates against vaginal SHIV challenges. *Immunity* 2011, 34, 269–280. [CrossRef] [PubMed]
 119. Duchemin, M.; Tudor, D.; Cottignies-Calamarte, A.; Bomsel, M. Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis of HIV-1-Infected Cells Is Efficiently Triggered by IgA Targeting HIV-1 Envelope Subunit gp41. *Front. Immunol.* 2020, 11, 11. [CrossRef] [PubMed]
 120. Om, K.; Paquin-Proulx, D.; Montero, M.; Peachman, K.; Shen, X.; Wiczorek, L.; Beck, Z.; Weiner, J.A.; Kim, D.; Li, Y.; et al. Adjuvanted HIV-1 vaccine promotes antibody-dependent phagocytic responses and protects against heterologous SHIV challenge. *PLoS Pathog.* 2020, 16, e1008764. [CrossRef] [PubMed]
 121. Sholukh, A.M.; Watkins, J.D.; Vyas, H.K.; Gupta, S.; Lakhashe, S.K.; Thorat, S.; Zhou, M.; Hemashettar, G.; Bachler, B.C.; Forthal, D.N.; et al. Defense-in-depth by mucosally administered anti-HIV dimeric IgA2 and systemic IgG1 mAbs: Complete protection of rhesus monkeys from mucosal SHIV challenge. *Vaccine* 2015, 33, 2086–2095. [CrossRef]
 122. Watkins, J.D.; Sholukh, A.M.; Mukhtar, M.M.; Siddappa, N.B.; Lakhashe, S.K.; Kim, M.; Reinherz, E.L.; Gupta, S.; Forthal, D.N.; Sattentau, Q.J.; et al. Anti-HIV IgA isotypes: Differential virion capture and inhibition of transcytosis are linked to prevention of mucosal R5 SHIV transmission. *Aids* 2013, 27, F13–F20. [CrossRef]

123. Amodio, G.; Gregori, S. Human tolerogenic DC-10: Perspectives for clinical applications. *Transpl. Res.* 2012, 1, 14. [CrossRef]
124. Gregori, S.; Tomasoni, D.; Pacciani, V.; Scirpoli, M.; Battaglia, M.; Magnani, C.F.; Hauben, E.; Roncarolo, M.G. Differentiation of type 1 T regulatory cells (Tr1) by tolerogenic DC-10 requires the IL-10-dependent ILT4/HLA-G pathway. *Blood* 2010, 116, 935–944. [CrossRef]
125. Levings, M.K.; Sangregorio, R.; Galbiati, F.; Squadrone, S.; de Malefyt, R.W.; Roncarolo, M.G. IFN-alpha and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells. *J. Immunol.* 2001, 166, 5530–5539. [CrossRef] [PubMed]
126. Steinbrink, K.; Graulich, E.; Kubsch, S.; Knop, J.; Enk, A.H. CD4⁽⁺⁾ and CD8⁽⁺⁾ anergic T cells induced by interleukin-10-treated human dendritic cells display antigen-specific suppressor activity. *Blood* 2002, 99, 2468–2476. [CrossRef]
127. Chang, C.C.; Ciubotariu, R.; Manavalan, J.S.; Yuan, J.; Colovai, A.I.; Piazza, F.; Lederman, S.; Colonna, M.; Cortesini, R.; Dalla-Favera, R.; et al. Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: The crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat. Immunol.* 2002, 3, 237–243. [CrossRef] [PubMed]
128. Min, W.P.; Zhou, D.; Ichim, T.E.; Strejan, G.H.; Xia, X.; Yang, J.; Huang, X.; Garcia, B.; White, D.; Dutartre, P.; et al. Inhibitory feedback loop between tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in transplant tolerance. *J. Immunol.* 2003, 170, 1304–1312. [CrossRef] [PubMed]
129. Moreau, P.; Adrian-Cabestre, F.; Menier, C.; Guiard, V.; Gourand, L.; Dausset, J.; Carosella, E.D.; Paul, P. IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int. Immunol.* 1999, 11, 803–811. [CrossRef]
130. Ristich, V.; Zhang, W.; Liang, S.; Horuzsko, A. Mechanisms of prolongation of allograft survival by HLA-G/ILT4-modified dendritic cells. *Hum. Immunol.* 2007, 68, 264–271. [CrossRef]
131. LeMaoult, J.; Krawice-Radanne, I.; Dausset, J.; Carosella, E.D. HLA-G1-expressing antigen-presenting cells induce immunosuppressive CD4⁺ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 7064–7069. [CrossRef]
132. Amodio, G.; Comi, M.; Tomasoni, D.; Gianolini, M.E.; Rizzo, R.; LeMaoult, J.; Roncarolo, M.G.; Gregori, S. HLA-G expression levels influence the tolerogenic activity of human DC-10. *Haematologica* 2015, 100, 548–557. [CrossRef]
133. Rescigno, M.; Di Sabatino, A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J. Clin. Invest.* 2009, 119, 2441–2450. [CrossRef]
134. Wacleche, V.S.; Tremblay, C.L.; Routy, J.-P.; Ancuta, P. The Biology of Monocytes and Dendritic Cells: Contribution to HIV Pathogenesis. *Viruses* 2018, 10, 65. [CrossRef]
135. Rodriguez-Garcia, M.; Shen, Z.; Barr, F.D.; Boesch, A.W.; Ackerman, M.E.; Kappes, J.C.; Ochsenbauer, C.; Wira, C.R. Dendritic cells from the human female reproductive tract rapidly capture and respond to HIV. *Mucosal Immunol.* 2017, 10, 531–544. [CrossRef]

136. Cros, J.; Cagnard, N.; Woollard, K.; Patey, N.; Zhang, S.Y.; Senechal, B.; Puel, A.; Biswas, S.K.; Moshous, D.; Picard, C.; et al. Human CD14^{dim} monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity* 2010, 33, 375–386. [CrossRef]
137. Wacleche, V.S.; Cattin, A.; Goulet, J.P.; Gauchat, D.; Gosselin, A.; Cleret-Buhot, A.; Zhang, Y.; Tremblay, C.L.; Routy, J.P.; Ancuta, P. CD16⁽⁺⁾ monocytes give rise to CD103⁽⁺⁾RALDH2⁽⁺⁾TCF4⁽⁺⁾ dendritic cells with unique transcriptional and immunological features. *Blood Adv.* 2018, 2, 2862–2878. [CrossRef] [PubMed]
138. Randolph, G.J.; Sanchez-Schmitz, G.; Liebman, R.M.; Schäkel, K. The CD16⁽⁺⁾ (FcγRIII⁽⁺⁾) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting. *J. Exp. Med.* 2002, 196, 517–527. [CrossRef] [PubMed]
139. Attanasio, J.; Wherry, E.J. Costimulatory and Coinhibitory Receptor Pathways in Infectious Disease. *Immunity* 2016, 44, 1052–1068. [CrossRef] [PubMed]
140. Khaitan, A.; Kravietz, A.; Mwamzuka, M.; Marshed, F.; Ilmet, T.; Said, S.; Ahmed, A.; Borkowsky, W.; Unutmaz, D. FOXP3⁺Helios⁺ Regulatory T Cells, Immune Activation, and Advancing Disease in HIV-Infected Children. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2016, 72, 474–484. [CrossRef] [PubMed]
141. Card, C.M.; McLaren, P.J.; Wachihi, C.; Kimani, J.; Plummer, F.A.; Fowke, K.R. Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾FOXP3⁽⁺⁾ regulatory T cells. *J. Infect. Dis.* 2009, 199, 1318–1322. [CrossRef]
142. Safe, S.; Jin, U.H.; Morpurgo, B.; Abudayyeh, A.; Singh, M.; Tjalkens, R.B. Nuclear receptor 4A (NR4A) family-orphans no more. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2016, 157, 48–60. [CrossRef]
143. Mildner, A.; Schönheit, J.; Giladi, A.; David, E.; Lara-Astiaso, D.; Lorenzo-Vivas, E.; Paul, F.; Chappell-Maor, L.; Priller, J.; Leutz, A.; et al. Genomic Characterization of Murine Monocytes Reveals C/EBPβ Transcription Factor Dependence of Ly6C⁽⁻⁾ Cells. *Immunity* 2017, 46, 849–862.e847. [CrossRef] [PubMed]
144. Hanna, R.N.; Carlin, L.M.; Hubbeling, H.G.; Nackiewicz, D.; Green, A.M.; Punt, J.A.; Geissmann, F.; Hedrick, C.C. The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C⁻ monocytes. *Nat. Immunol.* 2011, 12, 778–785. [CrossRef] [PubMed]
145. Tel-Karthaous, N.; Kers-Rebel, E.D.; Looman, M.W.; Ichinose, H.; de Vries, C.J.; Ansems, M. Nuclear Receptor Nur77 Deficiency Alters Dendritic Cell Function. *Front. Immunol.* 2018, 9, 1797. [CrossRef] [PubMed]
146. Boulet, S.; Daudelin, J.F.; Odagiu, L.; Pelletier, A.N.; Yun, T.J.; Lesage, S.; Cheong, C.; Labrecque, N. The orphan nuclear receptor NR4A3 controls the differentiation of monocyte-derived dendritic cells following microbial stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2019, 116, 15150–15159. [CrossRef]

147. Wan, P.K.-T.; Siu, M.K.-Y.; Leung, T.H.-Y.; Mo, X.-T.; Chan, K.K.-L.; Ngan, H.Y.-S. Role of Nurr1 in Carcinogenesis and Tumor Immunology: A State of the Art Review. *Cancers* 2020, 12, 3044. [CrossRef]
148. Hibino, S.; Chikuma, S.; Kondo, T.; Ito, M.; Nakatsukasa, H.; Omata-Mise, S.; Yoshimura, A. Inhibition of Nr4a Receptors Enhances Antitumor Immunity by Breaking Treg-Mediated Immune Tolerance. *Cancer Res.* 2018, 78, 3027–3040. [CrossRef] [PubMed]
149. Kaul, R.; Rowland-Jones, S.L.; Kimani, J.; Dong, T.; Yang, H.B.; Kiama, P.; Rostron, T.; Njagi, E.; Bwayo, J.J.; MacDonald, K.S.; et al. Late seroconversion in HIV-resistant Nairobi prostitutes despite pre-existing HIV-specific CD8⁺ responses. *J. Clin. Investig.* 2001, 107, 341–349. [CrossRef]
150. Cerutti, A.; Cols, M.; Puga, I. Marginal zone B cells: Virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat. Rev. Immunol.* 2013, 13, 118–132. [CrossRef]
151. Victora, G.D.; Nussenzweig, M.C. Germinal centers. *Annu. Rev. Immunol.* 2012, 30, 429–457. [CrossRef]
152. He, B.; Qiao, X.; Klasse, P.J.; Chiu, A.; Chadburn, A.; Knowles, D.M.; Moore, J.P.; Cerutti, A. HIV-1 envelope triggers polyclonal Ig class switch recombination through a CD40-independent mechanism involving BAFF and C-type lectin receptors. *J. Immunol.* 2006, 176, 3931–3941. [CrossRef]
153. Doyon-Laliberté, K.; Chagnon-Choquet, J.; Byrns, M.; Aranguren, M.; Memmi, M.; Chrobak, P.; Stagg, J.; Poudrier, J.; Roger, M. NR4A Expression by Human Marginal Zone B-Cells. *Antibodies* 2019, 8, 50. [CrossRef]
154. Duren, R.P.; Boudreaux, S.P.; Conneely, O.M. Genome Wide Mapping of NR4A Binding Reveals Cooperativity with ETS Factors to Promote Epigenetic Activation of Distal Enhancers in Acute Myeloid Leukemia Cells. *PLoS ONE* 2016, 11, e0150450. [CrossRef]
155. Chagnon-Choquet, J.; Fontaine, J.; Poudrier, J.; Roger, M. For the Montreal Primary, HIV1 Slow Progressor Study Group. IL-10 and Lymphotoxin- α Expression Profiles within Marginal Zone-Like B-Cell Populations Are Associated with Control of HIV-1 Disease Progression. *PLoS ONE* 2014, 9, e101949. [CrossRef] [PubMed]
156. Fontaine, J.; Chagnon-Choquet, J.; Valcke, H.S.; Poudrier, J.; Roger, M.; The Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Group. High expression levels of B lymphocyte stimulator (BLyS) by dendritic cells correlate with HIV-related B-cell disease progression in humans. *Blood* 2011, 117, 145–155. [CrossRef] [PubMed]
157. Poudrier, J.; Soulas, C.; Chagnon-Choquet, J.; Burdo, T.; Autissier, P.; Oskar, K.; Williams, K.C.; Roger, M. High Expression Levels of BAFF by Blood Dendritic Cells and Granulocytes Are Associated with B-cell dysregulation in SIV-Infected Rhesus Macaques. *PLoS ONE* 2015, 10, e0131513. [CrossRef] [PubMed]
158. Zayed, R.A.; Sheba, H.F.; Abo Elazaem, M.A.; Elsaadany, Z.A.; Elmessery, L.O.; Mahmoud, J.A.; Abdel Rahman, D.R.; Abdou, F.R. B-cell activating factor promoter polymorphisms in egyptian patients with systemic lupus erythematosus. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2013, 43, 289–294.

159. Steri, M.; Orrù, V.; Idda, M.L.; Pitzalis, M.; Pala, M.; Zara, I.; Sidore, C.; Faà, V.; Floris, M.; Deiana, M.; et al. Overexpression of the Cytokine BAFF and Autoimmunity Risk. *N. Engl. J. Med.* 2017, 376, 1615–1626. [CrossRef] [PubMed]
160. Ayad, M.W.; Elbanna, A.A.; Elneily, D.A.; Sakr, A.S. Association of BAFF-871C/T Promoter Polymorphism with Hepatitis C-Related Mixed Cryoglobulinemia in a Cohort of Egyptian Patients. *Mol. Diagn. Ther.* 2015, 19, 99–106. [CrossRef]
161. Zheng, Y.Y. Marginal zone B cells contribute to autoimmunity in the NZM2410 lupus prone mouse model. (159.13). *J. Immunol.* 2012, 188, 113–159.
162. Wen, X.; Yang, J.-Q.; Kim, P.J.; Singh, R.R. Homeostatic Regulation of Marginal Zone B Cells by Invariant Natural Killer T Cells. *PLoS ONE* 2011, 6, e26536. [CrossRef]
163. Bialecki, E.; Paget, C.; Fontaine, J.; Capron, M.; Trottein, F.; Faveeuw, C. Role of Marginal Zone B Lymphocytes in Invariant NKT Cell Activation. *J. Immunol.* 2009, 182, 6105–6113. [CrossRef]
164. Oleinika, K.; Rosser, E.C.; Matei, D.E.; Nistala, K.; Bosma, A.; Drozdov, I.; Mauri, C. CD1d-dependent immune suppression mediated by regulatory B cells through modulations of iNKT cells. *Nat. Commun.* 2018, 9, 684. [CrossRef] [PubMed]
165. Abel, A.M.; Yang, C.; Thakar, M.S.; Malarkannan, S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front. Immunol.* 2018, 9, 1869. [CrossRef]
166. Hu, P.F.; Hultin, L.E.; Hultin, P.; Hausner, M.A.; Hirji, K.; Jewett, A.; Bonavida, B.; Detels, R.; Giorgi, J.V. Natural killer cell immunodeficiency in HIV disease is manifest by profoundly decreased numbers of CD16⁺CD56⁺ cells and expansion of a population of CD16dimCD56⁻ cells with low lytic activity. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 1995, 10, 331–340. [CrossRef] [PubMed]
167. Mavilio, D.; Lombardo, G.; Benjamin, J.; Kim, D.; Follman, D.; Marcenaro, E.; O’Shea, M.A.; Kinter, A.; Kovacs, C.; Moretta, A.; et al. Characterization of CD56⁻/CD16⁺ natural killer (NK) cells: A highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 2886–2891. [CrossRef] [PubMed]
168. Vendrame, E.; Seiler, C.; Ranganath, T.; Zhao, N.Q.; Vergara, R.; Alary, M.; Labbé, A.-C.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Holmes, S.; et al. TIGIT is upregulated by HIV-1 infection and marks a highly functional adaptive and mature subset of natural killer cells. *Aids* 2020, 34, 801–813. [CrossRef]
169. Chew, G.M.; Fujita, T.; Webb, G.M.; Burwitz, B.J.; Wu, H.L.; Reed, J.S.; Hammond, K.B.; Clayton, K.L.; Ishii, N.; Abdel-Mohsen, M.; et al. TIGIT Marks Exhausted T Cells, Correlates with Disease Progression, and Serves as a Target for Immune Restoration in HIV and SIV Infection. *PLoS Pathog.* 2016, 12, e1005349. [CrossRef] [PubMed]
170. Zhang, Q.; Bi, J.; Zheng, X.; Chen, Y.; Wang, H.; Wu, W.; Wang, Z.; Wu, Q.; Peng, H.; Wei, H.; et al. Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity. *Nat. Immunol.* 2018, 19, 723–732. [CrossRef]

171. Noyan, K.; Nguyen, S.; Betts, M.R.; Sönnnerborg, A.; Buggert, M. Human Immunodeficiency Virus Type-1 Elite Controllers Maintain Low Co-Expression of Inhibitory Receptors on CD4⁺ T Cells. *Front. Immunol.* 2018, 9, 19. [CrossRef]
172. Zhao, N.Q.; Vendrame, E.; Ferreira, A.-M.; Seiler, C.; Ranganath, T.; Alary, M.; Labbé, A.-C.; Guédou, F.; Poudrier, J.; Holmes, S.; et al. Natural killer cell phenotype is altered in HIV-exposed seronegative women. *PLoS ONE* 2020, 15, e0238347. [CrossRef]
173. Jackson, E.; Zhang, C.X.; Kiani, Z.; Lisovsky, I.; Tallon, B.; Del Corpo, A.; Gilbert, L.; Bruneau, J.; Thomas, R.; Côté, P.; et al. HIV exposed seronegative (HESN) compared to HIV infected individuals have higher frequencies of telomeric Killer Immunoglobulin- like Receptor (KIR) B motifs; Contribution of KIR B motif encoded genes to NK cell responsiveness. *PLoS ONE* 2017, 12, e0185160. [CrossRef] [PubMed]
174. Merino, A.; Malhotra, R.; Morton, M.; Mulenga, J.; Allen, S.; Hunter, E.; Tang, J.; Kaslow, R.A. Impact of a functional KIR2DS4 allele on heterosexual HIV-1 transmission among discordant Zambian couples. *J. Infect. Dis.* 2011, 203, 487–495. [CrossRef] [PubMed]
175. Boulet, S.; Kleyman, M.; Kim, J.Y.; Kanya, P.; Sharafi, S.; Simic, N.; Bruneau, J.; Routy, J.-P.; Tsoukas, C.M.; Bernard, N.F. A combined genotype of KIR3DL1 high expressing alleles and HLA-B*57 is associated with a reduced risk of HIV infection. *Aids* 2008, 22, 1487–1491. [CrossRef] [PubMed]
176. Goulder, P.J.R.; Walker, B.D. HIV and HLA Class I: An Evolving Relationship. *Immunity* 2012, 37, 426–440. [CrossRef] [PubMed]
177. Martin, M.P.; Gao, X.; Lee, J.H.; Nelson, G.W.; Detels, R.; Goedert, J.J.; Buchbinder, S.; Hoots, K.; Vlahov, D.; Trowsdale, J.; et al. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat. Genet.* 2002, 31, 429–434. [CrossRef]
178. Kanya, P.; Boulet, S.; Tsoukas, C.M.; Routy, J.-P.; Thomas, R.; Côté, P.; Boulassel, M.-R.; Baril, J.-G.; Kovacs, C.; Migueles, S.A. et al. Receptor-Ligand Requirements for Increased NK Cell Polyfunctional Potential in Slow Progressors Infected with HIV-1 Coexpressing KIR3DL1**h*/**y* and HLA-B*57. *J. Virol.* 2011, 85, 5949–5960. [CrossRef] [PubMed]
179. Dold, L.; Zimmer, L.; Schwarze-Zander, C.; Boesecke, C.; Mohr, R.; Wasmuth, J.C.; Ommer, K.; Gathof, B.; Krämer, B.; Nattermann, J.; et al. TLR agonists enhance responsiveness of inflammatory innate immune cells in HLA-B*57-positive HIV patients. *J. Mol. Med.* 2021, 99, 147–158. [CrossRef]
180. Dold, L.; Ahlenstiel, G.; Althausen, E.; Luda, C.; Schwarze-Zander, C.; Boesecke, C.; Wasmuth, J.-C.; Rockstroh, J.K.; Spengler, U. Survival and HLA-B*57 in HIV/HCV Co-Infected Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART). *PLoS ONE* 2015, 10, e0134158. [CrossRef] [PubMed]
181. Breen, E.C.; Rezai, A.R.; Nakajima, K.; Beall, G.N.; Mitsuyasu, R.T.; Hirano, T.; Kishimoto, T.; Martinez-Maza, O. Infection with HIV is associated with elevated IL-6 levels and production. *J. Immunol.* 1990, 144, 480–484.

182. Jalbert, E.; Crawford, T.Q.; D'Antoni, M.L.; Keating, S.M.; Norris, P.J.; Nakamoto, B.K.; Seto, T.; Parikh, N.I.; Shikuma, C.M.; Ndhlovu, L.C.; et al. IL-1B Enriched Monocytes Mount Massive IL-6 Responses to Common Inflammatory Triggers among Chronically HIV-1 Infected Adults on Stable Anti-Retroviral Therapy at Risk for Cardiovascular Disease. *PLoS ONE* 2013, 8, e75500. [CrossRef]
183. Yao, X.; Huang, J.; Zhong, H.; Shen, N.; Faggioni, R.; Fung, M.; Yao, Y. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol. Ther.* 2014, 141, 125–139. [CrossRef] [PubMed]
184. Remick, D.G.; Bolgos, G.; Copeland, S.; Siddiqui, J. Role of Interleukin-6 in Mortality from and Physiologic Response to Sepsis. *Infect. Immun.* 2005, 73, 2751–2757. [CrossRef]
185. Haynes, B.F.; Gilbert, P.B.; McElrath, M.J.; Zolla-Pazner, S.; Tomaras, G.D.; Alam, S.M.; Evans, D.T.; Montefiori, D.C.; Karnasuta, C.; Sutthent, R.; et al. Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. *N. Engl. J. Med.* 2012, 366, 1275–1286. [CrossRef]
186. Rerks-Ngarm, S.; Pitisuttithum, P.; Nitayaphan, S.; Kaewkungwal, J.; Chiu, J.; Paris, R.; Prem Sri, N.; Namwat, C.; de Souza, M.; Adams, E.; et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N. Engl. J. Med.* 2009, 361, 2209–2220. [CrossRef] [PubMed]
187. Lambotte, O.; Ferrari, G.; Moog, C.; Yates, N.L.; Liao, H.X.; Parks, R.J.; Hicks, C.B.; Owzar, K.; Tomaras, G.D.; Montefiori, D.C.; et al. Heterogeneous neutralizing antibody and antibody-dependent cell cytotoxicity responses in HIV-1 elite controllers. *Aids* 2009, 23, 897–906. [CrossRef]
188. Nag, P.; Kim, J.; Sapiaga, V.; Landay, A.L.; Bremer, J.W.; Mestecky, J.; Reichelderfer, P.; Kovacs, A.; Cohn, J.; Weiser, B.; et al. Women with cervicovaginal antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity have lower genital HIV-1 RNA loads. *J. Infect. Dis.* 2004, 190, 1970–1978. [CrossRef]
189. Gaynor, L.M.; Colucci, F. Uterine Natural Killer Cells: Functional Distinctions and Influence on Pregnancy in Humans and Mice. *Front. Immunol.* 2017, 8, 467. [CrossRef] [PubMed]
190. King, A.; Balendran, N.; Wooding, P.; Carter, N.P.; Loke, Y.W. CD3⁺ Leukocytes Present in the Human Uterus During Early Placentation: Phenotypic and Morphologic Characterization of the CD56⁺⁺ Population. *Dev. Immunol.* 1991, 1, 083493. [CrossRef] [PubMed]
191. Robertson, M.J. Role of chemokines in the biology of natural killer cells. *J. Leukoc. Biol.* 2002, 71, 173–183. [CrossRef]
192. Alkhatib, G.; Locati, M.; Kennedy, P.E.; Murphy, P.M.; Berger, E.A. HIV-1 coreceptor activity of CCR5 and its inhibition by chemokines: Independence from G protein signaling and importance of coreceptor downmodulation. *Virology* 1997, 234, 340–348. [CrossRef]

193. Mselle, T.F.; Howell, A.L.; Ghosh, M.; Wira, C.R.; Sentman, C.L. Human Uterine Natural Killer Cells but Not Blood Natural Killer Cells Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection by Secretion of CXCL12. *J. Virol.* 2009, 83, 11188–11195. [CrossRef]
194. Connell, B.J.; Hermans, L.E.; Wensing, A.M.J.; Schellens, I.; Schipper, P.J.; van Ham, P.M.; de Jong, D.T.C.M.; Otto, S.; Mathe, T.; Moraba, R.; et al. Immune activation correlates with and predicts CXCR4 co-receptor tropism switch in HIV-1 infection. *Sci. Rep.* 2020, 10, 15866. [CrossRef] [PubMed]
195. Xu, F.; Acosta, E.P.; Liang, L.; He, Y.; Yang, J.; Kerstner-Wood, C.; Zheng, Q.; Huang, J.; Wang, K. Current Status of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of HIV-1 Entry Inhibitors and HIV Therapy. *Curr. Drug Metab.* 2017, 18, 769–781. [CrossRef] [PubMed]
196. Jiang, X.; Feyertag, F.; Meehan, C.J.; McCormack, G.P.; Travers, S.A.; Craig, C.; Westby, M.; Lewis, M.; Robertson, D.L. Characterizing the Diverse Mutational Pathways Associated with R5-Tropic Maraviroc Resistance: HIV-1 That Uses the Drug-Bound CCR5 Coreceptor. *J. Virol.* 2015, 89, 11457–11472. [CrossRef]
197. Smith, S.A.; Murray, P.M.; Amancha, P.K.; Ackerley, C.G.; Hu, Y.-J.; Amara, R.R.; Kelley, C.F. Ex vivo rectal explant model reveals potential opposing roles of Natural Killer cells and Marginal Zone-like B cells in HIV-1 infection. *Sci. Rep.* 2020, 10, 20154. [CrossRef] [PubMed]

Annexe 2 : Affiche

Caractérisation des monocytes du sang circulant chez les travailleuses du sexe béninoises dans le contexte du VIH.

Affiche présentée lors de la 6ième journée de la recherche de l'Université de Montréal, novembre 2019 ainsi qu'au 29e Congrès annuel canadien de recherche sur le VIH/sida, mai 2020

INTRODUCTION

Le tractus génital (TG) est la principale porte d'entrée pour le VIH, et son immunité joue un rôle important dans le contrôle d'une flore commensale et la défense de l'organisme contre les microorganismes pathogènes. Avec la collaboration des cellules épithéliales, les cellules dendritiques (DCs) aident à maintenir une balance homéostasique immunitaire entre tolérance et inflammation, elles sont impliquées dans la production de molécules immunorégulatrices, et orchestrent la réponse lymphocytaire T et B.

Un groupe de travailleuses du sexe (TS) a été recruté à Cotonou (Bénin), dans lequel ont été identifiées des femmes dites hautement exposées séronégatives (HESN). Ces femmes ne deviennent pas infectées par le VIH, et ce après plus de sept ans de travail sexuel actif. Les TS HESN Béninoises possèdent une réponse inflammatoire plus basse au niveau du TG comparé aux TS VIH+ et non-TS VIH-. La fréquence de populations de cellules myéloïdes de type « Monocytes-Derived Dendritic Cells (MoDC) » présentant un potentiel antiviral et régulateur « tolérologique » est augmentée au niveau du TG des TS-HESN.

HYPOTHÈSE

Les populations de cellules MoDC observées au niveau du TG des femmes HESN pourraient contribuer à induire un potentiel antiviral et réguler une réponse immunitaire dans le TG. Un phénotype différentiel au niveau des populations de monocytes sanguins pourrait donc être impliqué dans la génération de ces MoDCs.

OBJECTIFS

Pour les groupes de femmes béninoises HESN (n=12), TS+ VIH- ayant moins de 2 ans de TS (n=12), TS+VIH+ (n=12) et TS- VIH- (n=5), nous allons :

- 1) Caractériser le compartiment des monocytes du sang circulant ; sous-populations classiques vs intermédiaires/non-classiques
- 2) Caractérisation du transcriptome des monocytes totaux
- 3) Caractériser le profil inflammatoire des cytokines et chimiokines dans le TG et le sérum de la cohorte du Bénin.

MÉTHODOLOGIE

- Spécimens disponibles : sanguins et génitaux ont été prélevés sur plusieurs visites et cryopréservés.
- Données sociodémographiques, comportementales et cliniques ont été obtenues à partir de questionnaires et de prélèvements génitaux appropriés.
- Détermination des fréquences relatives de populations de monocytes, ainsi que la détermination d'expression de marqueurs extracellulaires et intracellulaires ont été réalisées par cytométrie en flux sur des PBMC totaux.
- L'étude du transcriptome des monocytes totaux ayant été triés, a été réalisée par RNAseq (IRIC).
- L'analyse du profil inflammatoire dans les sérums a été réalisée par technologie Luminex (Multiplex)

CONCLUSION

- Les résultats de FACS sur les monocytes permettent de déterminer des proportions différentes de sous-populations, avec augmentation des non-classiques chez les TS-HESN.
- L'analyse du transcriptome des monocytes totaux par RNA-seq permet de constater entre autre chez les TS-HESN, une augmentation des β -chimiokines qui compétitionnent avec le co-récepteur du VIH CCR5.
- Par multiplex, il est possible d'observer dans le sérum des TS-HESN une diminution significative d'IP-10, MIG, TNF- α , IFN- γ et IL-12 comparativement aux TS-VIH+.

REMERCIEMENTS

Dr Michel Roger
Dr Johanne Poudrier

Membres du laboratoire:

-Lyvia Fourcade
-Michelle Byrns
-Kim Doyon-Laliberté
-Matheus Naegle Aranguren
-Alessandro Modica
-Marie-Claude Faucher

Plateforme cytométrie:

-Dr Dominique Gauchat

Collaboration au CRCHUM:

-Dr Nathalie Grandvaux

Plateforme génomique et informatique de l'IRIC

-Raphaëlle Lambert
-Patrick Gendron

Cohorte Béninoise:

-Dr Michel Alary (CHUL Québec)
-Dr Annie-Claude Labbé (Hopital Maisonneuve-Rosemont)
-Dr Fernand Guédou (CHUL Québec)

Et toutes les participantes de la cohorte béninoise et les équipes de laboratoire sur place

Caractérisation des monocytes du sang circulant chez des travailleuses du sexe béninoises dans le contexte du VIH

Laurence Blondin-Ladrie, Lyvia Fourcade, Johanne Poudrier* et Michel Roger*

Laboratoire d'immunogénétique (CR-CHUM), Université de Montréal, *co-seniors.

RÉSULTATS

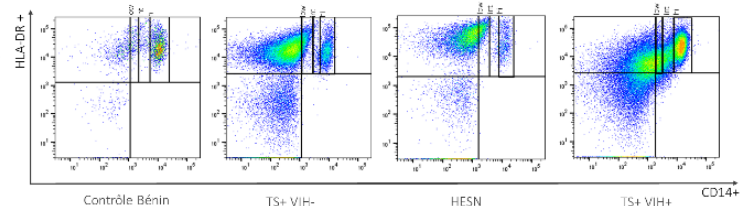


Figure 1 : FACS sur les monocytes permettent de déterminer des proportions différentes de sous-populations de monocytes présents dans les différents groupes

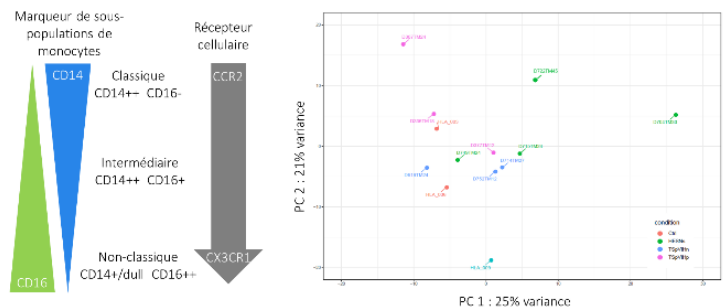


Figure 2 : Sous-classes des monocytes

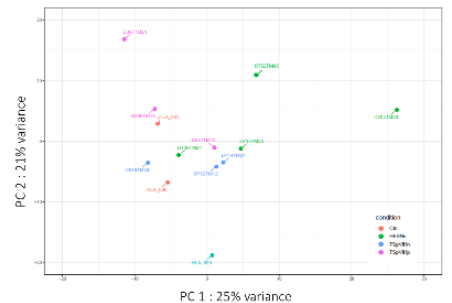


Figure 3 : Analyse en composantes principales des 500 gènes les plus modulés lors du RNA-seq

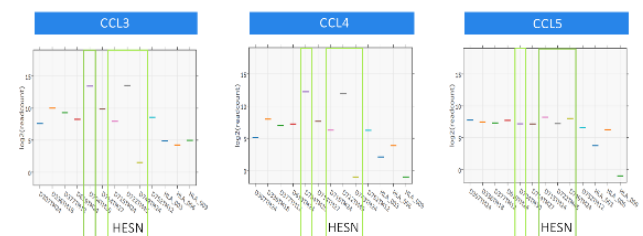


Figure 4 : Analyse du transcriptome des monocytes totaux par RNA-seq

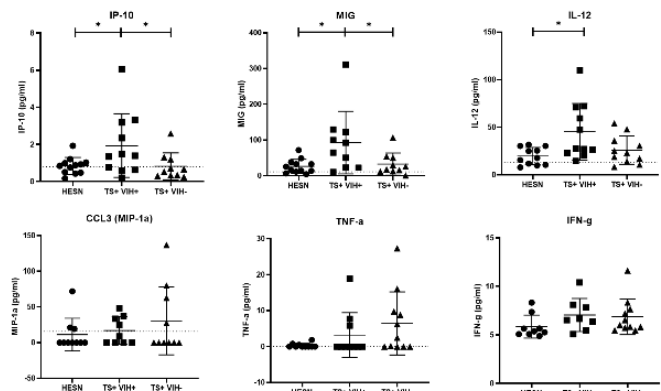


Figure 5 : Profil cytokinique et de chimiokinique par multiplex dans le sérum des femmes de la cohorte béninoise