

Université de Montréal

Étude du dysfonctionnement du compartiment des cellules B chez des patients à différents stades d'infection par le virus d'immunodéficience humaine (VIH).

par :
Han Sang Valcke

Département de microbiologie et immunologie
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention d'un grade de maître ès sciences en microbiologie et immunologie

Décembre 2009

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Étude du dysfonctionnement du compartiment des cellules B chez des patients à différents stades d'infection par le virus d'immunodéficience humaine(VIH).

Présenté par :
Han Sang Valcke

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Claude Fortin (président-rapporteur)

Dr. Michel Roger (directeur de recherche)

Dr. Johanne Poudrier (co-directrice de recherche)

Dr. Ali Ahmad (membre du jury)

RÉSUMÉ

Les anomalies phénotypiques et fonctionnelles des lymphocytes B (LB) sont typiques d'une infection au VIH et se traduisent principalement par une activation polyclonale, une perte de la mémoire immunitaire ainsi qu'une réponse humorale déficiente et des phénomènes auto-immunitaires souvent précurseurs de lymphomes B. Ces anomalies se retrouvent principalement chez les patients lors de la phase chronique de la maladie et semblent être reliées en partie au niveau de la charge virale ainsi qu'à un compartiment de lymphocytes T CD4+ altéré. Cependant, quoique controversé, des éléments d'activation polyclonale ont également été observés chez les non-progresseurs à long terme (LTNPs) qui présentent une charge virale faible et un compartiment T CD4+ semblable aux individus séronégatifs.

Ainsi, les objectifs principaux de cette étude sont 1) d'établir une chronologie des anomalies du compartiment des cellules B chez des individus infectés par le VIH qui ont une progression différente de la maladie (PHI normaux, rapides, sains et LTNP). 2) corrélérer les niveaux sériques du stimulateur de lymphocytes B (BLyS), un facteur de croissance des cellules B, avec les phénotypes observés chez ces mêmes patients. L'hyperglobulinémie, les niveaux sériques de BLyS et d'auto-anticorps ont été mesurés longitudinalement chez une cohorte d'individus en primo-infection (PHI) avec des progressions différentes de la maladie (rapides et normaux), LTNP et sujets sains. Nos résultats démontrent que l'activation polyclonale des LB survient indépendamment de la vitesse de progression et persiste chez les LTNP ou malgré une thérapie antirétrovirale efficace chez les progresseurs rapides. Des niveaux élevés de BLyS dans le sérum des progresseurs rapides corrélerent avec des fréquences altérées de monocytes et cellules dendritiques, suggérant un rôle de celles-ci dans l'atteinte du compartiment des cellules B.

Mots clés : VIH, SIDA, LTNPs, PHI, cellule dendritique, lymphocyte B, CD4+, BLyS, hyperglobulinémie.

RÉSUMÉ (anglais)

B lymphocyte abnormalities are an important consequence of HIV infection, where both polyclonal activation and loss of B cell memory and humoral immunity have been described, and often evolve towards rheumatic-like autoimmunity and lymphoma. Although these abnormalities are prevalent in chronically infected patients, polyclonal B cell activation is also reported in patients with primary HIV-infection (PHI), who already present signs of defective humoral immunity. Although controversial, elements of B cell dysregulation have been reported in long term non-progressor (LTNP) patients, even though they bear low viral loads and present a relatively "normal" CD4+ T cell compartment, suggesting that other factors are involved.

Therefore, the main objectives of this study are to 1) establish a timeline for specific B cell abnormalities in HIV-infected patients with different rates of disease progression (PHI normal and fast progressors, LTNP), and controls 2) to correlate serum levels of the B lymphocyte stimulator (BLyS) a B cell growth factor, among these patients and controls. Thus we have longitudinally assessed hyperglobulinemia, auto-antibody and soluble BLyS levels in the serum of subjects undergoing primary HIV infection (PHI) with different rates of disease progression; rapid and normal progressors, long term non-progressors (LTNPs), and healthy donors. Here, we report that B cell polyclonal activation occurs independently of the rate of disease progression, with hypergammaglobulinemia persisting beyond successful therapy in rapid progressors and despite non-progressing clinical disease in LTNPs. High levels of BLyS in the serum of PHI rapid progressors correlate with altered blood monocyte and dendritic cell frequencies suggesting their contribution in triggering B cell dysregulations.

Keywords : HIV, AIDS, LTNPs, PHI, dendritic cell, B lymphocyte, CD4+, BLyS, hyperglobulinemia.

TABLE DES MATIÈRES

TITRE DU MÉMOIRE	I
MEMBRES DU JURY	II
RÉSUMÉ	III
RÉSUMÉ (ANGLAIS)	IV
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	IX
DÉDICACE	XIII
REMERCIEMENTS	XIV
INTRODUCTION	15
1 VIH/SIDA	15
1.1 HISTORIQUE	15
1.2 ORIGINE DU VIRUS	16
1.3 ÉPIDÉMIOLOGIE	17
1.3.1 VIH-1	17
1.3.2 VIH-2	18
1.3.3 <i>Transmission</i>	18
1.3.3.1 Horizontale	18
1.3.3.1.1 Transmission sexuelle	18
1.3.3.1.2 Transmission parentérale	19
1.3.3.2 Verticale	19
1.4 CYCLE DE RÉPLICATION	20
1.4.1 <i>Mode d'entrée</i>	21
1.4.1.1 Tropisme	22
1.4.1.1.1 CCR5	23
1.4.1.1.2 CXCR4	23
1.4.1.1.3 Autres	23
1.4.2 <i>Décapsidation</i>	24
1.4.3 <i>Transcription inverse</i>	24
1.4.4 <i>Intégration</i>	24
1.4.5 <i>Réplication</i>	25
1.4.6 <i>Assemblage</i>	25
1.4.7 <i>Relâche</i>	26
1.5 TRAITEMENT ET THÉRAPIES	26
1.5.1 <i>Persistence et mécanismes d'évasion</i>	26
2 PATHOGÉNÈSE	28
2.1 PROFIL D'ÉVOLUTION DE LA MALADIE	29
2.1.1 <i>Primo infection</i>	30
2.1.2 <i>Phase Chronique</i>	30
2.1.3 <i>Progression de l'infection</i>	31
2.1.3.1 <i>Progresseurs rapides</i>	31
2.1.3.2 <i>LTNPs</i>	32

	vi
2.2	FACTEURS QUI INFLUENCENT LA PROGRESSION ET LE RISQUE D'INFECTION 34
2.2.1	<i>Facteurs viraux</i> 34
2.2.1.1	Nef..... 34
2.2.1.2	Vif..... 35
2.2.1.3	Charge virale 35
2.2.2	<i>Facteurs de l'hôte</i> 36
2.2.2.1	$\Delta 32$ CCR5 36
2.2.2.2	Ligands de CCR5 37
2.2.2.3	CXCL12 (SDF-1) 37
2.2.2.4	APOBEC3G 38
2.2.2.5	TRIM5 α 39
2.2.2.6	Allèles HLA 39
2.3	RÉPONSE IMMUNE..... 39
2.3.1	<i>Immunité innée</i> 40
2.3.1.1	TLRs..... 40
2.3.1.2	Cellules NK..... 40
2.3.2	<i>Immunité adaptative</i> 41
2.3.2.1	LT CD4 ⁺ 41
2.3.2.1.1	PD-1 42
2.3.2.2	DC 42
2.3.2.3	Sous populations (pDC et mDC)..... 43
2.3.2.3.1	Phénotype 43
2.3.2.4	DC dans le contexte VIH 44
2.3.2.5	Influence sur la transmission aux LT CD4+..... 48
2.3.2.5.1	Précurseurs CD14+CD16+ 48
2.3.2.5.2	Trans-infection 48
2.3.2.6	BlyS..... 50
2.3.2.7	INF- α 53
2.3.2.8	IL-6 54
2.3.2.9	IL-10 54
2.3.2.10	Compartiment des LB dans le contexte VIH 55
2.3.2.10.1	Hyperactivation..... 56
2.3.2.10.2	Le modèle murin HIV-Tg..... 59
2.3.2.10.3	Mémoire immunitaire 60
2.3.2.10.4	VIH et Auto-immunité 61
2.3.2.10.5	Lymphomes B 61
3	HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS 63
4	ARTICLE 64
4.1	ABSTRACT 66
4.2	INTRODUCTION 67
4.3	RESULTS 69
4.4	DISCUSSION 71
5	DISCUSSION 78
5.1	ACTIVATION POLYCLONALE 78
5.2	BLYS 81
6	CONCLUSION..... 84
7	BIBLIOGRAPHIE 85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: caractéristiques socio-démographiques et cliniques d'individus infectés par le VIH.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Analyse phylogénétique de la souche SIVcpzPtt chez le chimpanzé *P.t. troglodyte*

Figure 2 : Cycle de réplication simplifié du VIH

Figure 3 : Profil de la progression de l'infection par le VIH-1

Figure 4 : Spécificité des ligands et fonctions des récepteurs BLYS et APRIL

Figure 5 : Évaluation longitudinale des niveaux d'immunoglobulines, d'auto-anticorps et de BLYS sériques.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

3TC :	Lamivudine
APC :	Cellule présentatrice d'antigène professionnelle
APRIL:	a proliferation-inducing ligand
ART :	Thérapie antiretrovirale
AZT:	Zidovudine (anciennement azidothymidine)
BAFF	Facteur d'activation des cellules B de la famille du TNF
BAFF-R :	Récepteur de BAFF
BCMA :	Antigène de maturation des cellules B
BCR:	Récepteur des cellules B
BLyS	Stimulateur des lymphocytes B
BrdU	Bromodésoxyuridine
CA :	protéines de capsid
CCR5 :	CC récepteur de chimiokine 5
CDC :	Center for disease control
CG	Centre germinatifs
CLR:	Récepteur de lectine de type C
CMHI :	Complexe d'histocompatibilité de classe I
CMHII :	Complexe d'histocompatibilité de classe II
CMV:	Cytomegalovirus
CRFs :	Circulating recombinant forms
CTL :	Lymphocyte T cytolytique
CXCR4:	CXC récepteur de chimiokine 4
DC:	cellule dendritique
DLCL :	Lymphomes à cellule large diffuse

dsDNA	Acide désoxyribonucléique double brins
FACS	Fluorescence-activated cell sorting (cytométrie en flux)
GALT	Tissus lymphoïdes associé aux tractus gastro-intestinal
GM-CSF:	granulocyte-monocyte colony stimulating factor
GRID :	gay-related immune deficiency
HAART:	Highly Active Anti-Viral Therapy
HAND:	Désordre neurocognitif associé au VIH
HARSAH :	hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes
VIH :	virus de l'immunodéficience humaine
HIVE:	Encephalite associée au VIH
HLA :	human leukocyte antigen
HMGI :	high-mobility group DNA-binding protein
HR1 :	heptad repeat motif 1
HR2 :	heptad repeat motif 2
HTLV :	human T lymphotropic virus
HTLV-III:	type III human T lymphotropic virus
IEC	Cellule épithéliale intestinale
IN :	intégrase
ITSS	Infections transmissibles par le sang et/ou sexuellement
LAV :	lymphadenopathy-associated-virus
LAV2:	lymphadenopathy-associated virus type 2
LB:	lymphocyte B
LNH :	Lymphomes Non-Hodgkin
LPS:	Lipopolysaccharides
LTNPs :	non-progresseurs à long terme
LTR:	long terminal repeats
M :	majeur

MA :	protéines de la matrice
MALT	Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses
mDC :	Cellules dendritiques myéloïdes
MMDC	DC dérivée de monocytes
MMR:	récepteur au mannose des macrophages
MMWR :	Morbidity and Mortality Weekly Report
MTCT :	mother to child transmission
MZ	Zone marginale
N :	non-M/non-O
NC :	protéines de la nucléocapside
NCR :	Natural cytotoxicity receptor
Nef:	negative effector
NK :	cellule natural killer
NSI :	non-syncytium inducing
O :	outlier
OMS :	organisation mondiale de la santé
PAMPs :	Pathogen-associated molecular patterns
pDC :	Cellules dendritiques plasmacytoïdes
PD-1	The inhibitory receptor programmed death 1
PD-1L	Ligand du the inhibitory receptor programmed death 1
PHI :	primo-infection
PIC :	complexe de pré-intégration
PRRs	Pattern recognition receptors
RA :	Arthrite rhumatoïde
RER :	réticulum endoplasmique rugueux
Rev:	regulator of viral gene expression
RP :	progresseur rapide

RT :	transcriptase inverse
RTC :	complexe de transcription inverse
SI :	syncitium inducing
SIDA:	syndrome d'immunodéficience acquise
SIV :	virus d'immunodéficience simien
SK:	Sarcome de Kaposi
SLE	Lupus érythémateux systémique
SNC :	Système nerveux central
SP :	progresseur lent
T reg :	Lymphocytes T régulateurs CD4+, CD25+ et FoxP3+
TACI:	transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand (CAML) interactor
Tat:	transcriptional activator
TCR:	récepteur des cellules T
Th2:	Lymphocytes T CD4+ auxiliaire type 2 (T helper 2)
TLRs:	Toll-like receptors
TNF- α :	tumor necrosis factor α
TNFR:	tumor necrosis factor receptor
TGI	Tractus gastro-intestinal
TSLP	Lymphopoïétine stromale thymique
UDI :	utilisateurs de drogues injectables
UNAIDS :	programme des Nations Unies pour le SIDA/VIH
Vif:	viral infectivity factor
Vpr:	viral protein R

DÉDICACE

À Geneviève, Jade et Milan pour leur support, encouragements, patience et surtout leur amour.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier premièrement mon directeur de recherche, le Dr. Michel Roger pour qui j'ai beaucoup estime et le plus grand respect. Merci de m'avoir donné la chance de travailler au laboratoire. J'aimerais également remercier le Dr. Johanne Poudrier ma co-directrice que j'admire pour sa passion de la recherche et dont les idées et concepts ne cessent de me surprendre. J'aimerais également en profiter pour remercier les membres du laboratoire. Andréanne, Annie, Geneviève, Julie.L (la petite), Julie.L (la grande) et Marie-Claude, je vous remercie pour les conseils, les discussions et votre patience, vous allez me manquer.

INTRODUCTION

1 VIH/SIDA

1.1 Historique

Le rapport initial paru dans le MMWR, (MMWR 1981) fait état de la condition de cinq jeunes hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (HARSAH), atteints de plusieurs affections inhabituelles, dont une pneumonie très rare causée par *Pneumocystis carinii*, maintenant nommé *P.jirovecii*. Ces patients étaient tous séropositifs pour le cytomégalovirus (CMV), dont la réplication était également très active, mais essentiellement, ils présentaient un ratio de sous populations de lymphocytes anormal. Dans les mois qui suivirent, 26 autres cas furent rapportés dans les états de New York et de la Californie. Durant l'année 1982, plusieurs événements furent rapportés concernant ce nouveau syndrome d'immunodéficience. Initialement, la maladie était observée surtout chez les HARSAH, d'où le terme gay-related immune deficiency (GRID). Toutefois, des cas furent bientôt diagnostiqués chez des hémophiles ou transfusés, des utilisateurs de drogues injectables, des prisonniers, des femmes et des enfants, conduisant ainsi à l'utilisation du terme, syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) pour la première fois le 24 septembre 1982 (Sepkowitz 2001).

Malgré les nombreuses similitudes avec le patron de distribution et de dissémination de l'hépatite B, comme des évidences de sang contaminé et la possibilité d'une transmission par voie sexuelle, le mode de transmission demeurait jusque là inconnu. C'est en 1983 que le groupe du professeur Luc Montagnier de l'institut Pasteur à Paris, réussit à isoler et identifier un rétrovirus T-lymphotropique apparenté au human T cell leukemia virus (HTLV) chez un patient atteint du SIDA (Barre-Sinoussi, Chermann et al. 1983). Puis, en 1984 le groupe du Dr. Robert Gallo publia une série d'articles dans le prestigieux journal Science, confirmant la découverte de Montagnier et spécifiant que ce rétrovirus était l'agent étiologique du SIDA (Gallo, Salahuddin et al. 1984; Popovic, Sarngadharan et al. 1984; Schupbach, Popovic et al. 1984). Le groupe de Montagnier et celui de Gallo nommèrent le rétrovirus lymphadenopathy-associated-virus (LAV) et HTLV-III respectivement. En 1986, à la suite d'une recommandation d'un sous comité mandaté par le comité international de taxonomie des virus, l'abréviation VIH fut adoptée pour désigner le virus du SIDA (Coffin, Haase et al. 1986).

1.2 Origine du virus

Le VIH est un lentivirus de la famille des retroviridae. Celui-ci est composé de deux ARN monocaténaire de polarité positive encapsidés et muni d'une enveloppe. Sur le continent Africain, plusieurs espèces de primates non-humains sont infectées par différents types de lentivirus sans toutefois développer une immunodéficience. Des expositions répétées, à ces

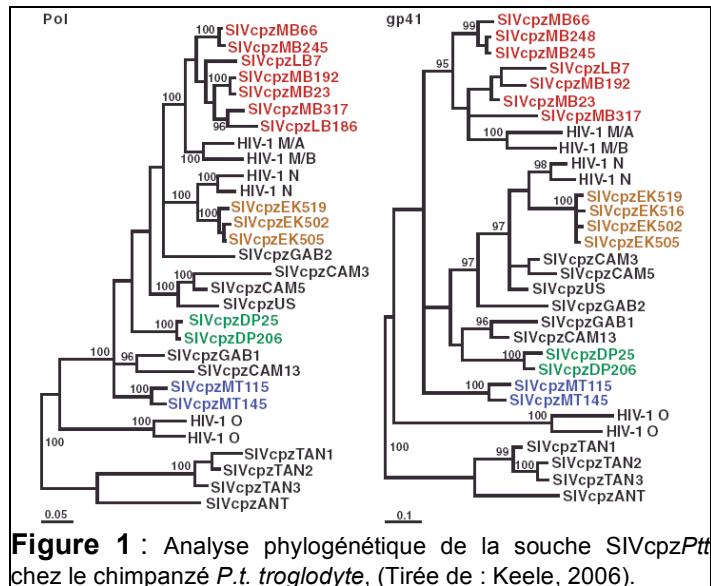


Figure 1 : Analyse phylogénétique de la souche SIVcpzPtt chez le chimpanzé *P.t. troglodyte*, (Tirée de : Keele, 2006).

lentivirus capables de s'adapter, ont donné lieu à cette zoonose chez l'homme suite à une série d'évènements complexes et à l'acquisition de gènes viraux spécifiques procurant un avantage de sélection, tels que les gènes accessoires vif, nef et les gènes régulateurs rev et tat.

Des études phylogénétiques moléculaires ont révélé que le VIH-1 a évolué à partir d'une souche de virus d'immunodéficience simien (SIV). La souche SIVcpz a évolué à trois occasions : outlier (O), major (M), non-M/non-O (N) (cf. Figure 1) chez une espèce particulière de chimpanzé (*Pan troglodytes troglodytes*) (Keele, Van Heuverswyn et al. 2006). Le VIH-2 provient de la souche SIVsm qui infecte le singe Sooty Mangabey (*Cercocebus atys*) chez lequel les nombreuses transmissions croisées inter-espèces ont donné naissance aux groupes A à H (Heeney, Dalgleish et al. 2006). Le groupe de Keele a démontré que SIVcpz est un recombinant d'une lignée de SIV ancestrale qui infecte présentement le red-capped Mangabey et le singe *Cercopithecus*. Le chimpanzé semble donc avoir acquis ce virus suite à une transmission croisée inter-espèces quelque part durant son évolution (Heeney, Dalgleish et al. 2006; Keele, Van Heuverswyn et al. 2006). Ce virus a ensuite été introduit chez l'humain au cours du 20^{ème} siècle. Il existe deux espèces qui infectent l'humain : le VIH-1 et le VIH-2. Ces dernières peuvent être classifiées davantage en clades/sous-types ou «circulating recombinant forms» (CRFs).

1.3 Épidémiologie

1.3.1 VIH-1

Les souches dont les prévalences sont les plus élevées sont classifiées, comme étant des virus du groupe M. Chez l'humain, les sous-types A, B, C, D du groupe M et les CRF01-AE et CRF02_AG sont responsable de la pandémie à l'échelle mondiale (McCutchan 2006). Le sous-type C, est dominant, contribue pour près de 55-60% des infections au niveau mondial (Simon, Ho et al. 2006) et est surtout retrouvé en Afrique et en Asie. Le deuxième sous-type le plus prévalent, le sous-type A (27%) est surtout concentré en Afrique centrale et en Afrique du Nord. En Amérique, le sous-type B est le plus prévalent (> 80%), suivi des sous-types F (> 8%) et C (> 1,5%) (Osmanov, Pattou et al. 2002). La transmission du virus par voie hétérosexuelle compte pour plus de 85% de toutes les infections par le VIH au niveau mondial. L'Afrique du Sud demeure l'épicentre de la pandémie avec un taux de nouvelles infections élevé, bien que le nombre absolu d'infections en Chine et en Inde prend des proportions alarmantes (Simon, Ho et al. 2006). En Europe, en Asie centrale et en Asie du sud-est, on estime que plus de 8,8 millions de cas d'infections sont retrouvées chez les utilisateurs de drogues injectables (UDI). Plus de 60 millions de gens approximativement sont infectés par le VIH et près de 20 millions en sont morts. Plus de 38,6 millions de gens vivent présentement avec le VIH, plus de 4,1 millions sont nouvellement infectés et 2,8 millions de gens sont morts du SIDA en 2005 (UNAIDS 2006).

Cependant, ce qui devient le plus inquiétant au niveau de la pandémie, c'est l'augmentation du taux d'infection chez les femmes. Les femmes représentent 42% des individus infectés par le VIH mondialement et 70% de ces femmes vivent en Afrique subsaharienne. On estime également que 25% des nouvelles infections sont acquises par les moins de 25 ans et que le taux d'infections est de trois à six fois plus élevé chez les adolescentes (Simon, Ho et al. 2006; UNAIDS 2006). En 2005, la mortalité et morbidité associée au SIDA a engendré plus de 12 millions d'orphelins en Afrique subsaharienne et plus d'un demi million d'enfants en sont morts (UNAIDS 2006). Malgré tout, l'arrivée de la trithérapie ou «highly active antiretroviral therapy» (HAART) a permis de prolonger l'espérance de vie des personnes infectées par le VIH de plusieurs années, là où les médicaments sont accessibles. Bien qu'il n'existe présentement aucun vaccin prophylactique ou thérapeutique, l'illusion que la maladie peut être guérie est bien réelle et a pour conséquence d'augmenter les comportements à risque d'exposition au VIH chez certains individus. La prévalence du VIH dans une population donnée, les mœurs et

pratiques sexuelles (Simon, Ho et al. 2006), les infections transmises par le sang ou sexuellement (ITSS) causant ou non des lésions génitales (Rottingen, Cameron et al. 2001; Galvin and Cohen 2004) et le patron de migration de certains individus en fonction de milieux urbains ou ruraux (Nunn, Wagner et al. 1995; Lurie, Williams et al. 2003), sont tous des facteurs qui augmentent davantage les probabilités d'être exposé et infecté par le VIH-1.

1.3.2 VIH-2

L'épidémie de VIH-2 est principalement restreinte à l'Afrique de l'Ouest où sa prévalence y est très faible et les données sont peu abondantes en raison de son rôle mineur dans la pandémie (McCutchan 2006). Ce virus plus apparenté au SIV qu'au VIH-1, a été isolé pour la première fois de patients provenant d'Afrique de l'ouest (Clavel, Guyader et al. 1986). L'infection par le VIH-2 est de nature endémique comparativement à celle du VIH-1 et le taux de prévalence demeure stable dans la plupart des pays. Le virus emprunte les mêmes voies de transmission que le VIH-1, bien que la fréquence de transmission verticale et horizontale soient respectivement 10-20 fois et 5-9 fois moins élevées (Reeves and Doms 2002). En général, l'infection par le VIH-2 est moins sévère, le virus semble moins virulent, la période de latence peut durer plus de 10 ans et le taux de mortalité est estimé à moins de deux tiers de celui du VIH-1 (Reeves and Doms 2002). Les antirétroviraux permettent également de contrôler la réplication virale et restaurer le nombre de cellules CD4⁺, chez les individus infectés par le VIH-2.

1.3.3 Transmission

Il existe deux modes de transmission majeurs par lesquels le VIH-1 peut infecter un individu : la voie horizontale s'effectuant via les contacts sexuels ou le sang contaminé et la voie verticale impliquant un transfert de la mère vers l'enfant. Plusieurs facteurs peuvent exercer une influence sur l'une ou l'autre de ces voies, comme par exemple le caractère infectieux des virions et la susceptibilité de l'hôte au virus, dont une explication plus détaillée sera donnée dans les dernières sections de cette revue de littérature.

1.3.3.1 Horizontale

1.3.3.1.1 Transmission sexuelle

La transmission sexuelle s'effectue via une exposition aux virus infectieux présents dans le sperme ou les sécrétions mucosales. Le taux de transmission entre couples discordants hétérosexuels est relativement très faible, se situant entre 0,0008 et 0,0009

dépendamment de la voie sexuelle empruntée (Padian, Shiboski et al. 1997; Wawer, Gray et al. 2005). Le taux de transmission de l'homme à la femme est 9 fois plus élevé que celui de la femme vers l'homme (Padian, Shiboski et al. 1997). La fréquence de pratiques sexuelles à risque et plusieurs facteurs dépendant et indépendant de la transmission de type sexuelle sont à l'origine de la propagation rapide de l'infection. Parmi ces facteurs, les ulcères ou lésions génitales causées par les ITSS (Cameron, Simonsen et al. 1989; Cohen 1998) augmentent considérablement le risque de transmission. De plus, il a été démontré également que le risque de transmission est dépendant de la vitesse de progression de l'infection, mais surtout de la magnitude de la virémie. Ainsi, les individus en primo-infection et en phase SIDA dont les charges virales sont les plus élevées, sont les plus susceptibles de transmettre efficacement le virus (Quinn, Wawer et al. 2000; Brenner, Roger et al. 2007). Cependant, la prise d'un traitement antirétroviral permet de diminuer la charge virale, ce qui contribue à réduire le risque de transmission par voie sexuelle (Musicco, Lazzarin et al. 1994; Lalani and Hicks 2007).

1.3.3.1.2 Transmission parentérale

Le sang contaminé par le VIH, constitue un problème majeur pour les patients nécessitant une transfusion sanguine, les hémophiles, les UDI, les personnes travaillant dans les hôpitaux ou laboratoires et les personnes donnant ou recevant tatouages et perçages. La probabilité d'infection par injection avec une seringue contaminée se situe autour de 0,0067 soit une chance sur cent cinquante de contracter le VIH (Kaplan and Heimer 1992; Galvin and Cohen 2004). Toutefois, cette probabilité augmente à plus de 95% de chance d'être infecté lors de transfusion sanguines (Donegan, Stuart et al. 1990; Galvin and Cohen 2004).

1.3.3.2 Verticale

La transmission verticale de la mère à l'enfant (MTCT) peut survenir durant les premiers mois de la grossesse *in-utero*. Par contre, ce pourcentage de transmission demeure faible et se situe aux alentours de 3%. Pourtant, celui-ci peut grimper à dix-sept % entre les quatorzièmes et trente-sixièmes semaines et à 50% dans les derniers jours précédant l'accouchement (Kourtis, Lee et al. 2006). De plus, ce taux de transmission peut atteindre 30% *intrapartum* et 15% *postpartum* via l'allaitement maternel prolongé. Cependant, on peut observer une chute considérable jusque un à 2%, si on effectue une césarienne et que l'on administre des antirétroviraux durant les derniers jours de la grossesse (Connor, Sperling et al. 1994; Mandelbrot, Le Chenadec et al. 1998;

Kourtis, Lee et al. 2006). Par ailleurs, les facteurs de l'hôte et les facteurs viraux qui influencent ces différents modes de transmission, jouent un rôle important dans la transmission du virus et seront abordés en détails dans la section 2.2.

1.4 Cycle de réplication

Le cycle de réplication du VIH-1 est similaire en tout point à celui des rétrovirus en général, à quelques exceptions près. La famille des *retroviridae* comprend un éventail très

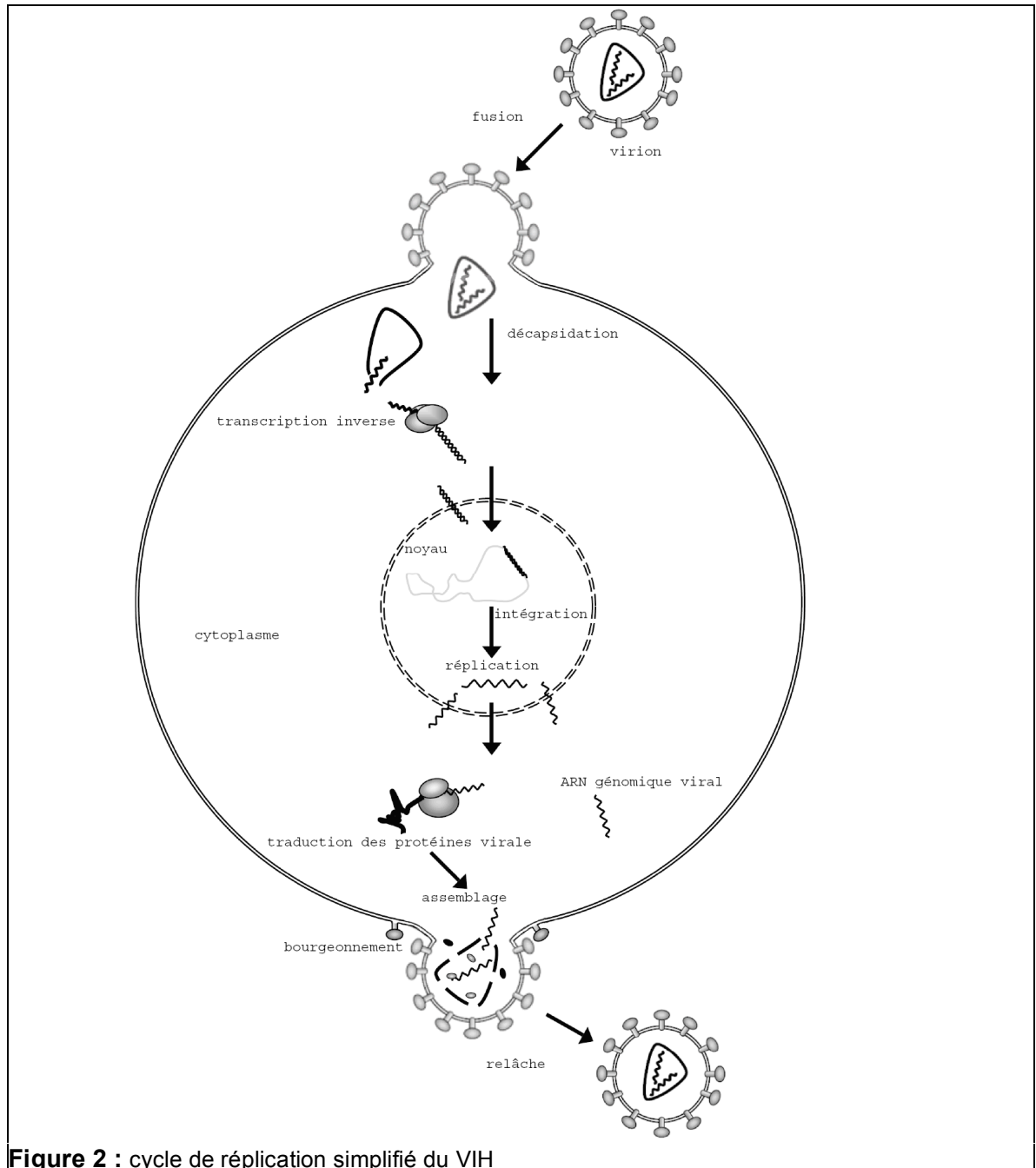


Figure 2 : cycle de réplication simplifié du VIH

diversifié de virus que l'on retrouve chez les vertébrés. Ces derniers ont une capacité unique qui les distingue des autres virus, la transcription inverse de leur génome à ARN en ADN proviral et l'intégration subséquente de celui-ci au génome de la cellule hôte (Goff 2001), un modèle simplifié du cycle de réplication du VIH est illustré à la Figure 2. Les lentivirus se différencient principalement des rétrovirus par le type de récepteurs et corécepteurs utilisés, la capacité de synthétiser des protéines régulatrices et accessoires, leur habileté à infecter productivement certaines cellules quiescentes, c'est-à-dire en phase G0 de leur cycle de division cellulaire (Freed 2001).

Le génome du VIH-1 contient des gènes codant pour des protéines structurales et non-structurales majeures partagées par tous les rétrovirus compétents pour la réplication. On retrouve de l'extrémité 5' à 3' du génome viral les gènes *gag* (group specific antigen), *pol* (polymerase) et *env* (enveloppe glycoprotéin). Le gène *gag* code pour une polyprotéine précurseur (Pr55^{Gag}), dont le clivage par la protéase PR va générer les protéines matures : MA/p17 de matrice, CA/p24 de capsid, NC/p7 de nucleocapsid et les deux peptides p1 et p2 (Freed 2001). Un évènement rare de changement de cadre de lecture (-1) dû à un glissement du ribosome pendant la traduction de Pr55^{Gag}, génère (Pr160^{GagPol}). L'activité de PR produit les enzymes individuelles codées par le gène *pol* : PR (protease), RT (reverse transcriptase) et IN (intégrase). La polyprotéine Env gp160 est glycosylée et traduite dans la lumière du RER (Gomez and Hope 2005). Contrairement aux autres précurseurs gp 160 est clivée durant son trafic vésiculaire vers la membrane cellulaire par une protéase cellulaire et va générer les protéines de surface gp120/SU et gp41/TM (Freed 2001). La protéine gp120 est organisée en cinq régions conservées (C1-C5) et cinq domaines hypervariables (V1-V5) localisés dans des boucles liées par des ponts disulfures. L'ectodomaine de gp41, constitué de deux domaines hélicoïdaux (HR1 et HR2) et d'un peptide de fusion, contient les déterminants essentiels pour la fusion membranaire, alors que les domaines transmembranaires et la queue cytoplasmique vont servir essentiellement à ancrer le complexe trimérique gp120/gp41 à la membrane virale (Freed 2001; Gomez and Hope 2005).

1.4.1 Mode d'entrée

Le VIH-1 entre dans la cellule hôte par fusion directe avec la membrane, produisant ainsi une infection productive ou par endocytose pH-dépendante qui aboutit cependant à une dégradation ou inactivation dans les lysosomes (Greene and Peterlin 2002; Gomez and Hope 2005). Des données récentes indiquent cependant que le mode d'entrée du virus s'effectue principalement par endocytose (Miyachi, Kim et al. 2009) et

nécessite la GTPase dynamine (Daecke, Fackler et al. 2005) pour la scission des vésicules endosomales à la membrane plasmique. La molécule CD4 est le récepteur principal du virus et possède des sites de hautes affinité pour les régions conservées C3 et C4 de gp120 (Freed 2001; Stevenson 2003). La liaison de gp120 à CD4 induit un changement de conformation de gp120 ce qui expose les sites de liaison aux corécepteurs tels que plusieurs récepteurs de chimiokines décrits plus en détail dans la prochaine section. Ceux-ci seront engagés selon le tropisme viral qui est déterminé par la boucle V3 (Freed 2001; Gomez and Hope 2005). La formation de ce complexe ternaire induit un changement de conformation chez gp41 permettant l'interaction de HR1 avec HR2 qui résulte en la formation d'une structure à six hélices stable, qui va permettre au peptide de fusion N-terminal de s'insérer dans la membrane de la cellule cible et ainsi rapprocher les membranes par un mécanisme similaire à celui de l'influenza (Freed 2001; Gomez and Hope 2005).

1.4.1.1 Tropisme

Certaines observations laissaient suggérer que la molécule CD4 n'était pas suffisante pour permettre la fusion, car certains isolats de virus prélevés chez des individus infectés pouvaient se répliquer efficacement dans des lignées de macrophages, mais ne se répliquaient pas dans des lignées de cellules T et vice-versa (Freed 2001). Après plusieurs années de recherche, certains récepteurs de chimiokines qui guident normalement les cellules hématopoïétiques vers des gradients spécifiques de chimiokines (Greene and Peterlin 2002) furent identifiés comme corécepteurs pour le VIH (Doms and Peiper 1997). Parmi ces récepteurs couplés à des protéines G à sept passages transmembranaires, CCR5 et CXCR4 sont les deux plus importants *in vivo* dans la pathogénèse du VIH. CD4, CCR5/CXCR4 sont présents dans les radeaux lipidiques et l'absence de cholestérol diminue le caractère infectieux des virus (Greene and Peterlin 2002).

Le virus infecte préférentiellement les lymphocytes T CD4⁺ activés, comme l'a démontré le groupe de Fauci, en infectant des PBMCs avec ou sans stimulation antigène dépendante (Margolick, Volkman et al. 1987). En présence de LT CD4⁺ au repos, les souches R5 du virus peuvent infecter les populations de cellules mémoires qui expriment suffisamment de corécepteurs à leur surface (Mo, Monard et al. 1998; Pierson, Hoffman et al. 2000), mais ne peuvent infecter les CD4⁺ naïves, qui elles n'expriment pas CCR5 (Pierson, Hoffman et al. 2000). Seules les souches X4 possèdent la capacité d'infecter les

CD4⁺ naïves et mémoires quiescentes (CD45RA^{high}), en raison de l'expression plus étendue de CXCR4 (Chun, Chadwick et al. 1997; Mo, Monard et al. 1998).

1.4.1.1.1 CCR5

Le récepteur β -chimiokine CCR5 exprimé principalement par les macrophages, sert de corécepteur pour les souches R5 macrophage-tropique qui n'induisent pas la formation de syncytium (Kilby and Eron 2003). Les souches R5 sont essentiellement impliquées dans la transmission mucosale et intraveineuse (Greene and Peterlin 2002).

1.4.1.1.2 CXCR4

Les souches X4 virales (lympho-tropiques) se répliquent aisément dans les lymphocytes T qui expriment le récepteur α -chimiokine CXCR4 et induisent la formation de syncytium (Kilby and Eron 2003). On observe la présence de ces souches surtout dans la phase tardive de la maladie où elles y sont prédominantes et leur présence a été associée à une progression rapide vers le SIDA (Koot, Keet et al. 1993; Richman and Bozzette 1994).

1.4.1.1.3 Autres

Certaines souches virales ont un double tropisme et peuvent infecter les cellules qui expriment soit CCR5 ou CXCR4, ces souches sont nommées R5/X4. Bien que certaines sous espèces du virus puissent utiliser d'autres corécepteurs de chimiokine facilitant la fusion, tels que CCR2, CCR3, CCR8, Bonzo et BOB, tous les isolats cliniques utilisent CCR5, CXCR4 ou les deux (Clapham and McKnight 2002). De plus, certaines molécules de surface peuvent lier la gp120 et participer à l'endocytose du virus, telles que les lectines de type C (CLR) comme DC-SIGN/CD209, la langerine/CD207, les récepteurs au mannose CD205/DEC-205 et CD206/MMR (Turville, Cameron et al. 2002). Bien qu'en général, l'utilisation de ces voies par le virus aboutisse à la dégradation du virus, il a été démontré que les cellules dendritiques exprimant DC-SIGN et la langerin peuvent contribuer à amplifier l'infection en agissant comme des chevaux de Troie via un mécanisme de trans-infection, qui impliquerait la ségrégation du virion dans une vésicule endosomale où le processus de maturation (acidification) y est inhibé (Turville, Cameron et al. 2002; Lore and Larsson 2003). Mais, nous reviendrons sur DC-SIGN plus en détail dans les sections 2.3.2.4 et 2.3.2.5. En outre, dans la transmission MTCT le virus peut infecter productivement les trophoblastes, qui sont les cellules formant la barrière

placentaire, indépendamment de CD4 et de gp120 via l'heparan sulfate proteoglycycan (Vidricaire, Gauthier et al. 2007).

1.4.2 Décapsidation

Une fois la fusion effectuée, la capsid virale est libérée dans le cytoplasme et est convertie en complexe de transcription inverse (RTC) de haut poids moléculaire, puis en complexe de pré-intégration (PIC) de faible poids moléculaire via des mécanismes qui demeurent obscurs (Freed 2001). C'est au cours de ces étapes que le virus est le plus vulnérable aux facteurs de restrictions post-entrée de l'hôte. Une fois décapsidé, le RTC comprend l'ARN génomique viral diploïde, l'amorce tRNA^{lys}, RT, IN, MA, NC, vpr et plusieurs protéines synthétisées par l'hôte (Greene and Peterlin 2002). Le RTC s'arrime ensuite au cytosquelette d'actine suite à des interactions de la protéine MA phosphorylée, étape cruciale pour la synthèse d'ADN proviral (Bukrinskaya, Brichacek et al. 1998).

1.4.3 Transcription inverse

Le processus de transcription inverse comprend une série d'évènements impliquant plusieurs éléments qui agissent en *cis* (Freed and Martin 2001). L'étape initiale implique la liaison du tRNA^{lys} au site de liaison de l'amorce (pbs) en 5' de l'ARN. Ceci génère un hybride ADN-ARN dont la portion ARN est dégradée par l'activité RNaseH de p66. Le fragment d'ADN résultant exécute ensuite un saut de l'extrémité 5' à l'extrémité 3' du génome en interagissant avec des régions homologues (régions R). La RT synthétise le brin négatif à partir de ce fragment en 3', puis l'ARNt est dégradé et la synthèse du brin positif commence aux régions riches en purines (PPT) situées au centre et à l'extrémité du brin négatif (Freed and Martin 2001). Durant la synthèse du brin positif, il y a formation d'une queue composée d'une centaine de nucléotide (DNA flap) qui joue un rôle crucial dans l'importation du PIC au noyau de la cellule (Zennou, Petit et al. 2000). La présence de deux copies d'ARN génomique viral chez le VIH implique le transfert de brins matrice lors de la génération d'ADN proviral qui peut résulter en un virus recombinant si les deux brins ne sont pas identiques. Ces évènements de recombinaison couplés à des taux de mutations élevés de la RT confère au VIH une capacité de résistance phénoménale aux réponses immunes de l'hôte et aux antirétroviraux (Freed 2001).

1.4.4 Intégration

Le PIC est constitué d'ADNc pro-viral bicaténaire, IN, MA, vpr, RT et les HMGI(Y) qui sont des protéines liant l'ADN (Greene and Peterlin 2002). Certaines observations

pointent vers un rôle des microtubules dans le transport du PIC au noyau (McDonald, Vodicka et al. 2002). Le virus utilise par la suite la machinerie classique d'importation nucléaire via des signaux de localisation nucléaire (NLS) présents sur MA, reconnus par les importines α et β et des NLS indépendants de cette voie présents sur vpr et IN (Greene and Peterlin 2002). Une fois dans le noyau, l'intégrase clive 2-3 nucléotides à chaque extrémité 3' de l'ADN linéaire viral, générant ainsi des extrémités cohésives qui vont se lier aux extrémités 5' libres du génome cellulaire généré de façon similaire par l'activité de IN (Freed and Martin 2001). Les enzymes cellulaires réparent ensuite les trous aux sites d'intégration produits lors de ce processus.

1.4.5 Réplication

Le provirus ainsi intégré sert de matrice pour la synthèse des ARN génomiques viraux, des enzymes et protéines structurales et non-structurales. La transcription est initiée dans les régions répétées situées aux extrémités du provirus (LTRs), composés des régions U3, R et U5. La région U3 contient des éléments qui favorisent la liaison de l'ARN polymérase II dont l'activité transcriptionnelle est amplifiée considérablement par la présence de Tat (Freed 2001). La protéine régulatrice Tat est un trans-activateur transcriptionnel qui se lie à une région présente sur toutes les extrémités 5' des ARN viraux. En interagissant avec TAR et en recrutant la cycline T1 qui forme un hétérodimère avec la kinase cycline-dépendante (CDK9), hétérodimère faisant lui-même partie d'un complexe d'élongation transcriptionnel positif (P-TEFb), Tat stimule la phosphorylation du domaine C-terminal de l'ARN pol II, ce qui résulte en une augmentation prononcée de son activité (Freed 2001).

1.4.6 Assemblage

La transcription génère une multitude d'ARNm non-épissés et épissés qui contiennent tous une séquence spécifique (RRE) qui se lie à la protéine régulatrice Rev. Celle-ci va permettre l'exportation des ARNm hors du noyau via des interactions avec une autre protéine de la famille des importine β (CRM1) et une petite GTPase (Ran) (Freed and Martin 2001). Un de ces ARNm code pour le précurseur Pr55^{Gag} qui détient des déterminants majeurs dont les fonctions sont les suivantes : le ciblage et la liaison à la membrane plasmique (MA myristilé), les interactions Gag-Gag (p2, NC), l'encapsidation du génome viral (sites Ψ), l'association avec les glycoprotéines d'enveloppes (gp41-MA) et la stimulation du bourgeonnement (PTAP-p6) (Freed 2001; Greene and Peterlin 2002).

1.4.7 Relâche

L'étape finale du cycle de réplication du VIH comprend le bourgeonnement, la relâche et la maturation du virion. Ceci implique une seconde fusion avec la membrane plasmique et cette étape est orchestrée par le domaine PTAP présent sur p6. Des interactions de PTAP-p6 avec les produits du gène suppresseur de tumeur 101 (TSG101) ont été démontrées (Garrus, von Schwedler et al. 2001). Ces protéines s'associent généralement avec le système de triage des protéines de la voie vacuolaire (ESCRT-1), dont la fonction est incorporer les protéines dans les corps multi-vésiculaires (MVB). Ce processus suggère fortement que le virus pirate cette voie pour sortir de la cellule.

1.5 Traitement et thérapies

Chacune de ces étapes du cycle de réplication rétroviral procure une cible de choix pour l'élaboration d'agents antirétroviraux. Cependant, la majorité de ces agents sont présentement dirigés surtout contre la RT et la protéase du virus. Malheureusement ces traitements sont des moyens palliatifs pour lutter contre le virus, en raison de sa persistance et latence dans différents réservoirs cellulaires (macrophages/DC/CD4 quiescentes) et tissulaires. De plus, ces traitements sont très dispendieux, requièrent une administration à vie, ne sont pas accessibles partout et ont une toxicité non-négligeable et des effets adverses à long terme qui peuvent hypothéquer la qualité de vie des patients (Iypodystrophie) (Viard, Burgard et al. 2004). Plus d'une vingtaine d'antirétroviraux ont été approuvés jusqu'à présent par la FDA et ces derniers sont regroupés en six classes selon leurs mécanismes d'action (Cressey and Lallemand 2007). Généralement, la médication est administrée sous forme d'association d'agents antirétroviraux (HAART), le plus souvent constitué de deux analogues de nucléosides/nucléotides et d'un inhibiteur de protéase ou d'un INNTI en première ligne de traitement, ce qui permet de ralentir efficacement la progression de la maladie chez les patients adhérents.

1.5.1 Persistance et mécanismes d'évasion

Malgré l'administration de HAART aux patients, des virus compétents pour la réplication peuvent être isolés de PBMCs, de lymphocytes T CD4⁺ mémoires quiescents et à partir de sperme (Dornadula, Zhang et al. 1999; Furtado, Callaway et al. 1999; Zhang, Ramratnam et al. 1999; Sharkey, Teo et al. 2000). Ainsi, malgré une charge virale quasi indétectable grâce aux traitements, le virus persiste dans certaines cellules que l'on qualifie de réservoirs viraux. Les réservoirs sont des cellules ou tissus qui peuvent soit, être infectées productivement ou bien, qui permettent une accumulation du virus afin de

permettre le renouvellement de la population virale dans le futur (Blankson, Persaud et al. 2002). De plus, les réservoirs viraux doivent permettre aux différentes formes virales (virions/provirus) de résister aux processus biochimiques cellulaires et à la lyse induite par les CTL CMHI dépendante, ils doivent donc pouvoir offrir une certaine stabilité (Blankson, Persaud et al. 2002).

Par ailleurs, certains tissus peuvent représenter un sanctuaire pour le virus, généralement au niveau des barrières hémato-tissulaires comme le système nerveux central (SNC), la rétine et les testicules dont la compartimentation pourrait limiter l'accès aux antirétroviraux (Pomerantz, Kuritzkes et al. 1987; Zhang, Dornadula et al. 1998). Le rein représente également un réservoir à long terme pour le virus (Winston, Bruggeman et al. 2001). Les cellules dendritiques folliculaires (FDC), dont le précurseur n'est pas d'origine myéloïde, sont des cellules stromales présentes dans les organes lymphoïdes secondaires et sont nécessaires à l'élaboration de centres germinatifs, au sein desquels s'effectue commutation isotypique et hypermutations somatiques des cellules B en vue de générer des cellules mémoires de haute affinité/avidité pour les Ag. Les FDC capturent, séquestrent via leurs récepteurs Fc et le complément les complexes immuns/antigènes extracellulaires et les conservent ainsi sur une longue période (Park and Choi 2005), contribuant ainsi au maintien du «pool» de la mémoire immunitaire. Ces cellules peuvent exercer la fonction de réservoirs, par des mécanismes similaires à ceux cités précédemment, en séquestrant des virions infectieux emprisonnés dans des complexes immuns générés à partir d'anticorps spécifiques aux composantes virales (Embretson, Zupancic et al. 1993; Chakrabarti, Isola et al. 1994; Heath, Tew et al. 1995; Smith-Franklin, Keele et al. 2002).

Un mécanisme par lequel le virus exploite l'expression des molécules de surface cellulaire implique la protéine virale Nef. Ce facteur viral diminue l'expression de surface de molécules du CMH-I (HLA-A et HLA-B) et CMH-II fonctionnelles (Schwartz, Marechal et al. 1996; Piguet, Schwartz et al. 1999). La perte d'expression de surface de ces molécules protège la cellule infectée de la lyse par les CTL spécifiques et par les cellules NK, ce qui constitue un mécanisme d'échappement à la réponse immunitaire. Certaines fonctions de Nef seront abordées plus exhaustivement dans la section 2.2.1.1.

Force est de constater, que l'élément critique majeur rencontré lors d'une infection au VIH demeure la présence de virus latent. La latence est un état stable dans lequel la cellule infectée ne produit pas de virus, ni de protéines virales, mais dans lequel le virus préserve la capacité de se répliquer. Les cellules T CD4+ mémoires, de par leur longévité,

représentent le réservoir idéal pour le virus. D'ailleurs, l'équipe de Siliciano a réussi à démontrer la présence de provirus dans ce type de cellule, en isolant premièrement une population pure de cellules T CD4⁺ quiescentes, puis en détectant dans ces mêmes cellules l'ADN proviral par PCR inverse (Chun, Finzi et al. 1995; Chun, Carruth et al. 1997). Ils ont également réussi à démontrer subséquemment, que des virus compétents pour la réplication pouvaient être réactivés, suite à une stimulation et à l'ajout de lymphoblastes T CD4⁺ de donneurs sains (Chun, Finzi et al. 1995; Chun, Carruth et al. 1997). De plus, le virus latent est présent sous deux formes dans les lymphocytes T CD4⁺. Le groupe de Stevenson, a investigué l'aspect que prenait le virus à l'intérieur de ces cellules et a remarqué, que chez les patients asymptomatiques le virus était sous la forme extra-chromosomale non-intégré, préservant tout de même la capacité de s'intégrer suite à l'activation de la cellule (Bukrinsky, Stanwick et al. 1991). Par opposition, chez les sidéens, c'est la forme intégrée du virus qui prédomine (Bukrinsky, Stanwick et al. 1991).

2 Pathogénèse

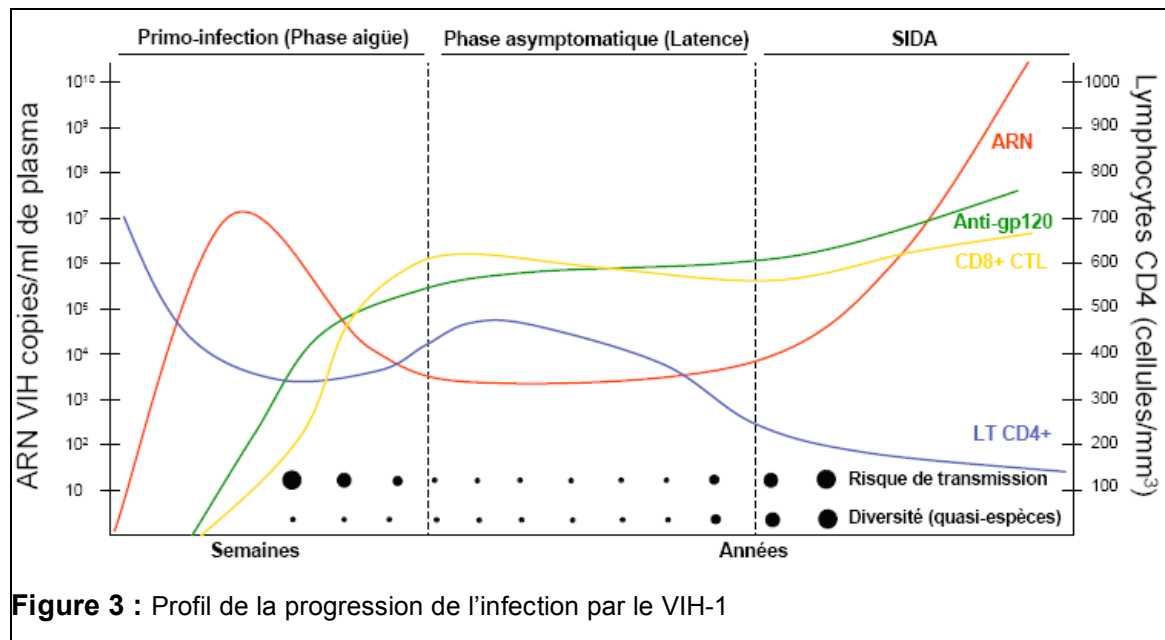
Les caractéristiques spécifiques aux lentivirus et au VIH-1 mentionnées précédemment, témoignent de la complexité que représente l'infection par le VIH. À cela, s'ajoutent les complications engendrées lors de l'infection. En effet, la progression de la maladie diffère parmi les individus infectés, en fonction d'une multitude de facteurs qui peuvent agir de façon indépendante ou en synergie. Cette pathogénèse du VIH-1 est étroitement associée à la capacité de réplication du virus *in vivo* (Wei, Ghosh et al. 1995). Suite à une infection, l'équilibre existant entre cette capacité de réplication virale et l'efficacité de la réponse immunitaire déterminera le cours de la progression de la maladie (Fauci, Pantaleo et al. 1996). Plus l'infection progresse vers la phase SIDA, plus l'individu infecté devient susceptible aux pathogènes opportunistes, qui ultimement provoqueront le décès du patient.

Certains désordres neurologiques surviennent également lors de la phase tardive de la maladie. Plus d'un tiers des individus infectés et presque 100% des enfants séropositifs à la naissance, vont développer une forme de désordre neurocognitif associé au VIH (HAND) (Vazeux, Lacroix-Ciaudo et al. 1992; McArthur, Hoover et al. 1993; Sacktor, Lyles et al. 2001; Gonzalez-Scarano and Martin-Garcia 2005). Celle-ci est caractérisée par une encéphalite associée au VIH (HIVE) due surtout, à une infiltration et une accumulation de monocytes phagocytaires au niveau du SNC (Fischer-Smith, Croul et al. 2004). Des preuves récentes indiquent que les macrophages périvasculaires et les cellules microgliales possèdent les récepteurs et corécepteurs spécifiques au VIH et sont

donc aussi susceptibles à une infection productive du virus (Wiley, Schrier et al. 1986; Cosenza, Zhao et al. 2002; Fischer-Smith, Croul et al. 2004). Plusieurs autres complications associées au SIDA existent et seront décrites plus en détails dans les prochains chapitres.

2.1 Profil d'évolution de la maladie

Avant d'aborder l'affection des compartiments des LB et DC, il est primordial de décrire le profil de l'évolution de la maladie et les facteurs qui peuvent en influencer le



cours. L'infection peut être différenciée en trois phases : la primo-infection (PHI), la latence clinique et la phase SIDA, dont les étapes corrént significativement avec plusieurs facteurs, tels que : la charge et titres viraux présents dans le sang/sérum ou tissus, le nombre de cellules T CD4⁺ par millilitre de sang et la présence d'anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe. Le schéma à la figure 3 illustre un profil de l'évolution de l'infection. Ce profil général est typique des progressseurs normaux et est caractérisé par une perte graduelle des lymphocytes T CD4⁺, une expansion clonale rapide des LT CD8⁺ VIH-spécifique via une réponse CMHI-dépendante dominante dirigée contre gp160 (Borrow, Lewicki et al. 1994; Koup, Safrit et al. 1994), qui disparaissent très rapidement (Pantaleo, Soudeyns et al. 1997), une répllication virale constante, une latence clinique durant laquelle le patient demeure asymptomatique (Pantaleo, Graziosi et al. 1993) suivie d'une progression vers la phase SIDA à l'intérieur d'une période médiane de 8-10 ans. Les individus infectés peuvent être classés en sous-groupes selon ces trois phases distinctes et l'évolution de leur infection, qui ont un impact sur le phénotype observé.

2.1.1 Primo infection

La primo infection est souvent caractérisée par de la fièvre, des myalgies, des éruptions cutanées, des troubles gastro-intestinaux et neurologiques (Carne, Tedder et al. 1985; Cooper, Gold et al. 1985; Ho, Sarngadharan et al. 1985). La séroconversion survient entre une semaine et trois mois après l'exposition au virus (Ho, Sarngadharan et al. 1985) et durant cette étape, le virus est présent dans le liquide céphalorachidien, les PBMCs et le plasma (Goudsmit, de Wolf et al. 1986; Albert, Gaines et al. 1987; Gaines, Albert et al. 1987; Stramer, Heller et al. 1989). La charge virale et la concentration de p24 dans le plasma des patients augmente et atteint son plateau entre les sixième et quinzième jours, suivant l'apparition des symptômes attribuables à la phase aiguë (Clark, Saag et al. 1991; Daar, Moudgil et al. 1991). L'apparition des premiers anticorps anti-VIH dirigés contre la protéine d'enveloppe gp120 survient entre quatre à vingt-trois jours, après une diminution de l'antigène p24 et de titre viral dans le sang périphérique (Moore, Cao et al. 1994). Les premières cellules T CD8⁺ VIH-spécifiques apparaissent vers la troisième semaine et aident à contrôler la charge virale (Borrow, Lewicki et al. 1994; Koup, Safrit et al. 1994; Pantaleo, Demarest et al. 1994). Ce contrôle de la virémie chez l'humain par les CTL et les anticorps neutralisants est similaire à la réponse observée chez les singes rhésus en PHI infectés par le SIV (Reimann, Tenner-Racz et al. 1994). Cependant, d'autres auteurs pensent que la charge virale ne représente pas l'unique facteur, qui soit impliqué lors de la transition de la PHI à la phase chronique. D'ailleurs, la réplication virale dans les PBMCs ne reflète pas la situation réelle dans les organes lymphoïdes et centres germinatifs et on retrouve du virus durant toutes les phases de l'infection et surtout au niveau du tractus gastro-intestinal où les LT CD4⁺ de type Th17 y sont le plus affectés dès la phase aiguë où l'on constate une déplétion massive et une translocation microbienne due à l'inflammation accrue et au bris de l'intégrité épithéliale (Graziosi, Pantaleo et al. 1993; Brenchley, Schacker et al. 2004). Plusieurs hypothèses ont été émises, parmi celles-ci figurent : la chute du nombre de LT CD4⁺ due à la cytolyse, un trafic vésiculaire anormal et/ou un changement dans l'expression de certaines molécules membranaires favorisant la séquestration des virions (Pantaleo, Graziosi et al. 1993).

2.1.2 Phase Chronique

La phase chronique est souvent caractérisée par une absence de symptômes, quoique beaucoup de personnes infectées développent certains désordres immunologiques, apparentés aux maladies auto-immunes et impliquant une hyper-activation du système immunitaire. Or, durant la latence clinique, le virus se réplique

activement dans les organes lymphoïdes mais demeure difficile à isoler des PBMCs présentes dans le sang (Pantaleo, Graziosi et al. 1993). Toutefois, la présence de réplication virale dans le sang a été observée durant toutes les phases de l'infection par un autre groupe, alors que ces derniers ont utilisé une technique de PCR compétitif (Piatak, Saag et al. 1993). Il semble également, qu'il y ait dans les organes lymphoïdes, un nombre très élevé de lymphocytes CD4⁺ et de macrophages où le virus persiste, ce qui contribue à sa dissémination et son évasion de la réponse immune de l'hôte (Embretson, Zupancic et al. 1993).

Comme il a été mentionné précédemment, il est possible d'observer chez ces personnes infectées une activation chronique du système immunitaire de l'hôte. Il est important de mentionner ici l'impact des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses intestinales (GALT) à ce niveau. Ce compartiment est caractérisé par des populations de DC, macrophages, NK et neutrophiles qui assurent une protection via la production de défensines et de facteurs chimiotactiques. De plus, les commensaux qui colonisent ces muqueuses ont également un rôle dans la défense de l'hôte alors que ceux-ci permettent de conserver un environnement de pH faible lorsqu'ils métabolisent le glycogène des cellules épithéliales.

Fait intéressant, il a été démontré que la translocation de bactéries ou produits de la synthèse microbienne au niveau du système gastro-intestinal pouvait contribuer à une hyper-activation (Brenchley, Price et al. 2006) des LB. Les auteurs ont démontré une augmentation significative de lipopolysaccharides (LPS), que l'on retrouve chez les bactéries Gram⁻, chez les patients chroniques et les sidéens en comparaison à des individus sains (Brenchley, Price et al. 2006). Cette activation augmentée du système immunitaire semble être un point critique, établi très tôt durant l'infection, qui détermine la vitesse à laquelle les cellules CD4⁺ vont décliner (Deeks, Kitchen et al. 2004).

2.1.3 Progression de l'infection

2.1.3.1 Progresseurs rapides

Certains individus en PHI vont progresser plus rapidement vers la phase SIDA et ce, en moins de deux à trois ans (Khanlou, Salmon-Ceron et al. 1997), on les nomme progresseurs rapides. On estime que plus de 10% des individus infectés développent le SIDA en moins de cinq ans (Phair, Jacobson et al. 1992). Les progresseurs rapides ont une diminution très rapide de leurs CD4⁺ dans les deux à trois ans suivant leur séroconversion (Sheppard, Ascher et al. 1991; Phair, Jacobson et al. 1992; Sheppard,

Lang et al. 1993; Phair 1994). Ces individus semblent disposer de peu d'anticorps VIH-spécifiques dirigés contre les protéines p24 et p17 respectivement, ainsi qu'une absence ou un faible taux d'anticorps neutralisants (Pantaleo, Menzo et al. 1995). Leurs cellules T CD8⁺ cytolytiques ont une capacité de mémoire immunitaire inférieure à celle que l'on retrouve chez les non progressseurs (Rinaldo, Huang et al. 1995). Certains haplotypes/allèles HLA de classe I et II ont été associés avec une progression plus rapide chez ces patients : l'haplotype A1 CW7 B8 et l'allèle HLA B35 (Cameron, Mallal et al. 1990; Kaslow, Duquesnoy et al. 1990).

2.1.3.2 LTNPs

À l'instar des progressseurs rapides, il existe un groupe d'individus séropositifs, les non progressseurs à long terme (LTNP), qui représente 5 à 10% de la population d'individus infectés, ces patients qui progressent très lentement vers la phase SIDA, ont fait l'objet de nombreuses études (Lifson, Buchbinder et al. 1991; Sheppard, Lang et al. 1993; Cao, Qin et al. 1995; Munoz, Kirby et al. 1995; Pantaleo, Menzo et al. 1995; Rinaldo, Huang et al. 1995; Mackay and Browning 2002). Par contre, il existe un manque de constance dans la définition du LTNP, ce qui explique en partie les différences au niveau des fréquences estimées auxquelles on retrouve ces sujets, soit entre 1% et 25% de la population infectée (Strathdee, Veugelers et al. 1996). La plupart des études utilisent le taux de LT CD4⁺ du sang circulant pour déterminer si un patient appartient à ce groupe de patients. Toutefois, ce taux varie énormément en fonction de plusieurs facteurs indépendants de l'infection (Strathdee, Veugelers et al. 1996). On peut observer ce phénomène dans la cohorte de San Francisco. Effectivement, bien que leur nombre de cellules T CD4⁺ et CD8⁺ soit en moyenne inférieur et supérieur respectivement, en comparaison à des individus sains, chez 10% des participants de la cohorte de San Francisco (San Francisco men's health study) le nombre de LT CD4⁺ est demeuré stable pour une période de plus de 6 ans, depuis leur séroconversion en 1984 (Sheppard, Lang et al. 1993). Donc, si un individu par exemple a un taux de LT CD4⁺ inférieur à 500 cellules/mm³, il pourrait être exclu d'une étude malgré un taux stable pour une période de plus de dix ans. Il semble donc, que seul des études échelonnées sur de grands intervalles de temps permettront d'identifier adéquatement ce type de patient.

Néanmoins, en se basant sur les données recueillies jusqu'à présent dans la littérature, on peut définir les LTNP comme étant des individus séropositifs qui demeurent asymptomatiques pour une période de plus de 8-10 ans en absence de traitements antirétroviraux, dont le compte de cellules CD4⁺ est similaire à celui retrouvé chez les

individus sains et qui ont une charge virale presque indétectable ou faible (Hogan and Hammer 2001). Pour les individus qui présentent tous ces critères pour une période de plus de 8-10 ans avec un nadir CD4 $\geq 600/\mu\text{l}$, et une courbe CD4 positive, on se référera à ceux-ci sous le terme de LTNP élites ou contrôleurs/supresseurs élites si leurs charge virale est inférieure à 50 copies d'ARN viral/mL. Il faut préciser cependant, qu'une grande proportion de ces individus finit par progresser vers la phase SIDA de l'infection (Lefrere, Morand-Joubert et al. 1997). De plus, la présence d'anticorps neutralisants dirigés contre la face silencieuse de gp120 chez les LTNP semble augmentée comparativement aux autres progresseurs (Pilgrim, Pantaleo et al. 1997; Barker, Mackewicz et al. 1998; Braibant, Brunet et al. 2006). Par contre, d'autres chercheurs n'ont pas trouvé de différence, au niveau des anticorps neutralisants, entre les LTNP et les progresseurs normaux (Lifson, Buchbinder et al. 1991). Par ailleurs, un certain pourcentage des LTNP possèdent une ou plusieurs mutations dans le gène nef du VIH (Deacon, Tsykin et al. 1995; Huang, Zhang et al. 1995; Kirchhoff, Greenough et al. 1995; Michael, Chang et al. 1995; Salvi, Garbuglia et al. 1998). Cependant, la plupart de ces études ont utilisé exclusivement l'ADN proviral de PBMC pour le typage du gène nef, alors que le virus provenant des PBMC n'est pas celui qui se réplique compte tenu de l'état quiescent de ces cellules (Brambilla, Turchetto et al. 1999). De plus, certains chercheurs ont démontré le maintien des cellules T CD8⁺ cytolytiques VIH-spécifiques chez les LTNP (Greenough, Brettler et al. 1999; Valdez, Carlson et al. 2002; Betts, Nason et al. 2006). Il semble, que l'absence de progression corrèle avec une charge virale faible et surtout, à une activité persistante des LT CD8⁺ cytolytiques (Cao, Qin et al. 1995; Munoz, Kirby et al. 1995; Pantaleo, Menzo et al. 1995; Rinaldo, Huang et al. 1995). Malgré certaines contradictions dans la littérature quant au rôle protecteur des CTL VIH-spécifique (Klein, van Baalen et al. 1995; Rodes, Toro et al. 2004), des études portant sur le SIV mettent en évidence l'importance des LT CD8⁺ cytolytiques dans le contrôle de la virémie (Jin, Bauer et al. 1999; Schmitz, Kuroda et al. 1999). De plus, certaines personnes qui ont des comportements à risque et qui sont exposés régulièrement au virus, démontrent une résistance à l'infection. Cette résistance chez les individus exposés à haut risque est observée chez certains utilisateurs de drogues injectables, chez des travailleuses du sexe, des couples discordants et chez des nouveaux nés de mères séropositives (Clerici, Giorgi et al. 1992; Rowland-Jones, Nixon et al. 1993; Barcellini, Rizzardi et al. 1995; Bernard, Yannakis et al. 1999; Plummer, Ball et al. 1999). Ce type de résistance semble corrélér avec une réponse cellulaire CTL VIH-spécifique, une présence de CTL et d'IgA mucoales, d'anticorps neutralisants et de facteurs solubles présents dans le milieu

(Clerici, Giorgi et al. 1992; Borrow, Lewicki et al. 1994; Barcellini, Rizzardi et al. 1995; Mazzoli, Trabattoni et al. 1997; Bernard, Yannakis et al. 1999; Kaul, Trabattoni et al. 1999)

En effet, la présence de CTL VIH-spécifiques mémoire chez les individus séronégatifs exposés à haut risque, démontre une exposition au virus sans qu'il n'y ait d'infection productive (Bernard, Yannakis et al. 1999). Ceci contribue à renforcer l'hypothèse du rôle protecteur de ce type cellulaire pour prévenir et contrôler l'infection. D'ailleurs, les travaux de Plummer sur les travailleuses du sexe au Kenya renforcent cette hypothèse de rôle protecteur des CTL VIH spécifiques et de l'immunité innée (IgA protectrices) (Fowke, Nagelkerke et al. 1996).

2.2 Facteurs qui influencent la progression et le risque d'infection

L'identification et la caractérisation des patients, qui progressent à des rythmes distincts, a permis d'élucider plusieurs des facteurs liés à l'hôte. Les interactions entre ces facteurs de l'hôte et ces facteurs viraux semblent déterminer le cours de l'infection. Les observations sur les LTNPs et d'individus séronégatifs exposés à haut risque, mettent en évidence la présence de mécanismes et/ou facteurs contrôlant ou modulant la réponse immunitaire protectrice chez l'humain.

2.2.1 Facteurs viraux

Parmi ces facteurs qui confèrent une protection face à l'infection, deux gènes non intrinsèques au cycle de réplication rétroviral, jouent un rôle important dans la susceptibilité et la progression de l'infection.

2.2.1.1 Nef

À l'origine, la protéine Nef était considérée comme un facteur négatif qui inhibait la réplication (Cheng-Mayer, Iannello et al. 1989). Cependant, il est maintenant évident que Nef agit en tant que facteur positif sur le caractère infectieux des souches virales et sur la réplication du virus (Miller, Feinberg et al. 1994; Miller, Warmerdam et al. 1994). Bien que cette protéine n'ait aucune activité enzymatique, elle possède plusieurs domaines qui permettent des interactions protéines-protéines, permettant ainsi de moduler plusieurs voies cellulaires de l'hôte telles que le trafic cellulaire, l'apoptose et les cascades signalétiques intracellulaires et l'expression de molécules de surface. Nef peut activer ou inhiber les lymphocytes T CD4⁺ dépendamment de sa localisation, via la voie de signalisation en aval du TCR (Baur, Sawai et al. 1994). En modulant la voie de

signalisation du TCR, Nef augmente l'expression de FasL à la surface cellulaire (Xu, Laffert et al. 1999). Nef retarde l'apoptose de la cellule infectée en liant ASK1 une kinase impliquée dans la voie Fas/FasL et TNF de l'apoptose (Geleziunas, Xu et al. 2001) et bloque aussi la voie apoptotique p53-dépendante (Greenway, McPhee et al. 2002). Aussi, en régulant négativement l'expression de CD4 (Ross, Oran et al. 1999) et en modulant le trafic des vésicules endosomales (Madrid, Janvier et al. 2005) Nef augmente le caractère infectieux des virus répliqués. En outre, Nef interagit de manière spécifique avec les DC en régulant positivement l'expression de certaines molécules de surface, ce qui contribue à la dissémination du virus. Cette propriété de Nef sera examinée plus en détail lorsque l'atteinte du compartiment DC sera abordée à la section 2.3.2.2.

2.2.1.2 Vif

Le rôle de la protéine accessoire Vif du VIH-1 a été démontré Il y a plus de quinze ans déjà (Gabuzda, Lawrence et al. 1992; von Schwedler, Song et al. 1993). Vif est une petite protéine de 23 kDa synthétisée par la majorité des lentivirus et est essentielle pour l'infection des PBMC et des macrophages primaires exprimant les récepteurs et corécepteurs nécessaires. Cette protéine module la traduction et la stabilité d'un facteur de restriction cellulaire, inconnu à l'époque, la désaminase APOBEC3G (Stopak, de Noronha et al. 2003) dont le rôle sera expliqué plus en détail à la section 2.2.2.4. Vif lie APOBEC3G et induit sa dégradation par le protéasome via la formation d'un complexe Vif-Cul5-SCF (Marin, Rose et al. 2003; Sheehy, Gaddis et al. 2003; Yu, Yu et al. 2003). Donc, en ciblant ce facteur de restriction de l'hôte vers le protéasome pour la dégradation, Vif augmente le caractère infectieux des virions.

2.2.1.3 Charge virale

La charge virale joue un rôle crucial au niveau de la transmission du virus (Clark, Saag et al. 1991; Quinn, Wawer et al. 2000) et demeure un marqueur important qui permet de déterminer l'évolution de la progression de l'infection vers la phase SIDA (Mellors, Munoz et al. 1997; Mellors, Margolick et al. 2007).

Le groupe de Gray ont évalué durant 30 mois le risque de transmission hétérosexuelle entre partenaires chez 417 couples-discordants ougandais (Quinn, Wawer et al. 2000). Chez les individus ayant séroconvertis la charge virale moyenne des partenaires infectés était supérieure ou égale à 90,254 copies d'ARN viral/mL contre une moyenne de 38,029 copies d'ARN viral/mL chez les individus qui sont demeurés

séronégatifs. De plus, aucun des sujets séronégatifs des 51 couples dont un des partenaires infectés présentaient une charge virale égale ou inférieure à 1500 copies d'ARN viral/mL n'a séroconvertit. Ces résultats mettent en évidence l'impact de la charge virale au niveau du risque de transmission.

2.2.2 Facteurs de l'hôte

Plusieurs facteurs de l'hôte qui influencent la susceptibilité, la transmission et la progression dans le contexte VIH sont présentés dans la section qui suit. Ces systèmes de restrictions de l'hôte représentent surtout des composantes de l'immunité innée ou dépendent du profil génétique de l'hôte.

2.2.2.1 $\Delta 32$ CCR5

Les altérations génétiques du gène CCR5 ont été étudiées exhaustivement. Ce gène est situé sur le chromosome 3 dans une région codant pour plusieurs récepteurs de chimiokines (Samson, Soularue et al. 1996). L'allèle mutant $\Delta 32$ CCR5 a été caractérisé chez les caucasiens peu après la découverte du rôle de CCR5 comme corécepteur pour le VIH (Dean, Carrington et al. 1996; Samson, Libert et al. 1996). Cette délétion de trente-deux paires de bases dans le seul exon codant du gène produit une protéine non fonctionnelle, conférant ainsi une résistance contre les souches R5 chez les individus homozygotes pour la mutation (Liu, Paxton et al. 1996). Chez les individus hétérozygotes, pour la délétion de trente-deux paires de bases du gène, on observe une progression plus lente vers la phase SIDA suite à la séroconversion (Meyer, Magierowska et al. 1997; Michael, Chang et al. 1997). La fréquence de l'allèle chez les caucasiens se situe aux alentours de 20% et a donc un impact significatif sur la progression dans une telle population. Le niveau d'expression de CCR5 à la surface des cellules semble également avoir une incidence sur l'efficacité *in vitro* des ligands de ce récepteur utilisés comme inhibiteurs de fusion (Ketas, Kuhmann et al. 2007). Des polymorphismes au niveau des promoteurs du gène peuvent également produire un phénotype $\Delta 32$ CCR5/+ hétérozygote (Bream, Young et al. 1999). De plus, les gènes CCR2 et CCR5 sont séparés par 14 paires de bases et un déséquilibre de liaison entre ces deux gènes pourraient expliquer en partie, la progression lente associée à l'allèle CCR2-64I (Smith, Dean et al. 1997; Kostrikis, Huang et al. 1998).

2.2.2.2 Ligands de CCR5

Un second mécanisme agit au niveau du récepteur de chimiokine CCR5. Cocchi et ses collaborateurs ont découvert le rôle suppresseur des chimiokines MIP-1 α , MIP-1 β et de RANTES en 1995. En isolant et en purifiant des facteurs sécrétés par les LT CD8⁺ ayant une activité suppressive sur le virus, les auteurs ont observé des séquences similaires à ces trois chimiokines. De plus l'activité suppressives était abolie lorsque ces trois chimiokines étaient bloquées avec des anticorps neutralisants (Cocchi, DeVico et al. 1995). Plusieurs gènes que l'on retrouve dupliqués chez un individu peuvent avoir un effet de dosage, favorisant la réponse immune contre certaines infections. CCL3L1 : chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1, représente une duplication d'une isoforme non-allélique de MIP-1 α un ligand principal de CCR5. Gonzalez et ses collègues ont démontré que le nombre de copies de ce gène (diminution) par rapport au nombre de copies retrouvées dans une population donnée, avait une influence directe sur la susceptibilité de l'individu à l'infection par le VIH.

Les molécules CCL4L1 (MIP1 β) et CCL5 (Rantes) ont été associées à une résistance chez des individus séronégatifs exposés à haut risque, alors que leurs LT CD8⁺ avaient une activité anti-VIH plus élevée que chez les non-exposés (Paxton, Martin et al. 1996). Paradoxalement, les gènes CCL4 et CCL3 sont présent en une seule copie (deux par génome), seuls les gènes CCL4L1 et CCL3L1 varient entre 1-6 et 0-11 copies respectivement (Shao, Tang et al. 2007) en raison de duplication segmentaires. Bien que les produits de ces gènes puissent interférer ou bloquer la liaison du VIH à CCR5 par un mécanisme d'inhibition compétitive, les auteurs n'ont pas trouvé d'association entre le nombre de copies de ces gènes et le risque d'infection (Shao, Tang et al. 2007).

2.2.2.3 CXCL12 (SDF-1)

Le Stromal-derived factor (SDF-1) également appelé pre-B cell growth stimulating factor, est le ligand principal du corécepteur CXCR4 pour les souches virales X4 lymphotropiques. Winkler et ses collègues ont effectué le génotypage d'une cohorte de 2419 individus infectés et de 435 individus exposés non-infectés, afin de dépister l'allèle SDF1-3'A. Ce polymorphisme est caractérisé par une transition de G→A à la position 801 dans la région non traduite en 3' (Winkler, Modi et al. 1998). Aucune différence significative n'a été observée entre ces deux groupes d'individus, mais plus de 50% des individus exposés à haut risques présent dans cette cohorte étaient hétérozygotes pour la mutation, laissant suggérer un rôle protecteur pour ce génotype. De plus, l'effet protecteur

récessif était considérable lors de la phase tardive de l'infection et était deux fois plus fort que celui observé chez les porteurs de la mutation $\Delta 32\text{CCR5}$ (Winkler, Modi et al. 1998). Un autre groupe de chercheurs a étudié l'effet de la mutation homozygote sur la progression et a observé une progression plus rapide vers la phase SIDA suivie d'une période de survie prolongée (van Rij, Broersen et al. 1998) chez plus de 344 HARSAH infectés.

2.2.2.4 APOBEC3G

Les observations à partir de cellules permissives et non-permissives infectées par des virus Vif-déficient (Gabuzda, Lawrence et al. 1992; Sova and Volsky 1993; von Schwedler, Song et al. 1993), suggéraient la présence d'un facteur de restriction cellulaire. Ce n'est qu'en 2002 que Malim et son équipe ont réussi à isoler un transcrit exprimé préférentiellement dans les cellules non-permissives (Sheehy, Gaddis et al. 2002). Leur étude a permis de démontrer le rôle déterminant de la protéine CEM15/APOBEC3G dans l'inhibition de la réplication virale. Cette protéine est codée par le chromosome 22 et appartient à une famille de cytosine désaminases (Jarmuz, Chester et al. 2002). Elle possède plusieurs similarité avec la protéine APOBEC1 (Petersen-Mahrt and Neuberger 2003) et l'activation induced cytidine deaminase (AID) (Petersen-Mahrt, Harris et al. 2002).

En raison de la présence d'hypermutations de G→A dans le brin positif d'ADN proviral de virus isolé chez certains patients (Vartanian, Meyerhans et al. 1991) et à l'habileté de la protéine à désaminer l'ADN de *E. coli* (Petersen-Mahrt, Harris et al. 2002), cette activité désaminase a été proposée pour expliquer le mécanisme d'action antirétroviral d'APOBEC3G. Plusieurs groupes ont ainsi réussi à mettre en évidence certaines observations en faveur de ce mécanisme (Harris, Bishop et al. 2003; Lecossier, Bouchonnet et al. 2003; Mangeat, Turelli et al. 2003; Zhang, Yang et al. 2003). Cependant, APOBEC3G possède deux domaines catalytiques : un motif liant le zinc en N-terminale et un autre en C-terminal et bien que certains auteurs aient démontré que seul le domaine C-terminal exerce une activité antirétrovirale (Hache, Liddament et al. 2005; Langlois, Beale et al. 2005), d'autres ont prouvé que cette restriction était abolie seulement lorsque les deux domaines étaient mutés (Newman, Holmes et al. 2005). Il semble donc, qu'APOBEC3G exerce son activité antirétrovirale via deux mécanismes : l'un désaminase-dépendant et l'autre désaminase-indépendant.

Dans une étude que nous avons menée sur une cohorte montréalaise de 122 participants dont 53 individus étaient séronégatifs tout en étant exposés au virus avec des

risques élevés, un nouveau variant allélique (Valcke, Bernard et al. 2006) situé à 68 paires de bases de l'exon 4 du gène APOBEC3G a été identifié. Ce polymorphisme génétique C40693T est significativement associé à un risque d'infection plus élevé chez les utilisateurs de drogues injectables et les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes.

2.2.2.5 TRIM5 α

TRIM5 appartient à une famille de protéines à motifs tripartite caractérisées par un domaine ring finger, une b-box et un domaine coiled-coil (Reymond, Meroni et al. 2001). TRIM5 α est une isoforme codée par le gène TRIM possédant un domaine SPRY qui confère une capacité de restriction antirétrovirale (Stremlau, Perron et al. 2005; Yap, Nisole et al. 2005). Le mécanisme par lequel la restriction s'effectue demeure cependant obscur, bien que plusieurs évidences pointent vers une interaction entre TRIM5 α et la protéine CA du VIH (Nisole, Stoye et al. 2005).

2.2.2.6 Allèles HLA

Certains haplotypes HLA de classe I et II tels que les haplotypes A1 CW7 B8 et A11 CW4 B35 ont été associés avec une progression plus rapide (Cameron, Mallal et al. 1990; Kaslow, Duquesnoy et al. 1990). Les allèles HLA-B57 et HLA-B27 sont associés à une progression lente vers la phase SIDA et l'allèle B57 est présent chez 85% des LTNP contre 9,5% chez les progressseurs normaux (Migueles, Sabbaghian et al. 2000). L'haplotype A1-B8-DR3 est associée à une progression rapide selon une étude menée sur une cohorte d'UDI de l'hôpital d'Edinbourg (McNeil, Yap et al. 1996). HLA-Bw4, fonctionne comme ligand pour certains récepteurs KIR des cellules natural killer (NK) et a un rôle protecteur contre le VIH. Les homozygotes pour l'allèle Bw4 ne progressent pas vers la phase SIDA, maintiennent un compte de CD4⁺ relativement normal et une charge virale faible, indépendamment de la présence d'allèles associés à une progression lente ou à la présence de mutations au niveau du récepteur de chimiokines CCR5 (Flores-Villanueva, Yunis et al. 2001). Certains allèles non classiques, HLA-E (HLA-E*0103) et HLA-G (HLA-G*0105N) confèrent une protection et diminuent la susceptibilité au virus de façon indépendante ou en synergie (Lajoie, Hargrove et al. 2006).

2.3 Réponse immune

Bien que les découvertes jusqu'à présent mettent surtout en évidence l'impact qu'exercent la virémie et l'état du compartiment des LT CD4⁺ sur la progression, plusieurs

autres mécanismes semblent également impliqués lors de la PHI et de la phase chronique de l'infection. Ces mécanismes peuvent possiblement contribuer directement ou indirectement à la réplication et la dissémination virale et ainsi, déstabiliser l'homéostasie du système immunitaire de l'hôte, tout en favorisant la persistance du virus.

2.3.1 Immunité innée

2.3.1.1 TLRs

Les Toll-like receptors (TLRs) 1-10 sont une famille de récepteurs appartenant aux récepteurs reconnaissant des patrons moléculaires (PRRs) peu raffinés apparentés au récepteur de l'IL-1, qui reconnaissent certains patrons moléculaires associés à différents pathogènes (PAMPs) tels que les bactéries ou virus, ce qui permet d'initier rapidement la réponse immunitaire. Ces récepteurs sont exprimés par les cellules épithéliales, les DC, les monocytes, les NK, les cellules B et T, suggérant ainsi que leur activation, qui aboutit ultimement à la voie NF- κ B (Akira, Takeda et al. 2001), permet de stimuler directement les cellules effectrices de l'immunité innée et adaptatrice. Un mécanisme impliquant les TLRs 7 et 8 montre une contribution de ces TLRs à l'activation chronique du système immunitaire chez les individus séropositifs (Meier, Alter et al. 2007). Ces observations permettent d'envisager qu'une stratégie de blocage de ces récepteurs pourrait ralentir ou réduire l'activation chronique du système immunitaire, induite par le virus d'immunodéficience humaine.

2.3.1.2 Cellules NK

Les cellules Natural Killer (NK) sont des lymphocytes granuleux que l'on retrouve principalement dans le foie, le péritoine et le placenta. Elles constituent plus de 15% des PBMC, leur capacité de produire des cytokines dont principalement de l'interféron gamma (IFN- γ), des chimiokines et leur habileté à lyser les cellules tumorales ou infectées, en font des médiateurs importants de la réponse immune (Trinchieri 1989; Cooper, Fehniger et al. 2001). Elles expriment plusieurs types de récepteurs à leur surface, dont les NCR, les récepteurs KIR, les récepteurs de la famille NKG2D, des récepteurs Fc. C'est l'équilibre entre la stimulation de récepteurs inhibiteurs et activateurs, présents à la surface de la cellule NK, qui va réguler l'activité cytolytique (Moretta, Bottino et al. 2001). Deux sous populations ont été découvertes jusqu'à maintenant et peuvent être différenciées en fonction de l'expression des marqueurs de surface CD16 et CD56 (Cooper, Fehniger et al. 2001). Les NK contribuent via des mécanismes cytolytiques et non-cytolytiques à la réponse immune, soit par activation directe des récepteurs de surface, soit par sécrétion

de cytokines et/ou chimiokines qui permettent la suppression virale (Fehniger, Herbein et al. 1998).

Or, les cellules NK du sang périphérique sont hyper-activées durant l'infection par le VIH-1 et leur activité cytolytique est diminuée (Fogli, Costa et al. 2004). Un mécanisme impliquant les TLRs a été décrit tout récemment pour expliquer en partie ce phénomène (Alter, Suscovich et al. 2007). Deux études récentes ont décrit l'effet protecteur de certains allèles, codant pour des récepteurs NK, sur la progression de l'infection. L'allèle HLA-Bw4 mentionnée plus tôt, code pour un ligand du récepteur KIR et a été associé à un contrôle de la virémie et une progression lente vers la phase SIDA (Flores-Villanueva, Yunis et al. 2001). Les allèles KIR3DS1 et HLA-Bw4 Ile80 sont associés à une progression lente, quoiqu'en absence de l'allèle KIR3DS1, HLA-Bw4 Ile80 n'a aucun rôle protecteur (Martin, Gao et al. 2002).

2.3.2 Immunité adaptative

2.3.2.1 LT CD4⁺

Les LT CD4⁺ sont les cellules qui orchestrent la réponse immunitaire adaptative et l'atteinte de ce compartiment jumelée à un épuisement et/ou une disparition de leur nombre, entraîne une immunodéficience chez l'hôte. Il semble que la majorité des LT CD4⁺ exprimant CCR5 sont éliminés au niveau du TGI (Brenchley, Schacker et al. 2004; Mehandru, Poles et al. 2004) et que la rupture de l'homéostasie au niveau du compartiment CD4 joue un rôle dans l'hyper-activation du système immunitaire (Brenchley, Schacker et al. 2004; Mehandru, Poles et al. 2004). Bien que la trithérapie permette de rétablir le nombre de LT CD4⁺ global, on observe une perte importante de ces cellules au niveau des muqueuses (Mehandru, Poles et al. 2004). La dynamique et la cinétique de la perte graduelle de ces cellules demeurent très controversées. Deux modèles ont été proposés, l'un impliquant une augmentation de leur destruction (taux élevé de renouvellement des CD4⁺) par le virus causant ainsi, un épuisement de ce compartiment (Ho, Neumann et al. 1995; Wei, Ghosh et al. 1995; Mohri, Perelson et al. 2001) et l'autre qui implique un mécanisme d'interférence avec la régénération ou renouvellement de ce compartiment cellulaire (Sachsenberg, Perelson et al. 1998; Clark, de Boer et al. 1999).

Le modèle de Ho a soulevé la controverse car certains groupes de chercheurs n'ont pas observé une augmentation de la prolifération des LT CD4⁺ (Wolthers, Bea et al. 1996; Palmer, Weng et al. 1997; Fleury, de Boer et al. 1998). Cependant, les techniques

utilisées étaient limitées : par méthode directe avec BrdU, par méthode indirecte en comparant la longueur des télomères et en mesurant le niveau d'expression de l'antigène nucléaire Ki67. Certains ont proposé une inhibition de la génération de progéniteurs de cellules à longue durée de vie, suite aux résultats obtenus par incorporation directe d'un isotope de glucose à l'ADN des cellules en division (Hellerstein, Hanley et al. 1999; McCune, Hanley et al. 2000; Hellerstein, Hoh et al. 2003).

2.3.2.1.1 PD-1

Une régulation positive des interactions PD1/PD1-L, le récepteur inhibiteur de mort programmée 1 aussi connu sous l'appellation PDCD1, cause un épuisement du compartiment LT CD8⁺ (Day 2006; Trautmann 2006). Ce facteur de régulation négative des cellules T activées est augmenté chez les sidéens. Généralement les clones LT CD8⁺ Vβ font partie de la population qui prend le plus d'expansion dans la réponse VIH et une disparition de ces clones pourrait contribuer à l'effondrement de la réponse immunitaire. Par ailleurs, les LTNP expriment peu de PD-1 comparativement aux progresseurs normaux dont l'expression de PD-1 est augmentée et dont la production d'IFN-γ et de perforine est diminuée (Zhang 2007). Ces découvertes sur PD-1 s'ajoutent à celles qui tentent de démontrer l'importance des CTL CD8⁺ dans la cytotoxicité et suppression virale.

À la lumière des données expérimentales, il est clair que de nombreux mécanismes sont impliqués dans l'atteinte du compartiment CD4 et que l'affection de ce compartiment fait pencher la balance vers un état d'immunodéficience. Cependant, d'autres facteurs qui suscitent tout particulièrement notre intérêt, impliquent les compartiments DC et B. Plusieurs évidences impliquent un rôle de ces deux types cellulaires, lors des événements précoces qui surviennent au début l'infection et lors de la progression de l'infection. Nous allons maintenant les aborder en détails dans la prochaine section.

2.3.2.2 DC

Les cellules dendritiques ont été observées pour la première fois dans la peau, ce sont les cellules de Langerhans, puis dans la rate par Ralph Steinman et Zanvil Cohn en 1973 (Steinman and Cohn 1973). Ces cellules stimulent fortement la réponse primaire et secondaire. Les DC possèdent des voies de transport membranaire qui permettent la capture et l'apprêtement de pathogènes afin d'initier la réponse immunitaire. Le fluide extracellulaire est continuellement absorbé par macropinocytose et les antigènes et microbes sont internalisés par la cellule via l'endocytose et phagocytose dépendantes des

récepteurs Fc, des lectines de type-C et des TLRs, ces derniers étant présents à la surface de leur membrane cellulaire et à l'intérieur de vésicules endosomales situés dans le cytosol. Avant d'aborder l'importance du rôle qu'ont les DC dans la réponse immunitaire lors de l'infection par le VIH, il est essentiel de décrire les différentes populations présentes chez l'homme.

2.3.2.3 Sous populations (pDC et mDC)

Chez l'humain on retrouve deux sous-populations principales de DC : les cellules dendritiques myéloïdes (mDC) CD11c⁺ et les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) CD11c⁻ et CD123⁺ (récepteur α de l'IL-3). Les mDC incluent les DC interstitielles, dermales et les cellules de Langerhans, qu'on retrouve dans la peau, le sang et les muqueuses. Les pDC sont principalement retrouvées dans le sang et les organes lymphoïdes (Robinson, Patterson et al. 1999; Dzionek, Fuchs et al. 2000).

Ces deux sous populations ont la capacité de sécréter de l'IL-12 et de stimuler les CD4⁺ naïves, mais ce sont les mDC qui sécrètent majoritairement l'IL-12, alors que les pDC vont surtout produire de l'interféron de type I (IFN- α) (Cella, Jarrossay et al. 1999; Siegal, Kadowaki et al. 1999). Cette différence est accentuée par une expression différentielle de récepteurs de surface : les pDC expriment les (Blood DC Antigen) BDCA2, BDCA4 et les TLRs 7 et 9 alors que les mDC expriment les TLRs 2, 3, 4, 7 et 8 et les récepteurs de lectine de type-C (CLR) CD206, CD205, DC-SIGN et CD207 (langerin) (Kadowaki, Ho et al. 2001). Les mDC immatures vont exprimer plus de ces récepteurs de surfaces que les mDC matures, leur permettant ainsi d'optimiser la capture d'antigènes. Cette distinction entre les différents types de TLRs exprimés module la réponse innée et adaptative en fonction du type de ligand et de la voie de signalisation empruntée (Lore, Betts et al. 2003).

2.3.2.3.1 Phénotype

Les DC en général ont une morphologie spécifique caractérisée par la présence de dendrites, l'absence de marqueurs lignée-spécifique tels que CD3, CD19, une expression élevée de molécules co-stimulatrices, comme les MHC de classe II, p55, CD40, CD54, CD58, CD80, CD83 et CD86 et la capacité de capturer et apprêter les antigènes présents dans les tissus périphériques (Zoetewij and Blauvelt 1998).

La réponse à médiation cellulaire dépendante des cellules T est un processus complexe qui requiert la reconnaissance d'un complexe peptide antigénique-MHC, par le

TCR de la cellule T circulante dans le sang. De plus, les cellules infectées ou tumorales expriment généralement peu de molécules co-stimulatrices nécessaire à l'expansion clonale des T et les quantités d'antigènes complexés aux MHC sont faibles et doivent être reconnues par des TCR de faible affinité, présents à la surface de clones spécifiques retrouvés à de très faibles fréquences. C'est pourquoi la localisation des cellules dendritiques dans les tissus de l'organisme et leur capacité à capturer et à apprêter les antigènes pour les présenter à leur surface via leurs molécules de MHC, permet de contourner cet obstacle. La rencontre d'un agent infectieux ou d'un produit d'une réaction inflammatoire, induit chez la DC immature une régulation positive de molécules co-stimulatrices, de récepteurs de chimiokines et provoque la maturation et la migration de la cellule vers les régions para-corticales des organes lymphoïdes, où sont présents en très grand nombre les cellules T (Banchereau and Steinman 1998; Zoetewij and Blauvelt 1998). Les DC agissent ainsi en sentinelles et font le pont entre l'immunité innée et l'immunité adaptative grâce à leurs fonctions de cellules présentatrices d'antigènes professionnelles (APC). Ces fonctions permettent de stimuler les LT CD4⁺ naïfs et d'induire leur expansion clonale (Banchereau and Steinman 1998), d'activer les cellules NK (Fernandez, Lozier et al. 1999) et de contrôler la tolérance périphérique en induisant l'anergie/délétion des LT, en absence de co-stimulation (Hawiger, Inaba et al. 2001; Steinman and Nussenzweig 2002).

2.3.2.4 DC dans le contexte VIH

Les études menées sur le singe rhésus démontrent que les premières cellules ciblées par le SIV sont localisées dans la lamina propria des muqueuses cervico-vaginales (Spira, Marx et al. 1996) et que le phénotype de ces cellules semble correspondre à celui de cellules dendritiques. Ces données sont appuyées par les travaux du groupe de Haase, qui a observé un rôle majeur des pDC dans le recrutement initial des LT au niveau de la muqueuse vaginale dans un modèle SIV (Li, Duan et al. 2005; Li, Estes et al. 2009).

Beaucoup de recherches ont été effectuées sur les interactions entre virus et DC, tant au niveau des muqueuses pour observer les contacts initiaux entre DC et virus, qu'au niveau de la transmission du virus aux cellules T par l'entremise des DC. Plusieurs de ces études ne parviennent pas à se mettre en accord sur plusieurs points, dont l'expression de DCSIGN une lectine de type C dont nous avons discuté plus tôt par exemple, et ce, pour plusieurs raisons. Comme les DC sont difficiles à isoler, il est nécessaire de trouver un moyen de les enrichir ou de les cultiver. Il existe plusieurs façons de dériver des DC, l'une à partir d'un progéniteur CD34⁺ de la moelle osseuse ou du sang en ajoutant du TNF α et

du GM-CSF (Caux, Dezutter-Dambuyant et al. 1992) et l'autre à partir de monocytes CD14⁺ du sang périphérique auxquels on ajoute de l'IL-4 et du GM-CSF (Romani, Gruner et al. 1994). Comme plusieurs cellules entourent les DC et sécrètent plusieurs cytokines immuno-modulatrices, le milieu dans lequel sont étudiées les DC affecte directement le phénotype, la maturation et les fonctions des DC. Cette caractéristique des DC explique en partie les données souvent contradictoires dans la littérature et représente un problème de taille lors de l'étude de ces populations cellulaires.

Le fait qu'on retrouve des DC dans la peau, le sang et surtout au niveau des muqueuses génitales (Hussain and Lehner 1995), laisse suggérer très fortement que ces cellules sont probablement les premières à entrer en contact avec le virus (Knight and Patterson 1997). Cependant, jusqu'à tout récemment l'absence d'un modèle expérimental adéquat, ne permettait pas de déterminer avec certitude les événements initiaux au niveau des muqueuses génitales. C'est pourquoi le groupe de McElrath a développé un modèle *ex vivo* d'un système de culture d'organe permettant la séparation de la partie épithéliale de la partie stromale de la muqueuse vaginale (Hladik, Sakchalathorn et al. 2007). Les auteurs ont démontré que le VIH-1 entrait simultanément dans les cellules Langherans CD1a⁺ et les LT CD4⁺ présentes dans l'épithélium vaginal. L'entrée dans les LT CD4⁺ s'exécutait exclusivement via une fusion récepteurs dépendante CD4 et CCR5, alors que l'entrée dans les Langherans s'effectuait par endocytose et permettait aux virions de survivre dans le cytoplasme de la cellule plusieurs jours (Hladik, Sakchalathorn et al. 2007).

Bien que cette étude permette de confirmer l'importance des DC dans l'initiation des événements précoces menant à de l'infection, plusieurs questions demeurent sans réponses, quant à leur susceptibilité au virus et à leur rôle dans la transmission du virus. Les données expérimentales obtenues jusqu'à présent demeurent contradictoires en raison des différentes conditions expérimentales utilisées pour étudier les DC. Plusieurs évidences démontrent que les DC expriment les récepteurs et corécepteurs nécessaires à la fusion du virale et qu'elles sont donc permissives au VIH (McIlroy, Autran et al. 1995; Pope, Gezelter et al. 1995; Cameron, Pope et al. 1996; Granelli-Piperno, Moser et al. 1996). Par contre les données concernant la capacité des DC à supporter la réplication virale diffèrent beaucoup, allant de la résistance à l'infection productive (Cameron, Lowe et al. 1994; Weissman, Li et al. 1995; Warren, Rose et al. 1997). En utilisant un modèle *in vitro* de différenciation des DC, Gluckman et ses collègues ont réussi à démontrer que la capacité à supporter la réplication virale des DC était dépendante de leur niveau

d'activation/maturation (Canque, Bakri et al. 1999). Ces résultats sont en faveur du modèle basé sur la capacité de réplication des souches R5 du virus dans les DC immatures, qui explique la prédominance de ces dernières lors de la PHI (Granelli-Piperno, Delgado et al. 1998; Reece, Handley et al. 1998; Granelli-Piperno, Shimeliovich et al. 2006). D'ailleurs, il a été démontré récemment, que la restriction virale dans les cellules matures était le résultat de l'activité antirétrovirale d'APOBEC3G/3F (Pion, Granelli-Piperno et al. 2006).

Par ailleurs, le nombre de cellules dendritiques plasmacytoïdes et myéloïdes dans le sang est diminué durant l'infection par le VIH-1. Plusieurs études ont rapporté une réduction importante de ces deux populations d'APC dans le sang, corrélant avec la charge virale et le taux de lymphocytes CD4⁺ (Donaghy, Pozniak et al. 2001; Pacanowski, Kahi et al. 2001). Certains ont observé une déplétion principalement au niveau de la population myéloïde CD11c⁺ qui corrèle également avec les niveau de réplication virale (Grassi, Hosmalin et al. 1999). D'autre part, Steinman et son équipe de chercheurs ont investigué l'effet de la HAART sur le nombre de cellules dendritiques plasmacytoïdes et myéloïdes du sang chez des patients infectés (Finke, Shodell et al. 2004). Ces derniers ont observé une augmentation des pDC, à des niveaux inférieurs cependant à ceux retrouvés chez les individus sains, accompagnée d'une augmentation de la production d'IFN α suite à la trithérapie et une augmentation des mDC à des niveaux similaires à ceux observés chez les séronégatifs (Finke, Shodell et al. 2004).

De plus, il semble que le nombre de pDC circulante ait un impact sur le contrôle de la virémie, comme l'ont rapporté Soumelis et al. dans une étude portant sur la relation entre ces cellules et la progression de la maladie et/ou sur l'incidence de complications associées à l'infection par le VIH-1 (Soumelis, Scott et al. 2001). Ces chercheurs ont observé des fréquence de pDC augmentées chez les LTNP comparativement aux individus sains et une corrélation inverse entre le nombre de pDC et la charge virale, suggérant une contribution des pDC au contrôle de la virémie (Soumelis, Scott et al. 2001). Cette contribution est possiblement due à la production massive d'IFN α par les pDC (Cella, Jarrossay et al. 1999) et autres facteurs solubles sécrétés par cette population (Groot, van Capel et al. 2006). La présence d'une accumulation de DC DC-SIGN⁺, CD40⁺, CD1a⁺, CD83⁺ et CD80^{low}/CD86^{low} dans les ganglions lymphatiques durant la PHI a soulevé la possibilité que cette réduction était le fruit d'une migration et redistribution massive des DC du sang périphérique vers ces tissus lymphoïdes (Lore, Sonnerborg et al. 2002). Par contre, la fréquence totale de DC observée dans les tissus lymphoïdes de

sidéens est réduite lorsque comparée à celle retrouvée dans le sang, ce qui suggère que ce phénomène ne peut expliquer complètement la perte de DC observée dans le sang périphérique (Lore, Sonnerborg et al. 2002). Il faut préciser, que l'étude de Lore et al. est une des rares qui cible les populations de DC présentes dans les ganglions lymphatiques et amygdales dans le contexte d'une infection VIH, ce qui à priori peut sembler plus représentatif des conditions réelles d'une infection. De plus, l'absence de régulation positive des molécules de co-stimulation CD80/86 observée dans cette étude, implique que l'incapacité des DC à maturer complètement pourrait avoir un impact sur leur capacité à stimuler et générer une réponse VIH-spécifique LT CD4⁺ dépendante (Lore, Sonnerborg et al. 2002).

Un autre aspect de l'infection par le VIH est représenté par le phénotype des DC que l'on observe durant la progression de la maladie. Ce phénotype est altéré chez les individus séropositifs et chez les sidéens, où les DC présentes dans les ganglions lymphatiques et les amygdales expriment des niveaux plus faibles de CD80, CD86 et de CD40 à leur surface (Lore, Sonnerborg et al. 2002). Cependant, d'autres études ont démontré le contraire, alors que ces molécules ont été trouvées augmentées à la surface des DC (Fan, Huang et al. 2001; Huang, Fan et al. 2005). Pour déterminer l'origine de cette dysfonction, Chougnnet et ses collègues ont utilisé un système dans lequel les DC étaient co-cultivées avec des LT CD4⁺ préalablement exposés à une souche virale non-infectieuse, afin d'exclure les effets directement attribuables à l'infection (Zhang, Lifson et al. 2006). Leurs résultats démontrent que ces cellules T exposées confèrent des signaux d'activation/maturation sub-optimaux et se traduit par la faible expression de molécules co-stimulatrices. Les découvertes de ces auteurs semblent impliquer un mécanisme basé sur la liaison de gp120 à CD4 qui mènerait à une expression déficiente de CD154/CD40L sur les LT exposés (Zhang, Lifson et al. 2006). Ainsi, selon ces auteurs, les interactions CD40/CD40L seraient des anomalies au niveau de l'activation/maturation des DC chez les individus infectés par le VIH-1.

Toujours selon ces auteurs, ces anomalies entraîneraient l'incapacité des DC à stimuler les LT CD4⁺ allogéniques, provoquant ainsi une perte de fonctions. Les données sont cependant partagées en ce qui concerne le dysfonctionnement des DC chez les individus infectés. Certains rapportent une perte de fonction mise en évidence par l'absence de stimulation des LT CD4⁺ chez les mDC et pDC (Macatonia, Lau et al. 1990; Donaghy, Gazzard et al. 2003; Kawamura, Gatanaga et al. 2003), chez les Langerhans (Blauvelt, Clerici et al. 1995). D'autres ont rapporté des cas d'infection productive très rare

chez les DC et une capacité à stimuler les LT CD4⁺ non-altérée (Cameron, Forsum et al. 1992).

2.3.2.5 Influence sur la transmission aux LT CD4⁺

La réduction du nombre de DC et leurs altérations phénotypiques mentionnée précédemment chez les individus infectés semble affecter le compartiment LT CD4⁺ au niveau fonctionnel.

2.3.2.5.1 Précurseurs CD14⁺CD16⁺

L'expression du récepteur FcRγIII chez les monocytes du sang périphérique distingue deux populations au profil différent, soit une population mineure CD16⁺ et une population majeure CD16⁻ (Ziegler-Heitbrock 1996). De ces deux populations les cellules CD16⁺ sécrètent plus de TNF et d'IL-1 et expriment des niveaux plus élevés de molécules co-stimulatrices (Allan, Colonna et al. 1999; Belge, Dayyani et al. 2002; Schakel, Kannagi et al. 2002). Ces cellules se différencient préférentiellement en DC (Randolph, Sanchez-Schmitz et al. 2002) lors de la migration trans-endothéliale. Selon la littérature, ces cellules semblent représenter un pool de précurseurs de DC capable de produire des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires. Durant la progression de l'infection au VIH, ces cellules sont augmentées (Thieblemont, Weiss et al. 1995) et représentent potentiellement une source d'activation chronique du système immunitaire.

Les résultats obtenus par Ancuta et ses collègues leur ont permis de développer un modèle dans lequel les CD16⁺ sont recrutées dans les tissus périphériques où elles se différencient en macrophages et produisent des facteurs chimiotactiques permettant le recrutement des LT (Ancuta, Autissier et al. 2006). L'expression constitutive de ces chimiokines dans l'environnement CD16⁺/LTCD4⁺ contribue à activer les LT CD4⁺ et à augmenter leur susceptibilité à l'infection. Cette production de cytokines/chimiokines par les monocytes CD16⁺ démontre une contribution à l'activation chronique du système immunitaire durant le cours de l'infection par le VIH. Ces résultats renforcent également l'importance des DC et de leurs sous-populations dans les mécanismes en jeu dans l'hyperactivation du système immunitaire chez les individus infectés par le VIH.

2.3.2.5.2 Trans-infection

Un phénomène que nous avons mentionné précédemment qui implique la transmission du virus par les DC aux LT CD4⁺, suscite l'intérêt de plusieurs chercheurs. En effet, il est maintenant accepté, que les DC immatures peuvent être infectées par le

virus et en certaines circonstances produire de nouveaux virions infectieux, cette propriété représente la cis-infection. Toutefois, avec la découverte d'un récepteur de lectine de type-C à la surface des DC (DC-SIGN) qui lie gp120, certains chercheurs ont rapporté une augmentation de l'infection des LT CD4⁺ qu'ils ont décrits comme étant un phénomène de trans-infection. Ce phénomène requière la migration de DC ayant internalisés des virions intacts dans le compartiment endosomal, vers les tissus lymphoïdes là où elles transmettent le virus aux CD4⁺, à la façon d'un cheval de Troie (Geijtenbeek, Kwon et al. 2000)

Le DC immatures expriment les récepteurs CD4, le corécepteur CCR5 et de faible quantité de CXCR4, ce qui permet à la cellule de supporter la réplication des souches R5 *in vitro*, mais rend la réplication des souches X4 difficile (Granelli-Piperno, Delgado et al. 1998; Canque, Bakri et al. 1999; Turville, Cameron et al. 2002). Bien que les deux populations de DC (pDC et mDC) soient susceptibles aux souches R5, il semble que les mDC le soient plus comparativement au pDC (Smed-Sorensen, Lore et al. 2005). Comme il a été décrit précédemment, les DC matures sont résistantes au virus, bien qu'elles expriment les molécules de surface nécessaires à la fusion membranaire du virus à la cellule.

En général, l'infection productive (infection en *cis*) des DC est considérablement moins fréquente que la réplication virale dans les LT CD4⁺, jusqu'à 10 à 100 fois moins (McIlroy, Autran et al. 1995). À la lumière des données expérimentales actuelles, un nombre croissant d'évidences semble indiquer que la transmission à long terme aux LT CD4⁺ dépend de la production de nouveaux virions infectieux à partir des DC. Ceci suggère que la trans-infection semble jouer un rôle mineur dans l'augmentation de cellules CD4⁺ infectées observée. D'ailleurs, il a été démontré que la plupart des virus liés à DC-SIGN et internalisés subséquemment sont dégradés après 24 heures (Turville, Cameron et al. 2002; Moris, Nobile et al. 2004). Conséquemment, cela implique que la transmission aux LT CD4⁺ après 24 heures devrait résulter de la réplication de virions infectieux produits par la cellule dendritique. Malgré cela, ce mécanisme demeure controversé, puisque certains chercheurs ont rapporté avoir observé des virions intacts à l'intérieur de vésicules dans les DC après 72 heures, supportant ainsi la théorie du cheval de Troie (Hladik, Sakchalathorn et al. 2007).

Des travaux récents menés par le groupe de Simmons, ont permis d'élucider partiellement la voie de signalisation induite par la liaison de gp120 à la lectine de type-C DC-SIGN (Hodges, Sharrocks et al. 2007). En analysant les interactions entre un éventail

d'anticorps et DC-SIGN, ces derniers ont découvert l'anticorps H200 qui se lie au « neck domain » et induit la signalisation. En utilisant différentes techniques, dont les microarrays et le FACS, ils ont observé que les cellules liant H200 demeuraient immatures. La spectrométrie de masse leur a ensuite permis d'identifier certaines protéines phosphorylées suite à la liaison du VIH ou de H200 à DC-SIGN, dont LARG (leukemia-associated Rho guaninenucleotide-exchange factor). Afin d'évaluer le rôle de LARG, ils ont utilisé des siRNA-LARG spécifiques et ont découverts que ce dernier était essentiel pour l'activation de protéines liant le GTP et la formation de la synapse virologique entre les CD4⁺ et la cellule dendritique infectée (Hodges, Sharrocks et al. 2007). Cette découverte permet de comprendre un peu plus en détail le mécanisme impliqué dans la trans-infection. Effectivement, suite à la liaison du virus à DC-SIGN présent à la surface de la cellule dendritique, trois voies distinctes influence le destin du virion. Le virus peut être internalisé dans un endosome et suivre la voie de dégradation dans le compartiment endosomal tardif, ou bien, le virus fusionne avec la DC et suit le cours de son cycle de réplication normal, aboutissant à la formation de nouveaux virions infectieux, ou alors, le virus demeure séquestré dans une vésicule endosomale et attend la formation d'une synapse immunologique entre la DC infectée et un LT CD4⁺ pour fusionner avec la membrane du LT (Cunningham, Harman et al. 2007). Bien que l'influence des DC sur la transmission du virus joue un rôle important dans la pathogénèse du virus, plusieurs données expérimentales dans la littérature pointent en direction de certains facteurs sécrétés par ces dernières, qui semblent moduler certaines fonctions du système immunitaire en faveur du virus. Parmi ces facteurs on retrouve BLyS.

2.3.2.6 BLyS

En effet, les DC sécrètent plusieurs cytokines essentielles à la croissance/maturation des lymphocytes dont plus particulièrement les cellules B, une fonction qui suscite tout particulièrement notre attention. Parmi ces facteurs mentionnés précédemment qui modulent certaines fonctions du système immunitaire durant l'infection au VIH, nous aborderont principalement BAFF/BLyS (B-cell activation factor of the TNF family), l'IL-10 et l'IL-6 qui sont augmentées dans le sérum de plusieurs patients développant des complications suite à l'infection par le VIH, parmi lesquelles figurent certains symptômes auto-immuns ou la présence de lymphomes B. BLyS, aussi appelé BAFF ou TALL-1 a été identifié initialement d'après son homologie avec le TNF (Schneider, MacKay et al. 1999). Les membres de la famille du TNF sont des protéines transmembranaires de type II qui forment spontanément des homotrimères. BLyS peut demeurer à la surface de la cellule

comme protéine transmembranaire de type II ou peut également être sécrétée sous une forme soluble suite à un clivage protéolytique (Schneider, MacKay et al. 1999). BLYS est produit principalement par les DC, les macrophages, les monocytes et n'est pas exprimé par les lymphocytes T (Schneider, MacKay et al. 1999; Nardelli, Belvedere et al. 2001). L'IL-10 malgré son rôle suppresseur dans la production de cytokines pro-inflammatoires et l'IFN- γ sont importants dans la régulation de BLYS. Ces cytokines exercent un rôle au niveau de l'expression du gène et des formes membranaires ou solubles de BLYS (Nardelli, Belvedere et al. 2001). BLYS partage plusieurs séquences d'acides aminés identiques à APRIL (a proliferation-inducing ligand), une protéine exprimée principalement par les cellules tumorales et à un degré moindre, par les cellules lymphoïdes et épithéliales. Ces deux ligands partagent plusieurs récepteurs et sont possiblement impliqués dans les mêmes activités biologiques.

BLYS peut se lier à trois récepteurs différents : BCMA (B-cell maturation antigen), TACI (transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand (CAML) interactor) et BAFF-R (BAFF receptor). APRIL partage les récepteurs BCMA et TACI avec BLYS, l'un de ces récepteurs est exprimé par les B matures (BCMA) et l'autre par une sous population de LT stimulée par des anti-CD3 ou certains facteurs mitogènes (TACI) (von Bulow and Bram 1997; Madry, Laabi et al. 1998). BAFF-R est exprimé exclusivement par la lignée B et est spécifique à BLYS, alors qu'APRIL lie également les protéoglycans. La distinction en ces différents récepteurs qui permet une spécificité pour BLYS, se situe au niveau du nombre de domaines riches en résidus cystéines présents dans la molécule et à la conformation que prend une structure en épingle à cheveux β conservée, qui est suivie par un motif variable (Schneider 2005).

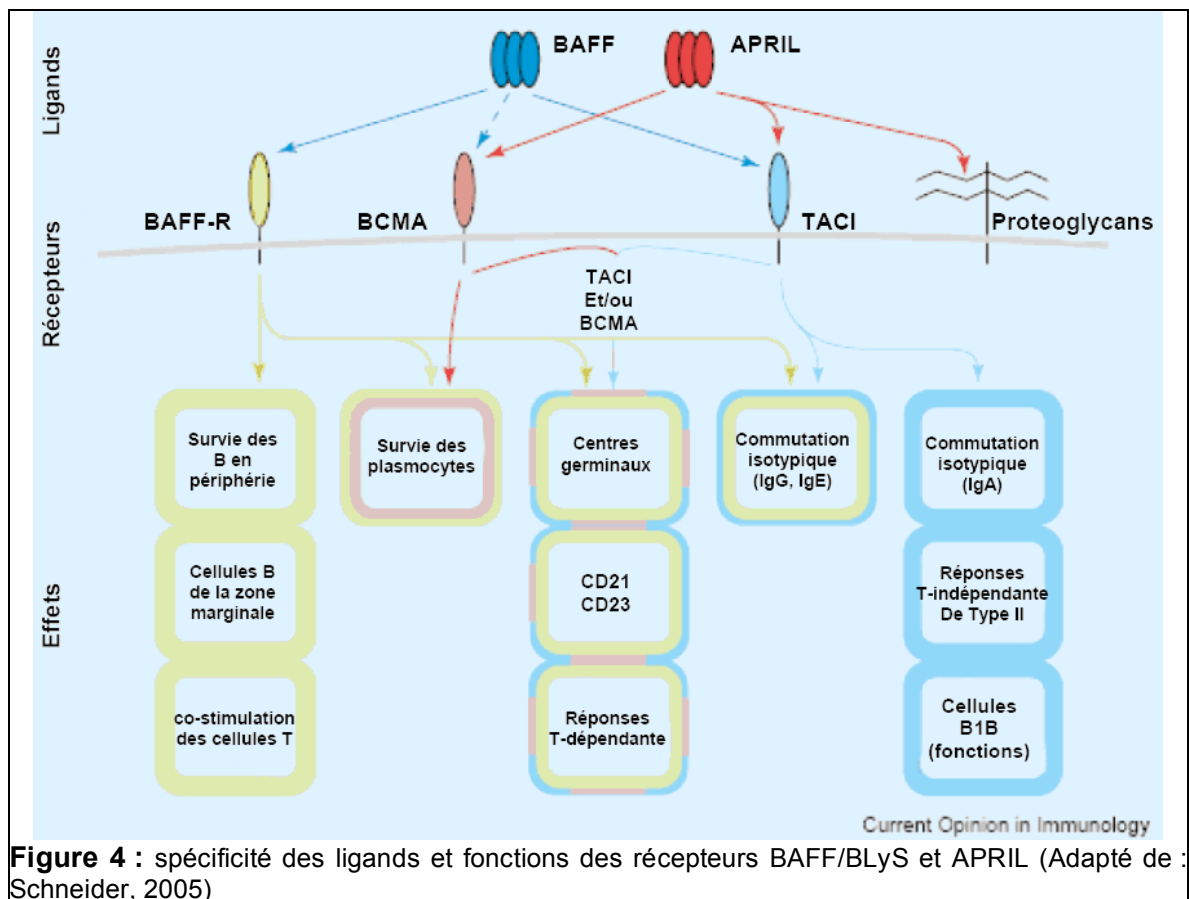
BLYS est un facteur de survie des LB essentiel dont la liaison à son récepteur produit des effets pléiotropiques. Certaines cellules vont produire BLYS de façon constitutive, alors que d'autres doivent être stimulées afin de produire la protéine mature. L'équilibre qui existe entre la quantité de BLYS présent dans le milieu et le nombre de LB, détermine le sort de la cellule.B. La survie des cellules B dépend donc de la concentration de BLYS présente dans le microenvironnement, tel qu'illustré par le modèle à la figure 7.

De plus, la survie des LB dépend également des signaux de niveau basal en provenance du BCR qui semblent contrôler en partie l'expression de BAFF-R (Smith and Cancro 2003). Le développement des LB dans la moelle osseuse est un processus indépendant de BLYS. Par contre, en périphérie dans la rate par exemple, alors que les cellules B progressent de la phase transitionnelle T1 à T2, celles-ci répondent aux signaux

de survie de BlyS. Les cellules B de la zone marginale semblent également dépendre exclusivement de BlyS pour leur maturation. La survie en périphérie requière BlyS et BAFF-R, puisque des mutants de délétion pour ces deux gènes sont arrêtés au stade T1 et progressent rarement vers le stade T2 (Shulga-Morskaya, Dobles et al. 2004).

Cette particularité de BlyS dans la survie des LB, implique qu'une surexpression de cette protéine pourrait contribuer à sélectionner positivement certains clones auto-réactifs et contribuer ainsi à l'auto-immunité retrouvée chez certains patients atteints d'infections chroniques. D'ailleurs, BlyS est augmenté dans le sérum des individus souffrant du syndrome de Sjögren, d'arthrite rhumatoïde (RA) et du lupus érythémateux systémique (SLE) (Zhang, Roschke et al. 2001; Groom, Kalled et al. 2002). De plus, la rupture de l'équilibre dans l'expression de BlyS pourrait également contribuer à la survie de certains lymphomes B.

En plus de son rôle crucial dans la survie des LB en périphérie, BlyS contrôle plusieurs fonctions du système immunitaire. Parmi les autres fonctions sous le contrôle de



BlyS, figurent la commutation isotypique, le maintien des centres germinatifs, la

formation du réseau de FDC, la co-stimulation des LT et l'expression des marqueurs de surface CD21 (récepteur au complément CR2) et CD23 (récepteur Fc pour IgE), qui sont des marqueurs permettant de différencier les sous population B (Schneider 2005). Une illustration qui résume ces effets pléiotropiques est présentée à la figure 4.

Le rôle de BLyS dans l'atteinte du compartiment des cellules B sera vu plus en détail prochainement, dans la section concernant le dysfonctionnement des cellules B.

2.3.2.7 IFN- α

La production d'IFN- α par les pDC à un rôle très important dans la réponse immunitaire. Un grand nombre de cellules nucléées sécrètent de l'IFN- α et enclenchent un mécanisme de restriction antiviral en réponse à cette cytokine. La liaison de celui-ci à son récepteur va déclencher la voie Jak/Stat qui mène à la transcription de facteurs cellulaires ayant une activité antivirale. Les GTPases Mx ciblent la nucléocapside virale et inhibent la synthèse d'ARN, la protéine kinase ARN-dépendante (PKR) inhibe l'initiation de la traduction en phosphorylant le facteur d'élongation EIF2, la 2'5' oligoadenylate synthétase (OAS) et la nucléase RNase L dégradent l'ARN présent dans la cellule atteinte (Samuel 2001). En plus d'induire un état antiviral, l'IFN- α exerce plusieurs autres effets, dont l'activation des cellules NK et des macrophages, une augmentation de l'expression des MHC de classe I, une polarisation TH1, la différenciation des DC (Larsson, Beignon et al. 2004) et une augmentation de la présentation croisée (Le Bon, Etchart et al. 2003). En outre, une fonction très importante de l'IFN- α et qui nous intéresse particulièrement, est l'induction de la différenciation en plasmocyte des LB via la sécrétion d'IFN- α et d'IL-6 (Jego, Palucka et al. 2003).

Il est connu que chez les individus infectés par le VIH en phase chronique et avancée, la production d'IFN- α est grandement diminuée et corrèle avec la charge virale et une progression vers le SIDA (Lopez, Fitzgerald et al. 1983; Ferbas, Navratil et al. 1995; Feldman, Stein et al. 2001). De plus, certains cas ont également été rapportés chez patients en PHI (Kamga, Kahi et al. 2005). En outre, des rôles particuliers dans la pathogénèse du VIH ont été attribués aux différentes sous populations de DC. Bien que les mDC et les pDC soient susceptibles à l'infection et puissent transmettre le virus aux LT CD4+ (Patterson, Rae et al. 2001; Lore, Smed-Sorensen et al. 2005; Smed-Sorensen, Lore et al. 2005), leur rôle dans l'infection est opposé.

En comparant l'influence de pDC et mDC, à différents stades de maturation, sur l'infection des LT, des chercheurs ont découvert que lorsque ces cellules isolées à partir du sang périphérique étaient mises en culture avec des LT CD4⁺, les mDC favorisaient la transmission alors que les pDC inhibaient l'infection via la sécrétion d'IFN- α (Groot, van Capel et al. 2006). Les mDC ne stimulent pas l'infection via la sécrétion de facteurs solubles même lorsque activées par les interactions CD40/CD40L et requièrent l'expression de ICAM-1 pour promouvoir l'infection aux LT (Groot, van Capel et al. 2006). Les analyses du surnageant des co-culture indiquent que la réplication des souches X4 et R5 est inhibée et que le rôle des interférons de type I est seulement partiel, puisque la présence d'un facteur inconnu thermosensible de moins de 3kDa contribue au phénomène d'inhibition (Groot, van Capel et al. 2006).

2.3.2.8 IL-6

L'IL-6, une cytokine pro-inflammatoire est produite par les DC, certaines sous populations B, les macrophages, les CD4⁺ Th2 et les FDC. Cette cytokine est impliquée dans la différenciation terminale des lymphocytes B à un stade avancé de maturation, généralement post commutation isotypique (Morse, Chen et al. 1997) et induit un arrêt du cycle de division cellulaire, tout en initiant une série d'évènements qui mènent ultimement à la production d'anticorps de haute affinité (Kopf, Herren et al. 1998). L'IL-6 se retrouve augmentée chez les individus infectés (Lafeuillade, Poizot-Martin et al. 1991) et est associée à la progression de la maladie par son rôle dans l'activation polyclonale des cellules B (Birx, Redfield et al. 1990), comme facteur de croissance du Sarcome de Kaposi (Miles, Rezai et al. 1990) et son implication dans le myélome, le plasmacytome et des désordres auto-immuns (Kishimoto 1989).

2.3.2.9 IL-10

L'autre cytokine d'intérêt qui semble également jouer un rôle dans cette cascade d'évènements menant à une dysfonction des cellules B, est une cytokine anti-inflammatoire : l'interleukine 10. Cette dernière est également sécrétée par les DC, macrophages, T CD4⁺ Th2, par les T reg et son rôle principal demeure la suppression, contrôle et régulation des fonctions effectrices de certaines cellules immunitaires, bien qu'elle puisse contribuer entre autre à la maturation des lymphocytes B, des cellules NK et de certains LT (Moore, de Waal Malefyt et al. 2001). Par ailleurs, des concentrations élevées dans le sérum de cette cytokine ont été associées au développement de symptômes auto-immunitaires attribués au SIDA (Emilie, Fior et al. 1994) et à la

génération de certains types de lymphomes (Breen, Boscardin et al. 2003). De plus, il a été démontré dernièrement que le VIH-1 bloque la maturation des DC et induit la production d'IL-10 par les DC immatures infectées, ce qui induit la suppression des LT avoisinants. (Granelli-Piperno, Golebiowska et al. 2004).

Ces propriétés de l'IL-6, de l'IL-10 et de BlyS peuvent être liées à certains événements déclenchés par l'infection au VIH-1, qui affectent le phénotype et les fonctions des LB. Tous ces résultats expérimentaux, suggèrent fortement un rôle des DC dans l'atteinte des cellules B de façon directe et/ou indirecte. C'est d'ailleurs cette affection du compartiment B, décrite plus en détail dans le chapitre suivant, qui suscite tout particulièrement notre intérêt.

2.3.2.10 Compartiment des LB dans le contexte VIH

Il existe plusieurs sous-populations de B, certaines transitoires (populations immatures T1/T2), d'autres plus établies telles que les cellules B de la zone marginale (LB MZ) et les cellules B folliculaires. Les LB MZ se retrouvent au niveau de la rate dans la zone marginale, sont non-circulante et possèdent un seuil d'activation plus faible. Les cellules B folliculaires proviennent d'un précurseur myéloïde et représentent les LB circulants qui forment les follicules dans la rate et les ganglions lymphatiques. Ces cellules B folliculaires constituent la sous population majeure des LB et participent aux réponses T-dépendantes dans les centres germinatifs sous la gouverne des CD4⁺ auxiliaires exprimant CD40L, dans un ménage à trois classique avec les DC folliculaires. Ceci mène à la formation de centres germinatifs et permet de produire des cellules B mémoires (IgM⁻ IgD⁻CD27⁺) ayant la capacité de se différencier rapidement en plasmocytes sécréteurs d'anticorps de hautes affinité, lors d'une réponse secondaire. Les LB MZ, entourent les B folliculaires dans les tissus de la rate et des organes lymphoïdes extra-nodaux. Ces cellules ont un phénotype (IgM^{high} IgD^{low} CD21^{high} CD23^{low/-}) (Martin and Kearney 2002) et participent aux réponses T-indépendantes (Cariappa and Pillai 2002) plus apparentées à la réponse innée via la stimulation de TLRs. Cette propriété des cellules B MZ, permet une prolifération et une différenciation en LB de type IgM ou une commutation isotypique, ce qui permet de produire la majorité des anticorps de la réponse humorale primaire. Ce qui est intéressant et important à souligner ici, c'est que ce processus essentiel à l'activation des cellules B de la zone marginale, requiert la présence de BlyS principalement et l'expression de certains TLRs exprimés par les populations de DC différentes.

Comme il a été décrit précédemment, on observe un enchaînement d'interactions d'une complexité fascinante entre les facteurs viraux et ceux de l'hôte, qui mènent ultimement au déclin des LT CD4⁺, cellules qui jusqu'à maintenant sont considérées comme étant les cellules qui orchestrent la réponse immunitaire à médiation cellulaire. À l'origine, la principale cause de l'immunodéficience induite par le VIH, était attribuée à la destruction du compartiment CD4⁺ par le virus. Cependant, il est clair maintenant que cette vision demeure trop simpliste et des découvertes récentes indiquent que d'autres facteurs jouent des rôles importants dans la destruction, voire l'épuisement du système immunitaire et l'évolution de la progression de la maladie. D'ailleurs, plusieurs évidences suggèrent, que l'exposition constante aux antigènes viraux est responsable de l'hyperactivation du système immunitaire observée chez les individus infectés par le VIH. Cette activation constante résulterait directement des efforts fournis par le système immunitaire, pour se débarrasser de l'infection. Les effets de ce processus se manifestent *in vivo*, par une hyperplasie des organes lymphoïdes, une activation polyclonale des LB, une augmentation de l'expression de certaines molécules activatrices et une sécrétion de marqueurs d'activation solubles tels que la neoptérine et la β2-microglobuline (Fahey, Taylor et al. 1990; Muro-Cacho, Pantaleo et al. 1995). Une conséquence majeure de ces effets pléiotropiques est une apoptose massive des cellules saines et infectées via les voies des récepteurs du tumor necrosis factor (TNFR) ou mitochondriale (Gougeon 2003). Les interactions de ces récepteurs avec leurs ligands tels que Fas/CD95, CD40 et CD27 sont essentielles au maintien de l'homéostasie du système immunitaire et surtout, à la communication entre LT et LB, nécessaire à la différenciation des LB et à la production d'anticorps (van Kooten and Banchereau 2000; Bishop and Hostager 2001).

2.3.2.10.1 Hyperactivation

Les premières observations d'un dysfonctionnement du compartiment B chez les patients infectés ont été signalées par le groupe de Lane (Lane, Masur et al. 1983), alors que ces derniers ont démontré que les LB isolés de ces patients sécrétaient des immunoglobulines spontanément et étaient réfractaires à une stimulation via des mitogènes de LB tels que le pokeweed mitogen (PWM) ou *Staphylococcus aureus* couplés à de l'IL-2, qui représentent respectivement deux stimuli d'activation T-dépendant et T-indépendant (Miedema, Petit et al. 1988). De plus, des changements phénotypiques des LB sont présents chez certains patients sidéens et séropositifs et sont caractérisés par des niveaux élevés d'expression du récepteur à la transferrine un marqueur d'activation, par une augmentation d'une population B immature CALLA-positive, CD10 positive (Martinez-Maza, Crabb et al. 1987) qui s'accompagnent d'une sécrétion spontanée d'IgG et IgM.

D'autres changements phénotypiques chez des cellules B naïves $CD19^+CD27^-$ se traduisent par une expression de niveaux plus élevés de CD70 et LAIR-1 (leukocyte-associated Ig-like receptor) deux autres marqueurs d'activation/différenciation (De Milito, Nilsson et al. 2004). Les cellules B qui expriment peu de CD21 un marqueur de surface de différenciation terminale en plasmocyte associé à une incapacité à contrôler la virémie, ont la capacité de sécréter des IgG spontanément *in vitro* (Moir, Malaspina et al. 2001). Paradoxalement, certaines cellules hyperactives sont réfractaires à des stimulations via le BCR et CD40/CD40L (Conge, Tarte et al. 1998) *in vitro* et lorsqu'on mesure leur expression de CD25 (Moir, Ogwaro et al. 2003) on s'aperçoit que la faible capacité d'exprimer cette molécule lors de la virémie affecte la capacité des LB à monter une réponse proliférative en réponse à l'IL-2. Un autre groupe a démontré une augmentation ex-vivo de l'expression des molécules CD80/CD86 chez les LB de patients séropositifs en virémie (Malaspina, Moir et al. 2003), bien que celles-ci étaient incapables de stimuler les LT $CD4^+$.

Ces résultats indiquent la possibilité d'une activation polyclonale des LB *in vivo* chez ces patients. C'est pourquoi, chez plusieurs individus infectés par le VIH de type I, les LB montrent une multitude de signes d'hyperactivité, caractérisés principalement par de l'hyperglobulinémie (Lane, Masur et al. 1983; Pahwa, Quilop et al. 1984; Katz, Krown et al. 1986). Celle-ci, est généralement retrouvée lorsque l'individu est en proie soit, à une infection virale persistante, soit à un désordre auto-immun qui induisent une condition inflammatoire chronique (Hunziker, Recher et al. 2003). L'hyperglobulinémie que l'on retrouve chez les patients VIH chroniques est caractérisée par des niveaux sériques élevés : d'IgG, IgA et IgM.

Ce phénomène particulier, représente un marqueur précoce de l'état du compartiment B durant le cours de l'évolution de l'infection. En effet, ces anomalies apparaissent hâtivement lors de l'infection, bien avant l'apparition d'une défaillance du compartiment $CD4^+$, suggérant ainsi que l'activation polyclonale serait possiblement induite directement par le virus (Miedema, Petit et al. 1988). Certaines protéines virales (Nef, Tat, gp120, gp41) et le virus lui-même peuvent induire ce processus (Schnittman, Lane et al. 1986)., la réplication virale aurait un effet sur l'expression de certaines molécules (IL-2, CD80/CD86), une activité anormale des LT $CD4^+$ exprimant CD40L ou encore, une rupture de l'équilibre des cytokines du milieu ont été impliquées dans cette activation polyclonale (De Milito 2004).

Ainsi, il est généralement accepté que l'infection par le VIH mène à un dysfonctionnement du compartiment de cellules B. Le groupe de Fauci, propose un mécanisme de cette atteinte basé sur une différenciation terminale des LB (Moir, Malaspina et al. 2004) et plus précisément un rôle des LB CD21^{low} que nous avons mentionné précédemment. Ces cellules montrent un phénotype plasmacytoïde, sécrètent des niveaux élevés d'immunoglobuline et sont peu réceptives aux signaux prolifératifs. Selon les auteurs, une diminution de l'ARNm de CD21 implique un mécanisme de différenciation terminale plutôt qu'une diminution de la quantité de récepteur suite à des interactions ligands-récepteurs. Par contre, certains marqueurs de différenciation de surface comme HLA-DR ne sont pas diminués ce qui indique que cette différenciation terminale est peut-être incomplète. Fait intéressant, les auteurs ont démontré que ces LB CD21^{low} chez les patients en virémie expriment en général des niveaux très faibles de BAFF-R et des niveaux élevés de TACI et BCMA les récepteurs de BlyS. Comme BAFF-R est le récepteur de plus haute affinité, les auteurs ont investigué le niveau de liaison entre les différents récepteurs et BlyS. Ces derniers ont trouvé que peu importe le profil d'expression de BCMA et TACI, le niveau de liaison de BlyS à la cellule reflétait le niveau d'expression de BAFF-R. Comme le rôle principal de BlyS est de favoriser la survie de LB en prévenant l'apoptose, une diminution de l'expression de BAFF-R pourrait résulter en une augmentation de l'apoptose chez la population CD21^{low}. C'est d'ailleurs ce que le groupe de chercheurs a observé lorsqu'ils ont isolés les LB CD21^{low} des CD21^{high} de leurs patients en virémie. Fauci et son équipe ont démontré que la perte de la capacité de lier BlyS est restreinte au LB CD21^{low} dans leur cohorte de patient et que la survie de cette population est dépendante de BlyS et de l'expression de CD95 le récepteur de la mort cellulaire.

En réponse au PAMPs, les LB MZ et les LB des muqueuses produisent rapidement des IgM et débutent la commutation isotypique vers les IgA, IgG et IgE de façon T-indépendante. Ces anticorps de faible affinité ne procurent pas de protection réelle, mais permettent de faciliter l'élimination d'Ag par le système immunitaire. Le mécanisme par lequel ce processus est initié n'est pas connu, mais implique BlyS. L'infection par le VIH est associée à une augmentation des niveaux sérique de BlyS et par une production accrue de ce facteur de croissance des LB par les monocytes (Stohl, Cheema et al. 2002; Rodriguez, Valdez et al. 2003). L'équipe de Cerutti a émis l'hypothèse que gp120 pouvait initier la commutation de classe isotypique et la production d'Ac de façon T-indépendante. Ainsi, ils ont trouvé que gp120 pouvait induire l'activation polyclonale des LB et déclencher

la commutation de classe isotypique via une voie impliquant BLyS et un récepteur au mannose lectine de type-C (MCLR).

Les LB qui lient gp120 présentent le phénotype suivant : IgD⁺CD38⁺ ne possèdent pas l'ectoenzyme CD10, ni CD95 et expriment le récepteur au complément CD21. De plus ces LB présentent des similitudes avec les LB MZ et peuvent exprimer CD1c, CD123 et CD83 (He, Qiao et al. 2006) des marqueurs de DC pouvant être exprimés par des LB activés et les LB MZ. Les auteurs soulignent que l'activation chronique des LB par cette voie indépendante de CD40 lors de l'infection par le VIH pourrait être responsable de la perte d'immunité protectrice humorale T-dépendante et contribuerait à l'épuisement du système immunitaire. Ces travaux indiquent que BLyS et certaines populations de LB jouent un rôle important dans l'atteinte du compartiment B. De plus, dans la section suivante nous aborderons l'étude d'un modèle murin VIH qui renforce davantage certaines de ces observations.

2.3.2.10.2 Le modèle murin HIV-Tg

La souris transgénique CD4C/HIV-Tg développe une maladie dépendante de nef qui s'apparente de très près au SIDA chez l'humain (Hanna, Kay et al. 1998). Ces souris peuvent exprimer les protéines du VIH-1 dans leurs macrophages, LT CD4⁺ et leurs DC, car les gènes codant pour ces protéines sont sous le contrôle d'un promoteur humain CD4 et d'un amplificateur de CD4 murin (Hanna, Kay et al. 1998; Hanna, Kay et al. 1998; Hanna, Rebai et al. 2001). Le compartiment B a été caractérisé chez les souris transgéniques (Poudrier, Weng et al. 2001) qui expriment les gènes rev, nef, env ou seulement nef du VIH-1 (Hanna, Kay et al. 1998). Les études sur ce modèle murin ont démontré que le nombre de LB dont surtout la sous-population MZ était augmenté dans la rate et les ganglions lymphatiques (Poudrier, Weng et al. 2001), que les LB présentaient un phénotype hyper-activé et que la réponse humorale et la formation de centres germinatifs étaient perturbées chez ces souris (auto-Acs, anti-dsDNA et dépôts de complexes immuns au niveau des reins et du cœur) (Hanna, Kay et al. 1998; Hanna, Kay et al. 1998; Hanna, Rebai et al. 2001; Poudrier, Weng et al. 2001). Ces résultats permettent d'établir un parallèle entre le phénotype observé chez ces souris et le SIDA chez l'humain. À l'instar des individus infectés par le VIH-1, ces souris présentent une activation polyclonale, un dysfonctionnement de leur compartiment B, sont incapables de générer des LB mémoires et des anticorps de haute affinité. Ce phénomène est probablement induit par une combinaison d'évènements et d'interactions entre les LT CD4⁺ auxiliaires et les DC chez ces souris, puisque les LB de ces dernières n'expriment

pas les gènes viraux (Hanna, Kay et al. 1998; Poudrier, Weng et al. 2003). De plus, les DC isolées chez les souris transgéniques présentent un phénotype immature et leur nombre est augmenté dans la zone marginale et du sinus sous-capsulaire de la rate (Poudrier, Weng et al. 2003). Aussi, la zone marginale de la rate représente une zone où des niveaux élevés d'expression du VIH ont été observés (Poudrier, Weng et al. 2001). À la lumière de ces résultats, il semble que les interactions entre BLyS et les populations de DC et de LB qui peuplent la zone marginale de la rate, ont un rôle important dans la progression de l'infection par le VIH.

2.3.2.10.3 Mémoire immunitaire

Il est bien connu que le compartiment des LB mémoire est affecté lors de l'infection et se traduit par la perte d'anticorps protecteurs dirigés contre des antigènes utilisés pour la vaccination (tétanos entre autre). De Milito et ses collègues ont caractérisés les LB et LT de patients infectés et ont observés une réduction significative des cellules B mémoires CD27⁺, autant chez les patients traités que chez ceux non traités (De Milito, Morch et al. 2001). Les niveaux d'expression *ex vivo* de CD70, le ligand de CD27, était augmenté chez les LT de ces mêmes patients. L'expression de molécules pro-apoptotiques était augmentée chez leurs LB mémoires et celles-ci sécrétaient des IgG spontanément *in vitro*, ceci indiquant un état d'hyperactivité du compartiment B chez ces patients. Cette modification du compartiment B a été largement attribuée aux effets d'une charge virale élevée et à un compartiment CD4⁺ affecté, puisque l'administration de HAART résout certaines de ces perturbations dont l'hyperglobulinémie et l'habileté des LB naïfs à générer une réponse immune (Morris, Binley et al. 1998) chez les patients chroniques.

Aussi, le groupe de Titanji à réussi à démontrer que l'administration de la HAART aux patients en PHI permettait de conserver un compartiment B presque normal, bien que ces derniers aient également observé certaines perturbations au niveau de l'expression de Fas et LAIR-1 chez les LB mémoires CD27⁺ (Titanji, Chiodi et al. 2005). Toutefois, ces résultats semblent controversés car malgré l'administration de la trithérapie, la restauration du compartiment B mémoire et du réseau de FDC demeure incomplète (Chong, Ikematsu et al. 2004) et persistent plusieurs années après une thérapie antirétroviral efficace. En effet, ces chercheurs ont analysés par FACS les différences au niveau des LB mémoires CD27⁺, chez des patients VIH chroniques traités et non traités par HAART en comparaison à des contrôles sains. Leurs résultats démontrent que les perturbations du compartiment B demeurent malgré l'administration de traitements aux patients, comme l'indiquent le nombre réduit de LB CD27⁺ et leur état susceptible à l'apoptose qui se traduit

par un niveau élevé de CD95. Conséquemment, la susceptibilité des LB CD27⁺ à l'apoptose et leur dépendance aux centres germinatifs dont les nombres sont réduits, en raison des effets cytopathiques produits par le VIH et de l'état du compartiment CD4⁺, contribuent à accentuer l'incapacité à produire des anticorps de haute affinité. Les altérations irréversibles au niveau des organes lymphoïdes et du réseau FDC nécessaire à la formation de centres germinatifs sont dues à une réorganisation structurale suite à une diminution des populations peuplant ces organes et à une altération de leurs phénotypes (Poudrier, Weng et al. 2001). Ceci contribue également à une diminution de la mémoire immunitaire et à une diminution de la protection durant l'infection.

2.3.2.10.4 VIH et Auto-immunité

L'hyperglobulinémie est associée à une augmentation d'anticorps dirigés contre le soi et d'anticorps de faible affinité. Ces auto-anticorps sont normalement présents à de très faibles concentrations dans l'organisme et l'augmentation de leur concentration serait possiblement attribuée à l'absence de stimulation adéquate des LB par les CD4⁺ auxiliaires, à un bris de tolérance qui origine des tissus lymphoïdes situés au niveau du TGI et à des interactions T-indépendante entre DC et LB. Les patients VIH chroniques présentent des niveaux élevés d'anticorps dirigés contre des phospholipides, leurs neutrophiles, le human leukocyte antigen (HLA), des antigènes nucléaires, l'ADN et des protéines telles que la myosine et l'actine (De Milito, Nilsson et al. 2004). De nombreux symptômes apparentés au lupus érythémateux systémiques (SLE) classique et autres maladies auto-immunitaires telle que le syndrome de Sjögren (Leslie, Lipsky et al. 2001) sont retrouvés chez plusieurs individus VIH chroniques (Malatzky-Goshen and Shoenfeld 1989). Ce qui est intéressant à souligner, c'est l'implication de BLYS dans les mécanismes menant à l'auto-immunité. En effet, l'augmentation des niveaux sériques de BLYS sont associés à une augmentation d'auto-anticorps (Stohl, Cheema et al. 2002) chez les individus infectés par le VIH dont le compartiment CD4⁺ n'est pas atteint sévèrement.

2.3.2.10.5 Lymphomes B

Force est de constater, que l'hyperactivité des LB et la surproduction de cytokines comme l'IL-6 et l'IL-10 vont augmenter considérablement la fréquence de lymphomes B chez les individus infectés pas le VIH. D'ailleurs, plus de 50% des lymphomes observés chez les séropositifs (Burkitt 30% EBV et DLCL 50-70% EBV) sont associés à la présence du virus Epstein-Barr qui active certains précurseurs de LB (centroblastes) (Boshoff and Weiss 2002). Bien que la maladie de Hodgkin ne soit pas définie comme étant un

désordre attribué au SIDA (définition du CDC), l'incidence de ce type de lymphomes est également augmentée chez les individus infectés (Frisch, Biggar et al. 2001). La quasi-totalité des lymphomes associés au SIDA sont générés à partir de cellules B, il existe cependant, une grande hétérogénéité parmi ces cancers et plusieurs sous-types de lymphomes diffèrent au niveau de leur localisation, leur association avec EBV et à la fréquence à laquelle on retrouve des lésions moléculaires impliquant des proto-oncogènes/oncogènes (Martinez-Maza and Breen 2002).

Deux mécanismes connus contribuent à la genèse de lymphomes associés au SIDA. L'un implique une perte du contrôle immunitaire des cellules infectées par EBV (immunoblastique et lymphomes du SNC), due à l'infection et au dysfonctionnement du compartiment CD4⁺. L'autre, indépendant du nombre et de l'état des CD4⁺, serait une conséquence de l'hyper-activation des cellules B et de facteurs favorisant la commutation isotypique (Martinez-Maza and Breen 2002). D'ailleurs, la faible fréquence d'infection par EBV et la présence de *c-myc* et *bcl-6* dans certains types de lymphomes semblent corroborer cette notion. De plus, certaines cytokines favorisant la croissance/activation des LB se retrouvent augmentées dans le sérum de certains patients juste avant l'apparition de lymphomes (Breen, van der Meijden et al. 1999; Widney, Gundapp et al. 1999). Un niveau élevé de marqueurs d'activation solubles des LB, comme CD23 et CD27 est associé à un risque augmenté de développer un lymphome B, suggérant ainsi que la voie CD27/CD70 ait un rôle dans la croissance de lymphomes B. Par conséquent, il est évident que plusieurs facteurs sécrétés en réponse à l'infection par le VIH, contribuent au dysfonctionnement du compartiment B et à la susceptibilité aux lymphomes B.

3 Hypothèses et objectifs

La primo-infection (PHI) caractérisée par une phase aigüe des symptômes lors de l'infection rétrovirale est observée chez 50% des individus infectés. Ces symptômes disparaissent habituellement après quelques semaines, alors que la charge virale diminue et que les anticorps VIH spécifiques apparaissent et que la réponse à médiation cellulaire s'amorce. Ce contrôle de la virémie est partiel et est accompagnée d'une réponse CTL VIH-spécifique. L'étude des individus en PHI représente une belle opportunité pour vérifier certains éléments, qui agissent précocement et qui peuvent influencer le devenir de l'infection.

Comme il a été rapporté chez certains patients asymptomatiques, que les anomalies des LB sont les premiers signes de dysfonctionnement des leucocytes durant l'infection par le VIH, les événements déclenchés lors de la PHI pourraient orchestrer les complications associées à l'atteinte du compartiment B. La force de cette étude réside dans la disponibilité de spécimens de patients en PHI, traités ou non par thérapie antirétrovirale, prélevés à des intervalles de temps différents durant l'infection. En outre, l'accès à une cohorte de LTNP en plus de celle de patients en PHI (progresseurs rapides et normaux) va permettre de suivre l'évolution de la progression de l'infection dans le contexte du dysfonctionnement du compartiment B.

1. Hypothèse: Le dysfonctionnement du compartiment B survient tôt après l'infection par le VIH et corrèle avec la progression de la maladie. Objectif : Vérifier si les niveaux d'auto-anticorps, anti-ribonucléoprotéines et anti-dsDNA présents dans le sérum corrèlent avec la vitesse de progression de la maladie chez des patients vivant avec le VIH qui progressent à des rythmes différents : PHI rapides et normaux, LTNP et sujets sains.
2. Hypothèse : L'augmentation sérique/plasmatique de BLyS corrèle avec le stade de progression de la maladie. Objectif : Vérifier si les niveaux sériques de BLyS présents dans le sérum corrèlent avec la vitesse de progression de la maladie chez des patients vivant avec le VIH qui progressent à des rythmes différents : PHI rapides et normaux, LTNP et sujets sains.

4 Article soumis dans le journal AIDS

Han Sang Valcke à effectué les ELISA BlyS, anti-dsDNA, anti-SSA, les multiplex (IgG/IgA/IgM), la compilation et présentation des résultats, les analyses statistiques (Prism) et a participé à la rédaction de l'article.

Le Dr. Johanne Poudrier à supervisé l'étude, contribué à l'obtention des spécimens et a participé à la rédaction de l'article.

Le Dr. Michel Roger à supervisé l'étude, contribué à l'obtention des spécimens et a participé à la rédaction de l'article.

Longitudinal study of HIV infected individuals reveals B cell polyclonal activation occurring independently of the rate of disease progression

Han Sang Valcke^{1,2}, Johanne Poudrier^{1,2*} and Michel Roger^{1,2*}

¹ Laboratoire d'immunogénétique, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Canada

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

*JP and MR share senior authorship

Word count for abstract: 99

Word count (excluding abstract, acknowledgements, references, figure legends): 1990

Number of figures and tables: Figure: 1, table 1

Reference count: 15

Running title: B cell polyclonal activation during HIV infection

FOOTNOTE PAGE

Conflict of interest declaration

The authors declare no conflict of interest.

Financial support

This work was supported by grants from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) and the Réseau SIDA from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). HS Valcke holds a Studentship from the CIHR. M Roger is recipient of Research Scholar awards from the FRSQ.

Address correspondence to

Michel Roger M.D, Ph.D and Johanne Poudrier Ph.D. Département de microbiologie, Hôpital Notre-Dame du CHUM, 1560 Sherbrooke Est, Montréal, Québec, Canada H2L 4M1. Phone: (514) 890-8000 (25802), Fax: (514) 412-7512.

4.1 Abstract

We have longitudinally assessed hyperglobulinemia, auto-antibody and soluble B lymphocyte stimulator (BLyS) levels in the serum of subjects undergoing primary HIV infection (PHI) with different rates of disease progression; rapid and normal progressors, long term non-progressors (LTNPs), and healthy donors. We report that B cell polyclonal activation occurs independently of the rate of disease progression, with hypergammaglobulinemia persisting beyond successful therapy in rapid progressors and despite non-progressing clinical disease in LTNPs. High levels of BLyS in the serum of PHI rapid progressors correlate with altered blood monocyte and dendritic cell frequencies suggesting their contribution in triggering B cell dysregulations.

Word count: 99

Key words: B cells, polyclonal activation, BLyS, HIV disease progression

4.2 Introduction

B lymphocyte abnormalities are an important consequence of HIV infection, evolving towards autoimmune disorders and malignancy [1,2]. Polyclonal activation is one of the earliest markers of such abnormalities, being observed in PHI individuals and throughout disease [2]. Although the mechanisms involved in the triggering and progression of such disorders are poorly understood, it is unlikely that they result from direct infection of B cells, and are thought to be mainly the consequence of high viral load and an altered CD4⁺ T cell compartment [2]. Albeit controversial, elements of B cell dysregulation have been found to progress beyond antiretroviral therapy (ART) and in long term non-progressors (LTNP) [3-5], suggesting contribution of “uncontrollable” chronic immune activation to B cell disease.

B lymphocyte stimulator (BLyS) is involved in B cell homeostasis, survival and maturation [6,7]. Increased levels of BLyS have been reported in HIV-infected patients and often correlate with elevated auto-Ab titres [8,9]. The involvement of dendritic cells (DC) in the polyclonal stimulation of B cells in the context of HIV was demonstrated *in vitro* by the capacity of marginal zone (MZ) B cells to respond to gp120 in a DC-SIGN and BLyS-dependent manner [10]. Furthermore, hyperglobulinemia and high serum anti-dsDNA titres in HIV-transgenic mice were accompanied by increased numbers of DC in the enlarged MZ B cell compartment [11,12]. Given that DC are a substantial source of BLyS [13], these observations support a role for DC and derived growth factor BLyS in the HIV-related B cell dysregulations.

Therefore, in order to shed light on the events involved in the triggering and progression of the HIV-mediated B cell disorder, we have assessed the longitudinal changes of polyclonal B cell activation by measuring serum hyperglobulinemia and auto-Ab, and compared with soluble BLyS serum levels in subjects undergoing primary HIV

infection with different rates of disease progression; rapid and normal progressors, LTNPs and healthy HIV negative donors.

Subjects, materials and methods

Sixteen HIV-infected subjects were selected from the Montreal PHI cohort: 9 were classified as rapid and 7 as normal progressors. The date of infection was estimated based on clinical and laboratory results using criteria established by the Acute HIV Infection and Early Disease Research Program (NIAID, Bethesda, MD). Rapid progressors presented CD4⁺ T cell counts below 250 cells/mm³ within two years of infection. Blood samples were taken at three time-points: acute (0-3 months) and early (5-8 months) phases of infection and chronic (9-12 months following initiation of ART). Normal progressors were ART-naive patients whose CD4⁺ T cell counts remained above 500 cells/mm³ for the two-year follow up. Blood samples were obtained in the acute, early and chronic phases (24 months) of infection. Blood samples from nine LTNP subjects infected for eight years or more with CD4⁺ T cell counts above 500 cells/mm³ and low to undetectable viral loads in the absence of ART, as well as seven age-matched HIV negative volunteers were included. Plasma HIV viral loads and blood CD4⁺ T cell counts were determined as previously reported [14]. None of the study subjects had syphilis, hepatitis B or C. Informed consent was obtained from all subjects, and the research conformed to ethical guidelines of the authors' institutions.

Total serum Ig levels were measured using multiplex Beadlyte[®] Human IgG, IgA, IgM Kit (Millipore, Billerica, MA) with the Luminex[®] 200[™] Total System (Luminex Corporation, Austin, TX). Reference measuring ranges are 639-1349 mg/dl (IgG), 70-312 mg/dl (IgA) and 56-352 mg/dl (IgM). Anti-dsDNA serum levels were measured using Bindazyme[™] Human Anti-DNA Immunoassay kit (The Binding Site Ltd, Birmingham, UK). Measuring range and sensitivity are 12.3-1000 IU/ml and 4.6 IU/ml, respectively. Anti-SSA serum levels were measured using ENA ELISA II, Human combined Anti-SSA, SSB, Sm,

Sm/RNP, Scl-70 and Jo-1 Immunoassay kit (Wampole Laboratories®, Princeton, NJ). Serum BlyS levels were measured using Quantikine® Human BAFF/BlyS/TNFSF13B Immunoassay kit (R&D systems, Minneapolis, MN). The sensitivity of this assay was determined by the minimal detectable dose ranges from 1.50- 11.9 pg/ml.

The statistical significance of differences between groups was assessed with Chi-square test for categorical variables and unpaired Student t-test or one-way analysis of variance when continuous variables were normally distributed or with Mann-Whitney U test otherwise. Wilcoxon signed rank test was used for pair-wise comparisons of different phases of infection within each group. Spearman's rank test was used to determine correlations between continuous variables. Analyses were performed using the GraphPad PRISM 5.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

4.3 Results

The study groups were similar with respect to sex, race, and modes of HIV acquisition (table 1). Mean age of LTNP subjects was higher than those of the rapid and normal progressor groups. Rapid progressors had lower CD4⁺ T cell counts and higher viraemia levels during the acute and early phases of infection compared to those observed in normal progressors. However, in the rapid progressor group, the viral loads decreased considerably upon the initiation of ART during the chronic phase of infection.

Serum IgG levels were significantly higher in all HIV-infected patients, including LTNP subjects, compared to HIV negative individuals (figure 1a, all panels). The IgG levels remained high throughout the two-year follow-up for both ART treated rapid and untreated normal progressors (figure 1a, left and middle panels). Interestingly, during the acute phase of infection (0-3 months), the IgG levels were significantly higher in rapid progressors compared to those observed in normal progressors (p=0.02). However, similar levels were observed at later time-points in the normal progressor group. Serum IgA

levels increased during the course of infection in both rapid and normal progressor groups (figure 1b, left and middle panels), but appeared to be unaffected in LTNP subjects (figure 1b, right panel). Serum IgM levels were comparable in all groups at all time-points measured (data not shown). There were no significant correlations between CD4⁺ T cell counts or viral loads and the serum Ig levels either within groups or among all patients during acute or chronic infection (data not shown).

During the acute phase of infection, serum anti-dsDNA levels were significantly higher in rapid progressors compared to those observed in both normal progressors and HIV negative donors ($p=0.02$ and $p=0.02$, respectively), with a tendency to remain high throughout the study period (figure 1c, left panel). There was a significant diminution of serum anti-dsDNA levels occurring 5-8 months post-infection in the normal progressor group, when compared to those of both rapid progressors ($p=0.04$) and HIV negative volunteers ($p=0.01$). However, in these individuals serum anti-dsDNA were restored to normal levels during the chronic phase of infection (figure 1c, middle panel). Serum anti-dsDNA levels in LTNP subjects were similar to those observed in HIV negative donors (figure 1c, right panel).

In the rapid progressor group, levels of serum anti-SSA increased slightly above those in the HIV negative individuals in the early phases of infection but were restored to normal level under ART (figure 1d, left panel). In normal progressors, we observed a significant reduction in the serum anti-SSA level during the acute phase of infection with full restoration at the later time-points (figure 1d, middle panel). Although one LTNP subject had a very high level of serum anti-SSA, the difference between the LTNP and HIV negative groups was not statistically significant (figure 1d, right panel). There were no significant correlations between CD4⁺ T cell counts or viral loads and the serum levels of auto-Abs either within groups or among all patients during acute or chronic infection (data not shown).

In both rapid and normal progressors, levels of serum BLyS increased above those in the HIV negative donors in the early phases of infection, but were restored to normal level in chronically-infected individuals including LTNPs (figure 1 e, all panels). Interestingly, in the rapid progressor group, we found a positive correlation between serum levels of BLyS and viral load ($p=0.04$) at 0-3 months post-infection. Moreover, in rapid progressors, BLyS levels correlate negatively with those of blood monocyte at 0-3 months post-infection ($p=0.04$) and CD11c⁺CD16⁻ DC at 5-8 months pos-infection ($p=0.03$), previously shown to be reduced in these patients [14].

4.4 Discussion

Our study shows that elements of B cell polyclonal activation occur independently of the patient's rate of disease progression, plasma viral load and blood CD4⁺ T cell count. Moreover, hypergammaglobulinemia persists beyond successful therapy in rapid progressors and despite non-progressing clinical disease in LTNPs. These findings consolidate previous reports [3-5], and support the notion that although a certain control of viral replication and lymphopenia will remediate to some B cell abnormalities [2], others will carry-on as a consequence of the persistent HIV infection and chronic immune activation.

The altered production of IgG, IgA and auto-Abs observed in HIV-infected patients indicates that there are several mechanisms and B cell sub-populations contributing to HIV disease progression. Furthermore, the high levels of serum hyperglobulinemia and anti-dsDNA detected as early as in the acute phase of infection for rapid progressors suggest that the early presence of these markers is predictive of the rate of disease progression and possibly prognostic of B cell autoimmunity. Interestingly, we found that in the normal progressor group, the levels of auto-Ab measured in the serum during the first eight months following infection are similar or even lower when compared to that found in HIV negative individuals and rapid progressors. This suggests that there might be an attempt in the early phases of infection to control the progression of the B cell disease in normal

progressors. This is also depicted in LTNP, who appear restricted to dysregulated IgG production, in contrast to rapid and normal progressors affected in production of both their IgG and IgA.

Relatively high levels of soluble BLYS are found in the serum of HIV-infected individuals in the early phases of infection and are restored to normal levels in chronically-infected, including LTNPs. Moreover, we found BLYS serum levels to positively correlate with plasma viral loads in the acute phase of infection in the rapid progressor group suggesting that HIV can modulate its production. These observations support a role for this B cell growth factor in triggering HIV-mediated B cell disease in the early phase of infection. However, it is possible that this factor might be involved in other stages of disease, as BLYS and Ig blood levels increased exponentially in situations where disease progression reached blood CD4⁺ T cell counts below 100 cells/mm³ [9]. On the other hand, it was suggested that BLYS promotes auto-Ab production in a CD4⁺ T cell-dependent manner, in patients with blood CD4⁺ T cells greater than 200 cells/mm³ [8]. Although our results also demonstrate elevated levels of BLYS in the serum of patients bearing blood CD4⁺ T cells greater than 200 cells/mm³, our longitudinal analysis allowed us to show that this is not generalised and rather favoured in the early phases of infection. Indeed we found BLYS to be elevated in both rapid and normal progressors, independently of the differences in their blood CD4⁺ T cell counts. Moreover, BLYS was not found to be elevated in the serum of these patients following ART or after 2 years of infection, despite restoration or maintenance of blood CD4⁺ T cell counts above 400 cells/mm³ in these patients.

DC are among the first cells to be modulated by HIV [15] and are involved in B cell homeostasis, survival and responses through the production of factors such as BLYS [6,7]. It is thus possible that in the context of HIV infection, DC and derived factors could contribute to the B cell disease. In this view, we have recently demonstrated that both

rapid and normal progressors presented herein show altered frequencies of their peripheral blood DC populations, as early as in the acute phase of infection, persisting throughout the course of infection despite the suppression of viraemia and the replenishment of blood CD4⁺ T cells [14]. The fact that we found a significant correlation between high BLyS serum levels and reduced frequencies of blood monocyte and CD11c⁺CD16⁻ DC populations in the acute and early infection phases of rapid progressors, could mean that these populations are recruited to lymphoid organs contributing to B cell expansion in a BLyS-mediated manner.

Acknowledgments

We are grateful to the members of the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Groups: M Legault (coordinator); J Allan, N. Bernard, J Cox, J Falutz, N Gilmore, M Klein, RG Lalonde, R Leblanc, J MacLeod, M Potter, JP Routy, G Smith, C Tsoukas (McGill University Health Center); J Bruneau, C Fortin, A de Pokomandy, D Rouleau, C Tremblay (CHUM); R Thomas, B Trottier, F Asselin, M Boissonnault, L Charest, H Dion, S Lavoie, D Legault, D Longpré, PJ Maziade, ME Morin, D Murphy, VK Nguyen, R O'Brien, S Vézina (Clinique médicale l'Actuel); JG Baril, P Côté, S Dufresne, P Junod, F Laplante, D Poirier, Y Parent, MA Charron, B Lessard, D Tessier, É Sasseville, A Talbot, MS Joyal (Clinique médicale du Quartier Latin); N Lapointe (Hôpital Ste-Justine); A Dascal (Jewish General Hospital); M Munoz (CLSC Cote des Neiges). We thank Julie Fontaine for the analysis of correlation between BLyS and monocytes/dendritic levels. We also thank Marie-Pierre Boisvert, Maryse Lainesse, Rebecca Bordi, Véronique Lafontaine, Bader Yassine-Diab and Younes Chouick for processing the blood samples.

References

- 1- De Milito A. B lymphocyte dysfunctions in HIV infection. *Curr HIV Res* **2004**;2:11-21
- 2- Moir S, Fauci AS. Pathogenic mechanisms of B-lymphocyte dysfunction in HIV disease. *J Allergy Clin Immunol* **2008**;122:12-19

- 3- Jacobson MA, Khayam-Bashi H, Martin JN, Black D, Ng V. Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B-lymphocyte function. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2002**;31:472-7
- 4- Calabrese LH, Kirchner E, Shrestha R. Rheumatic complications of human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy: emergence of a new syndrome of immune reconstitution and changing patterns of disease. *Semin Arthritis Rheum* **2005**;35:166-74
- 5- Bekker V, Scherpbier H, Pajkrt D, Jurriaans S, Zaaijer H, Kuijpers TW. Persistent humoral immune defect in highly active antiretroviral therapy-treated children with HIV-1 infection: loss of specific antibodies against attenuated vaccine strains and natural viral infection. *Pediatrics* **2006**;118:e315-22
- 6- Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol* **2002**; 2: 465-75
- 7- Craxton A, Magaletti D, Ryan EJ, Clark EA. Macrophage- and dendritic cell--dependent regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF. *Blood* **2003**; 101: 4464-71.
- 8- Stohl W, Cheema GS, Briggs WS et al. B lymphocyte stimulator protein-associated increase in circulating autoantibody levels may require CD4+ T cells: lessons from HIV-infected patients. *Clin Immunol*, **2002**; 104: 115-22.
- 9- Rodriguez B, Valdez H, Freimuth W, Butler T, Asaad R, Lederman MM. Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression. *AIDS* **2003**; 17: 983-5.
- 10- He B, Qiao X, Klasse PJ, et al. HIV-1 envelope triggers polyclonal Ig class switch recombination through a CD40-independent mechanism involving BAFF and C-type lectin receptors. *J Immunol* **2006**; 176:3931-41
- 11- Poudrier J, Weng X, Kay DG, et al. The AIDS disease of CD4C/HIV transgenic mice shows impaired germinal centers and autoantibodies and develops in the absence of IFN-gamma and IL-6. *Immunity* **2001**;15:173-85

12- Poudrier J, Weng X, Kay DG, Hanna Z, Jolicoeur P. The AIDS-like disease of CD4C/human immunodeficiency virus transgenic mice is associated with accumulation of immature CD11bHi dendritic cells. *J Virol* **2003**;77:11733-44

13- Nardelli B, Belvedere O, Roschke V et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* **2001**; 97:198-204.

14- Fontaine J, Coutlée F, Tremblay C, Routy JP, Poudrier J, Roger M. HIV infection affects blood myeloid dendritic cells beyond successful therapy and despite non-progressing clinical disease. *J Infect Dis* 2009; in press.

15- Lekkerkerker, A.N., Y. van Kooyk, and T.B. Geijtenbeek. Viral piracy: HIV-1 targets dendritic cells for transmission. *Curr HIV Res* **2006**; 4:169-76.

Figure legend

Figure 1. Longitudinal changes in levels of serum immunoglobulin, auto-antibody and BLyS. A) IgG levels (ng/ml) in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). B) IgA levels (ng/ml) in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). C) Anti-dsDNA levels (International units (IU)/ml) in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). D) Anti-SSA levels (autoantibody units (AAU)/ml) in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). E) BLyS levels (pg/ml) in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Serum levels were evaluated with the Wilcoxon signed rank and the Mann-Whitney U tests for pair-wise comparisons of different phases of infection within each group and between the study groups, respectively. Significance levels are shown as * ($p < 0.05$) and ** ($p < 0.001$). ART, antiretroviral treatment, BLyS, B lymphocyte stimulator; LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection.

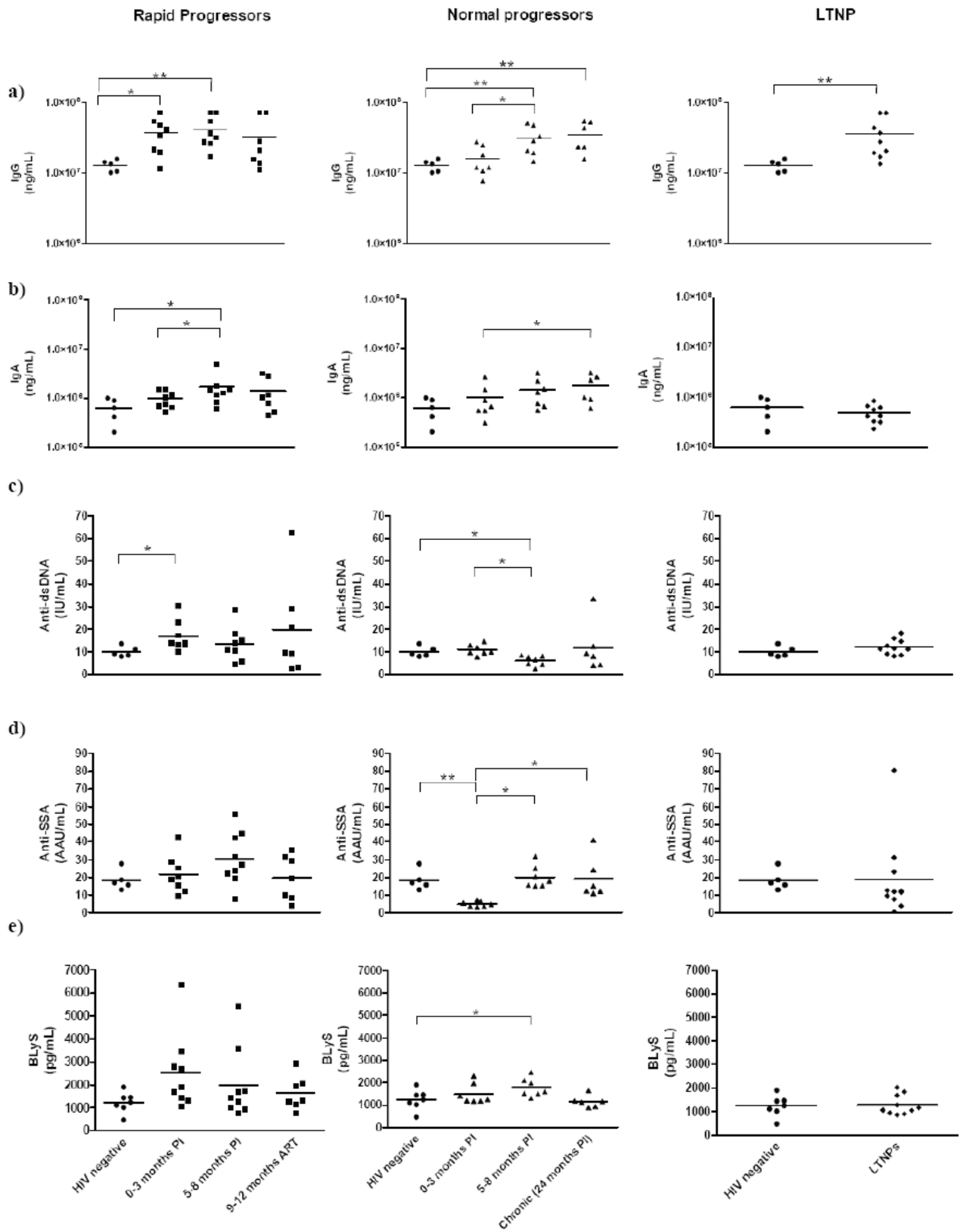


Figure 5: Évaluation longitudinale des niveaux d'immunoglobulines, d'auto-anticorps et de BLyS sériques.

Table 1. Socio-demographic and clinical characteristics of HIV-infected individuals

Characteristics	Time-points ^a	Rapid progressors	Normal progressors	LTNPs	P-value ^b
		(N=9)	(N=7)	(N=9)	
Age at first visit (years)		33 ± 6	34 ± 8	46 ± 8	0.001 ^c
Sex (male/female)		9/0	7/0	7/2	NS
Race (Caucasian/other)		9/0	7/0	8/1	NS
Route of transmission		5 MSM/2HS/2IDU	7 MSM	8 MSM/1 HS	NS
CD4+ T cell (cells/mm ³)	Acute phase	484 ± 135	945 ± 163	NA	< 0.0001
	Early phase	382 ± 124	783 ± 177	NA	0.0005
	Chronic phase	413 ± 117	685 ± 246	686 ± 244	NS
Viraemia (log copies/ml)	Acute phase	4.8 ± 0.50	3.9 ± 0.80	NA	0.02
	Early phase	4.8 ± 0.59	4.2 ± 0.40	NA	NS
	Chronic phase	1.7 ± 0.10	4.5 ± 0.90	2.9 ± 0.90	0.009 ^d

HS, heterosexual; IDU, intravenous drug users; LTNP, long-term non-progressors, MSM, men who have sex with men; N, numbers; NA, not applicable; NS, not significant.

Age, CD4+ T cell and viraemia are expressed as mean plus or minus standard deviation.

^aAcute phase (0-3 months post-infection), early phase (5-8 months post-infection) and chronic phase (24 months post-infection or 9-12 months post-antiretroviral therapy for rapid progressors (N=2); 24 months post-infection for normal progressors (N=5); 8 years post-infection for LTNP (N=8).

^bP-values for the comparison across all groups were calculated with Chi-square test for sex, race, route of transmission; one-way analysis of variance test for age at first visit, CD4+ T cell and viraemia for chronic phase; unpaired Student t-tests for CD4+ T cell and viraemia for acute and early phases.

^cp=0.0007 and 0.009 for the comparisons of age between rapid progressors and LTNPs, and normal progressors and LTNPs, respectively, as determined by unpaired Student t-test.

^dp=0.06 and 0.01 for the comparison of viraemia in chronic phase between rapid and normal progressors, and normal progressors and LTNPs, respectively, as determined by unpaired Student t-test.

5 Discussion

5.1 Activation polyclonale

L'activation polyclonale des LB est généralement associée à la présence d'hyperglobulinémie et à la présence d'auto-anticorps dans le sérum. Cette hyper-activation des LB est caractéristique des conditions inflammatoires chroniques souvent engendrées par des infections virales persistantes et des désordres auto-immuns.

Notre étude démontre que certains éléments associés à une hyper-activation des LB surviennent indépendamment de la vitesse de progression de l'infection par le VIH, de la charge virale et de l'état du compartiment des LT CD4⁺. De plus, il y a persistance d'hyperglobulinémie chez les progresseurs rapides et ce malgré la réduction de la charge virale et l'augmentation des taux de LT CD4⁺ avec ART. Cette dernière observation supporte les travaux effectués par certains groupes (Jacobson, Khayam-Bashi et al. 2002; Bekker, Scherpbier et al. 2006), mais est contraire aux données de certaines études publiées (De Milito 2004; Suarez, Lortholary et al. 2006) qui démontrent une réduction de l'activation polyclonale des cellules B lorsque ART est initiée rapidement. Néanmoins, la présence d'hyperglobulinémie chez les LTNP concorde avec les résultats trouvés par un autre groupe de chercheur (Abelian, Burling et al. 2004) et supportent davantage l'hypothèse de mécanismes indépendants du compartiment CD4⁺. En effet, les LTNP présentent un compartiment CD4⁺ relativement normal, c'est-à-dire que leur nombre de LT CD4⁺ est supérieur à 500 cellules/uL et leur charge virale est relativement faible, il semble raisonnable d'assumer que les mécanismes impliqués dans l'hyper-activation des LB sont initiés avant que les LT CD4⁺ ne soient affectés.

Les critères d'activation des sous-populations de LB diffèrent ce qui suggère que chacun de ces sous-types de LB sera affecté différemment lors de l'infection. Par exemple, la génération LB mémoire T-dépendants requièrent une activation via CD40, la formation de centres germinatifs et l'implication du réseau de FDC. Tous ces paramètres sont affectés lors de l'infection au VIH et ne sont pas rétabli complètement post-thérapie ART tel que observé dans cette étude et mentionné précédemment. Les facteurs qui contribuent à l'activation polyclonale des LB semblent impliquer plusieurs sous-types de cellules B naïves/immatures (De Milito 2004) et les expériences *in vitro* montrant un rôle effacé de la réponse T-dépendante dans l'hyperactivité des LB (De Milito 2004; Suarez,

Lortholary et al. 2006), suggèrent fortement l'existence de mécanismes T-indépendants nécessaires à l'activité polyclonale des cellules B.

Parmi ces populations, les LB de la MZ représentent une première ligne de défense contre les pathogènes en raison de leur disposition dans les organes lymphoïdes secondaires et au niveau des tissus lymphoïdes associé aux muqueuses (MALT) dont le tissu intestinal associé aux muqueuse (GALT) fait partie. Dans ces tissus lymphoïdes les LB MZ participent aux réponses T-indépendantes via des interactions avec les DC qui sécrètent des niveaux élevés de BLYS (Suarez, Lortholary et al. 2006). Leurs répertoires peut affiné souvent auto-réactif et leur prédisposition à l'hyper-activation, font en sorte que les LB de la zone marginale (en conditions inflammatoires accrues et d'activation chronique, telles que retrouvées dans le contexte du VIH) sont souvent impliqués dans plusieurs pathologies dont l'auto-immunité et les lymphomes. Cette sous-population présente un intérêt particulier pour nous puisqu'elles lient gp120 de façon DC-SIGN et BLYS dépendante (He, Qiao et al. 2006) menant ainsi à une commutation isotypique gamma polyclonale.

Par exemple, au niveau du tractus gastro-intestinal (TGI) les muqueuses sont endommagées lors de l'infection, car la majorité des LT CD4⁺ se situent à ce niveau. La réplication virale à ce niveau, liée à une augmentation de la perméabilité membranaire contribuent à la réaction inflammatoire et par le fait même, à l'activation des LB. La libération et la circulation de produits bactériens provenant du TGI tels que les LPS (Brenchley, Price et al. 2006) contribuent également à la réaction inflammatoire chronique résultant de l'infection au VIH. D'ailleurs, au niveau du TGI les cellules épithéliales induisent la commutation isotypique de l'IgM vers l'IgA de façon T-indépendante. En effet, ces cellules épithéliales relâchent des niveaux élevés d'APRIL (He, Xu et al. 2007) lorsque stimulée via l'activation de leurs TLRs. Le LPS circulant semble activer ces cellules épithéliales, menant ainsi à une production de lymphopoïétine stromale nécessaire à l'activation des DC. L'activation des DC entraîne une augmentation de la production d'APRIL un ligand apparenté à BLYS (He, Xu et al. 2007) ce qui stimulerait l'activation des LB MZ au niveau de la lamina propria du TGI. De plus, la relation entre BLYS et/ou APRIL, les LB de la zone marginale et les DC est très bien représentée chez la souris. Effectivement, une surexpression de BLYS chez la souris résulte en une augmentation des LB de la zone marginale splénique, d'une hyper-activation, d'une diminution des LT et d'un développement de symptômes similaires au SLE (Cyster 2000).

Ces éléments dont notamment la capacité des LB MZ de répondre à une stimulation via gp120 suggèrent très fortement un rôle central des DC dans l'activation polyclonale des LB et engendrerait à long terme le développement pathologies auto-immunes et de lymphomes. De plus, les sous-types de LB T2 qui sont généralement les précurseurs de LB de la zone marginale en situation de lymphopénie, sont hyper réactifs à BLYS (Pantaleo, Graziosi et al. 1993) et sont augmentés chez les patients atteints de SLE (Cameron, Forsum et al. 1992).

Bien que les caractéristiques de notre cohorte représentent la force principale de notre étude, le nombre relativement faible de spécimens disponibles au début de l'étude est limitant. Néanmoins, les tendances observées permettent d'envisager qu'en augmentant notre effectif n , certains résultats pourraient devenir significatifs. De plus, les tests commerciaux utilisés lors de cette étude pour les anti-SSA sont semi-quantitatifs et permettent uniquement de donner une valeur diagnostique (p.ex. tests diagnostiques utilisés pour le lupus). Bien que ceci permette d'avoir une mesure relative des niveaux sériques d'anti-SSA, cela ne permet pas d'obtenir une mesure quantitative réelle des niveaux d'anti-SSA sériques chez nos patients. Il est pertinent de mentionner que ce projet fait partie d'un projet de plus grande envergure et que d'autres expériences s'ajouteront à celle-ci. Par exemple, la mise au point d'un cocktail de marqueurs de LB pour le FACS afin de vérifier quelles sous populations de LB sont augmentées ou réduites au cours de l'infection chez nos patients. Par ailleurs, bien que leur nombre ne soit pas diminué durant la PHI, les fonctions des LB mémoires sont atteintes (Titanji, De Milito et al. 2006). Il a été démontré que la population B mémoire est diminuée chez les patients chroniques et corrèle avec une surexpression de Fas et du récepteur au TNF (Titanji, De Milito et al. 2006). Cette prédisposition à l'apoptose, la diminution des signaux de survies, une charge virale élevée (Moir, Malaspina et al. 2004) contribuent tous au déclin des LB mémoires $CD19^+CD27^+$ qui se traduit principalement par une perte de production d'anticorps protecteurs de haute affinité. De plus, la protéine virale Nef soluble présente dans le sérum des individus infectés semble également impliquée dans l'incapacité des LB de produire des anticorps protecteurs de haute affinité de façon T-dépendante. Nef agirait en stimulant la production des protéines I κ B α et SOCS, en bloquant CD40 et les cytokines via la voie NF- κ B et STAT (Qiao, He et al. 2006). Pour ces raisons, il serait intéressant d'investiguer plus en détail les sous-populations de LB impliquées dans l'activation polyclonale induite par l'infection. Ces sous-populations sont bien caractérisées et le marquage par FACS demeure une option essentielle afin d'approfondir les connaissances à ce niveau en fonction de notre cohorte de patient.

5.2 BLyS

Des niveaux relativement élevés de BLyS ont été mesurés dans le sérum de nos patients en PHI et chez les individus en phase chronique, mais se retrouvent à des concentrations normales chez les LTNP (Figure 1 e tous les panneaux). De plus, une corrélation positive existe entre les niveaux de BLyS et la charge virale chez les progresseurs rapides ($p=0.04$) entre 0-3 mois post-infection. Ceci suggère que les niveaux sanguins de BLyS semblent modulés par l'intensité de la réplication virale. De plus, les niveaux sériques de BLyS mesurés chez les progresseurs rapides corrélaient négativement avec ceux des monocytes sanguins entre 0-3 mois post-infection ($p=0.04$) et ceux des DC CD11c⁺CD16 entre 5-8 mois post-infection ($p=0.03$) (Fontaine, Coutlee et al. 2009). Le fait d'observer une corrélation significative entre les niveaux sériques de BLyS et une fréquence réduite des monocytes sanguins et des DC CD11c⁺CD16 durant la phase aiguë et la PHI signifie que ces populations pourraient être recrutées au niveau des organes lymphoïdes, ce qui contribuerait à l'expansion clonale des cellules B via BLyS.

L'augmentation de BLyS observée (Figure 5 e) chez les progresseurs rapides semble diminuer après ART et on constate un phénomène similaire chez les progresseurs normaux. Bien que deux échantillons fassent augmenter la moyenne pour BLyS chez les progresseurs rapides, il est possible d'observer une tendance à la hausse de la concentration de BLyS

Plusieurs mécanismes sont impliqués et peuvent expliquer ce phénomène dont ceux mentionnés précédemment. Parmi ceux-ci, il a été mentionné qu'APRIL/BLyS sont augmentés au niveau du TGI et que la réplication virale atteint des niveaux très élevés à cet endroit. On sait également que BLyS est très concentré au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Donc, l'activation des DC via les cellules épithéliales au niveau du TGI induit probablement une augmentation de BLyS.

Ces observations supportent toutes un rôle de ce facteur de croissance des LB dans l'atteinte du compartiment B durant la phase précoce de l'infection par le VIH. Par contre, il est possible que BLyS et peut-être même APRIL, soient impliqués au niveau de différents stades de la maladie. D'ailleurs, il a été démontré que les niveaux de BLyS et d'immunoglobulines augmentent de façon exponentielle dans certaines situations et plus particulièrement lorsque le nombre de LT CD4⁺ se situe sous la barre des 100 cellules/ μ L (Rodriguez, Valdez et al. 2003). D'autre part, BLyS semble également stimuler la

production d'auto-anticorps de façon T-dépendante chez les patients dont le nombre de LT CD4⁺ est supérieur à 200 cellules/ μ L (Stohl, Cheema et al. 2002).

Bien que nos résultats démontrent également une augmentation dans le sérum de patients présentant un nombre de LT CD4⁺ supérieur à 200 cellules/ μ L, notre analyse longitudinale indique que ce phénomène n'est pas généralisé et semble au contraire favorisé lors de la PHI. Aussi, nous avons trouvé que ce facteur de croissance des LB était augmenté autant chez les progresseurs rapides que chez les progresseurs normaux indépendamment de l'état de leur compartiment CD4⁺. De plus BLYS n'est pas augmenté chez les patients après ART ou durant la phase chronique, soit deux ans suite à l'infection, malgré un compartiment CD4⁺ stabilisé ou supérieur à 400 cellules/ μ L.

Comme déjà mentionné, BLYS est un facteur de croissance majeur des LB sécrété par les macrophages et certains monocytes, mais principalement par les mDC. Or, les DC sont les premières cellules dont les fonctions et le phénotype est modulé, voire altéré par le VIH (Lekkerkerker, van Kooyk et al. 2006). Ces cellules qui forment un pont entre l'immunité innée et l'immunité adaptative, sont impliquées étroitement dans l'homéostasie des LB, leur survie et leur activation/maturation via la sécrétion de facteurs de croissance tels que BLYS (Mackay and Browning 2002; Craxton, Magaletti et al. 2003).

Dans cette optique, il a été démontré récemment chez les progresseurs rapides et normaux une atteinte du compartiment DC (Fontaine, Coutlee et al. 2009). Certaines sous populations de DC analysées à partir du sang périphérique, ont des fréquences diminuées et montrent des profils de maturation différents depuis la PHI. Cette atteinte du compartiment DC persiste tout au long de l'infection, malgré une diminution de la virémie et un rétablissement du compartiment T CD4⁺. Trois phénotypes de DC ont été observés : CD11c⁺CD16⁻, CD11c⁺CD16⁺, and CD11c⁺⁺CD123^{low} et les trois sont présents chez les individus infectés et les individus sains.

Durant la phase aigüe de l'infection on observe une diminution des populations DC et de certains précurseurs DC dans le sang périphérique. Cette diminution peut être attribuée à une mortalité cellulaire puisqu'on sait que le virus peut se répliquer dans les DC immatures ou à une migration aux sites d'inflammation due à une augmentation de l'expression de MCP-1 (résultats non publiés). Cette dernière hypothèse suggère un recrutement actif des DC vers les sites d'inflammations et a été démontrée chez la souris (Poudrier, Weng et al. 2001; Poudrier, Weng et al. 2003). Cette diminution semble plus

marquée chez les progresseurs rapides que chez les progresseurs normaux et est indépendante de la charge virale et des taux de LT CD4⁺ présents.

Durant l'infection chronique, on observe également une inflammation chronique, qui se traduit par une augmentation des IgG, IgA telle que démontrée dans notre étude. On note également une augmentation significative de cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8 (résultats non publiés) principalement chez les LTNP malgré un contrôle de la progression de l'infection. Cette augmentation présente chez les LTNP pourrait être due à l'augmentation du nombre de DC présentant un phénotype CD14⁺CD11c⁺CD16⁺ qui semble être associé à une production spontanée (Piccioli, Tavarini et al. 2007) de ces dernières.

Tel que mentionné plus haut, il existe une corrélation entre la concentration élevée de BLyS sérique et la diminution du nombre de monocytes et de DC présentant le phénotype CD11c⁺CD16⁻ durant la phase aiguë chez les progresseurs rapides. De plus, comme nous l'avons expliqué plus tôt, la sous-population mDC CD14⁺CD11c⁺CD16⁺ est augmentée chez les LTNP et est associée à une production spontanée de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8). En outre, l'IL-6 est un facteur de différenciation terminale des LB et joue un rôle dans la production d'anticorps, cette cytokine aux multiples fonctions joue un rôle majeur au niveau des réactions inflammatoires chroniques telles que l'activation polyclonale des LB et l'arthrite rhumatoïde (Ishihara and Hirano 2002). La surexpression d'IL-6 peut également entraîner certains types de lymphomes (Ishihara and Hirano 2002). Ces résultats obtenus sur les DC suggèrent que ces populations sont recrutées extensivement vers les organes lymphoïdes secondaires ou elles y sécrèteraient des facteurs de croissances tels que BLyS et l'IL-6 contribuant ainsi à l'expansion des LB.

Même si il est possible d'observer une tendance à la hausse de la concentration de BLyS chez plusieurs de nos participants à cette étude, il faudrait analyser plusieurs autres spécimens afin d'obtenir des résultats significatifs. Ceci met en perspective, la limite principale de cette étude qui se situe principalement au niveau de la disponibilité du nombre de spécimens analysés. Cependant, un autre aspect important qu'il ne faut pas négliger représente la quantité de BLyS à l'état membranaire présent sur les différentes sous-populations de LB chez nos patients. En effet, une fraction de BLyS est présente sous la forme membranaire. Comme nous avons mesuré les niveaux de BLyS sécrétés dans le sérum, il est possible que celui-ci demeure séquestré au niveau de ces organes principalement. Conséquemment, il est difficile d'obtenir une valeur réelle de la concentration, voire de l'augmentation de BLyS chez nos patients infectés. L'accès à des

organes lymphoïdes secondaires, tels que des amygdales permettrait via certaines techniques d'immunohistochimie et d'immunofluorescence de quantifier le niveau de BLyS au sein des ces organes. Encore une fois, ceci démontre l'importance d'effectuer des marquages cellulaires au FACS, cette fois ci pour caractériser les différentes sous-populations de DC puisque celles-ci sécrètent BLyS et affectent l'homéostasie des cellules B. Un marquage pour mesurer le niveau d'expression des récepteurs/ligands membranaires tels que TACI et BCMA serait également essentiel pour approfondir les connaissances au niveau du rôle de BLyS dans l'atteinte du compartiment des cellules B.

6 Conclusion

Plusieurs études ont déjà rapporté la présence d'activation polyclonale des LB chez des individus infectés par le VIH. Cependant, une approche longitudinale où l'impact des facteurs qui influencent la progression tels que la charge virale et les CD4⁺ sont peu connus et n'avait pas été abordée auparavant. Ainsi, la force de notre étude réside principalement dans l'accès aux échantillons de patients en PHI prélevés à différents stades de l'infection par le VIH et à la disponibilité de spécimens provenant de LTNP non-traités par ART. L'étude ci-présente a permis de confirmer la présence d'éléments d'activation polyclonale des cellules B dans une cohorte de patients infectés par le VIH et ayant des vitesses de progression différentes dont les échantillons ont été prélevés à différents stades de progression de l'infection. Jusqu'à présent, ce phénomène était associé principalement à la charge virale et à l'état du compartiment LT CD4⁺ et n'avait pas été mesuré de façon longitudinale.

Ici, nous démontrons que l'hyperglobulinémie et la présence d'auto-anticorps mesurés surviennent aussi tôt que durant la primo-infection et indépendamment de la vitesse de progression (chute des CD4⁺ et charge virale) de l'infection. De plus, les niveaux relativement élevés de BLyS mesurés chez nos patients corrélerent avec des fréquences altérées de DC et monocytes retrouvés dans le sang périphérique, ce qui suggère très fortement que leur recrutement aux organes lymphoïdes favorise une implication de ces populations dans le dysfonctionnement du compartiment des cellules B. La présence précoce de niveaux élevés de gammaglobulines et d'auto-anticorps que nous avons observé en PHI chez les progresseurs rapides, suggère que ces marqueurs ont une certaine valeur pronostique de la vitesse de progression de la maladie. À la lumière des résultats obtenus, il serait possible d'envisager de cibler BLyS dans la conception d'une thérapie visant à ralentir ou stopper les complications qu'entraîne l'atteinte du compartiment B.

7 Bibliographie

- Abelian, A., K. Burling, et al. (2004). "Hyperimmunoglobulinemia and rate of HIV type 1 infection progression." AIDS Res Hum Retroviruses **20**(1): 127-8.
- Akira, S., K. Takeda, et al. (2001). "Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity." Nat Immunol **2**(8): 675-80.
- Albert, J., H. Gaines, et al. (1987). "Isolation of human immunodeficiency virus (HIV) from plasma during primary HIV infection." J Med Virol **23**(1): 67-73.
- Allan, D. S., M. Colonna, et al. (1999). "Tetrameric complexes of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G bind to peripheral blood myelomonocytic cells." J Exp Med **189**(7): 1149-56.
- Alter, G., T. J. Suscovich, et al. (2007). "Single-stranded RNA derived from HIV-1 serves as a potent activator of NK cells." J Immunol **178**(12): 7658-66.
- Ancuta, P., P. Autissier, et al. (2006). "CD16+ monocyte-derived macrophages activate resting T cells for HIV infection by producing CCR3 and CCR4 ligands." J Immunol **176**(10): 5760-71.
- Banchereau, J. and R. M. Steinman (1998). "Dendritic cells and the control of immunity." Nature **392**(6673): 245-52.
- Barcellini, W., G. P. Rizzardi, et al. (1995). "In vitro production of type 1 and type 2 cytokines by peripheral blood mononuclear cells from high-risk HIV-negative intravenous drug users." Aids **9**(7): 691-4.
- Barker, E., C. E. Mackewicz, et al. (1998). "Virological and immunological features of long-term human immunodeficiency virus-infected individuals who have remained asymptomatic compared with those who have progressed to acquired immunodeficiency syndrome." Blood **92**(9): 3105-14.
- Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, et al. (1983). "Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)." Science **220**(4599): 868-71.

- Baur, A. S., E. T. Sawai, et al. (1994). "HIV-1 Nef leads to inhibition or activation of T cells depending on its intracellular localization." Immunity **1**(5): 373-84.
- Bekker, V., H. Scherpbier, et al. (2006). "Persistent humoral immune defect in highly active antiretroviral therapy-treated children with HIV-1 infection: loss of specific antibodies against attenuated vaccine strains and natural viral infection." Pediatrics **118**(2): e315-22.
- Belge, K. U., F. Dayyani, et al. (2002). "The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF." J Immunol **168**(7): 3536-42.
- Bernard, N. F., C. M. Yannakis, et al. (1999). "Human immunodeficiency virus (HIV)-specific cytotoxic T lymphocyte activity in HIV-exposed seronegative persons." J Infect Dis **179**(3): 538-47.
- Betts, M. R., M. C. Nason, et al. (2006). "HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T cells." Blood **107**(12): 4781-9.
- Birx, D. L., R. R. Redfield, et al. (1990). "Induction of interleukin-6 during human immunodeficiency virus infection." Blood **76**(11): 2303-10.
- Bishop, G. A. and B. S. Hostager (2001). "B lymphocyte activation by contact-mediated interactions with T lymphocytes." Curr Opin Immunol **13**(3): 278-85.
- Blankson, J. N., D. Persaud, et al. (2002). "The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection." Annu Rev Med **53**: 557-93.
- Blauvelt, A., M. Clerici, et al. (1995). "Functional studies of epidermal Langerhans cells and blood monocytes in HIV-infected persons." J Immunol **154**(7): 3506-15.
- Borrow, P., H. Lewicki, et al. (1994). "Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection." J Virol **68**(9): 6103-10.
- Boshoff, C. and R. Weiss (2002). "AIDS-related malignancies." Nat Rev Cancer **2**(5): 373-82.
- Braibant, M., S. Brunet, et al. (2006). "Antibodies to conserved epitopes of the HIV-1 envelope in sera from long-term non-progressors: prevalence and association with neutralizing activity." Aids **20**(15): 1923-30.

- Brambilla, A., L. Turchetto, et al. (1999). "Defective nef alleles in a cohort of hemophiliacs with progressing and nonprogressing HIV-1 infection." Virology **259**(2): 349-68.
- Bream, J. H., H. A. Young, et al. (1999). "CCR5 promoter alleles and specific DNA binding factors." Science **284**(5412): 223.
- Breen, E. C., W. J. Boscardin, et al. (2003). "Non-Hodgkin's B cell lymphoma in persons with acquired immunodeficiency syndrome is associated with increased serum levels of IL10, or the IL10 promoter -592 C/C genotype." Clin Immunol **109**(2): 119-29.
- Breen, E. C., M. van der Meijden, et al. (1999). "The development of AIDS-associated Burkitt's/small noncleaved cell lymphoma is preceded by elevated serum levels of interleukin 6." Clin Immunol **92**(3): 293-9.
- Brenchley, J. M., D. A. Price, et al. (2006). "Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection." Nat Med **12**(12): 1365-71.
- Brenchley, J. M., T. W. Schacker, et al. (2004). "CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract." J Exp Med **200**(6): 749-59.
- Brenner, B. G., M. Roger, et al. (2007). "High rates of forward transmission events after acute/early HIV-1 infection." J Infect Dis **195**(7): 951-9.
- Bukrinskaya, A., B. Brichacek, et al. (1998). "Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton." J Exp Med **188**(11): 2113-25.
- Bukrinsky, M. I., T. L. Stanwick, et al. (1991). "Quiescent T lymphocytes as an inducible virus reservoir in HIV-1 infection." Science **254**(5030): 423-7.
- Cameron, D. W., J. N. Simonsen, et al. (1989). "Female to male transmission of human immunodeficiency virus type 1: risk factors for seroconversion in men." Lancet **2**(8660): 403-7.
- Cameron, P., M. Pope, et al. (1996). "Dendritic cells and the replication of HIV-1." J Leukoc Biol **59**(2): 158-71.

- Cameron, P. U., U. Forsum, et al. (1992). "During HIV-1 infection most blood dendritic cells are not productively infected and can induce allogeneic CD4+ T cells clonal expansion." Clin Exp Immunol **88**(2): 226-36.
- Cameron, P. U., M. G. Lowe, et al. (1994). "Susceptibility of dendritic cells to HIV-1 infection in vitro." J Leukoc Biol **56**(3): 257-65.
- Cameron, P. U., S. A. Mallal, et al. (1990). "Major histocompatibility complex genes influence the outcome of HIV infection. Ancestral haplotypes with C4 null alleles explain diverse HLA associations." Hum Immunol **29**(4): 282-95.
- Canque, B., Y. Bakri, et al. (1999). "The susceptibility to X4 and R5 human immunodeficiency virus-1 strains of dendritic cells derived in vitro from CD34(+) hematopoietic progenitor cells is primarily determined by their maturation stage." Blood **93**(11): 3866-75.
- Cao, Y., L. Qin, et al. (1995). "Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection." N Engl J Med **332**(4): 201-8.
- Cariappa, A. and S. Pillai (2002). "Antigen-dependent B-cell development." Curr Opin Immunol **14**(2): 241-9.
- Carne, C. A., R. S. Tedder, et al. (1985). "Acute encephalopathy coincident with seroconversion for anti-HTLV-III." Lancet **2**(8466): 1206-8.
- Caux, C., C. Dezutter-Dambuyant, et al. (1992). "GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells." Nature **360**(6401): 258-61.
- Cella, M., D. Jarrossay, et al. (1999). "Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon." Nat Med **5**(8): 919-23.
- Chakrabarti, L., P. Isola, et al. (1994). "Early stages of simian immunodeficiency virus infection in lymph nodes. Evidence for high viral load and successive populations of target cells." Am J Pathol **144**(6): 1226-37.
- Cheng-Mayer, C., P. Iannello, et al. (1989). "Differential effects of nef on HIV replication: implications for viral pathogenesis in the host." Science **246**(4937): 1629-32.

- Chong, Y., H. Ikematsu, et al. (2004). "Selective CD27+ (memory) B cell reduction and characteristic B cell alteration in drug-naive and HAART-treated HIV type 1-infected patients." *AIDS Res Hum Retroviruses* **20**(2): 219-26.
- Chun, T. W., L. Carruth, et al. (1997). "Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection." *Nature* **387**(6629): 183-8.
- Chun, T. W., K. Chadwick, et al. (1997). "Differential susceptibility of naive and memory CD4+ T cells to the cytopathic effects of infection with human immunodeficiency virus type 1 strain LAI." *J Virol* **71**(6): 4436-44.
- Chun, T. W., D. Finzi, et al. (1995). "In vivo fate of HIV-1-infected T cells: quantitative analysis of the transition to stable latency." *Nat Med* **1**(12): 1284-90.
- Clapham, P. R. and A. McKnight (2002). "Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses." *J Gen Virol* **83**(Pt 8): 1809-29.
- Clark, D. R., R. J. de Boer, et al. (1999). "T cell dynamics in HIV-1 infection." *Adv Immunol* **73**: 301-27.
- Clark, S. J., M. S. Saag, et al. (1991). "High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection." *N Engl J Med* **324**(14): 954-60.
- Clavel, F., M. Guyader, et al. (1986). "Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2." *Nature* **324**(6098): 691-5.
- Clerici, M., J. V. Giorgi, et al. (1992). "Cell-mediated immune response to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in seronegative homosexual men with recent sexual exposure to HIV-1." *J Infect Dis* **165**(6): 1012-9.
- Cocchi, F., A. L. DeVico, et al. (1995). "Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells." *Science* **270**(5243): 1811-5.
- Coffin, J., A. Haase, et al. (1986). "What to call the AIDS virus?" *Nature* **321**(6065): 10.
- Cohen, M. S. (1998). "Sexually transmitted diseases enhance HIV transmission: no longer a hypothesis." *Lancet* **351 Suppl 3**: 5-7.

- Conge, A. M., K. Tarte, et al. (1998). "Impairment of B-lymphocyte differentiation induced by dual triggering of the B-cell antigen receptor and CD40 in advanced HIV-1-disease." *Aids* **12**(12): 1437-49.
- Connor, E. M., R. S. Sperling, et al. (1994). "Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group." *N Engl J Med* **331**(18): 1173-80.
- Cooper, D. A., J. Gold, et al. (1985). "Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion." *Lancet* **1**(8428): 537-40.
- Cooper, M. A., T. A. Fehniger, et al. (2001). "The biology of human natural killer-cell subsets." *Trends Immunol* **22**(11): 633-40.
- Cosenza, M. A., M. L. Zhao, et al. (2002). "Human brain parenchymal microglia express CD14 and CD45 and are productively infected by HIV-1 in HIV-1 encephalitis." *Brain Pathol* **12**(4): 442-55.
- Craxton, A., D. Magaletti, et al. (2003). "Macrophage- and dendritic cell-dependent regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF." *Blood* **101**(11): 4464-71.
- Cressey, T. R. and M. Lallemand (2007). "Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: an update." *Infect Genet Evol* **7**(2): 333-42.
- Cunningham, A. L., A. N. Harman, et al. (2007). "DC-SIGN 'AIDS' HIV immune evasion and infection." *Nat Immunol* **8**(6): 556-8.
- Cyster, J. G. (2000). "B cells on the front line." *Nat Immunol* **1**(1): 9-10.
- Daar, E. S., T. Moudgil, et al. (1991). "Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection." *N Engl J Med* **324**(14): 961-4.
- Daecke, J., O. T. Fackler, et al. (2005). "Involvement of clathrin-mediated endocytosis in human immunodeficiency virus type 1 entry." *J Virol* **79**(3): 1581-94.
- De Milito, A. (2004). "B lymphocyte dysfunctions in HIV infection." *Curr HIV Res* **2**(1): 11-21.
- De Milito, A., C. Morch, et al. (2001). "Loss of memory (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection." *Aids* **15**(8): 957-64.

- De Milito, A., A. Nilsson, et al. (2004). "Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection." Blood **103**(6): 2180-6.
- Deacon, N. J., A. Tsykin, et al. (1995). "Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients." Science **270**(5238): 988-91.
- Dean, M., M. Carrington, et al. (1996). "Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study." Science **273**(5283): 1856-62.
- Deeks, S. G., C. M. Kitchen, et al. (2004). "Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load." Blood **104**(4): 942-7.
- Doms, R. W. and S. C. Peiper (1997). "Unwelcomed guests with master keys: how HIV uses chemokine receptors for cellular entry." Virology **235**(2): 179-90.
- Donaghy, H., B. Gazzard, et al. (2003). "Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1." Blood **101**(11): 4505-11.
- Donaghy, H., A. Pozniak, et al. (2001). "Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load." Blood **98**(8): 2574-6.
- Donegan, E., M. Stuart, et al. (1990). "Infection with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) among recipients of antibody-positive blood donations." Ann Intern Med **113**(10): 733-9.
- Dornadula, G., H. Zhang, et al. (1999). "Residual HIV-1 RNA in blood plasma of patients taking suppressive highly active antiretroviral therapy." Jama **282**(17): 1627-32.
- Dzionek, A., A. Fuchs, et al. (2000). "BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood." J Immunol **165**(11): 6037-46.
- Embretson, J., M. Zupancic, et al. (1993). "Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS." Nature **362**(6418): 359-62.
- Emilie, D., R. Fior, et al. (1994). "Cytokines from lymphoid organs of HIV-infected patients: production and role in the immune disequilibrium of the disease." Res Immunol **145**(8-9): 595-600; discussion 600-2.

- Fahey, J. L., J. M. Taylor, et al. (1990). "The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1." N Engl J Med **322**(3): 166-72.
- Fan, Z., X. L. Huang, et al. (2001). "Restoration of anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) responses in CD8+ T cells from late-stage patients on prolonged antiretroviral therapy by stimulation in vitro with HIV-1 protein-loaded dendritic cells." J Virol **75**(9): 4413-9.
- Fauci, A. S., G. Pantaleo, et al. (1996). "Immunopathogenic mechanisms of HIV infection." Ann Intern Med **124**(7): 654-63.
- Fehniger, T. A., G. Herbein, et al. (1998). "Natural killer cells from HIV-1+ patients produce C-C chemokines and inhibit HIV-1 infection." J Immunol **161**(11): 6433-8.
- Feldman, S., D. Stein, et al. (2001). "Decreased interferon-alpha production in HIV-infected patients correlates with numerical and functional deficiencies in circulating type 2 dendritic cell precursors." Clin Immunol **101**(2): 201-10.
- Ferbas, J., J. Navratil, et al. (1995). "Selective decrease in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-induced alpha interferon production by peripheral blood mononuclear cells during HIV-1 infection." Clin Diagn Lab Immunol **2**(2): 138-42.
- Fernandez, N. C., A. Lozier, et al. (1999). "Dendritic cells directly trigger NK cell functions: cross-talk relevant in innate anti-tumor immune responses in vivo." Nat Med **5**(4): 405-11.
- Finke, J. S., M. Shodell, et al. (2004). "Dendritic cell numbers in the blood of HIV-1 infected patients before and after changes in antiretroviral therapy." J Clin Immunol **24**(6): 647-52.
- Fischer-Smith, T., S. Croul, et al. (2004). "Macrophage/microglial accumulation and proliferating cell nuclear antigen expression in the central nervous system in human immunodeficiency virus encephalopathy." Am J Pathol **164**(6): 2089-99.
- Fleury, S., R. J. de Boer, et al. (1998). "Limited CD4+ T-cell renewal in early HIV-1 infection: effect of highly active antiretroviral therapy." Nat Med **4**(7): 794-801.
- Flores-Villanueva, P. O., E. J. Yunis, et al. (2001). "Control of HIV-1 viremia and protection from AIDS are associated with HLA-Bw4 homozygosity." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(9): 5140-5.

- Fogli, M., P. Costa, et al. (2004). "Significant NK cell activation associated with decreased cytolytic function in peripheral blood of HIV-1-infected patients." Eur J Immunol **34**(8): 2313-21.
- Fontaine, J., F. Coutlee, et al. (2009). "HIV infection affects blood myeloid dendritic cells after successful therapy and despite nonprogressing clinical disease." J Infect Dis **199**(7): 1007-18.
- Fowke, K. R., N. J. Nagelkerke, et al. (1996). "Resistance to HIV-1 infection among persistently seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya." Lancet **348**(9038): 1347-51.
- Freed, E. O. (2001). "HIV-1 replication." Somat Cell Mol Genet **26**(1-6): 13-33.
- Freed, E. O. and M. A. Martin (2001). "HIVs and Their Replication dans: Knipe DM, Howley PM, Griffin D, Lamb RA, Roizman B, Martin MA, Straus SE." Fields Virology 4th ed. (Philadelphia:Lippincott, Williams and Wilkins): 912-983.
- Frisch, M., R. J. Biggar, et al. (2001). "Association of cancer with AIDS-related immunosuppression in adults." Jama **285**(13): 1736-45.
- Furtado, M. R., D. S. Callaway, et al. (1999). "Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy." N Engl J Med **340**(21): 1614-22.
- Gabuzda, D. H., K. Lawrence, et al. (1992). "Role of vif in replication of human immunodeficiency virus type 1 in CD4+ T lymphocytes." J Virol **66**(11): 6489-95.
- Gaines, H., J. Albert, et al. (1987). "HIV antigenaemia and virus isolation from plasma during primary HIV infection." Lancet **1**(8545): 1317-8.
- Gallo, R. C., S. Z. Salahuddin, et al. (1984). "Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS." Science **224**(4648): 500-3.
- Galvin, S. R. and M. S. Cohen (2004). "The role of sexually transmitted diseases in HIV transmission." Nat Rev Microbiol **2**(1): 33-42.
- Garrus, J. E., U. K. von Schwedler, et al. (2001). "Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding." Cell **107**(1): 55-65.

- Geijtenbeek, T. B., D. S. Kwon, et al. (2000). "DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells." Cell **100**(5): 587-97.
- Geleziunas, R., W. Xu, et al. (2001). "HIV-1 Nef inhibits ASK1-dependent death signalling providing a potential mechanism for protecting the infected host cell." Nature **410**(6830): 834-8.
- Goff, S. P. (2001). "*Retroviridae*: The retroviruses and Their Replication dans : Knipe DM, Howley PM, Griffin D, Lamb RA, Roizman B, Martin MA, Straus SE." Fields Virology **4th ed.** (Philadelphia:Lippincott, Williams and Wilkins): 843-912.
- Gomez, C. and T. J. Hope (2005). "The ins and outs of HIV replication." Cell Microbiol **7**(5): 621-6.
- Gonzalez-Scarano, F. and J. Martin-Garcia (2005). "The neuropathogenesis of AIDS." Nat Rev Immunol **5**(1): 69-81.
- Goudsmit, J., F. de Wolf, et al. (1986). "Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection." Lancet **2**(8500): 177-80.
- Gougeon, M. L. (2003). "Apoptosis as an HIV strategy to escape immune attack." Nat Rev Immunol **3**(5): 392-404.
- Granelli-Piperno, A., E. Delgado, et al. (1998). "Immature dendritic cells selectively replicate macrophagetropic (M-tropic) human immunodeficiency virus type 1, while mature cells efficiently transmit both M- and T-tropic virus to T cells." J Virol **72**(4): 2733-7.
- Granelli-Piperno, A., A. Golebiowska, et al. (2004). "HIV-1-infected monocyte-derived dendritic cells do not undergo maturation but can elicit IL-10 production and T cell regulation." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(20): 7669-74.
- Granelli-Piperno, A., B. Moser, et al. (1996). "Efficient interaction of HIV-1 with purified dendritic cells via multiple chemokine coreceptors." J Exp Med **184**(6): 2433-8.
- Granelli-Piperno, A., I. Shimeliovich, et al. (2006). "HIV-1 selectively infects a subset of nonmaturing BDCA1-positive dendritic cells in human blood." J Immunol **176**(2): 991-8.
- Grassi, F., A. Hosmalin, et al. (1999). "Depletion in blood CD11c-positive dendritic cells from HIV-infected patients." Aids **13**(7): 759-66.

- Graziosi, C., G. Pantaleo, et al. (1993). "Kinetics of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) DNA and RNA synthesis during primary HIV-1 infection." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(14): 6405-9.
- Greene, W. C. and B. M. Peterlin (2002). "Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy." Nat Med **8**(7): 673-80.
- Greenough, T. C., D. B. Brettler, et al. (1999). "Long-term nonprogressive infection with human immunodeficiency virus type 1 in a hemophilia cohort." J Infect Dis **180**(6): 1790-802.
- Greenway, A. L., D. A. McPhee, et al. (2002). "Human immunodeficiency virus type 1 Nef binds to tumor suppressor p53 and protects cells against p53-mediated apoptosis." J Virol **76**(6): 2692-702.
- Groom, J., S. L. Kalled, et al. (2002). "Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome." J Clin Invest **109**(1): 59-68.
- Groot, F., T. M. van Capel, et al. (2006). "Opposing roles of blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in HIV-1 infection of T cells: transmission facilitation versus replication inhibition." Blood **108**(6): 1957-64.
- Hache, G., M. T. Liddament, et al. (2005). "The retroviral hypermutation specificity of APOBEC3F and APOBEC3G is governed by the C-terminal DNA cytosine deaminase domain." J Biol Chem **280**(12): 10920-4.
- Hanna, Z., D. G. Kay, et al. (1998). "Transgenic mice expressing human immunodeficiency virus type 1 in immune cells develop a severe AIDS-like disease." J Virol **72**(1): 121-32.
- Hanna, Z., D. G. Kay, et al. (1998). "Nef harbors a major determinant of pathogenicity for an AIDS-like disease induced by HIV-1 in transgenic mice." Cell **95**(2): 163-75.
- Hanna, Z., N. Rebai, et al. (2001). "Distinct regulatory elements are required for faithful expression of human CD4 in T cells, macrophages, and dendritic cells of transgenic mice." Blood **98**(7): 2275-8.
- Harris, R. S., K. N. Bishop, et al. (2003). "DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection." Cell **113**(6): 803-9.

- Hawiger, D., K. Inaba, et al. (2001). "Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo." J Exp Med **194**(6): 769-79.
- He, B., X. Qiao, et al. (2006). "HIV-1 envelope triggers polyclonal Ig class switch recombination through a CD40-independent mechanism involving BAFF and C-type lectin receptors." J Immunol **176**(7): 3931-41.
- He, B., W. Xu, et al. (2007). "Intestinal Bacteria Trigger T Cell-Independent Immunoglobulin A(2) Class Switching by Inducing Epithelial-Cell Secretion of the Cytokine APRIL." Immunity **26**(6): 812-26.
- Heath, S. L., J. G. Tew, et al. (1995). "Follicular dendritic cells and human immunodeficiency virus infectivity." Nature **377**(6551): 740-4.
- Heeney, J. L., A. G. Dalgleish, et al. (2006). "Origins of HIV and the evolution of resistance to AIDS." Science **313**(5786): 462-6.
- Hellerstein, M., M. B. Hanley, et al. (1999). "Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1-infected humans." Nat Med **5**(1): 83-9.
- Hellerstein, M. K., R. A. Hoh, et al. (2003). "Subpopulations of long-lived and short-lived T cells in advanced HIV-1 infection." J Clin Invest **112**(6): 956-66.
- Hladik, F., P. Sakchalathorn, et al. (2007). "Initial events in establishing vaginal entry and infection by human immunodeficiency virus type-1." Immunity **26**(2): 257-70.
- Ho, D. D., A. U. Neumann, et al. (1995). "Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection." Nature **373**(6510): 123-6.
- Ho, D. D., M. G. Sarngadharan, et al. (1985). "Primary human T-lymphotropic virus type III infection." Ann Intern Med **103**(6 (Pt 1)): 880-3.
- Hodges, A., K. Sharrocks, et al. (2007). "Activation of the lectin DC-SIGN induces an immature dendritic cell phenotype triggering Rho-GTPase activity required for HIV-1 replication." Nat Immunol **8**(6): 569-77.
- Hogan, C. M. and S. M. Hammer (2001). "Host determinants in HIV infection and disease. Part 1: cellular and humoral immune responses." Ann Intern Med **134**(9 Pt 1): 761-76.

- Huang, X. L., Z. Fan, et al. (2005). "Processing and presentation of exogenous HLA class I peptides by dendritic cells from human immunodeficiency virus type 1-infected persons." J Virol **79**(5): 3052-62.
- Huang, Y., L. Zhang, et al. (1995). "Characterization of nef sequences in long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection." J Virol **69**(1): 93-100.
- Hunziker, L., M. Recher, et al. (2003). "Hypergammaglobulinemia and autoantibody induction mechanisms in viral infections." Nat Immunol **4**(4): 343-9.
- Hussain, L. A. and T. Lehner (1995). "Comparative investigation of Langerhans' cells and potential receptors for HIV in oral, genitourinary and rectal epithelia." Immunology **85**(3): 475-84.
- Ishihara, K. and T. Hirano (2002). "IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease." Cytokine Growth Factor Rev **13**(4-5): 357-68.
- Jacobson, M. A., H. Khayam-Bashi, et al. (2002). "Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B-lymphocyte function." J Acquir Immune Defic Syndr **31**(5): 472-7.
- Jarmuz, A., A. Chester, et al. (2002). "An anthropoid-specific locus of orphan C to U RNA-editing enzymes on chromosome 22." Genomics **79**(3): 285-96.
- Jego, G., A. K. Palucka, et al. (2003). "Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6." Immunity **19**(2): 225-34.
- Jin, X., D. E. Bauer, et al. (1999). "Dramatic rise in plasma viremia after CD8(+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques." J Exp Med **189**(6): 991-8.
- Kadowaki, N., S. Ho, et al. (2001). "Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens." J Exp Med **194**(6): 863-9.
- Kamga, I., S. Kahi, et al. (2005). "Type I interferon production is profoundly and transiently impaired in primary HIV-1 infection." J Infect Dis **192**(2): 303-10.
- Kaplan, E. H. and R. Heimer (1992). "A model-based estimate of HIV infectivity via needle sharing." J Acquir Immune Defic Syndr **5**(11): 1116-8.

- Kaslow, R. A., R. Duquesnoy, et al. (1990). "A1, Cw7, B8, DR3 HLA antigen combination associated with rapid decline of T-helper lymphocytes in HIV-1 infection. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study." Lancet **335**(8695): 927-30.
- Katz, I. R., S. E. Krown, et al. (1986). "Antigen-specific and polyclonal B-cell responses in patients with acquired immunodeficiency disease syndrome." Clin Immunol Immunopathol **39**(3): 359-67.
- Kaul, R., D. Trabattoni, et al. (1999). "HIV-1-specific mucosal IgA in a cohort of HIV-1-resistant Kenyan sex workers." Aids **13**(1): 23-9.
- Kawamura, T., H. Gatanaga, et al. (2003). "Decreased stimulation of CD4+ T cell proliferation and IL-2 production by highly enriched populations of HIV-infected dendritic cells." J Immunol **170**(8): 4260-6.
- Keele, B. F., F. Van Heuverswyn, et al. (2006). "Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1." Science **313**(5786): 523-6.
- Ketas, T. J., S. E. Kuhmann, et al. (2007). "Cell surface expression of CCR5 and other host factors influence the inhibition of HIV-1 infection of human lymphocytes by CCR5 ligands." Virology **364**(2): 281-90.
- Khanlou, H., D. Salmon-Ceron, et al. (1997). "[Characteristics of rapid progressors in HIV infection]." Ann Med Interne (Paris) **148**(2): 163-6.
- Kilby, J. M. and J. J. Eron (2003). "Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry." N Engl J Med **348**(22): 2228-38.
- Kirchhoff, F., T. C. Greenough, et al. (1995). "Brief report: absence of intact nef sequences in a long-term survivor with nonprogressive HIV-1 infection." N Engl J Med **332**(4): 228-32.
- Kishimoto, T. (1989). "The biology of interleukin-6." Blood **74**(1): 1-10.
- Klein, M. R., C. A. van Baalen, et al. (1995). "Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics." J Exp Med **181**(4): 1365-72.
- Knight, S. C. and S. Patterson (1997). "Bone marrow-derived dendritic cells, infection with human immunodeficiency virus, and immunopathology." Annu Rev Immunol **15**: 593-615.

- Koot, M., I. P. Keet, et al. (1993). "Prognostic value of HIV-1 syncytium-inducing phenotype for rate of CD4+ cell depletion and progression to AIDS." Ann Intern Med **118**(9): 681-8.
- Kopf, M., S. Herren, et al. (1998). "Interleukin 6 influences germinal center development and antibody production via a contribution of C3 complement component." J Exp Med **188**(10): 1895-906.
- Kostrikis, L. G., Y. Huang, et al. (1998). "A chemokine receptor CCR2 allele delays HIV-1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation." Nat Med **4**(3): 350-3.
- Koup, R. A., J. T. Safrit, et al. (1994). "Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome." J Virol **68**(7): 4650-5.
- Kourtis, A. P., F. K. Lee, et al. (2006). "Mother-to-child transmission of HIV-1: timing and implications for prevention." Lancet Infect Dis **6**(11): 726-32.
- Lafeuillade, A., I. Poizot-Martin, et al. (1991). "Increased interleukin-6 production is associated with disease progression in HIV infection." Aids **5**(9): 1139-40.
- Lajoie, J., J. Hargrove, et al. (2006). "Genetic variants in nonclassical major histocompatibility complex class I human leukocyte antigen (HLA)-E and HLA-G molecules are associated with susceptibility to heterosexual acquisition of HIV-1." J Infect Dis **193**(2): 298-301.
- Lalani, T. and C. Hicks (2007). "Does antiretroviral therapy prevent HIV transmission to sexual partners?" Curr HIV/AIDS Rep **4**(2): 80-5.
- Lane, H. C., H. Masur, et al. (1983). "Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome." N Engl J Med **309**(8): 453-8.
- Langlois, M. A., R. C. Beale, et al. (2005). "Mutational comparison of the single-domained APOBEC3C and double-domained APOBEC3F/G anti-retroviral cytidine deaminases provides insight into their DNA target site specificities." Nucleic Acids Res **33**(6): 1913-23.
- Larsson, M., A. S. Beignon, et al. (2004). "DC-virus interplay: a double edged sword." Semin Immunol **16**(3): 147-61.
- Le Bon, A., N. Etchart, et al. (2003). "Cross-priming of CD8+ T cells stimulated by virus-induced type I interferon." Nat Immunol **4**(10): 1009-15.

- Lecossier, D., F. Bouchonnet, et al. (2003). "Hypermutation of HIV-1 DNA in the absence of the Vif protein." Science **300**(5622): 1112.
- Lefrere, J. J., L. Morand-Joubert, et al. (1997). "Even individuals considered as long-term nonprogressors show biological signs of progression after 10 years of human immunodeficiency virus infection." Blood **90**(3): 1133-40.
- Lekkerkerker, A. N., Y. van Kooyk, et al. (2006). "Viral piracy: HIV-1 targets dendritic cells for transmission." Curr HIV Res **4**(2): 169-76.
- Leslie, D., P. Lipsky, et al. (2001). "Autoantibodies as predictors of disease." J Clin Invest **108**(10): 1417-22.
- Li, Q., L. Duan, et al. (2005). "Peak SIV replication in resting memory CD4+ T cells depletes gut lamina propria CD4+ T cells." Nature **434**(7037): 1148-52.
- Li, Q., J. D. Estes, et al. (2009). "Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission." Nature **458**(7241): 1034-8.
- Lifson, A. R., S. P. Buchbinder, et al. (1991). "Long-term human immunodeficiency virus infection in asymptomatic homosexual and bisexual men with normal CD4+ lymphocyte counts: immunologic and virologic characteristics." J Infect Dis **163**(5): 959-65.
- Liu, R., W. A. Paxton, et al. (1996). "Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection." Cell **86**(3): 367-77.
- Lopez, C., P. A. Fitzgerald, et al. (1983). "Severe acquired immune deficiency syndrome in male homosexuals: diminished capacity to make interferon-alpha in vitro associated with severe opportunistic infections." J Infect Dis **148**(6): 962-6.
- Lore, K., M. R. Betts, et al. (2003). "Toll-like receptor ligands modulate dendritic cells to augment cytomegalovirus- and HIV-1-specific T cell responses." J Immunol **171**(8): 4320-8.
- Lore, K. and M. Larsson (2003). "The role of dendritic cells in the pathogenesis of HIV-1 infection." Apmis **111**(7-8): 776-88.
- Lore, K., A. Smed-Sorensen, et al. (2005). "Myeloid and plasmacytoid dendritic cells transfer HIV-1 preferentially to antigen-specific CD4+ T cells." J Exp Med **201**(12): 2023-33.

- Lore, K., A. Sonnerborg, et al. (2002). "Accumulation of DC-SIGN+CD40+ dendritic cells with reduced CD80 and CD86 expression in lymphoid tissue during acute HIV-1 infection." Aids **16**(5): 683-92.
- Lurie, M. N., B. G. Williams, et al. (2003). "The impact of migration on HIV-1 transmission in South Africa: a study of migrant and nonmigrant men and their partners." Sex Transm Dis **30**(2): 149-56.
- Macatonia, S. E., R. Lau, et al. (1990). "Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals." Immunology **71**(1): 38-45.
- Mackay, F. and J. L. Browning (2002). "BAFF: a fundamental survival factor for B cells." Nat Rev Immunol **2**(7): 465-75.
- Madrid, R., K. Janvier, et al. (2005). "Nef-induced alteration of the early/recycling endosomal compartment correlates with enhancement of HIV-1 infectivity." J Biol Chem **280**(6): 5032-44.
- Madry, C., Y. Laabi, et al. (1998). "The characterization of murine BCMA gene defines it as a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily." Int Immunol **10**(11): 1693-702.
- Malaspina, A., S. Moir, et al. (2003). "Deleterious effect of HIV-1 plasma viremia on B cell costimulatory function." J Immunol **170**(12): 5965-72.
- Malatzky-Goshen, E. and Y. Shoenfeld (1989). "AIDS and autoimmunity." Autoimmunity **3**(3): 201-12.
- Mandelbrot, L., J. Le Chenadec, et al. (1998). "Perinatal HIV-1 transmission: interaction between zidovudine prophylaxis and mode of delivery in the French Perinatal Cohort." Jama **280**(1): 55-60.
- Mangeat, B., P. Turelli, et al. (2003). "Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts." Nature **424**(6944): 99-103.
- Margolick, J. B., D. J. Volkman, et al. (1987). "Amplification of HTLV-III/LAV infection by antigen-induced activation of T cells and direct suppression by virus of lymphocyte blastogenic responses." J Immunol **138**(6): 1719-23.

- Marin, M., K. M. Rose, et al. (2003). "HIV-1 Vif protein binds the editing enzyme APOBEC3G and induces its degradation." Nat Med **9**(11): 1398-403.
- Martin, F. and J. F. Kearney (2002). "Marginal-zone B cells." Nat Rev Immunol **2**(5): 323-35.
- Martin, M. P., X. Gao, et al. (2002). "Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS." Nat Genet **31**(4): 429-34.
- Martinez-Maza, O. and E. C. Breen (2002). "B-cell activation and lymphoma in patients with HIV." Curr Opin Oncol **14**(5): 528-32.
- Martinez-Maza, O., E. Crabb, et al. (1987). "Infection with the human immunodeficiency virus (HIV) is associated with an in vivo increase in B lymphocyte activation and immaturity." J Immunol **138**(11): 3720-4.
- Mazzoli, S., D. Trabattoni, et al. (1997). "HIV-specific mucosal and cellular immunity in HIV-seronegative partners of HIV-seropositive individuals." Nat Med **3**(11): 1250-7.
- McArthur, J. C., D. R. Hoover, et al. (1993). "Dementia in AIDS patients: incidence and risk factors. Multicenter AIDS Cohort Study." Neurology **43**(11): 2245-52.
- McCune, J. M., M. B. Hanley, et al. (2000). "Factors influencing T-cell turnover in HIV-1-seropositive patients." J Clin Invest **105**(5): R1-8.
- McCutchan, F. E. (2006). "Global epidemiology of HIV." J Med Virol **78** **Suppl 1**: S7-S12.
- McDonald, D., M. A. Vodicka, et al. (2002). "Visualization of the intracellular behavior of HIV in living cells." J Cell Biol **159**(3): 441-52.
- McIlroy, D., B. Autran, et al. (1995). "Infection frequency of dendritic cells and CD4+ T lymphocytes in spleens of human immunodeficiency virus-positive patients." J Virol **69**(8): 4737-45.
- McNeil, A. J., P. L. Yap, et al. (1996). "Association of HLA types A1-B8-DR3 and B27 with rapid and slow progression of HIV disease." Qim **89**(3): 177-85.
- Mehandru, S., M. A. Poles, et al. (2004). "Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract." J Exp Med **200**(6): 761-70.

- Meier, A., G. Alter, et al. (2007). "MyD88-dependent immune activation mediated by human immunodeficiency virus type 1-encoded toll-like receptor ligands." J Virol **81**(15): 8180-91.
- Mellors, J. W., J. B. Margolick, et al. (2007). "Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection." Jama **297**(21): 2349-50.
- Mellors, J. W., A. Munoz, et al. (1997). "Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection." Ann Intern Med **126**(12): 946-54.
- Meyer, L., M. Magierowska, et al. (1997). "Early protective effect of CCR-5 delta 32 heterozygosity on HIV-1 disease progression: relationship with viral load. The SEROCO Study Group." Aids **11**(11): F73-8.
- Michael, N. L., G. Chang, et al. (1995). "Functional characterization of human immunodeficiency virus type 1 nef genes in patients with divergent rates of disease progression." J Virol **69**(11): 6758-69.
- Michael, N. L., G. Chang, et al. (1997). "The role of viral phenotype and CCR-5 gene defects in HIV-1 transmission and disease progression." Nat Med **3**(3): 338-40.
- Miedema, F., A. J. Petit, et al. (1988). "Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper cell depletion occurs." J Clin Invest **82**(6): 1908-14.
- Migueles, S. A., M. S. Sabbaghian, et al. (2000). "HLA B*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term nonprogressors." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(6): 2709-14.
- Miles, S. A., A. R. Rezai, et al. (1990). "AIDS Kaposi sarcoma-derived cells produce and respond to interleukin 6." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(11): 4068-72.
- Miller, M. D., M. B. Feinberg, et al. (1994). "The HIV-1 nef gene acts as a positive viral infectivity factor." Trends Microbiol **2**(8): 294-8.
- Miller, M. D., M. T. Warmerdam, et al. (1994). "The human immunodeficiency virus-1 nef gene product: a positive factor for viral infection and replication in primary lymphocytes and macrophages." J Exp Med **179**(1): 101-13.

- Miyauchi, K., Y. Kim, et al. (2009). "HIV enters cells via endocytosis and dynamin-dependent fusion with endosomes." Cell **137**(3): 433-44.
- MMWR (1981). "Pneumocystis pneumonia--Los Angeles." MMWR Morb Mortal Wkly Rep **30**(21): 250-2.
- Mo, H., S. Monard, et al. (1998). "Expression patterns of the HIV type 1 coreceptors CCR5 and CXCR4 on CD4+ T cells and monocytes from cord and adult blood." AIDS Res Hum Retroviruses **14**(7): 607-17.
- Mohri, H., A. S. Perelson, et al. (2001). "Increased turnover of T lymphocytes in HIV-1 infection and its reduction by antiretroviral therapy." J Exp Med **194**(9): 1277-87.
- Moir, S., A. Malaspina, et al. (2001). "HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(18): 10362-7.
- Moir, S., A. Malaspina, et al. (2004). "Decreased survival of B cells of HIV-viremic patients mediated by altered expression of receptors of the TNF superfamily." J Exp Med **200**(5): 587-99.
- Moir, S., K. M. Ogwaro, et al. (2003). "Perturbations in B cell responsiveness to CD4+ T cell help in HIV-infected individuals." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(10): 6057-62.
- Moore, J. P., Y. Cao, et al. (1994). "Development of the anti-gp120 antibody response during seroconversion to human immunodeficiency virus type 1." J Virol **68**(8): 5142-55.
- Moore, K. W., R. de Waal Malefyt, et al. (2001). "Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor." Annu Rev Immunol **19**: 683-765.
- Moretta, A., C. Bottino, et al. (2001). "Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity." Annu Rev Immunol **19**: 197-223.
- Moris, A., C. Nobile, et al. (2004). "DC-SIGN promotes exogenous MHC-I-restricted HIV-1 antigen presentation." Blood **103**(7): 2648-54.
- Morris, L., J. M. Binley, et al. (1998). "HIV-1 antigen-specific and -nonspecific B cell responses are sensitive to combination antiretroviral therapy." J Exp Med **188**(2): 233-45.
- Morse, L., D. Chen, et al. (1997). "Induction of cell cycle arrest and B cell terminal differentiation by CDK inhibitor p18(INK4c) and IL-6." Immunity **6**(1): 47-56.

- Munoz, A., A. J. Kirby, et al. (1995). "Long-term survivors with HIV-1 infection: incubation period and longitudinal patterns of CD4+ lymphocytes." J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol **8**(5): 496-505.
- Muro-Cacho, C. A., G. Pantaleo, et al. (1995). "Analysis of apoptosis in lymph nodes of HIV-infected persons. Intensity of apoptosis correlates with the general state of activation of the lymphoid tissue and not with stage of disease or viral burden." J Immunol **154**(10): 5555-66.
- Musicco, M., A. Lazzarin, et al. (1994). "Antiretroviral treatment of men infected with human immunodeficiency virus type 1 reduces the incidence of heterosexual transmission. Italian Study Group on HIV Heterosexual Transmission." Arch Intern Med **154**(17): 1971-6.
- Nardelli, B., O. Belvedere, et al. (2001). "Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells." Blood **97**(1): 198-204.
- Newman, E. N., R. K. Holmes, et al. (2005). "Antiviral function of APOBEC3G can be dissociated from cytidine deaminase activity." Curr Biol **15**(2): 166-70.
- Nisole, S., J. P. Stoye, et al. (2005). "TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence." Nat Rev Microbiol **3**(10): 799-808.
- Nunn, A. J., H. U. Wagner, et al. (1995). "Migration and HIV-1 seroprevalence in a rural Ugandan population." Aids **9**(5): 503-6.
- Osmanov, S., C. Pattou, et al. (2002). "Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000." J Acquir Immune Defic Syndr **29**(2): 184-90.
- Pacanowski, J., S. Kahi, et al. (2001). "Reduced blood CD123+ (lymphoid) and CD11c+ (myeloid) dendritic cell numbers in primary HIV-1 infection." Blood **98**(10): 3016-21.
- Padian, N. S., S. C. Shiboski, et al. (1997). "Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus (HIV) in northern California: results from a ten-year study." Am J Epidemiol **146**(4): 350-7.
- Pahwa, S. G., M. T. Quilop, et al. (1984). "Defective B-lymphocyte function in homosexual men in relation to the acquired immunodeficiency syndrome." Ann Intern Med **101**(6): 757-63.

- Palmer, L. D., N. Weng, et al. (1997). "Telomere length, telomerase activity, and replicative potential in HIV infection: analysis of CD4+ and CD8+ T cells from HIV-discordant monozygotic twins." J Exp Med **185**(7): 1381-6.
- Pantaleo, G., J. F. Demarest, et al. (1994). "Major expansion of CD8+ T cells with a predominant V beta usage during the primary immune response to HIV." Nature **370**(6489): 463-7.
- Pantaleo, G., C. Graziosi, et al. (1993). "HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease." Nature **362**(6418): 355-8.
- Pantaleo, G., C. Graziosi, et al. (1993). "New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection." N Engl J Med **328**(5): 327-35.
- Pantaleo, G., S. Menzo, et al. (1995). "Studies in subjects with long-term nonprogressive human immunodeficiency virus infection." N Engl J Med **332**(4): 209-16.
- Pantaleo, G., H. Soudeyns, et al. (1997). "Evidence for rapid disappearance of initially expanded HIV-specific CD8+ T cell clones during primary HIV infection." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(18): 9848-53.
- Park, C. S. and Y. S. Choi (2005). "How do follicular dendritic cells interact intimately with B cells in the germinal centre?" Immunology **114**(1): 2-10.
- Patterson, S., A. Rae, et al. (2001). "Plasmacytoid dendritic cells are highly susceptible to human immunodeficiency virus type 1 infection and release infectious virus." J Virol **75**(14): 6710-3.
- Paxton, W. A., S. R. Martin, et al. (1996). "Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure." Nat Med **2**(4): 412-7.
- Petersen-Mahrt, S. K., R. S. Harris, et al. (2002). "AID mutates E. coli suggesting a DNA deamination mechanism for antibody diversification." Nature **418**(6893): 99-103.
- Petersen-Mahrt, S. K. and M. S. Neuberger (2003). "In vitro deamination of cytosine to uracil in single-stranded DNA by apolipoprotein B editing complex catalytic subunit 1 (APOBEC1)." J Biol Chem **278**(22): 19583-6.

- Phair, J., L. Jacobson, et al. (1992). "Acquired immune deficiency syndrome occurring within 5 years of infection with human immunodeficiency virus type-1: the Multicenter AIDS Cohort Study." J Acquir Immune Defic Syndr **5**(5): 490-6.
- Phair, J. P. (1994). "Keynote address: variations in the natural history of HIV infection." AIDS Res Hum Retroviruses **10**(8): 883-5.
- Piatak, M., Jr., M. S. Saag, et al. (1993). "High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR." Science **259**(5102): 1749-54.
- Piccioli, D., S. Tavarini, et al. (2007). "Functional specialization of human circulating CD16 and CD1c myeloid dendritic-cell subsets." Blood **109**(12): 5371-9.
- Pierson, T., T. L. Hoffman, et al. (2000). "Characterization of chemokine receptor utilization of viruses in the latent reservoir for human immunodeficiency virus type 1." J Virol **74**(17): 7824-33.
- Piguet, V., O. Schwartz, et al. (1999). "The downregulation of CD4 and MHC-I by primate lentiviruses: a paradigm for the modulation of cell surface receptors." Immunol Rev **168**: 51-63.
- Pilgrim, A. K., G. Pantaleo, et al. (1997). "Neutralizing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in primary infection and long-term-nonprogressive infection." J Infect Dis **176**(4): 924-32.
- Pion, M., A. Granelli-Piperno, et al. (2006). "APOBEC3G/3F mediates intrinsic resistance of monocyte-derived dendritic cells to HIV-1 infection." J Exp Med **203**(13): 2887-93.
- Plummer, F. A., T. B. Ball, et al. (1999). "Resistance to HIV-1 infection among highly exposed sex workers in Nairobi: what mediates protection and why does it develop?" Immunol Lett **66**(1-3): 27-34.
- Pomerantz, R. J., D. R. Kuritzkes, et al. (1987). "Infection of the retina by human immunodeficiency virus type I." N Engl J Med **317**(26): 1643-7.
- Pope, M., S. Gezelter, et al. (1995). "Low levels of HIV-1 infection in cutaneous dendritic cells promote extensive viral replication upon binding to memory CD4+ T cells." J Exp Med **182**(6): 2045-56.

- Popovic, M., M. G. Sarngadharan, et al. (1984). "Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS." Science **224**(4648): 497-500.
- Poudrier, J., X. Weng, et al. (2003). "The AIDS-like disease of CD4C/human immunodeficiency virus transgenic mice is associated with accumulation of immature CD11bHi dendritic cells." J Virol **77**(21): 11733-44.
- Poudrier, J., X. Weng, et al. (2001). "The AIDS disease of CD4C/HIV transgenic mice shows impaired germinal centers and autoantibodies and develops in the absence of IFN-gamma and IL-6." Immunity **15**(2): 173-85.
- Qiao, X., B. He, et al. (2006). "Human immunodeficiency virus 1 Nef suppresses CD40-dependent immunoglobulin class switching in bystander B cells." Nat Immunol **7**(3): 302-10.
- Quinn, T. C., M. J. Wawer, et al. (2000). "Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group." N Engl J Med **342**(13): 921-9.
- Randolph, G. J., G. Sanchez-Schmitz, et al. (2002). "The CD16(+) (FcgammaRIII(+)) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting." J Exp Med **196**(4): 517-27.
- Reece, J. C., A. J. Handley, et al. (1998). "HIV-1 selection by epidermal dendritic cells during transmission across human skin." J Exp Med **187**(10): 1623-31.
- Reeves, J. D. and R. W. Doms (2002). "Human immunodeficiency virus type 2." J Gen Virol **83**(Pt 6): 1253-65.
- Reimann, K. A., K. Tenner-Racz, et al. (1994). "Immunopathogenic events in acute infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus of macaques." J Virol **68**(4): 2362-70.
- Reymond, A., G. Meroni, et al. (2001). "The tripartite motif family identifies cell compartments." Embo J **20**(9): 2140-51.
- Richman, D. D. and S. A. Bozzette (1994). "The impact of the syncytium-inducing phenotype of human immunodeficiency virus on disease progression." J Infect Dis **169**(5): 968-74.

- Rinaldo, C., X. L. Huang, et al. (1995). "High levels of anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) memory cytotoxic T-lymphocyte activity and low viral load are associated with lack of disease in HIV-1-infected long-term nonprogressors." J Virol **69**(9): 5838-42.
- Robinson, S. P., S. Patterson, et al. (1999). "Human peripheral blood contains two distinct lineages of dendritic cells." Eur J Immunol **29**(9): 2769-78.
- Rodes, B., C. Toro, et al. (2004). "Differences in disease progression in a cohort of long-term non-progressors after more than 16 years of HIV-1 infection." Aids **18**(8): 1109-16.
- Rodriguez, B., H. Valdez, et al. (2003). "Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression." Aids **17**(13): 1983-5.
- Romani, N., S. Gruner, et al. (1994). "Proliferating dendritic cell progenitors in human blood." J Exp Med **180**(1): 83-93.
- Ross, T. M., A. E. Oran, et al. (1999). "Inhibition of HIV-1 progeny virion release by cell-surface CD4 is relieved by expression of the viral Nef protein." Curr Biol **9**(12): 613-21.
- Rottingen, J. A., D. W. Cameron, et al. (2001). "A systematic review of the epidemiologic interactions between classic sexually transmitted diseases and HIV: how much really is known?" Sex Transm Dis **28**(10): 579-97.
- Rowland-Jones, S. L., D. F. Nixon, et al. (1993). "HIV-specific cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant." Lancet **341**(8849): 860-1.
- Sachsenberg, N., A. S. Perelson, et al. (1998). "Turnover of CD4+ and CD8+ T lymphocytes in HIV-1 infection as measured by Ki-67 antigen." J Exp Med **187**(8): 1295-303.
- Sacktor, N., R. H. Lyles, et al. (2001). "HIV-associated neurologic disease incidence changes:: Multicenter AIDS Cohort Study, 1990-1998." Neurology **56**(2): 257-60.
- Salvi, R., A. R. Garbuglia, et al. (1998). "Grossly defective nef gene sequences in a human immunodeficiency virus type 1-seropositive long-term nonprogressor." J Virol **72**(5): 3646-57.
- Samson, M., F. Libert, et al. (1996). "Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene." Nature **382**(6593): 722-5.

- Samson, M., P. Soularue, et al. (1996). "The genes encoding the human CC-chemokine receptors CC-CKR1 to CC-CKR5 (CMKBR1-CMKBR5) are clustered in the p21.3-p24 region of chromosome 3." Genomics **36**(3): 522-6.
- Samuel, C. E. (2001). "Antiviral actions of interferons." Clin Microbiol Rev **14**(4): 778-809, table of contents.
- Schakel, K., R. Kannagi, et al. (2002). "6-Sulfo LacNAc, a novel carbohydrate modification of PSGL-1, defines an inflammatory type of human dendritic cells." Immunity **17**(3): 289-301.
- Schmitz, J. E., M. J. Kuroda, et al. (1999). "Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes." Science **283**(5403): 857-60.
- Schneider, P. (2005). "The role of APRIL and BAFF in lymphocyte activation." Curr Opin Immunol **17**(3): 282-9.
- Schneider, P., F. MacKay, et al. (1999). "BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth." J Exp Med **189**(11): 1747-56.
- Schnittman, S. M., H. C. Lane, et al. (1986). "Direct polyclonal activation of human B lymphocytes by the acquired immune deficiency syndrome virus." Science **233**(4768): 1084-6.
- Schupbach, J., M. Popovic, et al. (1984). "Serological analysis of a subgroup of human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) associated with AIDS." Science **224**(4648): 503-5.
- Schwartz, O., V. Marechal, et al. (1996). "Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein." Nat Med **2**(3): 338-42.
- Sepkowitz, K. A. (2001). "AIDS--the first 20 years." N Engl J Med **344**(23): 1764-72.
- Shao, W., J. Tang, et al. (2007). "CCL3L1 and CCL4L1: variable gene copy number in adolescents with and without human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection." Genes Immun **8**(3): 224-31.
- Sharkey, M. E., I. Teo, et al. (2000). "Persistence of episomal HIV-1 infection intermediates in patients on highly active anti-retroviral therapy." Nat Med **6**(1): 76-81.
- Sheehy, A. M., N. C. Gaddis, et al. (2002). "Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein." Nature **418**(6898): 646-50.

- Sheehy, A. M., N. C. Gaddis, et al. (2003). "The antiretroviral enzyme APOBEC3G is degraded by the proteasome in response to HIV-1 Vif." Nat Med **9**(11): 1404-7.
- Sheppard, H. W., M. S. Ascher, et al. (1991). "The initial immune response to HIV and immune system activation determine the outcome of HIV disease." J Acquir Immune Defic Syndr **4**(7): 704-12.
- Sheppard, H. W., W. Lang, et al. (1993). "The characterization of non-progressors: long-term HIV-1 infection with stable CD4+ T-cell levels." Aids **7**(9): 1159-66.
- Shulga-Morskaya, S., M. Dobles, et al. (2004). "B cell-activating factor belonging to the TNF family acts through separate receptors to support B cell survival and T cell-independent antibody formation." J Immunol **173**(4): 2331-41.
- Siegal, F. P., N. Kadowaki, et al. (1999). "The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood." Science **284**(5421): 1835-7.
- Simon, V., D. D. Ho, et al. (2006). "HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment." Lancet **368**(9534): 489-504.
- Smed-Sorensen, A., K. Lore, et al. (2005). "Differential susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection of myeloid and plasmacytoid dendritic cells." J Virol **79**(14): 8861-9.
- Smith-Franklin, B. A., B. F. Keele, et al. (2002). "Follicular dendritic cells and the persistence of HIV infectivity: the role of antibodies and Fcγ receptors." J Immunol **168**(5): 2408-14.
- Smith, M. W., M. Dean, et al. (1997). "Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC), ALIVE Study." Science **277**(5328): 959-65.
- Smith, S. H. and M. P. Cancro (2003). "Cutting edge: B cell receptor signals regulate BLYS receptor levels in mature B cells and their immediate progenitors." J Immunol **170**(12): 5820-3.
- Soumelis, V., I. Scott, et al. (2001). "Depletion of circulating natural type 1 interferon-producing cells in HIV-infected AIDS patients." Blood **98**(4): 906-12.

- Sova, P. and D. J. Volsky (1993). "Efficiency of viral DNA synthesis during infection of permissive and nonpermissive cells with vif-negative human immunodeficiency virus type 1." J Virol **67**(10): 6322-6.
- Spira, A. I., P. A. Marx, et al. (1996). "Cellular targets of infection and route of viral dissemination after an intravaginal inoculation of simian immunodeficiency virus into rhesus macaques." J Exp Med **183**(1): 215-25.
- Steinman, R. M. and Z. A. Cohn (1973). "Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution." J Exp Med **137**(5): 1142-62.
- Steinman, R. M. and M. C. Nussenzweig (2002). "Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(1): 351-8.
- Stevenson, M. (2003). "HIV-1 pathogenesis." Nat Med **9**(7): 853-60.
- Stohl, W., G. S. Cheema, et al. (2002). "B lymphocyte stimulator protein-associated increase in circulating autoantibody levels may require CD4+ T cells: lessons from HIV-infected patients." Clin Immunol **104**(2): 115-22.
- Stopak, K., C. de Noronha, et al. (2003). "HIV-1 Vif blocks the antiviral activity of APOBEC3G by impairing both its translation and intracellular stability." Mol Cell **12**(3): 591-601.
- Stramer, S. L., J. S. Heller, et al. (1989). "Markers of HIV infection prior to IgG antibody seropositivity." Jama **262**(1): 64-9.
- Strathdee, S. A., P. J. Veugelers, et al. (1996). "Lack of consistency between five definitions of nonprogression in cohorts of HIV-infected seroconverters." Aids **10**(9): 959-65.
- Stremlau, M., M. Perron, et al. (2005). "Species-specific variation in the B30.2(SPRY) domain of TRIM5alpha determines the potency of human immunodeficiency virus restriction." J Virol **79**(5): 3139-45.
- Suarez, F., O. Lortholary, et al. (2006). "Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation." Blood **107**(8): 3034-44.
- Thieblemont, N., L. Weiss, et al. (1995). "CD14^{low}CD16^{high}: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection." Eur J Immunol **25**(12): 3418-24.

- Titanji, K., F. Chiodi, et al. (2005). "Primary HIV-1 infection sets the stage for important B lymphocyte dysfunctions." *Aids* **19**(17): 1947-55.
- Titanji, K., A. De Milito, et al. (2006). "Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serological memory during HIV-1 infection." *Blood*.
- Trinchieri, G. (1989). "Biology of natural killer cells." *Adv Immunol* **47**: 187-376.
- Turville, S. G., P. U. Cameron, et al. (2002). "Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets." *Nat Immunol* **3**(10): 975-83.
- UNAIDS (2006). "Report on the global AIDS epidemic."
- Valcke, H. S., N. F. Bernard, et al. (2006). "APOBEC3G genetic variants and their association with risk of HIV infection in highly exposed Caucasians." *AIDS* **20**(15): 1984-6.
- Valdez, H., N. L. Carlson, et al. (2002). "HIV long-term non-progressors maintain brisk CD8 T cell responses to other viral antigens." *Aids* **16**(8): 1113-8.
- van Kooten, C. and J. Banchereau (2000). "CD40-CD40 ligand." *J Leukoc Biol* **67**(1): 2-17.
- van Rij, R. P., S. Broersen, et al. (1998). "The role of a stromal cell-derived factor-1 chemokine gene variant in the clinical course of HIV-1 infection." *Aids* **12**(9): F85-90.
- Vartanian, J. P., A. Meyerhans, et al. (1991). "Selection, recombination, and G----A hypermutation of human immunodeficiency virus type 1 genomes." *J Virol* **65**(4): 1779-88.
- Vazeux, R., C. Lacroix-Ciaudo, et al. (1992). "Low levels of human immunodeficiency virus replication in the brain tissue of children with severe acquired immunodeficiency syndrome encephalopathy." *Am J Pathol* **140**(1): 137-44.
- Viard, J. P., M. Burgard, et al. (2004). "Impact of 5 years of maximally successful highly active antiretroviral therapy on CD4 cell count and HIV-1 DNA level." *Aids* **18**(1): 45-9.
- Vidicaire, G., S. Gauthier, et al. (2007). "HIV-1 infection of trophoblasts is independent of gp120/CD4 Interactions but relies on heparan sulfate proteoglycans." *J Infect Dis* **195**(10): 1461-71.

- von Bulow, G. U. and R. J. Bram (1997). "NF-AT activation induced by a CAML-interacting member of the tumor necrosis factor receptor superfamily." Science **278**(5335): 138-41.
- von Schwedler, U., J. Song, et al. (1993). "Vif is crucial for human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA synthesis in infected cells." J Virol **67**(8): 4945-55.
- Warren, M. K., W. L. Rose, et al. (1997). "Differential infection of CD34+ cell-derived dendritic cells and monocytes with lymphocyte-tropic and monocyte-tropic HIV-1 strains." J Immunol **158**(10): 5035-42.
- Wawer, M. J., R. H. Gray, et al. (2005). "Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda." J Infect Dis **191**(9): 1403-9.
- Wei, X., S. K. Ghosh, et al. (1995). "Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection." Nature **373**(6510): 117-22.
- Weissman, D., Y. Li, et al. (1995). "Both a precursor and a mature population of dendritic cells can bind HIV. However, only the mature population that expresses CD80 can pass infection to unstimulated CD4+ T cells." J Immunol **155**(8): 4111-7.
- Widney, D., G. Gundapp, et al. (1999). "Aberrant expression of CD27 and soluble CD27 (sCD27) in HIV infection and in AIDS-associated lymphoma." Clin Immunol **93**(2): 114-23.
- Wiley, C. A., R. D. Schrier, et al. (1986). "Cellular localization of human immunodeficiency virus infection within the brains of acquired immune deficiency syndrome patients." Proc Natl Acad Sci U S A **83**(18): 7089-93.
- Winkler, C., W. Modi, et al. (1998). "Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC)." Science **279**(5349): 389-93.
- Winston, J. A., L. A. Bruggeman, et al. (2001). "Nephropathy and establishment of a renal reservoir of HIV type 1 during primary infection." N Engl J Med **344**(26): 1979-84.
- Wolthers, K. C., G. Bea, et al. (1996). "T cell telomere length in HIV-1 infection: no evidence for increased CD4+ T cell turnover." Science **274**(5292): 1543-7.

- Xu, X. N., B. Laffert, et al. (1999). "Induction of Fas ligand expression by HIV involves the interaction of Nef with the T cell receptor zeta chain." J Exp Med **189**(9): 1489-96.
- Yap, M. W., S. Nisole, et al. (2005). "A single amino acid change in the SPRY domain of human Trim5alpha leads to HIV-1 restriction." Curr Biol **15**(1): 73-8.
- Yu, X., Y. Yu, et al. (2003). "Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex." Science **302**(5647): 1056-60.
- Zennou, V., C. Petit, et al. (2000). "HIV-1 genome nuclear import is mediated by a central DNA flap." Cell **101**(2): 173-85.
- Zhang, H., G. Dornadula, et al. (1998). "Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy." N Engl J Med **339**(25): 1803-9.
- Zhang, H., B. Yang, et al. (2003). "The cytidine deaminase CEM15 induces hypermutation in newly synthesized HIV-1 DNA." Nature **424**(6944): 94-8.
- Zhang, J., V. Roschke, et al. (2001). "Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus." J Immunol **166**(1): 6-10.
- Zhang, L., B. Ramratnam, et al. (1999). "Quantifying residual HIV-1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy." N Engl J Med **340**(21): 1605-13.
- Zhang, R., J. D. Lifson, et al. (2006). "Failure of HIV-exposed CD4+ T cells to activate dendritic cells is reversed by restoration of CD40/CD154 interactions." Blood **107**(5): 1989-95.
- Ziegler-Heitbrock, H. W. (1996). "Heterogeneity of human blood monocytes: the CD14+ CD16+ subpopulation." Immunol Today **17**(9): 424-8.
- Zoetewij, J. P. and A. Blauvelt (1998). "HIV-Dendritic cell interactions promote efficient viral infection of T cells." J Biomed Sci **5**(4): 253-9.