

Université de Montréal

**Association entre les dérégulations des cellules
dendritiques et les altérations des lymphocytes B
présentes chez les patients infectés par le VIH**

par

Julie Fontaine

Département de Microbiologie et Immunologie

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Doctorat
en Virologie et Immunologie

Novembre 2010

© Julie Fontaine, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée:

Association entre les dérégulations des cellules dendritiques et les altérations des
lymphocytes B présentes chez les patients infectés par le VIH

Présentée par :
Julie Fontaine

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Petronela Ancuta, président-rapporteur
Dr Michel Roger, directeur de recherche
Dr Johanne Poudrier, co-directeur
Dr Sylvie Lesage, membre du jury
Dr Chris Tsoukas, examinateur externe
Dr Yves Langelier, représentant du doyen de la FES

Résumé

La dérégulation du compartiment B est une conséquence importante de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), qui peut mener à des manifestations auto-immunes et ultimement à des lymphomes B. Parmi les premières anomalies détectées, on dénote l'activation polyclonale, reflétée par la présence d'hyperglobulinémie (hyper-Ig) et des titres élevés d'autoanticorps chez les patients. On observe également une altération des dynamiques des populations, notamment une expansion de la population des cellules matures activées. De plus, les patients évoluent vers l'incapacité de générer une réponse humorale efficace, et sont sujets à une perte de la mémoire immunologique en phase chronique, caractérisée par une diminution de la population des cellules mémoires et par l'épuisement cellulaire. Toutefois, on connaît très peu les mécanismes impliqués dans de telles altérations.

Les cellules dendritiques (DC) sont parmi les premières populations cellulaires à rencontrer et à propager le VIH lors d'une infection, et s'en trouvent affectées directement et indirectement, par le virus et ses composantes. On retrouve en effet une diminution des fréquences de DC dans le sang, les muqueuses et les organes lymphoïdes de patients infectés par le VIH, ainsi qu'un blocage au niveau de la maturation cellulaire. Toutefois, un débat perdure quant à l'apparition de ces altérations durant la phase aiguë de l'infection, et à la restauration des fréquences et des fonctions des DC chez les patients sous traitement. Cette controverse est due à la rareté des études longitudinales incluant des suivis qui s'échelonnent de la phase aiguë à la phase chronique de l'infection.

Les DC jouent un rôle important dans le développement, la survie et l'activation des lymphocytes B, de façon T-dépendante et T-indépendante, notamment via des facteurs de croissance tel que B_{LyS} (*B lymphocyte stimulator*). Par conséquent, nous formulons l'hypothèse que dans le cadre d'une infection VIH, les altérations observées au niveau des cellules B sont modulées par les DC.

L'objectif majeur de cette étude est donc d'évaluer l'implication potentielle des DC dans les altérations des cellules B au cours de l'infection par le VIH. Pour ce faire, nous avons d'abord caractérisé de façon longitudinale le statut des populations de DC du sang périphérique de patients infectés au VIH et présentant différents types de progression de la maladie. Cela nous a permis d'évaluer la présence d'une corrélation entre les dynamiques de DC et le type de progression. Par la suite, nous avons évalué la capacité des DC à exprimer

BLyS, puis mesuré sa concentration ainsi que celles d'autres facteurs de croissance des cellules B dans le plasma des patients. Enfin, nous avons caractérisé le statut des lymphocytes B, en fonction du stade de l'infection et du taux de progression clinique des patients.

Cette étude démontre une diminution de la fréquence des populations de DC myéloïdes (mDC) dans le sang de patients infectés par le VIH sujets à une progression clinique. Cette diminution est observée dès le stade aigu de l'infection et au-delà du traitement antirétroviral (ART). Des concentrations élevées de MCP-1 (*monocyte chemotactic protein*), MIP (macrophage inflammatory protein) -3 α et MIP-3 β suggèrent la possibilité d'un drainage vers des sites périphériques. Nous observons également des niveaux supérieurs à la normale de précurseurs CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ en phase chronique, possiblement liés à une tendance de régénération des DC. Les patients en phase chronique présentent de hautes concentrations plasmatiques de BLyS, reflétée par un haut taux d'expression de cette cytokine par les mDC et leurs précurseurs. Parallèlement, nous observons une expansion des cellules B matures activées ainsi que des taux élevés d'IgG et IgA dans le sang de ces patients. De plus, nous constatons l'expansion d'une population de cellules B qui présente à la fois des caractéristiques de cellules B immatures transitionnelles (TI, *transitional immature*), et de cellules B recirculantes activées de la zone marginale (MZ, *marginal zone*), considérées ici comme des « précurseurs/activées de la MZ ».

Cette étude démontre aussi, chez les progresseurs lents, une meilleure préservation du compartiment des DC du sang périphérique, accompagnée d'une augmentation de précurseurs des DC de phénotype CD11c⁺CD14⁺CD16⁺, ainsi que des concentrations plasmatiques et niveaux d'expression normaux de BLyS. Conséquemment, nous n'avons pas observé d'augmentation des cellules B matures activées et des cellules B précurseurs/activées de la MZ. Toutefois, la fréquence des cellules B matures de la MZ est diminuée, reflétant possiblement leur recrutement vers des sites périphériques et leur contribution à un mécanisme actif de contrôle de la progression de la maladie.

L'ensemble de ce travail suggère que dans le cadre d'une infection au VIH, les altérations observées au niveau des DC modulent les anomalies des cellules B. Par conséquent, le maintien de l'équilibre des fonctions DC, notamment les fonctions non-inflammatoires, pourrait avoir un impact important dans la prévention de la progression de maladies associées aux altérations du compartiment des cellules B.

Mots-clés : Virus de l'immunodéficience humaine, sang, cellules dendritiques, cellules B, BlyS, progression clinique, inflammation

Abstract

Dysregulations of the B cell compartment are an important consequence of human immunodeficiency (HIV) infection, which can lead to auto-immune manifestations and ultimately to B cell lymphomas. One of the first alterations is polyclonal activation, reflected by hyperglobulinemia (hyper-Ig) and elevated autoantibody titers. We can also observe alterations in population dynamics, namely an expansion of the pool of activated B cells. Furthermore, HIV infected patients evolve towards the incapacity to generate effective humoral responses, and experience a loss of immunological memory in the chronic phase, characterized by a decrease in the memory B cell pool and cell exhaustion. The mechanisms involved in this phenomenon are poorly understood and thus remain to be elucidated.

Mucosal dendritic cells (DC) are among the first cell populations to encounter HIV during an infection and are directly and indirectly affected by the virus and viral components. Indeed, HIV infected individuals present decreased DC frequencies in their blood, mucosae and lymphoid organs, as well as a block in DC maturation process. However, whether these defects appear as soon as the acute phase and persist beyond ART, remains controversial. This is mainly due to the scarcity of longitudinal studies including patients' visits from the earliest phases of infection and following ART.

DC play an important role in T-dependent and T-independent B cell development, survival and activation, namely through the production of growth factors such as B Lymphocyte Stimulator (BLyS). Therefore, we hypothesize that B cell abnormalities in HIV-infected individuals may be modulated by altered DC populations.

The main objective of this study is to evaluate DC involvement in the establishment of B cell alterations related to HIV infection. We have thus first characterized the DC status by longitudinally assessing the dynamics of peripheral blood DC populations of HIV infected individuals with different rates of disease progression. This allowed us to evaluate the potential correlation between DC population dynamics and rate of disease progression. We have then evaluated BLyS expression by mDC and their precursors, and measured plasma concentrations of BlyS and other cytokines with B cell growth factor properties. Finally, we have characterized the dynamics of blood B cell populations, with regard to the phase of HIV infection and the rate of clinical progression.

We demonstrate a decrease in the frequencies of blood myeloid DC (mDC) in HIV progressors. This drop was observed as early as in the acute phase and following the initiation of ART. Elevated blood concentrations of monocyte chemotactic protein (MCP) -1, macrophage inflammatory protein (MIP) -3 α and MIP-3 β suggest that the observed decrease is due to recruitment to peripheral sites. However, this hypothesis will be tested in a subsequent projet. We have also observed an increase of monocytic CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ DC precursors in chronic phases, possibly reflecting the high DC turnover. Furthermore, chronically infected HIV progressors present elevated blood BLYS concentrations, and high BLYS expression by DC and DC precursors. In parallel, these patients present increased frequencies of blood mature activated B cells as well as hyper IgG and IgA. Interestingly, we also observe expansion of a B cell population with features of precursors/activated marginal zone (MZ) B cells.

On the other hand, slow progressors show a better preservation of their mDC compartment, accompanied by an increase in DC precursors with a CD11c⁺CD14⁺CD16⁺ phenotype. These patients present normal BLYS plasma concentrations and membrane expression on DC and precursors. In parallel, they have normal frequencies of blood mature activated B cells and precursors/activated MZ B cells. However, we found decreased frequencies of mature MZ B cells, suggesting recruitment to peripheral sites and involvement in active control of disease progression.

Our results suggest that, in an HIV infection, alterations observed in the DC compartment contribute to B cell abnormalities. Therefore, it is crucial to maintain the equilibrium of DC fonctions, namely non-inflammatory functions, in order to prevent progression of disease attributable to dysregulation of the B cell compartment.

Keywords : Human immunodeficiency virus, blood, dendritic cells, B cells, clinical progression, BLYS, inflammation

Table des matières

Résumé	i
Abstract	iv
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	x
Liste des abréviations	xii
Dédicace	xv
Avant-propos	1
Revue de littérature.....	3
1 Cycle réplicatif du VIH.....	3
1.1 Entrée du virus.....	4
1.2 Décapsidation, transcription inverse et intégration	5
1.3 Assemblage.....	5
2 Progression clinique du VIH.....	7
2.1 Transmission et primo-infection	8
2.2 Séroconversion.....	8
2.3 Phase chronique	9
2.4 SIDA	9
2.5 Traitement antirétroviral.....	10
2.6 Types de progression clinique	11
3 Facteurs de progression clinique du VIH.....	12
3.1 Facteurs viraux.....	12
3.2 Facteurs génétiques de l'hôte.....	16
3.3 Facteurs immunologiques de l'hôte	19
4 Cellules dendritiques	28
4.1 Les populations de DC et leurs fonctions	28
4.2 DC et VIH.....	36
5 Lymphocytes B	43
5.1 Différentiation des lymphocytes B et fonctions des populations	43

5.2	Lymphocytes B et VIH.....	56
6	Axe DC-cellules B dans le contexte de l'infection à VIH : observations chez le modèle murin transgénique pour le VIH.....	61
	Hypothèses	63
	Objectifs	64
1	Corrélation du stade de différenciation des DC avec le statut de progression et la phase de l'infection VIH	64
2	Implication des DC dans la production de facteurs de croissance pour les cellules B	64
3	Évaluation des fréquences des populations de cellules B du sang en fonction du stade de l'infection et du statut de progression clinique	65
	Article 1	66
	Article 2.....	98
	Article 3.....	109
	Discussion	146
1	Progression clinique du VIH.....	146
1.1	Dynamiques des mDC dans un contexte de progression clinique.....	146
1.2	Dynamiques des précurseurs de mDC dans un contexte de progression clinique	149
1.3	Dynamiques des pDC dans un contexte de progression clinique.....	150
1.4	Production de BlyS par les DC et leurs précurseurs dans un contexte de progression clinique.....	151
1.5	Cytokines avec potentiel de croissance pour les lymphocytes B chez les patients progresseurs.....	152
1.6	Altérations des populations de cellules B chez les progresseurs.....	153
1.7	Implication des DC dans les altérations du compartiment des cellules B chez les progresseurs.....	155
2	Mécanismes de contrôles liés à l'absence de progression clinique du VIH.....	155
	Conclusion.....	159
	Perspectives	161
1	Migration des DC en périphérie	161
2	Caractérisation du compartiment mucosal.....	162

3	Caractérisation du compartiment des cellules B	163
4	Implication des DC dans les altérations du compartiment de cellules B chez les patients infectés par le VIH	164
	Bibliographie	166

Liste des tableaux

Article 1:

Table 1. Socio-demographic and clinical characteristics of HIV-infected individuals 96

Article 3:

Table 1. Socio-demographic and clinical characteristics of HIV-infected individuals141

Liste des figures

Figure 1. Cycle de réplication du VIH.	3
Figure 2. Progression de l'infection par le VIH. Adapté de : Grossman et coll., Nature Medicine 2006 ²⁹ , avec l'autorisation de MacMillan Publishers.	7
Figure 3. Différentiation des cellules T CD4 ⁺ , facteurs de transcription et cytokines Fcaractéristiques des différentes populations.	19
Figure 4. Différentiation des monocytes.	29
Figure 5. Migration des DC dans les ganglions.	32
Figure 6. Différentiation des lymphocytes B.	43
Figure 7. Environnement des centres germinatifs.	48
Figure 8. a) Structure de la rate murine. b) Structure de la zone marginale.	51
Figure 9. Activation T-dépendante et T-indépendante des lymphocytes B.	53

Article 1 :

Figure 1. Longitudinal changes in CD4 ⁺ T cell counts and viral loads.	89
Figure 2. Relative percentage of monocytes.	90
Figure 3. Relative percentage of myeloid dendritic cell (mDC) sup-populations in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC).	91
Figure 4. Relative levels of surface expression of CD86 and HLA-DR on myeloid dendritic cell (mDC).	93
Figure 5. Relative levels of myeloid dendritic (mDC) precursor subsets in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and levels of surface expression of HLA-DR and CD86.	94
Figure 6. Relative levels of plasmacytoid dendritic cells (pDC) in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and levels of surface expression of HLA-DR and CD86. .	95

Article 2:

Figure 1. Plasma concentrations (pg/ml) of CCL2 (A), CCL20 (B) and CCL19 (C) in rapid (left panel), normal (middle panel) and slow progressors (right panel).....	108
---	-----

Article 3:

Figure 1. BLyS expression by myeloid dendritic cells (mDC).....	135
Figure 2. BLyS expression by monocytes and myeloid dendritic cell (mDC) precursors	136
Figure 3. Plasma concentration of A) <i>B Lymphocyte Stimulator</i> (BLyS), B) <i>A Proliferation-inducing ligand</i> (APRIL), C) interleukin (IL)-6 and D) IL-10 in rapid, normal and slow progressors	137
Figure 4. Relative frequencies of circulating B cell populations	138
Figure 5. Relative frequencies of marginal zone type B cells	140
Supplemental figure 1.....	143
Supplemental figure 2.....	144
Supplemental figure 3.	145

Liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique

APC : *Antigen presenting cell*, cellule présentatrice d'antigènes

APRIL: *A proliferation inducing ligand*

ARN: acide ribonucléique ART: *antiretroviral treatment*, traitement antirétroviral

BAFF: *B-cell activating factor*

BAFF-R: récepteur de BAFF

BCL-2: *B cell lymphoma 2*

BCMA: *B-cell maturation antigen*

BCR : *B-cell receptor*, récepteur des cellules B

BLyS: *B Lymphocyte Stimulator*

CCL: *C-C chemokine ligand*

CCR: *CC-chemokine receptor*

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité

CMV: Cytomegalovirus

Cr2: *Complement receptor 2*, récepteur de complément 2

CTL: *cytotoxic T lymphocytes*, cellules T cytotoxiques

CXCR: *CXC-chemokine receptor*

DC: *dendritic cells*, cellules dendritiques

DCIR: *dendritic cell immunoreceptor*, immunorécepteur des cellules dendritiques

DD: *death domain*

ESCRT: *endosomal sorting complex required for transport*

Fab: *fragment antigen binding*, fragment de liaison d'antigènes

Fc: fragment cristallisable

FcRL4: *Fc receptor like 4*

FDC: *Follicular dendritic cells*, cellules dendritiques folliculaires

gp: glycoprotéine

HAART: *highly active antiretroviral therapy*, thérapie antirétrovirale très active

HIV: *human immunodeficiency virus*

HLA: *human leukocyte antigen*, antigène des leucocytes humains

Hyper Ig: hyperglobulinémie

ICAM: *Intercellular adhesion molecule*, molécule d'adhésion intercellulaire

IDO: indoleamine 2-3-dioxygénase

IFN: interféron

Ig: immunoglobuline

IL: interleukine

LBP: *lipopolysaccharide binding protein*, protéine liant les lipopolysaccharides

LC: *Langerhans cells*, cellules de Langerhans

LPS: Lipopolysaccharides

LTNP: *Long Term Non Progressors*

LTR: *long terminal repeat*

MCP: *monocyte chemotactic protein*

mDC: *myeloid dendritic cells*, cellules dendritiques myéloïdes

MIP: *macrophage inflammatory protein*

MZ: *marginal zone*, zone marginale

NK : *natural killer*, tueuses naturelles

OMS: Organisation mondiale de la Santé

PAMP: *pathogen associated molecular patterns*, patrons moléculaires caractéristiques de pathogènes

PBMC: *peripheral blood mononuclear cells* », cellules mononuclées du sang périphérique

PD: *programmed death*, mort programmée

PRR: *pattern-recognition receptor*, récepteurs de reconnaissance de patrons

RA: *retinoic acid*, acide rétonoïque

RANTES: *Regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*

RT-PCR: *reverse-transcriptase polymerase chain reaction*

SDF: *stromal derived factor*

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

SLC: *secondary lymphoid tissue chemokine*

SOCS: *Suppressor of cytokine signaling*

STAT: *signal transducer and activator of transcription*

TACI: *transmembrane activator calcium modulator and cyclophilin ligand interactor*

TGF: *Tumor growth factor*

TI: *transitionnal immature*, immature de transition

TLR: *Toll like receptor*, récepteur de type Toll

TNF: *Tumor necrosis factor*

TRAIL: *TNF-related apoptosis-inducing ligand*

TSLP: *Thymic stromal lymphopietin*

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

VIS: virus de l'immunodéficience simienne

Dédicace

Je tiens à dédier cette thèse à ma famille. Papa et maman, c'est grâce à vous si je suis rendue ici aujourd'hui. Vous m'avez toujours montré à croire en moi et à aller au bout de mes rêves.

À Simon, mon amour, qui a partagé ma vie pendant les huit dernières années, qui m'a toujours soutenue et qui a toujours été là pour moi.

À Xavier, mon fils et mon rayon de soleil, qui depuis un an et demie me fait voir la vie sous un nouvel angle, et me permet de profiter de tous ses petits plaisirs.

Remerciements

Je voudrais d'abord remercier les équipes des cohortes de primo-infection et LTNP, pour avoir permis la mise sur pied d'un projet d'une telle envergure. Merci également à tous les participants à ces deux études, sans qui ce projet n'aurait jamais pu être réalisé.

J'aimerais également remercier mes deux directeurs de recherche Dr Michel Roger et Dr Johanne Poudrier, pour toute votre aide, votre soutien et vos précieux conseils.

Un gros merci également à toute l'équipe du laboratoire, passée et présente : Brigitte Saint-Denis et Josiane Chagnon-Choquet pour votre précieuse aide technique. Et merci à tout le personnel du labo, passé et présent : Annie Jeanneau, Julie Lajoie, Julie Lacaille, Geneviève Boily-Larouche, Karine Beauchemin, Andrée-Anne Boivin et Marie-Claude Faucher. J'ai eu l'immense plaisir de partager mon quotidien avec vous pendant plusieurs années pour certains (moins longtemps pour d'autres), et je tiens à vous en remercier! Merci au personnel de Saint-Luc, Maryse Lainesse et Véronique Lafontaine. Non seulement vous m'avez permis d'obtenir de précieux échantillons, mais vous avez également agrémenté mes nombreuses heures « enfermée au P3 ».

Finalement, je tiens à remercier ma famille, pour votre soutien pendant toutes ces années. Papa, maman, vous m'avez permis de croire en moi et d'aller au bout de mes capacités. Simon et Xavier, je n'y serais jamais arrivée sans votre soutien, votre amour et votre affection! Gros gros merci!!

Avant-propos

Depuis sa découverte en 1983, l'infection par le VIH a pris des proportions pandémiques, et le nombre de personnes vivant avec le VIH est en constante augmentation. On dénombre 33 millions de personnes qui vivent avec le VIH à travers le monde, dont 2.7 millions qui ont été infectées au cours de l'année 2008 et 2 millions qui sont décédées du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) durant cette même période (1).

La majeure partie de la pandémie mondiale du VIH se retrouve en Afrique subsaharienne, où 22.4 millions de personnes sont infectées. On retrouve néanmoins 1.4 millions de personnes vivant avec le VIH en Amérique du Nord, dont 60 000 au Canada, où on estime que 2000 à 4000 personnes sont infectées chaque année (2). Dans la population canadienne, les principaux groupes touchés par l'épidémie sont les homosexuels, mais on retrouve aussi beaucoup de gens infectés parmi les utilisateurs de drogues intraveineuses et les populations autochtones (2,3).

L'arrivée de la trithérapie antirétrovirale (HAART, *highly active antiretroviral therapy*), en 1996, a grandement amélioré la qualité de vie des personnes vivant avec le VIH, notamment en supprimant de façon efficace la réplication virale dans 85% des cas. Bien qu'étant inefficaces pour éradiquer l'infection, ces traitements ont grandement amélioré la qualité et la durée de vie des patients. L'absence d'un traitement curatif et d'un vaccin contre le VIH sont principalement dus au fait que les interactions entre le virus et le système immunitaire ainsi que tous les mécanismes de protection et de pathogénèse virale n'ont pas encore été élucidés. En effet, un grand nombre de facteurs susceptibles d'influencer la progression de la maladie demeurent controversés, et font l'objet de plusieurs projets de recherche à travers le monde (4,5).

Des anomalies au niveau du compartiment des lymphocytes B sont fréquemment observées chez les patients infectés par le VIH, mais les mécanismes impliqués demeurent à être élucidés (6-11). Des altérations des DC ont également été décrites dans le cadre d'infections au VIH, notamment au niveau des dynamiques des populations (12-19) et au niveau de la maturation cellulaire (14,20-22). En raison du rôle joué par les DC dans la régulation des cellules B (23-26), nous avons recherché à établir un lien entre les altérations des compartiments DC et B chez les patients infectés par le VIH. Une telle relation a été observée dans un modèle murin, et constitue la base de notre hypothèse (27-30). Par

conséquent, nous avons évalué les dynamiques de populations de DC et de cellules B de façon longitudinale, chez des patients infectés par le VIH affichant différents taux de progression clinique.

Avant de présenter le travail de recherche, un survol du cycle répliatif du VIH et de l'histoire naturelle de l'infection sera présenté, suivi d'une révision des facteurs connus associés à des différences de progression clinique. Le sujet des DC est par la suite abordé, en commençant par une révision des différentes populations et de leurs fonctions, suivie d'une sous-section sur les altérations fonctionnelles des DC induites par le VIH. Par la suite, les lymphocytes B seront présentés, d'abord révisant la différenciation cellulaire et les fonctions des différentes populations, ensuite décrivant les effets du VIH sur ces cellules. Cette revue de la littérature se termine par une révision des observations sur « l'axe DC-cellules B dans le contexte du VIH » qui ont donné lieu aux hypothèses de travail et aux objectifs de cette étude, qui seront décrits par la suite. Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'articles démontrant un lien étroit entre les altérations des compartiments des DC et des cellules B. Le tout sera suivi d'une discussion de ces résultats et de leur signification, une conclusion et une section portant sur les perspectives de projets générées par les résultats obtenus lors de cette étude.

Revue de littérature

1 Cycle répliatif du VIH

Le VIH appartient à la famille des *Retroviridae*, une famille de virus dont le génome est composé d'acide ribonucléique (ARN), et dont la répliation comprend une étape de transcription inverse, suivie de l'intégration de l'ADN proviral au génome de l'hôte (31). Le cycle répliatif du VIH est illustré ici dans la figure 1, et discuté en détails plus bas.

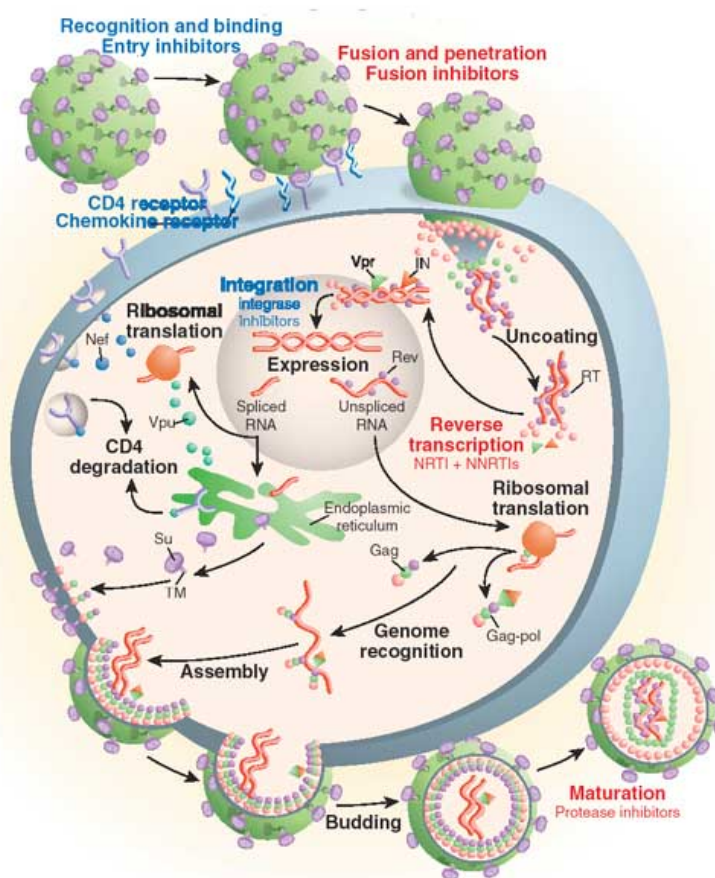


Figure 1. Cycle de répliation du VIH.

Tiré de Pomerantz et coll. *Nature Medicine* 2003 (32).

Avec l'autorisation de Nature Publishing Group.

1.1 Entrée du virus

Le VIH cible les cellules exprimant la molécule CD4, qui agit en tant que récepteur principal (33-35). Cette molécule est exprimée à la surface de plusieurs populations cellulaires, notamment les lymphocytes T auxiliaires, les DC et les macrophages, et permet l'activation de la cellule suite à sa liaison avec le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (36-42).

La première étape préalable à l'entrée est la reconnaissance de CD4 par la glycoprotéine de l'enveloppe virale gp120. Cette liaison est toutefois insuffisante, et l'entrée du virus requiert l'utilisation d'un co-récepteur. En effet, des études effectuées *in vitro* ont démontré que certains virus, appelés « M-tropiques » se répliquaient préférentiellement dans les macrophages, tandis que d'autres, les virus « T-tropiques », présentent un taux de réplication élevé dans les cellules T mais pas dans les macrophages. Des études effectuées par la suite ont permis d'identifier les récepteurs de chimiokines CCR5 et CXCR4 en tant que co-récepteurs (43,44). Les souches virales qui infectent les cellules CCR5⁺, soit les cellules T activées, mémoires effectrices et certaines populations de DC et de macrophages, sont dites R5 (45-48) et les souches virales qui infectent les cellules CXCR4⁺ sont dites X4. Ces derniers sont notamment capables d'infecter des cellules CD4⁺ naïves et mémoires quiescentes (45,48,49). Les implications cliniques de l'utilisation de l'un ou l'autre des co-récepteurs seront discutées en détails plus bas, dans la section « Facteurs de progression – Changement de tropisme viral ».

Suite à l'attachement du virus à ses récepteurs, le VIH entre dans la cellule par un mécanisme de fusion membranaire initié par la protéine de l'enveloppe gp41. L'enveloppe virale se lie alors à la membrane cellulaire, ce qui permet la livraison de la capsid virale à l'intérieur de la cellule (50). L'entrée du virus peut également se faire par un processus d'endocytose mais sans dégradation subséquente dans les lysosomes. Ceci est caractérisé par l'internalisation du virus dans des vésicules, suivie de la libération de la capsid dans le cytoplasme (47,51,52).

1.2 Décapsidation, transcription inverse et intégration

Suite à l'entrée du virus, la capsid virale est libérée dans le cytoplasme puis dégradée. Ceci permet la génération du complexe de transcription inverse, qui comprend l'ARN viral, l'amorce ARN de transfert-lysine (tRNA^{Lys}), la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase, ainsi que la protéine structurale de la matrice, la nucléocapside et la protéine accessoire Vpr (47). Ce complexe se lie aux microfilaments d'actine, où la transcriptase inverse, aidée de l'amorce tRNA^{Lys}, initie la synthèse de l'ADN proviral (47,53). Il y a ensuite formation du complexe de préintégration composé des protéines virales intégrase, transcriptase inverse, Vpr et la matrice, liées à l'ADN proviral (54,55). Ce complexe est transloqué au noyau via des microtubules (47,56,57). La translocation est suivie de l'intégration au génome de la cellule hôte, qui requiert la coupure de nucléotides à la fois au niveau de l'ADN viral que de l'ADN cellulaire par la protéine virale intégrase, suivie de la réparation de l'ADN par les polymérases de l'hôte (58-64). L'étape d'intégration peut résulter en une auto-intégration, qui génère des formes circulaires d'ADN proviral, qui seront dégradées car elles sont incapables de générer de nouveaux virions (65-70).

1.3 Assemblage

Une fois l'ADN viral intégré au génome de la cellule hôte, la cellule produit des ARN messagers viraux codant pour les protéines de structure et de fonction du VIH. L'extrémité 5' du *long terminal repeat* (LTR) comporte des sites de liaison à plusieurs facteurs de transcription cellulaires, permettant ainsi le détournement de la machinerie cellulaire (71-81). De courts segments d'ARN sont initialement transcrits, et ne permettent que la synthèse de la protéine Tat. Cette protéine aura pour effet, par la suite, d'engendrer la génération d'ARN plus longs, en permettant le recrutement de facteurs cellulaires d'élongation (82-84). D'abord, des ARN fortement épissés codant pour les protéines Rev, Tat et Nef seront générés puis exportés du noyau pour être traduits en protéines. Par la suite, la protéine Rev est retournée au noyau, et permet l'export d'ARN partiellement épissés, notamment Env, Vif,

Vpr et Vpu, et d'ARN non-épissés, soit Gag-Pol, et l'ARN génomique qui sera encapsidé (85,86). La traduction de Gag-Pol génère deux polyprotéines, soit Gag et le précurseur Gag-Pol, produit par un changement de cadre de lecture (-1) du ribosome (87).

Une fois les ARN messagers traduits, certaines protéines virales subissent des modifications. Ainsi, l'ajout d'un acide myristique au domaine de la matrice du précurseur Gag-Pol permet sa liaison à la membrane plasmique, préalable à l'assemblage de particules virales (31,47,87,88). La protéine Env est synthétisée et glycosylée dans le réticulum endoplasmique rugueux, puis clivée dans l'appareil de Golgi par une protéase cellulaire. Ce processus permet la génération des glycoprotéines gp120 et gp41, qui sont associées de façon non-covalente et portées à la membrane plasmique pour être ensuite liées aux virions qui seront générés (51).

Par la suite, les différentes composantes s'assemblent afin de former de nouvelles particules virales. Le processus d'assemblage, initié par le précurseur Gag-Pol, a lieu à la membrane plasmique. Le domaine de la matrice se lie à la membrane via un acide myristique, et la nucléocapside lie l'ARN viral, permettant son encapsidation (89). D'autres unités de Gag se lient ensuite à ce complexe, accompagnées des protéines Env et Vpr (87,90).

Finalement, des virions immatures sont relâchés par bourgeonnement, stimulé par le domaine p6 de la polyprotéine Gag-Pol et par la protéine cellulaire tsg101, partie du système de triage des protéines de la voie vacuolaire (ESCRT, *endosomal sorting complex required for transport*). Le complexe ainsi formé permet le transport des virions immatures vers les vacuoles, et leur libération subséquente de la cellule (91,92). À la suite du bourgeonnement, les virions subissent une dernière étape de maturation, qui inclut le clivage des protéines Gag et Gag-Pol par le domaine protéase de Gag-Pol, suivi du réarrangement des protéines ainsi générées. Le clivage de la polyprotéine Gag produit les protéines de la capsid, la nucléocapside et deux peptides, p1 et p2 (87). Le clivage du précurseur Gag-Pol génère les enzymes protéase, transcriptase inverse et intégrase (87).

2 Progression clinique du VIH

L'infection par le VIH et la progression clinique chez les patients infectés par le VIH est caractérisée par trois phases, soit la phase aiguë, la phase chronique et la phase SIDA, dont la durée varie d'un patient à l'autre. Ces périodes sont illustrées ici dans la figure 2, et discutées plus bas.

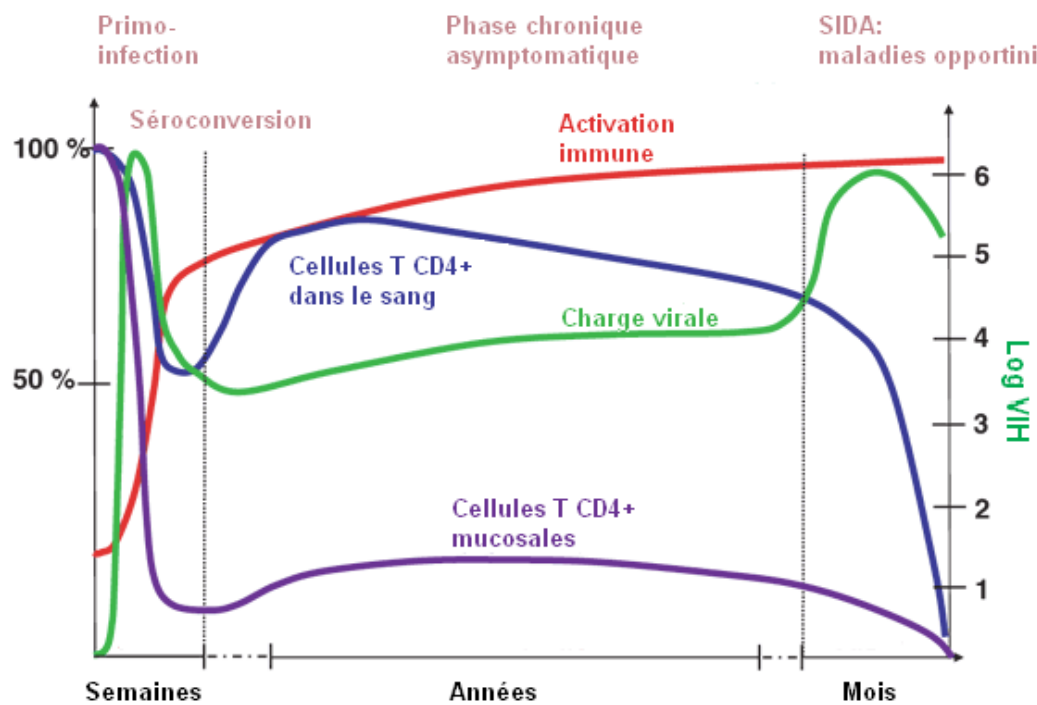


Figure 2. Progression de l'infection par le VIH.

Adapté de : Grossman et coll., Nature Medicine 2006 (93), avec l'autorisation de MacMillan Publishers.

2.1 Transmission et primo-infection

La transmission du VIH a lieu selon trois différents modes, soit la transmission mucoale, parentérale ou verticale. La transmission mucoale est la plus fréquente, et se produit par contact hétérosexuel ou homosexuel (2). La transmission parentérale a lieu principalement par l'injection de drogues intraveineuses (2). La transmission verticale constitue la transmission du VIH de mère à l'enfant, via le placenta, durant l'accouchement, ou à travers le lait maternel (1).

Au moment de l'infection, le virus traverse les muqueuses, où on retrouve plusieurs populations cellulaires susceptibles d'être infectées, entre autres des cellules T CD4⁺, des DC et des cellules de Langerhans (94-100) Il y a alors établissement d'un foyer d'infection local principalement composé de cellules T CD4⁺ (101). Le virus est ensuite transporté vers les organes lymphoïdes, où il y a dissémination et établissement d'un réservoir viral, constitué notamment de DC (96) et de DC folliculaires, qui sont des cellules stromales, ayant la capacité de séquestrer des virions à la surface de la cellule, puis de les transmettre aux cellules T par la suite (102,103). Ce stade, d'une durée de quelques semaines, constitue la phase aigüe, ou la primo-infection. Les patients nouvellement infectés sont souvent sujets à des symptômes tels que de la fièvre, une fatigue intense, une lymphadénopathie, un mal de gorge et des douleurs musculaires, qui peuvent être confondus avec la mononucléose et donc passer inaperçus. Cette phase est également caractérisée par la réplication incontrôlée du virus et sa dissémination au niveau des organes lymphoïdes, accompagnée d'une diminution rapide et marquée des lymphocytes T CD4⁺ du sang et des muqueuses (104,105).

2.2 Séroconversion

Après la phase aigüe, environ huit à douze semaines suivant l'infection, il y a production d'anticorps spécifiques de type IgG contre les protéines de structure du VIH. Ce stade se nomme la séroconversion, et c'est à partir de ce moment qu'il est possible de poser le diagnostic d'infection par le VIH (106). Bien que ces anticorps ne permettent pas la

neutralisation du virus, leur apparition coïncide avec la restauration partielle des taux de cellules T CD4⁺ du sang circulant, le développement de réponses cytotoxiques et une diminution suivie d'une stabilisation de la charge virale à un niveau appelé le « set-point virologique » (107-109).

2.3 Phase chronique

Suivant la stabilisation de la charge virale et des cellules T CD4⁺ du sang, le patient entre alors dans la phase chronique de l'infection, qui est une phase de latence clinique, généralement asymptomatique. Cette phase est d'une durée variable, pouvant aller de quelques mois à plus de vingt ans, mais d'une durée moyenne de sept à onze ans en l'absence de ART (110).

Bien qu'elle soit asymptomatique, la phase chronique est néanmoins caractérisée par un déclin progressif des cellules T CD4⁺ dans le sang, et une réplication du virus (111-114). Ces phénomènes ont lieu à des vitesses variables selon les individus, ce qui explique les différences de durées des différents stades, discutées plus bas (110,115-118).

2.4 SIDA

Malgré l'absence de symptômes lors de la phase chronique, les fonctions immunes des patients sont graduellement détériorées, et deviennent insuffisantes pour combattre plusieurs infections. Ce stade, nommé SIDA, est caractérisé par l'apparition d'infections opportunistes telles des pneumonies, des candidoses buccales ou eosophageales ou la tuberculose. Certains cancers sont associés au SIDA, notamment le sarcome de Kaposi, les lymphomes non-hodgkiniens, et le carcinome cervical invasif (119). Il peut également y avoir infiltration de virus et de médiateurs d'inflammation au cerveau, ce qui mène à un état de démence associée au SIDA (120-128).

2.5 Traitement antirétroviral

Des agents antirétroviraux peuvent être élaborés ciblant chacune des étapes du cycle de réplication du VIH. Toutefois, on retrouve en grande partie des médicaments dirigés contre la transcriptase inverse et la protéase. Le traitement antirétroviral très actif (HAART, *highly active antiretroviral therapy*) consiste en un cocktail de médicaments composé de deux inhibiteurs de transcriptase inverse et d'un inhibiteur de protéase. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande généralement l'initiation du traitement lorsque les taux de lymphocytes T CD4⁺ sanguins des patients sont sous le seuil établi de 350 cellules/mm³, ou lors de l'apparition de symptômes ou de maladies opportunistes (129).

Les effets immédiats du traitement antirétroviral sont la diminution de la charge virale et la restauration des fonctions immunes, notamment l'augmentation des lymphocytes T CD4⁺ du sang (130,131). Par contre, en raison de l'établissement de réservoirs viraux et de la dissémination du virus à des sites inaccessibles, ces traitements ne permettent pas l'éradication de l'infection et la guérison des patients (132-134). Ce traitement permet toutefois d'augmenter la durée de vie des patients et de retarder l'apparition de symptômes et de maladies opportunistes (131,135).

Étant donné le haut taux de réplication du VIH et la génération de mutations par la transcriptase inverse, on voit fréquemment apparaître des cas de résistance aux antirétroviraux. Au Canada, on estime la résistance à au moins un médicament à environ 9%, tandis que la résistance multiple est d'environ 1% (2). En outre, ces traitements entraînent de nombreux effets secondaires, tels la lipodystrophie et la néphrotoxicité, qui peuvent entraîner une mauvaise prise de ces médicaments, et par conséquent entraîner le développement de résistance (136-142).

Bien qu'on observe une restauration des lymphocytes T CD4⁺ chez la majorité des patients sous thérapie, les impacts de ces traitements sur les autres paramètres immunitaires demeurent controversés et feront l'objet de discussions plus loin dans cet ouvrage (12-19,143-153).

2.6 Types de progression clinique

2.6.1 Progresseurs rapides

Le temps médian de progression clinique de l'infection par le VIH est de sept à onze ans en l'absence de ART (110). Toutefois, environ 10% des patients vont atteindre la phase SIDA en moins de trois ans, et sont donc appelés progresseurs rapides (115,116). Ces individus présentent un déclin rapide des taux de cellules CD4⁺ sanguins, de même qu'une charge virale élevée et qui ne diminue pas après la phase aiguë de l'infection. Ils présentent également des bas niveaux d'anticorps spécifiques pour les protéines structurales p17 et p24 (115,117), des réponses cytotoxiques déficientes, et des marqueurs d'inflammation qui reflètent l'activation immune chronique (116). Les facteurs influençant la progression clinique du VIH seront discutés en détails dans la section suivante.

2.6.2 Progresseurs « normaux » ou classiques

Certains individus maintiennent des taux de lymphocytes T CD4⁺ sanguins supérieurs à 200 cellules/ml pour une période supérieure à 5 ans. Bien que leur progression soit plus lente que celle des progresseurs rapides, ces patients vont ensuite être sujets à une progression clinique et développer le stade SIDA. Ils sont appelés les progresseurs normaux, ou classiques, en raison de leur vitesse de progression (115,118).

2.6.3 Progresseurs lents

Un groupe distinct de patients, appelé les contrôleurs ou progresseurs lents, ont une phase asymptomatique d'une durée supérieure à dix ans. Ils représentent environ 5% des personnes vivant avec le VIH, et maintiennent des taux normaux et stables de lymphocytes T CD4⁺ sanguins et une charge virale basse en l'absence de ART (154). Le premier groupe de contrôleurs à avoir été identifié est la cohorte de la banque de sang de Sydney, en Australie, composée de huit patients qui ont été infectés par transfusion sanguine au début des années 1980 (155). Depuis ce jour, les progresseurs lents ou contrôleurs font l'objet de nombreuses

recherches tentant d'élucider les corrélats de protection ou de contrôle de la progression clinique du VIH (154,156-160).

3 Facteurs de progression clinique du VIH

Divers facteurs peuvent influencer la progression clinique du VIH. Bien qu'ils n'aient pas tous été élucidés, il est connu que certains de ces facteurs sont attribuables au virus, tandis que d'autres sont des facteurs de l'hôte, principalement de nature génétique ou immunologique. La section suivante constitue une description des facteurs qui ont été associés à des différences de progression clinique.

3.1 Facteurs viraux

3.1.1 Charge virale

La charge virale est un des facteurs utilisés pour évaluer la progression clinique des patients. Bien que ce facteur ne soit pas suffisant lorsqu'utilisé seul, certains groupes ont démontré qu'une charge virale élevée au « set point virologique » est associée à une progression clinique et un déclin plus rapide des cellules T CD4⁺ (108,109,115,161).

3.1.2 Changement de tropisme viral

Le récepteur primaire pour l'entrée du VIH est la molécule CD4, présente à la surface de plusieurs populations de lymphocytes T, de DC, de monocytes et de macrophages. Le VIH utilise également un co-récepteur qui varie selon les souches de virus, et influence le tropisme

viral. Lors de la primo-infection, le co-récepteur principal est CCR5, exprimé notamment par les cellules T mémoires effectrices, les macrophages et certaines populations de DC. Ces cellules sont présentes dans plusieurs tissus incluant les muqueuses vaginale et intestinale, qui constituent les principales portes d'entrée du VIH (47,48,162). Leur infection permet à la fois la réplication du virus au site d'infection et la dissémination au niveau des organes lymphoïdes. Lors de la phase chronique, un changement de tropisme pour CXCR4 peut survenir. Retrouvés en minorité et seulement en stade de maladie avancée chez les patients infectés par le VIH, les virus de tropisme X4 sont associés à la progression vers le SIDA (163-167).

3.1.3 Co-infections et super-infections

Il est possible, pour les patients, d'être infectés simultanément ou séquentiellement par plusieurs souches de VIH. Une deuxième infection avant la séroconversion se nomme une co-infection. Une ré-infection qui survient après la séroconversion est moins fréquente que la co-infection, et est appelée une super-infection (168,169). L'absence d'anticorps neutralisants favorise l'infection par une seconde souche virale (170). Une conséquence importante de la co-infection est la recombinaison inter-souche, qui peut avoir pour effet de rescaper des quasiespèces ayant une capacité répliquative déficiente (171), et d'entraîner une perte de contrôle des cellules cytotoxiques (172). L'infection par plusieurs souches virales est donc associée à une charge virale élevée et à une progression clinique rapide (173,174). Il est toutefois à noter que de rares cas de co-infections ou de super-infections ont été détectés chez des contrôleurs et n'ont pas été associés à une progression clinique, ce qui met l'accent sur des facteurs autres que virologiques pouvant contribuer à l'absence de progression (175).

3.1.4 Polymorphisme génétique viral

En raison de son haut taux de réplication et de l'absence de fiabilité de la transcriptase inverse, le VIH est sujet à de nombreuses mutations, donnant lieu à différentes quasiespèces ayant des capacités répliquatives variables. Certaines mutations dans des gènes accessoires du VIH, notamment *nef*, *vif*, *vpr* et *vpu* ont été associées à des différences de progression clinique et d'infectivité virale, et démontrent l'importance de ces protéines dans la pathogénèse du VIH (176-186).

Les nombreuses fonctions de la protéine Nef incluent l'augmentation de l'infectivité et de la réplication virales, notamment dans les cellules quiescentes (187-189). Nef cause également une diminution de l'expression du CMH de classe I et du récepteur CD4, de même qu'une réorganisation du cytosquelette, ayant pour effet d'inhiber la migration des cellules en réponses aux chimiokines (190-192).

Chez le premier groupe de contrôleurs ayant été identifié, l'absence de progression clinique a été attribuée à une délétion au niveau du gène *nef*, qui codait pour une protéine non fonctionnelle (176,177). D'autres délétions au niveau de ce gène ont été identifiées chez des contrôleurs, et ont été attribuées à une importante diminution de la capacité répliquative du virus, contribuant par conséquent au maintien d'une charge virale indétectable ou très basse chez les patients (178).

À l'instar de Nef, la protéine Vpr exerce plusieurs fonctions qui ont un impact sur la pathogénèse virale. Vpr est notamment responsable d'accélérer la réplication virale et le développement d'effets cytopathiques, et de réactiver les infections latentes (193,194). Elle peut également bloquer la progression du cycle cellulaire en causant son arrêt en phase G2, et augmenter la permissivité des cellules à l'infection par le VIH (195,196). En outre, Vpr diminue la production d'interféron gamma (IFN- γ) et des chimiokines telles que MIP (*Macrophage inflammatory protein*)-1 α , MIP-1 β et RANTES (*Regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*) (197,198).

Des délétions et mutations au niveau du C-terminus de Vpr, domaine impliqué dans le blocage du cycle cellulaire, ont été identifiées chez des contrôleurs, mais n'ont pas été

observées chez des individus qui ont progressé jusqu'au stade SIDA (179). De plus, la substitution d'une glutamine pour une arginine en position 77 (R77Q) a été associée à une diminution d'effets cytopathiques et à l'absence de progression clinique (180-182).

Le rôle de la protéine Vif est de bloquer la fonction de la protéine APOBEC-3G, et d'induire son ubiquitination, préalable à sa destruction. APOBEC-3G est une protéine cellulaire incorporée dans les virions, qui agit comme facteur de restriction dans les prochaines cellules ciblées par le virus. Cette protéine modifie l'ADN proviral nouvellement synthétisé en induisant la mutation des cytosines en uridines au niveau du brin négatif d'ADN nouvellement synthétisé, ce qui cause l'hypermutation des guanosines en adénosines au niveau du brin positif qui sera synthétisé par la suite, rendant par conséquent le nouveau virus défectueux (199-202). Indépendamment de son activité catalytique, APOBEC-3G cause également une déstabilisation des particules virales et du complexe de transcription inverse (203). Lors de l'assemblage des virions, Vif cause l'ubiquitination d'APOBEC-3G, ce qui entraîne sa dégradation par le protéasome (204-209). Vif peut également se lier à l'ARN messenger d'APOBEC-3G et empêcher sa traduction (210), et inhiber la fonction de la protéine et son encapsidation en l'absence de dégradation (211-213). En outre, Vif possède la capacité de causer l'ubiquitination d'IRF (*interferon regulatory factor*)-3, ce qui a un impact négatif sur la réponse antivirale (214). Certains polymorphismes de Vif ont été associés à des différences de progression clinique chez des patients infectés par le VIH. La présence d'une sérine à la position 132 de la séquence d'acides aminés est associée à une basse charge virale et à une diminution de la répllication virale, tandis que la présence d'une arginine à cette position est associée à une charge virale plus élevée (183). Un motif KKRK aux acides aminés 90 à 93, normalement associé à une séquence de localisation nucléaire des protéines a été identifié chez un contrôleur. La protéine encodée, principalement localisée au noyau plutôt que dans le cytoplasme est incapable d'exercer sa fonction anti-APOBEC, et la répllication et l'infectivité du virus sont réduites (184). D'autres mutations, telles que des délétions, insertions et codons stop prématurés, ont été indentifiées chez des contrôleurs, et sont associées à des protéines Vif non fonctionnelles (185,186).

La protéine virale Vpu a comme fonction de contrer l'action du facteur de restriction humain nommé tetherine (215-217). La tetherine est une protéine membranaire qui inhibe le

bourgeoisement des virus enveloppés, notamment le VIH, en les retenant à la membrane plasmique (215-221). Elle peut également limiter la transmission de virus de cellule à cellule, en transférant de larges agrégats de virus qui s'accumulent à la surface des cellules cibles et ont une capacité de fusion diminuée (222). Vpu induit l'internalisation de la tetherine, sa séquestration dans des compartiments périnucléaires, et sa dégradation dans les lysosomes et par le protéasome (218,223-231). Les acides aminés A14, A18 et W22 ont été identifiés comme étant importants pour l'activité anti-tetherine de Vpu (229). L'acide aminé S52 est également essentiel pour l'activité de Vpu dans les macrophages, et la mutation S52A a une action anti-tetherine affaiblie (232). De plus, la présence de mutations telles que des insertions, et un codon de terminaison prématuré au niveau de la séquence de *vpu* ont été identifiées chez des contrôleurs (233,234). Toutefois, la présence de codons de terminaison prématurés a également été identifiée dans des isolats viraux obtenus du liquide céphalorachidien de patients ayant une démence associée au VIH (235). En outre, une étude impliquant des patients ayant atteint le stade SIDA a révélé la présence de délétion de la région 5' du gène *vpu*, résultant en l'absence de protéine fonctionnelle (236). Une mutation au niveau du codon d'initiation a également été répertoriée dans un isolat primaire responsable de l'induction de syncytium, normalement associé à une progression clinique avancée (237). Ces observations suggèrent que malgré l'importance de Vpu pour la production virale, l'importance de cette protéine au niveau de la pathogénèse demeure controversée (235-237).

3.2 Facteurs génétiques de l'hôte

3.2.1 CCR5delta32

Le VIH utilisant CCR5 en tant que corécepteur principal lors de la transmission, le blocage de ce récepteur ou l'inhibition de son expression peut empêcher l'infection. En effet, la présence d'une délétion de 32 paires de bases dans la région codante de CCR5, soit CCR5 Δ 32, confère une résistance à l'infection par le VIH. Les individus homozygotes pour

cette mutation sont résistants à l'infection. Ils représentent 1 à 5% de la population non-infectée par le VIH, tandis qu'on retrouve cette mutation chez moins de 0,1% des patients infectés par le VIH. D'autre part, les hétérozygotes ont une progression clinique beaucoup plus lente que ceux qui codent pour une protéine fonctionnelle (238-240). De plus, un rapport récent indique qu'un patient atteint du VIH a reçu un transfert de cellules souches d'un donneur homozygote pour CCR5 Δ 32, et est demeuré plus de vingt mois sans rebond viral, en l'absence de thérapie antirétrovirale (241).

3.2.2 CCR2

Le récepteur CCR2 a comme ligand naturel la chimiokine C-C ligand 2 (CCL2, appelé aussi MCP-1), qui inhibe l'entrée de certains isolats viraux. La substitution d'une isoleucine pour une valine en position 64 (V64I) a été identifiée comme facteur ralentissant considérablement la progression clinique des patients infectés par le VIH qui sont homozygotes pour cette mutation, sans avoir une influence sur l'incidence du VIH (240,242). Cependant, cette mutation a également été associée à une détérioration neurologique précoce des patients infectés par le VIH, sans toutefois être associée à la charge virale plasmatique et aux fréquences de lymphocytes T CD4⁺ sanguins (243). Par conséquent, le phénomène de neuropathogénèse lié à la mutation V64I est possiblement dû à l'infiltration de médiateurs d'inflammation au cerveau, plutôt qu'à un mécanisme viral (244). Chez les caucasiens, cette mutation est retrouvée dans environ 9% de la population, sans différences significatives entre les individus séropositifs et séronégatifs, mais elle est retrouvée seulement en l'absence de la mutation CCR5 Δ 32 (240).

3.2.3 CMH de classe I

En raison de son rôle dans la présentation d'antigènes, le CMH de classe I, ou antigène des leucocytes humains (HLA, *human leucocyte antigen*) joue un rôle central dans

la génération des réponses immunes. Les individus hétérozygotes pour ces gènes, en raison de la diversité des peptides présentés, génèrent des réponses CD8 anti-VIH plus diversifiées que les individus homozygotes. En effet, les individus homozygotes aux loci A et B ont été démontrés comme ayant une progression clinique plus rapide en raison de la faible diversité des réponses CD8 générées (245,246). Par ailleurs, certaines études rapportent un rôle central de HLA-B comparativement à HLA-A et HLA-C dans le contrôle de la réplication du VIH, mais le mécanisme impliqué n'a pas été élucidé (247).

Certains allèles de HLA de classe I ont été associés à différents rythmes de progression clinique. HLA-A29, B22, B*35 et Cw*04 ont été associés à une progression rapide, tandis que B14 et C8 sont associés à une absence de progression (245,248). De plus, HLA-B27 et B57 sont associés à une progression lente (249-251), car ils entraînent des réponses CTL vigoureuses contre des épitopes immunodominants, et sont associés un faible taux de mutations d'évasions (252) et à une sélection positive de variants avec une moins grande capacité répliquative (253).

HLA-G est un HLA « non-classique » qui a pour effet d'inhiber l'action des lymphocytes T CD8⁺ et des cellules tueuses naturelles (NK, *natural killer*), et d'activer les cellules T régulatrices et stimuler la sécrétion d'IL-10. De hautes concentrations de HLA-G soluble ont été détectées chez des individus à progression clinique rapide, et persistent à la suite d'un traitement antirétroviral efficace (254).

3.3 Facteurs immunologiques de l'hôte

3.3.1 Lymphocytes T CD4⁺

Les cellules T CD4⁺ constituent un groupe hétérogène de cellules, qui jouent des rôles différents dans les réponses immunes. Les principales populations de cellules T CD4⁺ sont illustrées ici dans la figure 3.

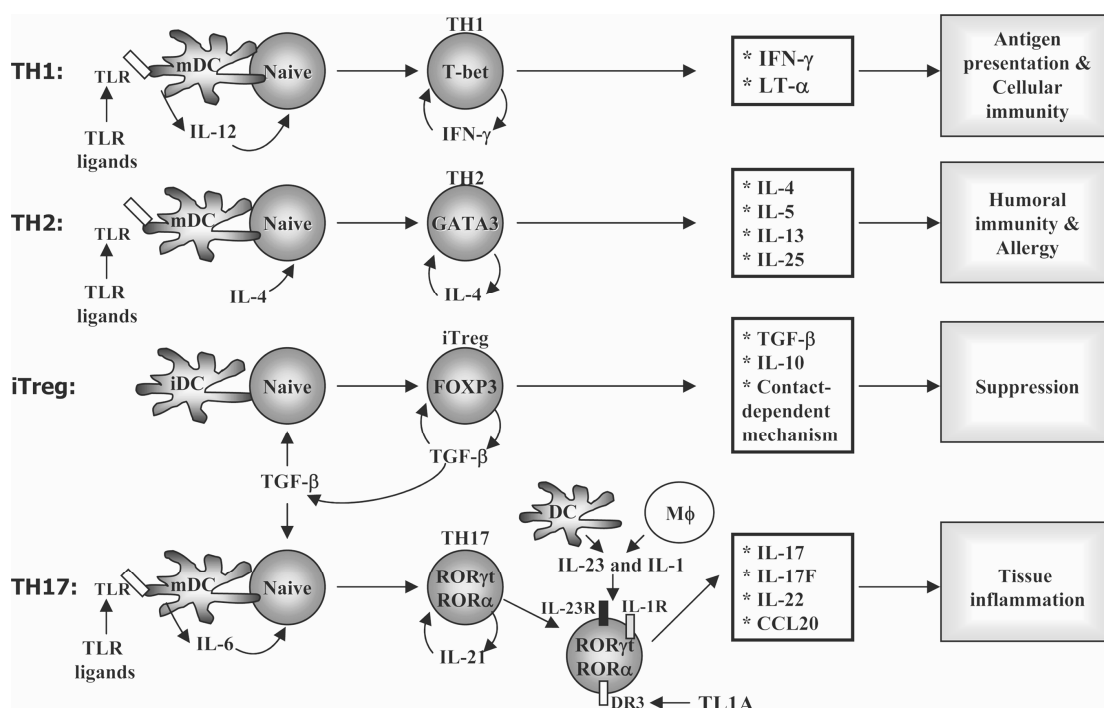


Figure 3. Différentiation des cellules T CD4⁺, facteurs de transcription et cytokines caractéristiques des différentes populations.

Tiré de Martinez et al. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008 (255).

Avec l'autorisation de John Wiley and Sons.

Les cytokines produites par les cellules présentatrices d'antigènes, notamment les DC, lors de l'activation des cellules T CD4⁺ naïves sont responsables du développement de

différents types de cellules effectrices. Ainsi, les cellules activées en présence d'IL-12 sont appelées à devenir des cellules de type Th1 (256). Les cellules Th1, caractérisées par le facteur de transcription T-bet, produisent de l'IFN γ et du TNF, et sont principalement impliquées dans l'immunité cellulaire, caractérisée par l'activation des cellules T cytotoxiques (256,257). L'activation des cellules T en présence d'IL-4 deviennent des cellules Th2. Les cellules Th2 sont caractérisées par le facteur de transcription GATA-3, produisent les cytokines IL-4, IL-5 et IL-13, et sont principalement responsables des réponses humorales, notamment contre des pathogènes extracellulaires (256,257). Les cellules Th1 et Th2 ont été identifiées durant les années 1980, et la dichotomie Th1/Th2 a longtemps été un paradigme en immunologie (256). Toutefois, différentes populations de cellules T CD4⁺ ont été identifiées plus récemment, telles que les cellules Th17 et les cellules T régulatrices inductibles (256). La production d'IL-1 et IL-23 cause la différenciation de cellules Th17, caractérisées par le facteur de transcription ROR- γ t et qui produisent les cytokines IL-17 et IL-21 (258-261). Les cellules Th17, initialement identifiées dans des maladies autoimmunes, sont essentielles au maintien de l'immunité muco-sale, notamment la muqueuse gastro-intestinale (262). La production de TGF- β et d'acide rétinoïque induit la différenciation de cellules T régulatrices (263). Ces dernières peuvent également se développer naturellement dans le thymus (256). Elles sont caractérisées par le facteur de transcription FoxP3, et possèdent une fonction immunosuppressive, responsable de la régulation de la réponse immune (263,264). L'équilibre entre les cellules T régulatrices et Th17 est important pour le maintien de l'homéostasie entre l'immunité et la tolérance (260,265). Finalement les cellules T auxiliaires folliculaires se développent indépendamment des cellules Th1, Th2 et Th17, en présence des cytokines IL-6 et IL-21 (266). Localisées dans les follicules des organes lymphoïdes, elles sont responsables de générer des signaux de survie et d'activation aux cellules B à l'intérieur des centres germinatifs (266-270).

Le principal marqueur de la progression clinique du VIH, utilisé pour évaluer l'état du patient, est la déplétion des lymphocytes T CD4⁺ dans le sang circulant. Certaines études ont démontré que les cellules T CD4⁺ qui sont préférentiellement diminuées sont les cellules mémoires CCR5⁺, qui incluent notamment les cellules Th17 (91-93).

Le système immunitaire des muqueuses joue un rôle central dans la transmission et la réplication virale, et on peut observer une infection massive des cellules T CD4⁺ de la muqueuse gastro-intestinale (271). Il y a également une déplétion importante de ces cellules, dès les premiers stades de l'infection (272-274). Toutefois, contrairement aux cellules T CD4⁺ du sang, la déplétion au niveau de la muqueuse intestinale est irréversible et les cellules ne sont donc pas restaurées par ART (275). Les cellules T CD4⁺ qui seront préférentiellement diminuées au niveau de l'intestin sont les cellules mémoires CCR5⁺, qui incluent notamment les cellules Th17 (273,274,276-278). Cette diminution est d'une part due à la lyse des cellules infectées, mais également à l'apoptose suite à l'activation cellulaire. Ce phénomène est observé d'une part lors de la phase de contraction des cellules à la suite de leur activation, et d'autre part chez les cellules qui présentent des caractéristiques d'épuisement, discuté en détails plus bas. De plus, les protéines virales exprimées à la membrane ou sécrétées par les cellules infectées peuvent interagir avec des récepteurs sur les cellules environnantes, et augmenter la susceptibilité de ces dernières à l'apoptose (279-281). On observe en outre une diminution de la capacité de régénération cellulaire, également responsable de la diminution des taux de cellules T CD4⁺.

Outre une diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺, les capacités effectrices de ces cellules sont altérées. L'expression de la molécule CD154 sur les cellules T est essentielle à son activation, de par sa liaison à CD40 sur les DC. Or, on peut observer, chez les patients infectés par le VIH, une diminution de l'expression de CD154 (282-288). Par conséquent, les fonctions auxiliaires des cellules T sont diminuées (289-291). De plus, les cellules T CD4⁺ spécifiques pour le VIH sont préférentiellement altérées et affichent des caractéristiques d'épuisement cellulaire (292,293). En effet, l'expression de PD-1 et CTLA-4 sur ces cellules corrèle avec la progression clinique des patients (292,293). D'autre part, une récente étude de Koup et coll. a démontré que chez les patients co-infectés par le VIH et CMV (Cytomegalovirus), certaines cellules étaient résistantes à l'infection par le VIH et demeuraient fonctionnelles. En effet, les cellules spécifiques pour le CMV produisent des ligands de CCR5, notamment MIP-1 α , MIP-1 β , qui agissent de façon autocrine pour bloquer l'infection et préserver la fonctionnalité des cellules (294).

Bien que les cellules T CD4⁺ « totales » soient diminuées chez les patients infectés par le VIH, on assiste à une altération de la balance des différentes populations cellulaires. En effet, il y a une augmentation de la fréquence relative et de l'activation des cellules T régulatrices, qui se retrouvent à un ratio supérieur aux cellules effectrices (295). Normalement responsables d'inhiber les réponses inflammatoires, elles suppriment les réponses CD4 et CD8 anti-VIH chez les patients (295-298). La prévalence de ces cellules dans le sang, la muqueuse gastro-intestinale et les tissus lymphoïdes corrèle avec la charge virale, soulignant leur rôle dans l'inhibition des réponses anti-VIH (299-301). Un renouvellement élevé, caractérisé par un haut taux de prolifération et une augmentation de l'apoptose, résulte ultimement en un déclin graduel de cette population. Ce phénomène est associé à l'hyperactivation du système immunitaire qui corrèle avec la progression vers le stade SIDA (278,302).

De façon générale, les contrôleurs sont caractérisés par un déclin moindre des cellules T CD4⁺ que les progresseurs, et par une moins grande expansion relative des cellules T régulatrices (303-305). De plus, ces patients maintiennent des fonctions T auxiliaires efficaces, démontrant un meilleur contrôle des fonctions immunes (290).

3.3.2 Lymphocytes T CD8⁺

Les lymphocytes T CD8⁺, ou cellules T cytotoxiques (CTL, *cytotoxic T lymphocytes*), sont spécialisés dans la lyse des cellules infectées par des virus (306,307). La génération de ces cellules à partir de cellules T CD8⁺ naïves requiert d'abord l'activation et la co-stimulation par des cellules présentatrices d'antigènes préalablement activées à la suite d'un « dialogue » avec des cellules T CD4⁺ (308-315). Par la suite, les cellules cytotoxiques lysent des cellules infectées suite à la reconnaissance de peptides viraux présentées par les HLA de classe I (306,307). Elles sont également impliquées dans la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-2, IFN- γ et TNF (*Tumor Necrosis Factor*)- α (316,317).

Lors de l'infection par le VIH, la grande majorité des réponses CD8 observées sont générées contre la protéine virale Gag, une protéine de la capside virale largement conservée, donc moins sujette à générer des mutations d'évasion, et contre la polyprotéine (Pol) (318). De telles réponses sont détectables durant la primo-infection, et sont responsables du contrôle initial et du déclin de la virémie (319-321). Malgré un contrôle de la charge virale, ces réponses entraînent par la suite des mutations dans les épitopes présentés par les HLA, qui ont pour effet de causer l'évasion du virus à de nouvelles réponses CD8 et entraînent par conséquent une perte de contrôle de la virémie (322-324). Par la suite, les réponses CD8 sont dirigées contre des épitopes sous-dominants et deviennent donc moins efficaces (325). Le nombre de peptides reconnus par les lymphocytes T CD8⁺ diminue avec le temps et est corrélé de façon négative avec la charge virale (318).

D'autre part, lors de l'infection chronique, les CTL spécifiques pour le VIH adoptent un phénotype activé mais non fonctionnel, nommé l'épuisement cellulaire (326). Les cellules sont alors caractérisées par une perte graduelle de fonctionnalité et une augmentation de l'expression du récepteur de mort programmée (PD, *programmed death*)-1 (292,327-332).

Plusieurs études associent de meilleures réponses cytotoxiques et une production plus élevée de cytokines par les cellules T CD8⁺, à l'absence de progression clinique (290,327-330,333-339). Ce phénomène a également été observé chez des individus exposés au VIH mais non infectés (340-342). Ces études suggèrent que la magnitude et la qualité des réponses cytotoxiques, de même qu'une capacité à contrôler rapidement ces réponses peuvent avoir un impact sur la susceptibilité à l'infection, ou sur la progression clinique des patients. Toutefois, ceci demeure controversé, car d'autres études démontrent une tendance des contrôleurs à ignorer le virus, reflétée par le peu d'activité cytotoxique (343,344). Ceci semble être attribué à un moins haut niveau d'activation et de stimulation virale que chez les progressseurs, qui semble bénéfique pour les patients (304,345).

3.3.3 Anticorps neutralisants

Les premiers anticorps générés contre le VIH sont dirigés contre des protéines de structure et n'ont pas d'activité neutralisante. Plusieurs semaines plus tard, des anticorps neutralisants peuvent être détectés dans le sang, spécifiques contre les glycoprotéines de l'enveloppe gp120 et gp41. Toutefois, gp120 et gp41 subissent de nombreuses mutations ou changements de patrons de glycosylation, et sont par conséquent sujettes à l'évasion immunitaire (346,347). De plus, la production d'anticorps neutralisants étant amorcée seulement après plusieurs semaines d'infection, elle n'a donc pas d'impact sur le contrôle de la virémie (6,348,349). En outre, les patients infectés par le VIH sont sujets à une perte de capacité de générer et maintenir la mémoire immunologique, ce qui a un impact négatif sur la production de ces anticorps (discuté en détails plus loin, dans la section des effets du VIH sur les lymphocytes B). Toutefois, deux études récentes ont démontré la présence, dans le sérum de patients infectés par le VIH, d'anticorps dirigés contre le site de liaison à CD4 de l'enveloppe virale, qui affichent un large spectre de neutralisation des isolats viraux (350,351). Ces anticorps ont une activité neutralisante malgré la glycosylation de gp120, ce qui suggère leur importance potentielle dans le développement de vaccins anti-VIH (350,351).

L'impact des anticorps neutralisants sur le contrôle de la progression clinique est controversé. D'une part, certaines études démontrent une plus grande production d'anticorps neutralisants chez les contrôleurs que chez les progressseurs, indiquant une implication possible de ce mécanisme dans le contrôle de l'infection (348,352,353). D'autre part, on a également démontré une moins grande production d'anticorps neutralisants chez les contrôleurs (333,354,355), et une corrélation positive entre la charge virale et la production de ces anticorps, en raison de la présence constante de stimulation virale (356,357). Toutefois, la présence d'anticorps neutralisants de type IgA au niveau de certains sites, notamment les muqueuses, a été observée chez des individus exposés mais non infectés au VIH. Par conséquent, la production de ces anticorps aux sites d'entrée du virus joue potentiellement un rôle dans la modulation de la susceptibilité à l'infection (358-363).

3.3.4 Activation immune chronique

L'activation persistante du système immunitaire est un phénomène important observé chez les patients infectés par le VIH, et est étroitement liée à la pathogénèse et à la progression clinique (364,365). Plusieurs mécanismes sont en cause dans ce phénomène. La perte d'intégrité de la muqueuse gastro-intestinale entraîne la translocation des endotoxines bactériennes vers le sang, et est fortement associée à la progression clinique (305,366,367). Les produits microbiens lient les PRR, tels que les récepteurs de type Toll (TLR, *Toll Like Receptor*), causant ainsi l'activation non-spécifique de cellules telles que les monocytes, macrophages, DC ou les lymphocytes B (368). De plus, un complexe formé du TLR-4 et des molécules MD-2 et CD14, qui existent sous formes membranaire et soluble, peuvent conférer une réponse au LPS aux cellules n'exprimant pas CD14 (369-371). Dans le sang des patients infectés par le VIH, de hautes concentrations de LPS, CD14 soluble et la protéine liant les lipopolysaccharides (LBP, *lipopolysaccharide binding protein*) sont détectées, ce qui contribue à perpétuer l'inflammation, et corrèle avec la progression clinique et l'apparition de symptômes (372,373).

La stimulation virale chronique est également une des causes de l'activation immune, car certaines composantes virales telles l'ARN et les protéines virales lient différents PRR, causant ainsi l'activation cellulaire (374).

La présence de hautes concentrations de cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-1, IL-6, IL-8 et TNF- α , observées fréquemment chez les patients infectés par le VIH, constitue également un marqueur d'inflammation chronique. Tel que discuté dans la section suivante, ces cytokines ont été associées à la progression clinique de l'infection (375-379).

3.3.5 Cytokines et chimiokines

Plusieurs cytokines ont été associées à l'infection par le VIH, et peuvent potentiellement constituer des marqueurs de progression clinique. Les cytokines pro-inflammatoires sont souvent associées à la progression de la maladie. Ainsi, le TNF- α , l'IL-1

et l'IL-8, ont été observées en excès chez les patients infectés par le VIH, et associées à des taux de cellules T CD4⁺ sanguines inférieurs à 200 cellules/microlitre (375,376,378,380). L'IL-6 a également été associée avec une haute charge virale (379). Inversement, Le VIH peut également supprimer la production de cytokines importantes pour les réponses immunes. On peut en effet observer, chez les patients infectés par le VIH, des défauts de production d'IL-2 et d'IL-12, essentielles à l'établissement de l'immunité cellulaire (381,382), et d'IFN- α , important pour les réponses antivirales (383). Les patients qui maintiennent la capacité de produire de hautes concentrations d'IL-2, IL-12 et IFN- γ pendant l'infection aiguë ont également une charge virale basse et des hauts taux de lymphocytes T CD4⁺ (377,378,381,384). Une haute concentration d'IFN- γ durant la phase aiguë corrèle également avec l'expansion des cellules T CD8⁺ (385).

D'autre part, de hautes concentrations d'IL-10 ont été détectées dans le sang des patients infectés par le VIH, et corréler positivement avec la charge virale et négativement avec les taux de lymphocytes T CD4⁺ (384,386). Cette cytokine provient principalement des cellules myéloïdes telles que les DC et les monocytes, mais peut également être produite par les cellules T, B, ou NK. L'IL-10 active les cellules T régulatrices et inhibe les réponses prolifératives CD4, et par conséquent altère l'immunité antivirale (387).

Les chimiokines beta, notamment MIP-1 α , MIP-1 β et RANTES, lient le récepteur CCR5, et sont associées à une protection contre l'infection par les virus de tropisme R5 (294,388,389). Cette protection est principalement due à un blocage du récepteur par la chimiokine, qui interfère alors avec la liaison du virus. Le rôle de ces chimiokines dans la progression clinique du VIH demeure toutefois controversé (390). Chez les patients infectés par le VIH, des concentrations élevées de ces chimiokines ont d'une part été associées à une infection asymptomatique, et à une meilleure réponse à la thérapie antirétrovirale (391-397). D'autres études ont associé la production de ces chimiokines avec une haute charge virale et un déclin des lymphocytes T CD4⁺ (398-400). Il est possible que la production de chimiokines dans certains milieux propices à l'infection cause un recrutement de cellules permissives au VIH, ce qui promeut la réplication virale (401). Ceci a également été démontré avec CCL20 (MIP-3 α), dans une étude où le blocage de cette chimiokine inhibe le recrutement des cellules exprimant CCR6, notamment les DC immatures, empêchant par

conséquent l'infection et la dissémination virale (402). Par conséquent, le site et le moment de production de ces chimiokines contribuent à influencer différemment la susceptibilité à l'infection ou la progression clinique.

Les chimiokines CCL19 (MIP-3 β) et CCL21 (SLC, chimiokine des tissus lymphoïdes secondaires, *secondary lymphoid tissue chemokine*) sont responsables du recrutement des cellules exprimant CCR7, soit les DC matures et des cellules T CD4⁺ naïves et mémoires centrales, aux ganglions. Elles sont également associées à des différences de progression clinique. Ces chimiokines augmentent la perméabilité des cellules à l'infection, et promeuvent la réplication virale au niveau des organes lymphoïdes (403,404). Une production accrue de MIP-3 β et SLC chez les patients est associée à la progression clinique et à un échec de suppression de la virémie lors du traitement antirétroviral (405,406). En outre, l'exposition de cellules T CD4⁺ aux ligands de CCR6, CCR7 et CXCR3 promeut l'établissement de la latence virale, qui peut également contribuer à un échec thérapeutique (407).

La chimiokine CCL2 (MCP-1) est produite en situation d'inflammation, et permet le recrutement de cellules exprimant le récepteur CCR2, soit les monocytes, DC, et les cellules T mémoires. Cette chimiokine promeut l'infection par le VIH, d'une part en recrutant des cellules permissives à l'infection, d'autre part en augmentant la perméabilité des cellules T CD4⁺ au repos par les virus de tropisme X4 (408). Une production élevée de cette chimiokine est associée à une haute charge virale (409,410).

4 Cellules dendritiques

4.1 Les populations de DC et leurs fonctions

4.1.1 Monocytes et précurseurs de cellules dendritiques

Les monocytes sont des cellules phagocytaires immatures originaires de la moelle osseuse, qui circulent dans différents tissus incluant le sang et la rate (411-414). Les études portant sur la différenciation des monocytes ont principalement été effectuées chez la souris, mais des « équivalents » ont été décrits chez l'humain. Chez l'humain, les monocytes « classiques » expriment les récepteurs CD14, CCR2 et CD62L, et leurs équivalents murins sont les monocytes CCR2⁺ Gr-1^{high} CD11c⁻ (415). Ces monocytes migrent vers les sites d'inflammation en réponse à la chimiokine MCP-1 qui lie CCR2. Ils peuvent par la suite se différencier en macrophages, des cellules phagocytaires innées responsables de restreindre l'inflammation au site initial. Ils peuvent également se différencier en DC inflammatoires ou « Tip-DC », qui sont impliquées dans la réponse innée via la production de TNF- α et d'oxyde nitrique (412,416,417).

Une autre population représentant 5 à 10% des monocytes, est caractérisée par l'expression du récepteur de fragment cristallisable gamma de type III (Fc γ RIII ou CD16) et l'absence du récepteur de chimiokine CCR2. Malgré les basses fréquences de ces monocytes, il s'agit d'une population hétérogène, principalement en raison de différences d'expression de CD14, soit les monocytes CD14^{low}CD16⁺ et CD14⁺CD16⁺. Les différences de fonctions de ces populations demeurent toutefois à être élucidées (416,418). Ils possèdent plusieurs caractéristiques des DC, notamment des hauts niveaux d'expression du CMH de classe II, de molécules de co-stimulation telles que CD80 et CD86, et de l'intégrine CD11c (419). Ils expriment les récepteurs de CX3-CR1 et CXCR4, qui lient respectivement la fractalkine et le facteur dérivé des cellules stromales de type 1 (SDF, *stromal derived factor*) (208). Chez la souris, des analogues de ces monocytes ont été décrits, qui sont de phénotype CCR2⁻ GR-1^{low} CD11c⁺, et constituent des précurseurs de DC qui migrent du sang vers les tissus en périphérie, pour y effectuer des fonctions de patrouilleurs en conditions homéostatiques ou non-inflammatoires (416,417,420,421). En cas d'infection virale ou bactérienne, ces

précurseurs se différencient en DC matures, qui migrent vers les ganglions, et stimulent les réponses de type Th1 via la présentation d'antigènes et la production d'IL-12 (411,419,422-424). La relation entre les monocytes et les DC est illustrée dans la figure 4. Bien que les monocytes $CD16^+$ ne soient pas différenciés en « tip-DC », on les retrouve augmentés dans plusieurs cas d'inflammation ou d'infection chroniques, et impliqués dans la production de cytokines telles que le $TNF-\alpha$, IL-1 et IL-6 (425-427).

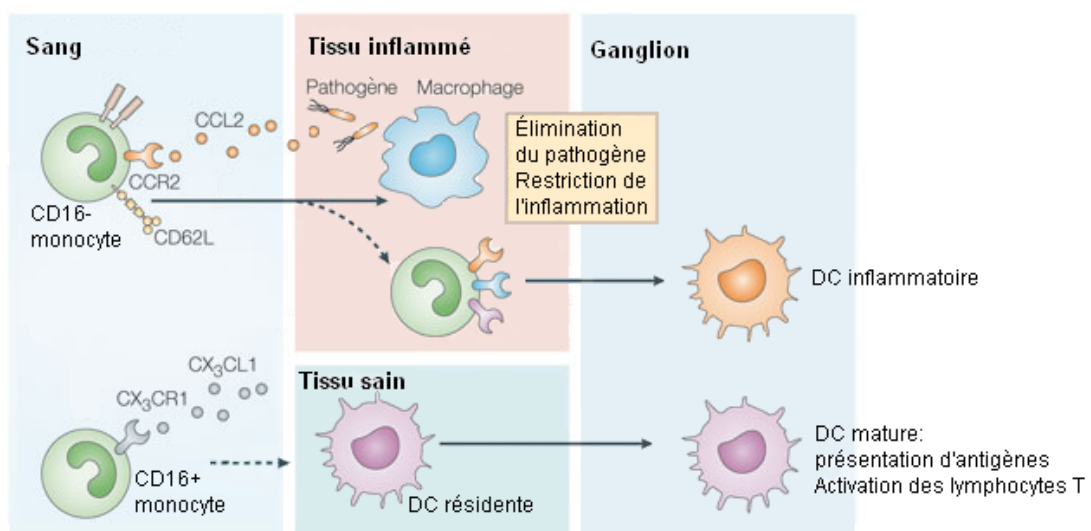


Figure 4. Différentiation des monocytes.

Adapté de Gordon et coll., Nature reviews immunology, 2005 (428).

Avec l'autorisation de Macmillan Publishers Ltd.

4.1.2 Cellules dendritiques myéloïdes

Les mDC immatures résident dans les tissus afin d'y exercer une fonction de surveillance (429). L'expression de CCR6 et CX3CR1 sur les DC immatures permet leur migration en provenance du sang en réponse à MIP-3 α et à la fractalkine, exprimés par plusieurs tissus, notamment les muqueuses, en conditions homéostatiques (416,423,430,431). La fractalkine exprimée en surface des cellules endothéliales joue un rôle important dans l'arrêt et la migration des précurseurs DC CD14⁺CD16⁺, qui se différencieront en DC immatures résidentes (420). En périphérie, les mDC font office de sentinelles responsables de faire le lien entre l'immunité innée et l'immunité adaptative, illustré plus tôt dans la figure 3. La présence de PRR sur les DC immature permet la reconnaissance de patrons moléculaires caractéristiques de microorganismes (PAMP, *pathogen associated molecular patterns*) ainsi que la phagocytose de ces organismes, et entraîne une cascade d'événements menant à la génération d'une réponse adaptative. Ainsi, la présence d'un signal de danger, telle qu'un microbe pathogène, entraîne la maturation des DC, soit l'augmentation de l'expression de CMH de classe II (HLA-DR) et de molécules de co-stimulation. Elles diminuent l'expression de CCR6 et augmentent CCR7 (432,433). Ceci permet leur entrée dans les vaisseaux lymphatiques et leur migration via la lymphe vers les ganglions drainants, en réponse aux chimiokines MIP-3 β et SLC, exprimées par les cellules endothéliales des vaisseaux lymphatiques et par les cellules stromales des ganglions (432,433). D'autre part, la présence de stimuli non inflammatoires tels que les antigènes du soi ou la nourriture n'entraîne pas la maturation des DC, qui expriment alors de faibles niveaux de molécules de co-stimulation et ont très peu d'activité migratoire. Les DC tolérogéniques favorisent la différenciation et l'activation des cellules T régulatrices, via la production du facteur de croissance tumorale beta (TGF- β , *Tumor Growth Factor beta*) et d'IL-10. Ces cellules entraînent la tolérance en périphérie par l'inhibition des cellules T effectrices (434-436).

La circulation des DC dans les vaisseaux lymphatiques afférents permet leur transport jusqu'aux ganglions, où elles entrent par le sinus sous-capsulaire. Elles migrent alors vers différentes régions des ganglions, notamment les zones riches en cellules T, et les jonctions entre les zones de cellules T et de cellules B. Les DC peuvent également entrer dans

les ganglions par le sang, via la haute veinule endothéliale (HEV, *high endothelial venule*), et se loger directement dans les zones riches en cellules T, où la présentation d'antigènes sur le CMH de classe II et la production de cytokines telles que l'IL-12 permet l'activation des cellules T naïves (437). Certaines DC transitent par les ganglions sans y loger. Elles sont alors relarguées dans la circulation sanguine via le canal thoracique, et peuvent migrer vers la rate et y exercer leurs fonctions de présentation d'antigènes. Elles accèdent à la rate notamment via la zone marginale, où elles peuvent activer les cellules B par la présentation d'antigènes dans leur forme native et la production de BLyS (décrit en détails plus loin dans la section portant sur l'activation T-indépendante des cellules B), ou se rendre dans les zones riches en cellules T (371,438). La migration des DC dans les ganglions est illustrée ici dans la figure 5.

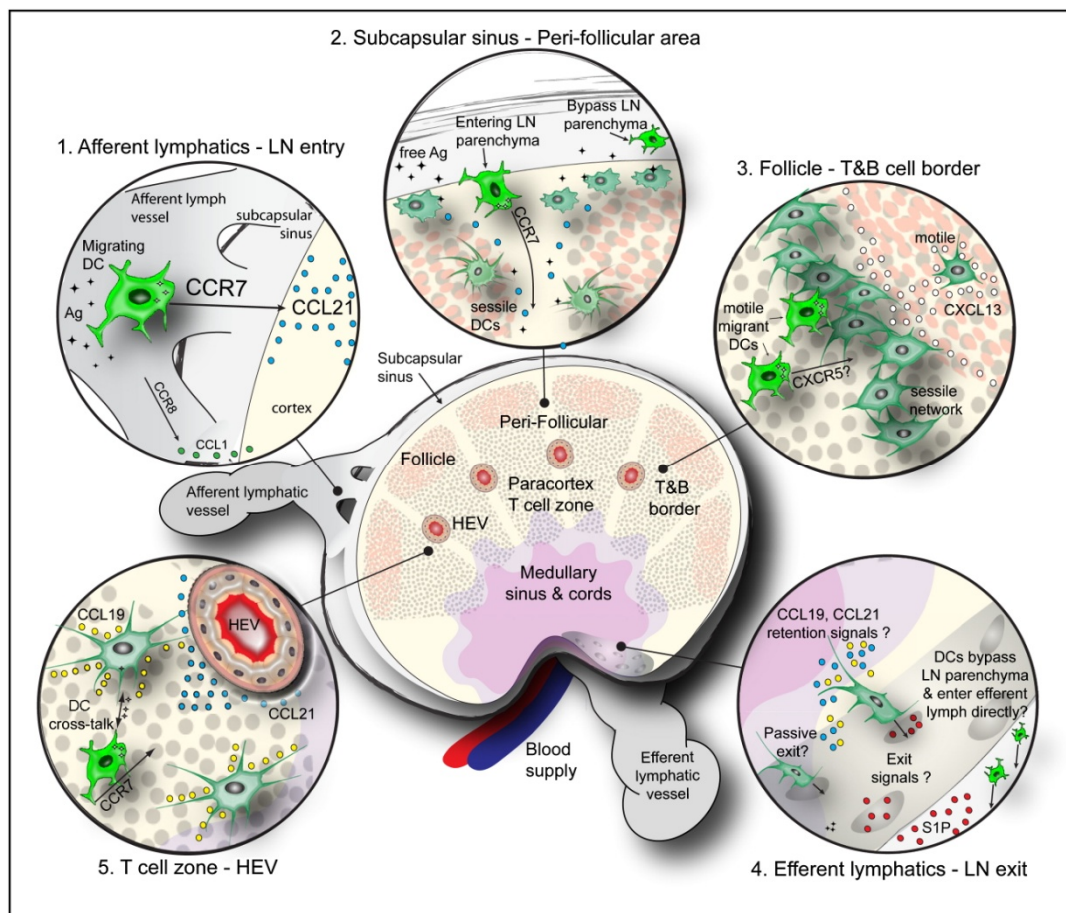


Figure 5. Migration des DC dans les ganglions

Tiré d' Alvarez et coll., Immunity 2008 (439).

Avec l'autorisation d'Elsevier.

4.1.3 DC des muqueuses

Les DC retrouvées au niveau des muqueuses sont essentielles quant au maintien de l'équilibre entre la tolérance entre les stimuli non-inflammatoires et la génération de réponses immunes suite au contact avec des pathogènes (440,441). Dans la muqueuse intestinale, on retrouve des DC au niveau de la lamina propria, mais également dans les ganglions mésentériques et les plaques de Peyer. Ces dernières structures sont des organes lymphoïdes secondaires principalement impliquées dans la génération de réponses IgA de façon T-dépendante.

La lamina propria contient deux principales classes de mDC qui se distinguent par la présence ou l'absence de la molécule CD103, récepteur de la molécule d'adhésion E-cadhérine (434-436). En l'absence de stimuli inflammatoires, les cellules épithéliales sécrètent de l'acide rétinoïque (RA), du TGF- β et la lymphopoïétine stromale thymique (TSLP, *thymic stromal lymphopoietin*), essentiels à la différenciation des DC CD103⁺ (442-445). Ces DC ont des fonctions tolérogéniques, favorisant notamment la différenciation et l'activation des cellules T régulatrices, et inhibent les cellules Th17 par la production du facteur de croissance tumorale beta (TGF- β , Tumor Growth Factor beta) et de RA. Ceci entraîne par conséquent la tolérance en périphérie (446). L'activation des cellules T régulatrices peut se faire au niveau de la lamina propria, ou dans les ganglions mésentériques (443-445). En présence de stimuli inflammatoires, les DC mucosales CD103⁻ induisent la différenciation des cellules Th17, essentielles afin de combattre d'éventuels pathogènes (443,444). Il est crucial de maintenir un équilibre entre les cellules T régulatrices et Th17, afin de restreindre l'entrée de pathogènes par les muqueuses et simultanément empêcher l'inflammation en réponses aux bactéries commensales qui sont omniprésentes (443,447). Outre l'activation des cellules T régulatrices et Th17, les DC de la lamina propria sont capables d'induire la commutation de classe des cellules B au niveau de la muqueuse, et de stimuler la production d'anticorps de type IgA, qui aide également à restreindre l'entrée de microorganismes commensaux et pathogènes au niveau de la circulation sanguine (26,448). L'activation T-dépendante et T-indépendante des cellules B au niveau des muqueuses est décrite en détails plus loin, dans la section sur les lymphocytes B.

Les DC, les monocytes et les macrophages sont également responsables de la production de BLyS et APRIL, (*a proliferation inducing ligand*) (23,24,449). Ces cytokines appartiennent à la famille des facteurs TNF, mais leur séquence n'inclut pas de domaine de mort (DD, *death domain*), et peuvent être produits sous formes membranaire ou soluble (450-452). Ils lient trois récepteurs, soit BCMA (*B cell maturation antigen*), TACI (*transmembrane activator calcium modulator and cyclophilin ligand interactor*) BAFFr (*BAFF receptor*), et ont un impact crucial sur la survie et l'activation des lymphocytes B (24,449-456).

4.1.4 Cellules de Langerhans

Une sous-population distincte de mDC immatures, les cellules de Langerhans (LC, *Langerhans cells*), résident dans l'épiderme et les muqueuses. Elles effectuent une surveillance immunitaire en procédant à des échantillonnages constants de l'environnement (457-459). En cas d'infection, les LC internalisent les microorganismes par endocytose ou phagocytose, et se différencient alors en DC matures, exprimant de hauts niveaux du CMH de classe II et de molécules de co-stimulation. L'expression de récepteurs de chimiokines, notamment CCR7 et CCR2, permet leur migration vers les ganglions, où elles activent les lymphocytes T (460). Les LC ont la capacité de faire de la présentation croisée d'antigènes, ce qui rend possible la présentation aux cellules T CD8⁺ d'antigènes tumoraux, ou de virus qui n'infectent pas directement pas les LC (461-464). En outre, elles expriment plusieurs PRR tels que la langerine et les TLR, impliqués dans la reconnaissance de patrons moléculaires associés aux pathogènes, et dont l'activation entraîne la maturation des cellules ainsi qu'une augmentation du CMH de classe II, augmentant les capacités présentatrices d'antigènes et la stimulation des cellules T CD4⁺ (465,466). La langerine, une lectide de type C exprimée par les LC immatures, joue un rôle important dans l'élimination de plusieurs pathogènes. Les pathogènes qui lient la langerine sont internalisés, puis dégradés à l'intérieur des granules de Birbeck (467). Ces granules, caractéristiques des LC, font partie du compartiment de recyclage endosomal, dans lequel les pathogènes endocytés sont dégradés (468,469). Lorsque les LC matures quittent la peau pour migrer vers les ganglions, elles sont

remplacées par de nouveaux progéniteurs afin d'effectuer une patrouille constante (470). Ce remplacement est effectué grâce aux chimiokines CCL2 et CCL5, produites sur les sites d'inflammation.

Elles ont également des fonctions tolérogéniques, leur permettant d'internaliser et présenter des composantes cellulaires normales ou en apoptose, telles que les kératinocytes et les mélanocytes, sans induire de réaction autoimmune. Ce phénomène est généralement accompagné d'une production d'IL-10, de TGF- β , ce qui permet l'induction de la tolérance à ces antigènes par l'activation des cellules T régulatrices. Ceci entraîne toutefois le risque d'induire la tolérance à certaines tumeurs, notamment des mélanomes (471).

4.1.5 Cellules dendritiques plasmacytoïdes

Les cellules dendritique plasmacytoïdes (pDC) constituent un lien crucial entre l'immunité innée et l'immunité adaptative (472). Dans le sang, elles représentent environ 0.2 à 0.8% des cellules circulantes. On peut également les retrouver dans des organes en périphérie, en faibles quantités en conditions homéostatiques (473), et en plus grandes quantités en situation d'inflammation (474,475).

Les pDC expriment les récepteurs de type Toll 7 et 9, qui permettent la détection de l'ARN à simple-brin et l'ADN à double-brin viraux (476). En cas d'infections virales, les pDC produisent des IFN de type I, principalement l'IFN- α , essentiels dans la réponse antivirale (477). De plus, les IFN de type I permettent l'activation des mDC, l'induction de réponses de type Th1 et la production d'IFN- γ par les cellules T CD4⁺, de même que la différenciation et l'activation des lymphocytes B (478-486).

Les pDC non activées jouent un rôle crucial dans l'induction de la tolérance en périphérie. L'absence d'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86 empêche l'activation des cellules T naïves et favorise l'expansion des cellules T régulatrices (487-489).

4.2 DC et VIH

4.2.1 Infection des DC par le VIH

Les mDC exprimant les récepteurs CD4 et CCR5, elles peuvent être infectées de façon productive par le VIH, mais à des niveaux moindres que les lymphocytes T (490-495). Le virus cible préférentiellement les cellules immatures et inhibe leur maturation, et peut par la suite être transmis aux lymphocytes T par un contact cellulaire appelé la synapse infectieuse, ou par relâche de virions (revu dans 495). Des études effectuées *in vitro* démontrent que l'infection de DC immatures dérivées des monocytes bloque l'expression du CMH de classe II et des molécules de co-stimulation, et inhibe la sécrétion d'IL-12. Ces cellules induisent également la production d'IL-10 dans des co-cultures avec des cellules T. Ceci contribue à l'altération des réponses générées par les cellules T chez les patients infectés par le VIH (496-504). En outre, les DC infectées par le VIH induisent l'apoptose des cellules T CD4⁺ environnantes infectées et non infectées, contribuant à leur déclin (505).

Les pDC sont également susceptibles à l'infection par le VIH, mais à des niveaux moindres que les mDC (493). Des pDC infectées ont été retrouvées dans le thymus et les amygdales de patients infectés par le VIH (506-508). L'infection des pDC par le VIH induit des effets cytopathiques tels que la formation de syncytium (507).

4.2.2 Transinfection

Les mDC résidant dans les muqueuses étant parmi les premières cellules à rencontrer le VIH lors d'une infection, la transmission aux lymphocytes T peut se faire par un processus appelé la transinfection (495,509-514). Il s'agit d'ailleurs d'un mode important d'infection via les muqueuses, notamment la muqueuse vaginale et le prépuce, et de transmission du virus aux cellules plus permissives telles que les lymphocytes T (371,515,516). La transinfection implique la liaison de gp120 aux lectines de type C telles que DC-SIGN et l'immunorécepteur des DC (DCIR, *dendritic cell immunoreceptor*) (494,495,517-519). Le

virus est ensuite internalisé dans des vésicules ou transporté à la surface des DC (520-522), et finalement porté au site de contact entre les DC et les cellules T, appelé la synapse infectieuse. Le virus et ses récepteurs, de même que des molécules d'adhésion intercellulaires (ICAM, *intercellular adhesion molecules*) et intégrines sont recrutés au site de transfert (523-526). La transinfection est principalement effectuée par les DC matures, mais peut également l'être par les cellules immatures (527). Ce processus est principalement impliqué dans la transmission des virus de tropisme R5, et peut être bloqué par l'inhibition récepteur CCR5 (495). Le passage du VIH à travers les muqueuses permet l'établissement d'un foyer local d'infection, composé principalement de cellules T CD4⁺, qui est préalable à la dissémination du virus aux organes lymphoïdes (101).

Par ailleurs, les LC expriment la lectine Langerine, qui lie la glycoprotéine de l'enveloppe virale gp120. Les virus liant la Langerine sont internalisés et dégradés à l'intérieur des granules de Birbeck, diminuant considérablement l'infection ou la transinfection par ces cellules (467,528). Toutefois, l'activation des LC par des stimuli pro-inflammatoires, entraîne une diminution d'expression de la Langerine, et augmente la permissivité des LC à l'infection par le VIH (529-531).

4.2.3 Altération des fréquences de DC chez les patients infectés par le VIH

L'infection par le VIH est associée à une baisse des fréquences de mDC et pDC circulantes, qui peut être observée dès la phase aigüe (18). Cette diminution semble corrélée avec la charge virale et les taux sanguins de cellules T CD4⁺, mais demeure controversée quant à sa restauration à la suite du traitement antirétroviral (12-15,17,18). Bien qu'une certaine restauration soit observée chez certains patients traités, elle demeure toutefois incomplète dans plusieurs cas (144,153). De plus, les pDC répondent plus rapidement que les mDC à une suppression de la virémie, mais de façon incomplète chez les patients qui présentent une suppression de la virémie sans restauration des cellules T CD4⁺ (16,19,152). Les différences entre les cohortes ou entre les différents compartiments accessibles pour les

études, et souvent l'absence de suivi longitudinal sont à l'origine de telles divergences entre les études.

La diminution des pDC semble corrélée avec la charge virale et l'apparition d'infections opportunistes (532,533). Une diminution transitoire a également été observée lors de l'infection aiguë et coïncide avec la baisse momentanée des cellules T CD4⁺ (147,534). D'autres groupes ont démontré cette diminution comme étant permanente et non restaurée suite au traitement antirétroviral (143). On peut attribuer un rôle des pDC dans le contrôle de la progression clinique, puisque plusieurs groupes ont démontré une augmentation ou une stabilisation du nombre de pDC chez les contrôleurs (12,532).

Les mécanismes entraînant la diminution des mDC et des pDC dans le sang des patients n'ont pas été complètement élucidés. D'une part certains groupes attribuent cette baisse à un recrutement des cellules dans les organes lymphoïdes et aux sites d'inflammation (22,535-537). Toutefois, certains patients infectés par le VIH présentent des niveaux diminués de mDC et pDC à la fois dans le sang et les organes lymphoïdes, de même qu'une diminution du récepteur CCR7, essentiel au recrutement dans les ganglions (536,538).

4.2.4 Impact du VIH sur les fonctions des mDC

Bien que les DC soient permissives à l'infection par le VIH, ce phénomène n'est pas suffisant pour expliquer toutes les altérations observées au niveau de ces cellules. En effet, les DC des patients infectés par le VIH sont affectées non seulement en terme de fréquence tel que décrit plus haut, mais également au niveau de leur phénotype et de leurs fonctions. Plusieurs études effectuées *ex vivo* ont démontré un niveau d'activation partiel des mDC des patients infectés par le VIH (14,20-22). On peut en effet observer une légère augmentation de l'expression des marqueurs de co-stimulation CD80 et CD86, de même qu'une augmentation significative de CD40 chez les patients virémiques (14,20,22). Les DC tendent à s'accumuler au niveau des tissus lymphoïdes, et sont impliquées dans une production spontanée de cytokines inflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-8 et le TNF- α (539,540). Toutefois, des

études de stimulation effectuées *in vitro* démontrent des défauts de production d'IL-12, qui corrélient avec des défauts d'activation des lymphocytes T (541,542).

Les altérations des DC en l'absence d'infection productive de ces cellules ont donné lieu à diverses études tentant d'en élucider les origines. Il est probable que des protéines exprimées par les particules virales infectieuses et non-infectieuses, de même que par les cellules infectées aient différents effets sur les fonctions des cellules environnantes (543). Une étude effectuée *in vitro* par Williams et coll. démontre des effets importants de la glycoprotéine de l'enveloppe, gp120, sur l'activation et la maturation des DC immatures dérivées de monocytes (544). La présence de gp120 dans le milieu cause notamment une augmentation des molécules de co-stimulation CD40, CD80 et CD86, et du CMH de classe II, ainsi qu'une diminution des capacités phagocytaires caractéristiques des DC immatures (544). Le contact avec cette protéine entraîne également une augmentation des récepteurs CXCR4 et CCR7, ce qui est en accord avec l'accumulation de DC au niveau des organes lymphoïdes chez les patients infectés par le VIH (21,544). De plus, la stimulation des lymphocytes T et la production des cytokines IL-12 et TNF- α sont augmentées, ce qui contribue potentiellement à l'expansion du bassin de cellules permissives à l'infection (544-547).

Chez le premier groupe de patients infectés par le VIH sans progression clinique ayant été identifié, les isolats viraux étaient caractérisés par l'absence d'une protéine Nef fonctionnelle (176,177). Cette observation a donné lieu à plusieurs projets tentant de déterminer l'implication de cette protéine dans la pathogénèse virale, entre autres au niveau des DC. Cette protéine peut avoir différents effets selon qu'elle est exprimée par les cellules et agit de façon endogène, ou relâchée et agit de façon exogène sur les cellules environnantes. L'ajout de Nef soluble dans des cultures de DC immatures dérivées des monocytes induit leur maturation et augmente l'expression du CMH de classe II. Par conséquent, ceci cause l'activation des cellules T CD4⁺ et augmente le bassin de cellules permissives à l'infection. Cette protéine induit également une régulation à la hausse de TNF- α et de Fas ligand chez les DC, causant l'apoptose des cellules environnantes via l'activation du récepteur Fas. Ce phénomène a principalement été observé avec les cellules T CD8⁺, et par conséquent contribue potentiellement à l'évasion immune du VIH (548). D'autre part, l'expression de Nef dans des DC dérivées des monocytes cause une augmentation de la production des

cytokines IL-6, IL-12, et des chimiokines CXCL8 (IL-8), MIP-1 α et MIP-1 β (549,550). Lorsqu'exprimée dans des DC immatures, cette protéine promeut la réplication virale en entraînant une augmentation de l'activation des facteurs de transcription STAT-3 et NF- κ B (551). Ceci contribue par conséquent à l'activation immune chronique chez les patients infectés par le VIH en stimulant la production de cytokines inflammatoires et le recrutement de DC aux sites d'inflammation (550).

La protéine Vpr a un effet négatif sur l'activation des DC, qui se répercute sur l'activation des cellules T. L'ajout de Vpr dans des DC dérivées des monocytes inhibe l'expression des molécules de co-stimulation CD80, CD83 et CD86, de même que la production d'IL-12, et par conséquent altère la co-stimulation des cellules T (552-554). Ceci a aussi été démontré par l'infection de DC avec des souches de VIH Vpr⁺ et Vpr⁻, où l'expression de Vpr augmente également la production d'IL-10, favorisant par conséquent l'activation des cellules T régulatrices (553).

4.2.5 Phénotype et fonctions des pDC chez les patients infectés par le VIH

Les pDC reconnaissent le VIH via le TLR-7, ce qui entraîne leur activation et la production d'IFN- α (555-562). Paradoxalement, on peut observer, chez les patients infectés par le VIH, des défauts de production d'IFN- α , qui sont associés avec la progression clinique et l'apparition d'infections opportunistes, et qui sont attribuables à la baisse de fréquence des pDC (563,564). L'activation des pDC chez les patients infectés par le VIH est associée à l'activation immune persistante, en raison de la production spontanée de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et TNF- α (12,561). D'autre part, les pDC des patients infectés par le VIH présentent une augmentation de l'expression du ligand inducteur d'apoptose apparenté au TNF (TRAIL, *TNF-related apoptosis-inducing ligand*), et peuvent causer l'apoptose des cellules T CD4⁺ et contribuer à leur déclin, bien que cela demeure controversé (558,565-568). D'autre part, elles sont également responsables de l'immunosuppression des patients en raison de leur production d'indoleamine-2-3-

dioxygénase (IDO), qui inhibe la prolifération des cellules T CD4⁺ et active les cellules T régulatrices (536,569,570).

Des protéines virales telles que p17, la matrice, ont pour effet de causer un état de maturation partielle des pDC. Cet état est caractérisé par l'augmentation de CCR7 qui confère un phénotype migratoire aux pDC, et par l'absence d'augmentation de l'expression des molécules de co-stimulation et du CMH de classe II (571). La glycoprotéine de l'enveloppe gp120 a également un effet activateur sur les pDC, et induit la production d'IFN- α et des chimiokines MCP-1, MIP-1 α et MIP-1 β (572).

4.2.6 Impact du VIH sur les fonctions des monocytes

Les monocytes sont permissifs à l'infection par le VIH, mais il s'agit d'une infection latente, et ils produisent par conséquent très peu de virions (573,574). Ils sont principalement impliqués dans l'infection par le VIH en tant que réservoir viral (575-579).

Bien que les monocytes soient très peu infectés par le VIH et ce, de façon latente, leur phénotype et fonctions sont toutefois affectés par le contact avec le VIH ou des protéines virales. On observe, chez les patients infectés par le VIH, une induction de PD-1 et de PD-L1 sur les monocytes, qui corrèle avec de hautes concentrations plasmatiques d'IL-10 (580-583). Les protéines Tat, Nef et gp160 (Env) induisent également la production d'IL-10 par les monocytes, ce qui mène à une altération de l'activation des lymphocytes T CD4⁺ (584-590). De plus, lorsque la protéine Nef est exprimée dans les monocytes et les macrophages, elle s'associe avec les molécules de co-stimulation CD80 et CD86 et entraîne leur internalisation, diminuant par conséquent leur expression en surface (552). D'autre part, p17, la protéine de la matrice virale, lie les monocytes et induit la sécrétion de MCP-1, ce qui augmente le recrutement de cellules permissives au VIH vers les sites d'infection (591).

La fréquence des monocytes CD16⁺ est augmentée dans le sang des patients infectés par le VIH, et malgré leur fonction de régénération des DC tissulaires, on leur attribue un rôle

dans la progression de la maladie (592-596). Ces cellules sécrètent des hauts taux d'IL-1, -6, -10 et TNF- α , et sont par conséquent impliqués dans la dérégulation immune observée chez les patients infectés par le VIH (597). Ils sont également impliqués dans le développement de la démence associée au SIDA, en tant que transporteurs de virus et de médiateurs inflammatoires à travers la barrière hémato-encéphalique (594,598,599).

5 Lymphocytes B

5.1 Différentiation des lymphocytes B et fonctions des populations

Les cellules B sont originaires de la moelle osseuse, et complètent leur développement dans les organes lymphoïdes secondaires, tel qu'illustré dans la figure 6, et discuté ici-bas.

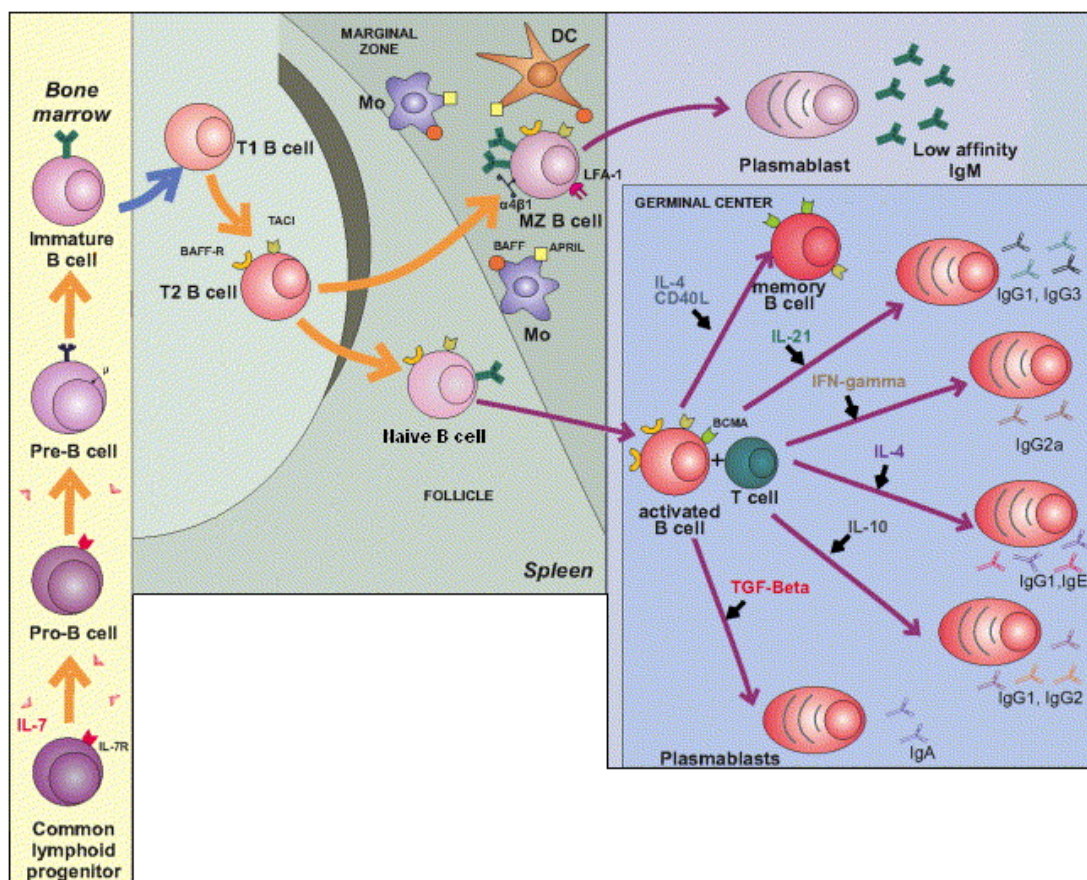


Figure 6. Différentiation des lymphocytes B.

Adapté d'Acosta-Rodriguez et coll., Cytokine and Growth Factor Review, 2007, vol.18 (600), avec l'autorisation d'Elsevier Limited.

Dans la moelle osseuse, le progéniteur lymphoïde commun se différencie en cellule B immature, en passant par les stades de pro- et pré-cellule B. Par la suite, les cellules immatures se rendent dans les organes lymphoïdes secondaires, où la différenciation se poursuit, où la cellule passe par les stades transitoires T1 et T2, pour devenir des cellules matures naïves ou des cellules de la zone marginale. Les cellules naïves qui subissent avec succès les points de contrôle et de sélection (discuté plus bas) sont activées par les cellules T dans centres germinatifs, où il y a génération de cellules mémoires et de cellules productrices de différentes classes d'anticorps de haute affinité. Les cellules de la zone marginale sont impliquées dans les réponses T-indépendantes et produisent des anticorps de faible affinité.

5.1.1 Génération des lymphocytes B dans la moelle osseuse

Les lymphocytes B sont produits dans la moelle osseuse, où a lieu la différenciation du progéniteur lymphoïde commun en pro-cellules B. À ce stade, les cellules n'expriment pas le récepteur des cellules B (BCR, *B-cell receptor*). Le BCR sera assemblé par la suite, lors de la différenciation des pro-cellules B en pré-cellules B. Des réarrangements d'ADN au niveau des segments V-D-J de la chaîne lourde (H) et des segments V-J de la chaîne légère des gènes des immunoglobulines (Ig) permettront alors la génération de BCR de différentes spécificités (601,602). À ce stade, le récepteur est un complexe moléculaire composé de la chaîne lourde du BCR et de la chaîne légère substitut, formée des protéines $\lambda 5$ et V_{preB} . Ce récepteur immature est incapable de lier des antigènes (603-606). Une signalisation tonique via ce récepteur, indépendante d'un antigène, est toutefois essentielle au développement des lymphocytes B (607). Par la suite a lieu la maturation complète du BCR, notamment le remplacement de la chaîne légère substitut par la chaîne légère du BCR, suivi de la sortie des cellules B de la moelle osseuse. Les cellules ainsi générées sont appelées cellules B immatures/de transition (TI) (608).

Il est estimé que plus de la moitié des BCR générés dans la moelle osseuse ont une capacité de lier les antigènes du soi (609). La reconnaissance du soi entraîne une première étape d'élimination par un processus nommé correction du récepteur, dans lequel le BCR

continue le réarrangement de la section variable (V). Lorsque toutes les possibilités de réarrangement sont éliminées, les cellules auto-réactives sont alors éliminées par délétion (609-614).

5.1.2 Maturation dans les organes lymphoïdes secondaires

En quittant la moelle osseuse, les cellules B TI sont transportées par le sang vers les organes lymphoïdes secondaires, notamment la rate, les ganglions, les amygdales et les plaques de Peyer. Les cellules TI constituent une population hétérogène, qui comporte plusieurs stades de différenciation, nommés T1, T2 et T3. Les sous-populations T1 et T2 sont caractérisées par l'expression du récepteur CD10, caractéristique des cellules immatures mais absent des cellules T3. Ces sous-populations sont également caractérisées par une diminution graduelle d'IgM et une augmentation du marqueur d'activation CD21 (615-617).

Une signalisation tonique via le BCR, indépendante d'un antigène, de même que la liaison de la cytokine BLyS et de BAFF-R jouent un rôle crucial dans la survie et la différenciation de ces cellules (453,456,608,618). En effet, à ce stade, BLyS constitue le facteur qui limite la survie des cellules TI ainsi que leur maturation. En l'absence de signaux de survie, les cellules meurent en trois ou quatre jours. Les cellules B autoréactives sont rapidement éliminées du répertoire en raison d'une dépendance accrue pour cette cytokine, et un excès de BLyS permet le sauvetage et la maturation subséquente de ces cellules (619,620).

C'est au niveau des organes lymphoïdes secondaires qu'a lieu la maturation des cellules TI. Elles sont alors appelées cellules B naïves, car elles n'ont pas encore rencontré leur antigène spécifique. Toutefois, dans certaines conditions pathologiques, ces cellules seront préférentiellement différenciées en cellules B de la zone marginale, dont le développement et l'activation sont discutés en détails plus loin (621,622).

5.1.3 Différentiation et activation T-dépendante

Les cellules B naïves complètent leur différenciation au niveau des organes lymphoïdes secondaires, qui constituent un important site de génération de cellules B mémoires et de cellules productrices d'anticorps. L'activation des cellules B peut se faire de façon T-dépendante ou T-indépendante (les mécanismes de ce dernier mode d'activation seront décrits en détails dans une section subséquente).

La signalisation par le BCR, couplée à des signaux générés par les APC et les lymphocytes T auxiliaires, entraîne l'activation et la différenciation des cellules B en plasmablastes et finalement en plasmocytes. L'affinité du BCR pour l'antigène déterminera si l'activation aura lieu dans des zones extra-folliculaires ou si les cellules entreront dans les centres germinatifs (623,624). Ainsi, les cellules dont le BCR est de forte affinité se différencient en plasmocytes, des cellules à courte durée de vie productrices d'anticorps, permettant une protection rapide à l'hôte. Les cellules d'affinité moyenne se différencient en plasmocytes à longue durée de vie, qui sont également productrices d'anticorps (623-626). Ces plasmocytes produisent généralement des IgM, ou peuvent être sujets à la commutation de classe dans des sites tels que les amygdales ou la muqueuse intestinale (627). Finalement, les cellules dont le BCR est de plus faible affinité entrent dans les centres germinatifs, où aura lieu la maturation d'affinité du BCR et la commutation de classe (623,625).

L'activation T-dépendante des cellules B se produit à la jonction entre les zones de cellules T et de cellules B, où a lieu la rencontre avec l'antigène spécifique à la surface des APC (628). L'activation des cellules B requiert des signaux provenant à la fois des DC, et des cellules T activées. Ce processus implique un premier signal fourni par les cellules présentatrices d'antigènes telles que les DC. La cellule B permet alors la co-stimulation des APC, qui vont activer les cellules T auxiliaires. Elle devient alors permissive à l'aide des cellules T auxiliaires, également activées par les DC. Les interactions des cellules B avec les cellules T et les DC, de même que l'interaction des cellules T avec les DC nécessitent plusieurs signaux de co-stimulation, notamment l'interaction entre la molécule CD40 sur les cellules B et les DC, et CD40 ligand présent sur les cellules T activées et les cellules B (628-632). La signalisation par la voie CD40-CD40 ligand génère les signaux essentiels à

l'activation de cellules B et à la création de centres germinatifs, où seront complétés la maturation d'affinité du BCR et la commutation de classe (discuté plus bas)(630-632).

5.1.4 Différentiation et activation des cellules B dans les centres germinatifs

La signalisation par la voie CD40-CD40 ligand permet l'entrée des cellules B dans les follicules primaires, où a lieu la création de centres germinatifs, qui permettront la maturation de l'affinité du BCR, et par conséquent la production de plasmocytes de plus forte affinité et de cellules B mémoires (624,633). Les cellules B activées se répliquent alors massivement, formant le follicule secondaire. On peut alors distinguer la structure du centre germinatif, illustrée dans la figure 7.

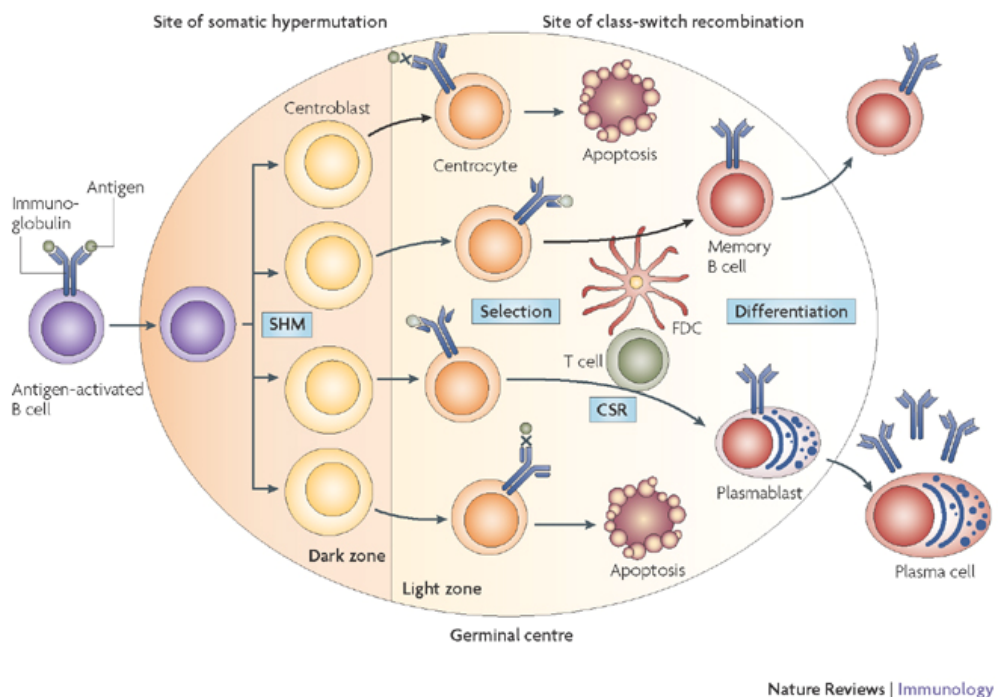


Figure 7. Environnement des centres germinatifs

Tiré de Klein et coll. Nature Reviews Immunology 2008 (633)

Avec l'autorisation de Nature Publishing Group.

La zone sombre des centres germinatifs est une région de prolifération massive des centroblastes, qui sont des cellules B dont l'expression d'IgM est absente. Un processus d'hypermutation somatique contribue à la diversification des immunoglobulines et à la maturation d'affinité et d'avidité de la région variable. Ceci est accompagné de l'expansion clonale des cellules B réactives, et de l'élimination par apoptose des cellules générant un BCR non-fonctionnel (634-636). Suite à cette phase d'expansion, les cellules B qui possèdent un BCR fonctionnel et de haute affinité cessent alors de se diviser et entrent dans la zone claire du centre germinatif, et sont alors appelées centrocytes (633). Ces cellules sont sujettes à des hauts taux d'apoptose, et leur survie est dépendante de signaux générés par les FDC

(FDC, *follicular dendritic cells*) et les cellules T également présentes dans la zone claire (633). Le premier signal est généré par les FDC, qui présentent des antigènes dans leur forme native en complexe immuns avec des IgM (637). Ces antigènes sont responsables de la sélection des centrocytes, préalable à leur activation par les lymphocytes T, qui sera faite notamment par l'interaction entre CD40 ligand et CD40. Ces signaux contribuent à la différenciation des centrocytes en cellules mémoires ou en plasmablastes, et ces derniers deviendront finalement des plasmocytes. D'une part, une stimulation continue de CD40, accompagnée de la sécrétion d'IL-4, favorise la différenciation des centrocytes en cellules mémoires. Ultérieurement, ces cellules peuvent être différenciées en plasmocytes suite à la reconnaissance de leur antigène, ou par l'activation du récepteur CD27 par la molécule CD70 présente sur les cellules T auxiliaires ou les mDC activées (638-640). D'autre part, les cytokines IL-2 et IL-10, de même que l'IL-6 favorisent la différenciation des plasmablastes en plasmocytes, responsables de la production d'anticorps de haute affinité (641-643). La spécificité des anticorps est déterminée par le fragment de liaison d'antigènes (Fab, *fragment antigen binding*) de ceux-ci, qui est variable. Leur fonction est déterminée par la portion constante ou Fc, dont les récepteurs sont exprimés sur les cellules présentatrices d'antigènes (644). Les fonctions des différentes classes d'immunoglobulines sont décrites dans la section suivante.

5.1.5 Production d'anticorps

Lors d'une réponse B T-dépendante, les centres germinatifs représentent un lieu important pour la commutation de classe. Ce processus est engendré en fonction de signaux qui ont été préalablement fournis par les cellules T auxiliaires, tels que l'interaction entre CD40 et CD40 ligand (600,645-653). Ce phénomène consiste en un réarrangement de la région constante des immunoglobulines, responsable de la fonction de celles-ci. Par la suite, les cytokines présentes, produites par les cellules T auxiliaires permettra la sécrétion d'anticorps. Les cellules B naïves co-expriment IgM et IgD (654,655). Les IgM sont des anticorps pentamériques principalement retrouvés dans le sang. Ils génèrent une réponse rapide et de haute avidité lors d'une première rencontre avec un antigène, et sont par

conséquent responsables de la réponse primaire (656). Les IgD sont impliqués dans l'activation des basophiles et des mastocytes (657). La première étape de commutation de classe dans les centres germinatifs génère des IgG, dont la production est favorisée par l'IFN- γ , l'IL-10 et l'IL-21 (647,651,652). Ces derniers sont principalement retrouvés dans le sang. Les IgG ont également subi l'hypermutation somatique, et ont une affinité supérieure aux IgM pour leur antigène. Ils sont responsables de l'immunité humorale en périphérie (658). Les IgA sont produits et localisés au niveau des muqueuses, et restreignent l'entrée de microorganismes pathogènes et commensaux (659). La génération d'IgA dans les muqueuses peut se faire de façon T-dépendante dans des structures telles que les plaques de Peyer de l'intestin ou les amygdales, stimulée par la présence de TGF- β et IL-21, ou de façon T-indépendante dans la lamina propria en présence de TGF- β ou d'APRIL, tel que discuté en détails dans la section portant sur l'activation T-indépendante des lymphocytes B. Les cellules naïves peuvent également être induites à produire des IgA à l'intérieur des centres germinatifs, puis migrer par la suite vers les muqueuses (660,661). Les IgA peuvent également être retrouvés au niveau du sang, où ils ont plutôt une fonction pro-inflammatoire (662). Les IgE sont principalement associés au développement d'allergies ou de défenses antiparasitaires. Leur production est favorisée par la sécrétion d'IL-4 (651).

5.1.6 Cellules B de la zone marginale

Plutôt qu'être différenciées en cellules B naïves, certaines cellules B immatures deviendront des cellules B de la zone marginale. Elles ont été appelées ainsi en raison de leur découverte initiale dans les rates de souris. Chez ces animaux, la zone marginale constitue la porte d'entrée du sang dans la rate, où il arrive via l'artère splénique et quitte la circulation en passant par le sinus marginal, tel qu'illustré dans la figure 8. On peut également observer cette structure chez les humains, malgré l'absence du sinus marginal qui sépare les follicules de la zone marginale (663,664). Chez l'humain, les cellules B de la zone marginale recirculent également dans le sang, et on peut trouver des cellules présentant des caractéristiques de la zone marginale dans les ganglions, les amygdales et les plaques de Peyer de l'intestin (665-667).

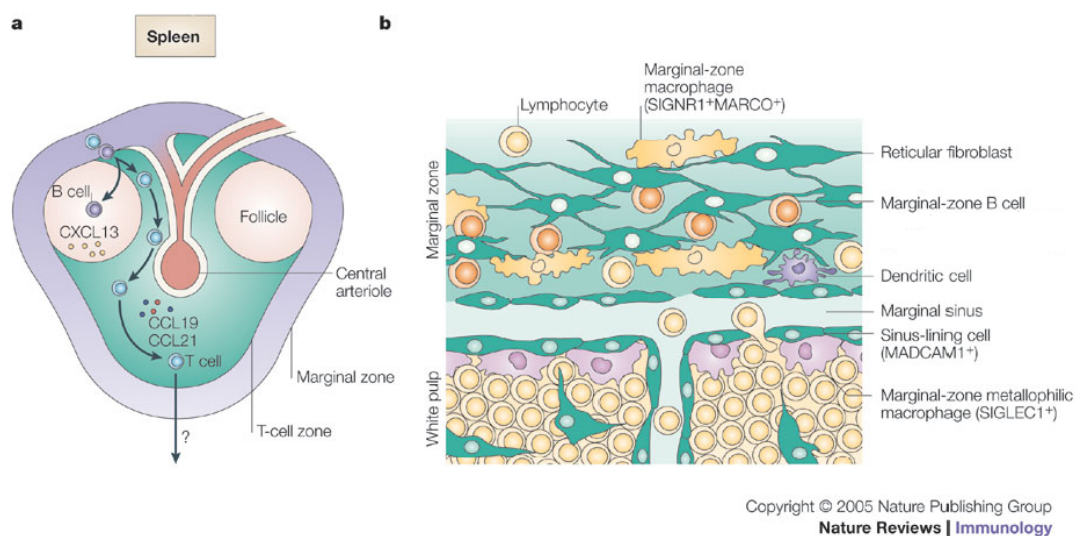


Figure 8. a) Structure de la rate murine. b) Structure de la zone marginale.

Tiré de Mebius et coll. Nature Reviews Immunology 2005 (668).

Avec l'autorisation de Nature Publishing Group.

Les cellules B de la zone marginale sont constamment en contact avec des antigènes transportés par le sang. Elles sont activées de façon T-indépendante par les DC présentant un antigène dans sa forme native, et sont impliquées dans la production d'IgM (669-671). Elles ont un répertoire polyclonal, et la zone marginale a longtemps été considérée comme un site de séquestration des cellules autoréactives, en raison de leur implication dans des maladies auto-immunes (672,673). Cependant, leur différenciation inclut un point de contrôle permettant l'élimination des cellules autoréactives (674,675). Un excès de BLYS, tel qu'observé dans certaines conditions pathologiques, permet la rétention dans la rate, la survie et la différenciation de cellules autoréactives en plasmablastes, et peut également causer leur sur-activation (27,620,676). Ces phénomènes ont d'importants impacts cliniques tels que le développement d'autoimmunité (27,620,669,672,676-679).

L'identification d'analogues de cellules B de la zone marginale présentant des caractéristiques de cellules mémoires dans la rate humaine souligne leur importance dans la

génération de l'immunité humorale (680,681). Ces cellules ont subi une étape de mutation somatique et de commutation de classe, et produisent des anticorps de type IgG. Une étude effectuée par Kaminski et coll. a également démontré la production d'IgA par les cellules B de la zone marginale, essentielle à la protection au niveau des muqueuses, qui sont les portes d'entrée de divers pathogènes (682).

Outre la production d'anticorps, les cellules B de la zone marginale jouent également un rôle dans les réactions des centres germinatifs (683). Elles capturent les antigènes transportés par le sang, et font la navette entre la zone marginale et les follicules pour déposer ces antigènes sur les DC folliculaires (684).

5.1.7 Activation T-indépendante des lymphocytes B

L'activation T-indépendante des cellules B, illustrée dans la figure 9, requiert la production de cytokines, notamment BLyS et APRIL par les DC, les monocytes et les macrophages (25). En effet, la liaison de BLyS et APRIL au récepteur TACI fournit un signal de co-stimulation essentiel à la génération de réponses B T-indépendantes. Ces cytokines permettent également la commutation de classe à l'extérieur des centres germinatifs, processus qui sera complété par une stimulation via le BCR, permettant la sécrétion d'IgG ou d'IgA (23,24,26,451,685). Ce phénomène a lieu en grande partie dans la zone marginale de la rate, où les cellules B sont en contact direct avec des antigènes transportés par le sang (669-671).

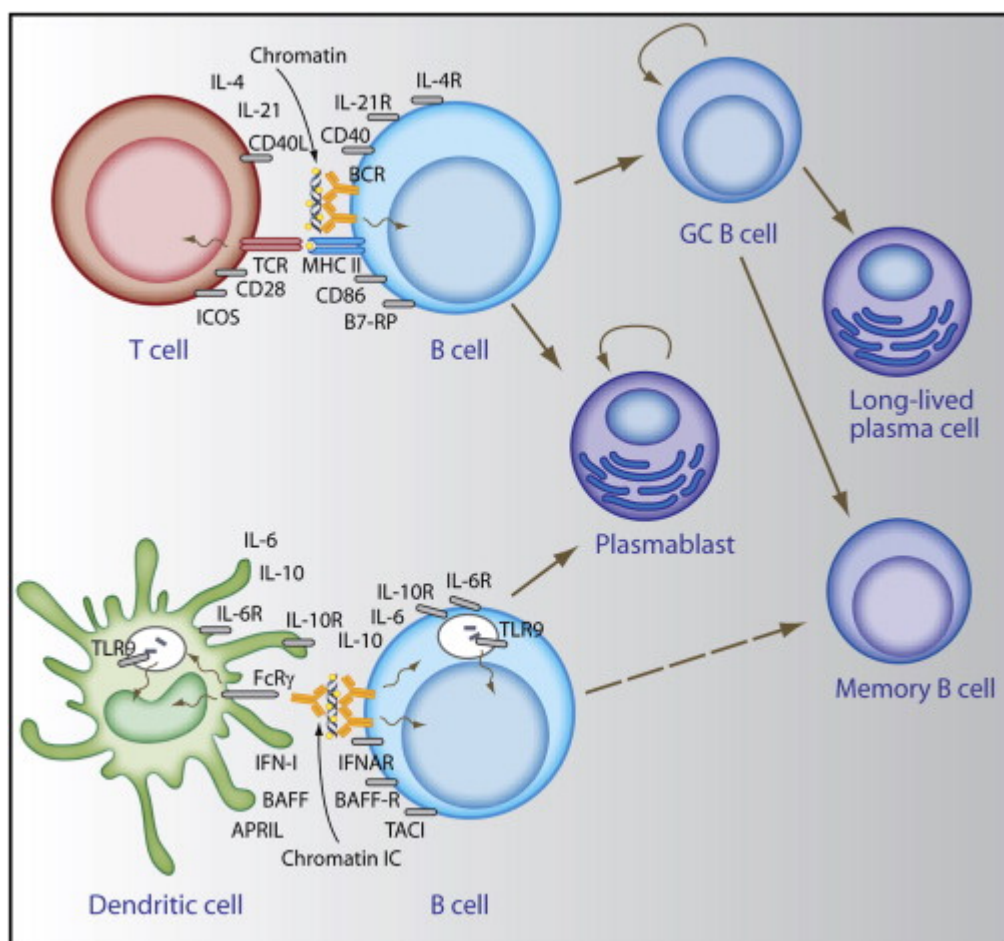


Figure 9. Activation T-dépendante et T-indépendante des lymphocytes B.

Tiré de Shlomchik, *Immunity* 2008 (686), avec l'autorisation d'Elsevier Limited.

Les muqueuses, notamment la muqueuse gastro-intestinale, sont également un site important d'activation T-indépendante des lymphocytes B, où la production d'IgA est essentielle à la protection contre les pathogènes et au contrôle de la flore commensale. La production d'IgA dans les muqueuses a lieu à la fois de façon T-dépendante dans les plaques de Peyer de l'intestin, et de façon T-indépendante au niveau de la lamina propria (687). Les cellules B IgM⁺ retrouvées localement peuvent se différencier en plasmocytes producteurs d'IgA (688-690). L'activation des cellules B au niveau des muqueuses peut être favorisée par les DC qui présentent des antigènes aux cellules B, permettant l'activation via le BCR ou les

TLR (691). De plus, la reconnaissance de patrons moléculaires bactériens par les TLR exprimés sur les DC induit la production de BLyS et APRIL. Ces cytokines livrent des signaux au récepteur TACI, qui induisent la commutation de classe et la production d'IgA (24,685). Ce processus peut également être induit par la TSLP, produite localement par les cellules épithéliales. La production de TSLP favorise d'une part la sécrétion d'APRIL et BLyS, de même que la sécrétion de TGF- β et d'IL-10 par les DC, qui entraînent la production d'IgA par les cellules B (692). Donc les signaux générés par le BCR et les TLR, de même que l'environnement local, sont responsables d'induire l'activation des cellules B et la production d'anticorps au niveau des muqueuses (687-690,692).

Les pDC jouent également un rôle crucial dans la différenciation des cellules B en plasmocytes via la production d'IFN- α et d'IL-6 (693). En présence de ligands des TLR, ces deux cytokines agissent de façon séquentielle, où l'IFN- α induit la différenciation des cellules B naïves en plasmablasts, et l'IL-6 induit la différenciation des plasmablasts en plasmocytes (486). Lorsqu'ils sont accompagnés d'une activation du BCR par des antigènes spécifiques, les pDC peuvent également causer la différenciation des cellules B mémoires en plasmocytes et induire la production d'anticorps (694).

En outre, certains antigènes sont capables d'induire directement l'activation des lymphocytes B (600,695). Il s'agit alors d'une activation polyclonale, où les anticorps produits sont souvent de faible affinité et peuvent reconnaître tant des antigènes hétérologues et autologues. L'activation polyclonale des cellules B peut également être causée par des cytokines telles que BLyS, produites par des DC préalablement activées (24). Ainsi, un excès de BLyS est associé à l'activation polyclonale de lymphocytes B souvent auto-réactifs, ainsi qu'à une rupture de la tolérance en périphérie et au développement de diverses pathologies autoimmunes telles que le lupus, l'arthrite rhumatoïde et le syndrome de Sjögren (451,696,697).

5.1.8 Lymphocytes B autoréactifs et tolérance

Malgré la sélection négative des cellules B autoréactives dans la moelle osseuse, on en retrouve une quantité importante parmi les cellules TI qui se rendent en périphérie, et qui diminue graduellement durant les étapes de différenciation. Il est néanmoins estimé que 20% des BCR exprimés par les cellules B naïves peuvent reconnaître des auto-antigènes. Ces cellules sont toutefois exclues des follicules par compétition et retirées par délétion avant les étapes d'hypermutation somatique, afin d'éviter leur présence parmi les cellules mémoires (609,674).

Malgré ces étapes de sélection, des cellules autoréactives peuvent se retrouver en périphérie. Divers mécanismes se mettent en place afin d'induire la tolérance de ces cellules. Dans certains cas, les cellules continueront la correction du récepteur en périphérie (698,699), ou seront éliminées du répertoire avant les étapes d'hypermutation somatique et d'expansion clonale (674,700). L'issue de l'interaction entre les auto-antigènes et les cellules B autoréactives est souvent déterminée par la nature des antigènes et le niveau d'engagement du BCR, lui-même influencé par son niveau d'expression ou l'aide fournie par les cellules T (701,702). Ainsi, la reconnaissance d'auto-antigènes avec une basse affinité induit principalement la correction du récepteur ou la délétion. Ces deux processus peuvent également être causés par une haute concentration de l'antigène, ou par son expression ubiquitaire. De plus, la compétition pour un BCR de plus forte affinité, ou pour des facteurs de survie tels que BLYS entraîne la mort par apoptose des cellules autoréactives (619,703).

Dans d'autres cas, l'absence de co-stimulation ou la présence de faibles doses d'antigènes solubles induit l'anergie (704). Les cellules sont alors réfractaires à des signaux d'activation malgré la reconnaissance d'antigènes, en raison d'un blocage de la signalisation via le BCR ou les TLR (699,705-709). Il s'agit toutefois d'un état transitoire, car les cellules regagnent leur réactivité en l'absence de l'antigène. Les cellules anergiques peuvent circuler dans les organes lymphoïdes secondaires, mais sont exclues des follicules et meurent rapidement à la frontière entre la zone des cellules T et le follicule (710).

Certaines cellules B autoréactives échappent à tous ces processus, et la présence de cellules mémoires autoréactives a été démontrée chez l'humain (711). Une rupture de la tolérance peut être causée par des mécanismes tels qu'une production excessive de BlyS, ou par un mimétisme moléculaire exercé par les pathogènes qui expriment des antigènes similaires aux antigènes du soi (712). Un tel phénomène est associé au développement de maladies autoimmunes en raison de la réactivation des cellules autoréactives (713). Ces cellules sont d'une part impliquées dans ces maladies en tant que productrices d'autoanticorps. Il y a alors formation de complexes immuns qui sont délétères. D'autre part, elles sont responsables de la présentation d'auto-antigènes aux lymphocytes T, induisant par conséquent la production de cytokines pro-inflammatoires (714-717).

5.2 Lymphocytes B et VIH

5.2.1 Infection des lymphocytes B et transinfection

Certaines études *in vitro* ont démontré que les lymphocytes B peuvent être infectés par le VIH, ou transmettre le virus aux cellules T. En effet, certaines populations de cellules B activées dans le sang et les amygdales expriment le récepteur DC-SIGN, et peuvent capturer et internaliser le VIH et le transmettre aux cellules T (718). Les virions peuvent également lier le récepteur de complément 2 (Cr2, ou CD21) présent sur les cellules B (719,720). Toutefois, la réplication du VIH dans les cellules B requiert des conditions de centres germinatifs, engendrées par l'activation via CD40. De plus, cette activation induit l'expression de CD4 et CXCR4, ce qui rend les cellules permissives aux virus de tropisme X4 ou R5X4 (721,722). Toutefois, aucune étude n'a démontré la présence de lymphocytes B infectés chez les patients infectés par le VIH, ou de contact entre le virus et les cellules B, et par conséquent l'importance de ce phénomène *in vivo* demeure controversée (722).

5.2.2 Activation polyclonale des lymphocytes B

Une dérégulation du compartiment des cellules B, incluant l'activation polyclonale, est observée tôt lors de l'infection par le VIH (8,9,11). Les cellules B naïves sont hyper réactives et sujettes à une activation et une prolifération excessives, ce qui cause l'expansion du bassin de cellules B activées chez les patients infectés par le VIH. Ces cellules sont responsables de la production spontanée d'immunoglobulines en culture, et présentent une susceptibilité accrue à l'apoptose (7). Les causes connues de ce phénomène incluent la régulation à la hausse du récepteur CD95, qui augmente la susceptibilité de ces cellules à l'apoptose induite par Fas. D'autre part, une augmentation de l'expression du récepteur BCMA, accompagné d'une diminution de BAFF-R, essentiel pour la liaison de BLyS, cause une diminution de l'accessibilité de ces cellules à ce facteur de survie (10).

L'activation polyclonale des lymphocytes B chez les patients infectés par le VIH est reflétée par la présence d'hyperglobulinémie, et souvent accompagnée de la production d'anticorps polyréactifs et d'autoanticorps (8,9,11,723-728). On peut en effet observer une production accrue d'IgG et IgA polyclonaux, qui demeure élevée lorsque les taux de cellules T CD4⁺ des patients sont très bas. Des facteurs viraux tels que la liaison de gp120 aux lectines de surface des cellules B activées peuvent entraîner la commutation de classe, alors qu'un excès de BLyS peut favoriser la sécrétion d'anticorps (729).

Certaines études tendent à démontrer qu'à la suite du traitement antirétroviral, on peut observer une diminution des cellules B suractivées et une normalisation de l'hyperglobulinémie (11,148-151). Ceci demeure toutefois controversé, car plusieurs groupes ont observé une grande hétérogénéité au niveau des cellules B activées chez les patients traités, caractérisée par de hauts niveaux de marqueurs d'activation et la présence d'hypergammaglobulinémie (hyper IgG) (145,146).

L'activation polyclonale des lymphocytes B peut être induite par des interactions directes entre les virions ou des protéines virales et les lymphocytes B (730). La liaison des virions à CD21 induit l'activation des cellules B. Toutefois, la fréquence des lymphocytes B qui interagissent directement avec les virions est faible, et insuffisante pour expliquer

l'importance de ces défauts chez les patients infectés par le VIH. Par conséquent, plusieurs effets indirects systémiques peuvent expliquer le phénomène de l'hyperactivation des lymphocytes B (730).

L'expression de Nef dans des cellules infectées, notamment les macrophages, induit la sécrétion de ferritine, qui contribue indirectement à l'activation polyclonale des lymphocytes B (731). De plus, les cytokines telles que l'IFN- α , TNF- α , IL-6 et IL-10, souvent retrouvées en excès chez les patients infectés par le VIH, sont associées avec l'hyperactivation des lymphocytes B et la production d'autoanticorps (732-736). De hautes concentrations de BLyS ont également été observées chez les patients infectés par le VIH, et corrèlent avec des hauts taux d'autoanticorps (737).

D'autre part, la liaison des TLR peut entraîner une sur-activation des cellules B. En effet, les cellules B naïves des patients infectés par le VIH sont susceptibles à l'activation de TLR-9, qui reconnaît l'ADN viral (738,739). La translocation de produits microbiens de l'intestin, notamment les LPS, peut également contribuer à ce phénomène. Les LPS lient le complexe formé du TLR-4, CD14 et MD2, et activent les DC, monocytes et macrophages (368,371,738). Cette activation entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires, qui cause l'activation non-spécifique des cellules B et des cellules T. De plus, de récentes études démontre que le TLR-4, qui n'est pas exprimé par les cellules B humaines dans des conditions homéostatiques, peut être induit dans certaines conditions inflammatoires chroniques (740,741). L'activation du TLR-4 augmente le recrutement et la rétention des cellules B naïves dans les ganglions et entraîne leur activation polyclonale et leur prolifération (742).

5.2.3 Altération de la mémoire immunologique et de l'immunité humorale

Les patients en phase chronique de l'infection au VIH présentent une diminution de la fréquence et de la fonction des cellules B mémoires (743). Premièrement, une augmentation du récepteur CD95, ou Fas, augmente la susceptibilité de ces cellules à l'apoptose (11,744,745). On peut également observer une destruction des structures folliculaires et des centres germinatifs dans les ganglions et les plaques de Peyer de l'intestin, en lien avec la progression vers le SIDA (9). Ces structures sont essentielles à la génération des cellules B mémoires, en raison du contact engendré entre les cellules B, les DC folliculaires et les cellules T. Par conséquent, la destruction de ces structures est délétère pour ce contact (9,738,746). Une diminution des récepteur CCR7, CD62L, et CXCR4 entrave également la migration des cellules B vers les ganglions et leur entrée subséquente dans les centres germinatifs, où a lieu l'induction des réponses B T-dépendantes (747). De plus, la diminution du nombre de cellules T CD4⁺ et de leur expression de CD40 ligand entraîne une diminution de l'activation T-dépendante des cellules B (282-288).

La mémoire immunologique des patients infectés par le VIH est également altérée en raison de défauts intrinsèques des cellules B. D'une part, l'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86, importantes pour la réponse des cellules B aux cellules T auxiliaires, est diminuée chez les patients infectés par le VIH (8,748,749). D'autre part, une population distincte de cellules mémoires « tissulaires » a été identifiée dans le sang des patients infectés par le VIH. Cette population est responsable de la majorité des réponses VIH-spécifiques, mais est réfractaire à la stimulation, et la sécrétion d'anticorps est par conséquent atteinte (750).

L'effet du traitement antirétroviral sur la fréquence et les fonctions des cellules B mémoires est très controversé. Une étude effectuée par Moir et coll. démontre une restauration de la population de cellules B mémoires à la suite de ART (148). Toutefois, selon plusieurs autres études, les patients sous ART présentent une diminution persistante des cellules mémoires et de la production d'anticorps spécifiques au VIH et aux antigènes vaccinaux (743,751,752). Une autre étude, effectuée par Bussmann et coll. démontre

l'absence de restauration des réponses VIH spécifiques, mais une restauration des réponses aux antigènes vaccinaux (753). Selon cette étude, l'altération de l'immunité humorale et de la mémoire immunologique semble donc être spécifique au VIH. Finalement, selon Persieroso et coll. le traitement précoce permet une meilleure préservation des cellules mémoires que le traitement plus tardif, ou en l'absence de progression clinique (754). La diminution des cellules mémoires semble donc être permanente mais peut être évitée (743,751-754).

Des facteurs viraux peuvent également avoir un impact négatif sur la génération de réponses humorales. La protéine Nef du VIH peut être transférée des cellules infectées vers les lymphocytes B, et s'accumuler à l'intérieur de ceux-ci. Elle induit alors l'expression de la protéine $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et du suppresseur de signalisation des cytokines (SOCS, *suppressor of cytokine signaling*). Ceci interfère avec les voies de signalisation de CD40 et des cytokines en bloquant l'activité des facteurs de transcription $\text{NF}\kappa\text{B}$ et du transducteur de signaux et activateur de transcription (STAT, *signal transducer and activator of transcription*). Ce phénomène est lié à une diminution de la commutation de classe et de la production IgG et IgA (755,756). Par conséquent, la production d'IgA dans la muqueuse intestinale est insuffisante pour bloquer la réplication et la dissémination virale, et protéger l'intégrité membranaire (757,758). Les patients infectés par le VIH présentent également de mauvaises réponses à des antigènes vaccinaux tels que l'influenza, le *Streptococcus pneumoniae*, la toxine tétanique et la rougeole (727,743,759,760).

5.2.4 Augmentation de populations de lymphocytes B sous-représentées

On observe, lors de l'infection chronique par le VIH, une augmentation des cellules B TI, qui corrèle avec le déclin des lymphocytes T CD4^+ et avec un excès d'IL-7 (723,761,762). Ces cellules ont une grande activité prolifératrice accompagnée d'une susceptibilité accrue à l'apoptose, due à une diminution des facteurs anti-apoptotiques de la famille des lymphomes de cellules B -2 (BCL-2, *B cell lymphoma -2*) (7).

Les plasmablastes sont également augmentés chez les patients infectés par le VIH. Ces cellules représentent normalement un intermédiaire entre les cellules B activées et les plasmocytes, qui ont une durée de vie plus longue (763).

6 Axe DC-cellules B dans le contexte de l'infection à VIH : observations chez le modèle murin transgénique pour le VIH

Des souris transgéniques exprimant les gènes du VIH sous le contrôle du promoteur CD4 humain, dans les cellules T CD4⁺, les DC et les macrophages, développent une pathologie similaire au SIDA, qui est dépendante de la protéine Nef (29,764,765). Ces souris présentent une activation polyclonale des lymphocytes B, reflétée par la présence d'hyperglobulinémie et une accumulation d'anticorps anti-ADN-double-brin, de même que par la prolifération et la sécrétion spontanée d'IgM *in vitro*. Elles présentent également une accumulation des lymphocytes B dans les ganglions et la rate, où on peut observer un élargissement de la zone marginale. Les DC de ces souris tendent également à s'accumuler dans cette zone. Ce site constitue le point d'entrée dans la rate, et représente un point possible de contact entre les DC et les cellules B.

Par ailleurs, les souris VIH transgéniques ont des défauts au niveau de l'immunité humorale. Ces souris sont incapables de générer une réponse T-dépendante, et d'engendrer la formation de centres germinatifs. Ce phénomène est possiblement dû à plusieurs facteurs, notamment une altération des interactions entre les cellules B, les DC et les cellules T CD4⁺ auxiliaires. Leurs DC ont un phénotype immature, et une capacité altérée de présenter des antigènes et de stimuler les réponses T. De plus, les cellules T CD4⁺ de ces souris présentent une diminution de l'expression de CD40 ligand, essentielle à l'activation des cellules B de façon T dépendante (29,30). Cette altération semble être directement causée par des facteurs viraux, car les DC dérivées des moelles osseuses de souris présentent également un défaut de

maturation *in vitro*. Le fait qu'on retrouve ce phénotype chez les souris exprimant seulement Nef semble indiquer un rôle direct joué par cette protéine. Toutefois, un phénomène similaire ayant été observé chez la souris SCID (766-768), il peut également être causé indirectement par l'altération des cellules T CD4⁺.

Une certaine similitude peut être observée entre le phénotype des DC et l'altération du compartiment B des souris transgéniques pour le gène Nef du VIH et des souris transgéniques pour BLyS (27). Chez ces souris, une production excessive de BLyS est accompagnée d'un élargissement de la zone marginale de la rate. Ce phénomène est accompagné de la suractivation des cellules B de la zone marginale et du développement d'un phénomène d'autoimmunité, similaire au lupus (28).

Hypothèses

Les données obtenues avec le modèle murin révèlent une analogie entre les altérations des compartiments DC et B observées chez les souris transgéniques et les anomalies observées chez les patients infectés par le VIH. Ces observations suggèrent que les altérations observées au niveau des DC pourraient contribuer aux anomalies des lymphocytes B. En effet, l'accumulation de DC dans les zones riches en cellules B des rates de souris, de même que la grande production de BLyS, semblent être liées à l'activation polyclonale et à l'élargissement de la zone marginale, et jouent possiblement un rôle dans l'activation excessive de ces cellules.

Ces observations sont à l'origine de notre hypothèse de travail, qui stipule que l'altération du compartiment DC des patients infectés par le VIH est à l'origine d'une production accrue de facteurs de croissance des cellules B. Par conséquent, nous croyons que l'altération des DC est impliquée dans la dérégulation des cellules B chez les patients infectés par le VIH. De plus, le recrutement massif des DC dans la zone marginale a possiblement un impact important dans l'activation des cellules B de première ligne.

Objectifs

1 Corrélation du stade de différenciation des DC avec le statut de progression et la phase de l'infection VIH

Des altérations fonctionnelles et de fréquence des DC ont été observées chez les patients infectés par le VIH, et corrélent avec les taux de cellules T CD4⁺ et la charge virale plasmatique. Toutefois, la restauration des fonctions et des fréquences des DC suite au traitement antirétroviral demeure controversée. L'absence d'uniformité des études, notamment les différentes sources cellulaires utilisées ou l'obtention de résultats par des études *in vitro* ou des observations *ex vivo*, peuvent être à l'origine de ces discordances. On peut également attribuer les différences à la rareté des études longitudinales et à l'hétérogénéité des groupes de patients étudiés.

Par conséquent, la première étape du présent travail a été de résoudre ces questions controversées en évaluant, de façon longitudinale, les niveaux d'activation et la dynamique des différentes populations de DC du sang circulant chez des patients infectés par le VIH avec une progression clinique rapide, « normale » ou classique, et lente. Par cette analyse, nous cherchons à établir un lien entre les altérations des DC, le stade de l'infection et le type de progression des patients.

2 Implication des DC dans la production de facteurs de croissance pour les cellules B

Les DC sont impliquées dans la régulation des réponses des cellules B, à la fois de façon T-dépendante et T-indépendante. La régulation T-indépendante a lieu principalement par la production de facteurs de croissance tels que BLYS et APRIL, dont l'importance a été décrite précédemment. Par conséquent, nous avons déterminé le niveau d'expression de

BLYS à la membrane des DC. Nous avons également mesuré les concentrations plasmatiques de BLYS ainsi que d'autres facteurs de croissance pour les cellules B, notamment APRIL, IL-6 et IL-10. Ces mesures ont été effectuées chez des patients infectés par le VIH avec une progression clinique rapide, « normale » ou classique, et lente.

3 Évaluation des fréquences des populations de cellules B du sang en fonction du stade de l'infection et du statut de progression clinique

Les populations de cellules B chez les patients infectés par le VIH ayant été évaluées dans peu d'études longitudinales, une controverse perdure quant à sa restauration lors du traitement antirétroviral. Ceci suggère l'implication de facteurs autres que la charge virale et les altérations au niveau des lymphocytes T CD4⁺. L'importance des DC dans la régulation des réponses générées par les cellules B, de même que les altérations du compartiment des DC observées chez les patients infectés par le VIH, suggèrent une implication des DC dans les anomalies des lymphocytes B. Par conséquent, nous avons évalué les dynamiques des différentes populations de cellules B du sang circulant en fonction du stade de l'infection VIH et du taux de progression clinique des patients, tel qu'en 1 et 2. Afin de compléter l'étude du statut des cellules B, l'analyse de la production totale d'immunoglobulines au niveau plasmatique a fait l'objet d'une autre étude dans le laboratoire. Nous avons ensuite analysé le lien entre le statut du compartiment de DC et le phénotype du compartiment B, avec comme objectif majeur d'évaluer l'implication de ces dernières dans les altérations des cellules B observées au cours de l'infection par le VIH.

Article 1

HIV infection affects blood myeloid dendritic cells after successful therapy and despite nonprogressing clinical disease

Julie Fontaine, François Coutlée, Cécile Tremblay, Jean-Pierre Routy, Johanne Poudrier and Michel Roger for the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Nonprogressor Study Groups

Publié dans: *The Journal of Infectious Diseases* 2009; 199: p. 1007-1018

Contribution des co-auteurs :

Les personnes suivantes ont permis la réalisation des études menant à la publication de cet article. Julie Fontaine a participé à l'élaboration du devis de l'étude et à la rédaction de l'article, a effectué les analyses de cytométrie sur les spécimens et les analyses statistiques des résultats. François Coutlée a participé à l'analyse statistique des résultats. Cécile Tremblay et Jean-Pierre Routy ont mis sur pied les cohortes LTNP et Primo-infection, respectivement, et ont participé activement au recrutement des participants à l'étude. Johanne Poudrier a participé à l'élaboration du devis de l'étude, a supervisé les expériences et a participé à la rédaction de l'article. Michel Roger a coordonné les différents aspects de l'étude, et a participé à la rédaction de l'article.

HIV infection affects blood myeloid dendritic cells beyond successful therapy and despite non-progressing clinical disease

Julie Fontaine^{1,2}, François Coutlée^{2,3}, Cécile Tremblay², Jean-Pierre Routy⁴, Johanne Poudrier^{1,2*}, Michel Roger^{1,2*} and the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Groups

¹ Laboratoire d'immunogénétique, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de

Montréal (CHUM), Canada

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

³ Laboratoire de virologie moléculaire, Centre de Recherche du CHUM, Montréal, Canada

⁴ Research Institute of the McGill University Health Centre, Montreal, Canada

Word count in the text: 3487

Word count in abstract: 142

Running head: HIV infection affects DC populations

Number of figures and tables: Figures: 6, table: 1

Reference count: 49

*JP and MR share senior authorship

FOOTNOTE PAGEConflict 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). J Fontaine holds a Studentship from the CIHR. C Tremblay, JP Routy, and M Roger are recipients of Research Scholar awards from the FRSQ.

Part of this work was presented at 17th Annual Canadian Conference on HIV/AIDS Research, April 2008, Montreal, Canada, abstract no P134. 21st Annual Meeting of the Canadian Society for Immunology, April 2008, Montreal, Canada, abstract no 5.

The members of the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Groups are M Legault (coordinator); N. Bernard, R Leblanc, RG Lalonde, N Gilmore, M Klein, J MacLeod, G Smith, J Allan, C Tsoukas, M Potter, J Falutz, J Cox (McGill University Health Center); D Rouleau, J Bruneau, C Fortin, A de Pokomandy (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).

ABSTRACT

We have assessed the longitudinal changes in blood myeloid (mDC) and plasmacytoid (pDC) dendritic cell populations in subjects undergoing primary HIV infection with different rates of disease progression. The relative level and degree of maturation of all cell populations decreased significantly in untreated acutely infected individuals. The most dramatic changes were observed in the rapid progressor group, correlating with their rate of clinical progression. mDC remained below normal levels throughout the follow-up for both antiretroviral therapy (ART) rapid progressor responders and untreated normal progressors. In contrast, mDC precursors were restored to normal levels in subsequent phases of infection in both rapid and normal progressors, and were increased in long-term non-progressors (LTNP). pDC levels followed the scheme of CD4+ T cell fluctuations. These findings provide evidence for an ongoing process affecting mDC beyond successful ART and despite non-progressing clinical disease following HIV infection.

Word count: 142

Key words: Dendritic cells; precursors; sub-populations; HIV phase of infection; HIV disease progression.

During HIV infection, dendritic cells (DC) at mucosal surfaces are among the earliest cell types to be exposed to the virus. As such, they facilitate presentation and/or transmission of HIV to CD4⁺ T cells in the sub-mucosal layer and draining lymphoid organs [1,2]. HIV footprints have been detected in myeloid DC (mDC) of HIV-infected individuals [3-6]. HIV can replicate in immature mDC *in vitro* [7,8]. The number, phenotype and function of DC populations have been shown to be affected during HIV infection. Indeed, low levels of mDC were observed in the blood [5,9,10], skin [11], oral mucosa [12] and lymph nodes (LN) [13] of HIV-infected patients. mDC bearing an immature phenotype were found in the blood of HIV-infected individuals [14-16]. DC expressing low levels of co-stimulatory molecules CD40, CD80 and CD86 were observed in the LN and tonsils of AIDS patients [17].

Human plasmacytoid DC (pDC) [18] have also been shown to be productively infected by HIV [19]. HIV RNA can activate pDC resulting in up-regulation of the expression of co-stimulatory molecules and by the production of large amounts of type I interferon (IFN), which secretion can inhibit virus replication in T cells [20,21]. Blood pDC and IFN levels are decreased in advanced stages of HIV infection but can be restored by antiretroviral therapy (ART) [22]. Blood pDC levels have been correlated directly with CD4⁺ T cell counts and inversely with HIV viral loads, suggesting a role in controlling replication [10,23].

Given the pivotal role of DC in regulation of immune responses, it is likely that any impairment in population levels, phenotypes and/or functions will correlate with HIV disease progression. However, a consensus as to the extent of DC alterations and contribution to disease progression has been difficult to reach given the numerous experimental disparities and few *ex vivo* longitudinal studies. We have thus endeavoured a longitudinal assessment of the *ex vivo* blood DC compartment of subjects undergoing primary HIV infection (PHI) with different rates of disease progression; rapid and normal progressors, long-term non-progressors (LTNP) and healthy HIV negative donors. We report that DC levels and maturation status significantly correlate with phases of infection and rates of disease progression. Moreover, our results reveal an ongoing process affecting mDC beyond successful ART and despite non-progressing clinical disease.

METHODS

Subjects. Twenty-four HIV-infected subjects were selected from the Montreal PHI cohort: 10 were classified as rapid and 14 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, Maryland, USA). Rapid progressors had CD4⁺ T cell counts below 250 cells/mm³ within two years of infection. Blood samples were taken at four time-points: acute (0-3 months) and early (5-8 months) phases of infection, three to six months and nine to twelve 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 twelve 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 and twenty age-matched HIV negative volunteers were included. HIV viral loads were determined in the plasma using VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNA) (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown NY, USA). CD4⁺ T cell counts were determined as previously reported [24]. None of the study subjects had syphilis, hepatitis B or hepatitis C. Informed consent was obtained from all subjects, and the research conformed to ethical guidelines of all authors' institutions.

Evaluation of cell populations by flow cytometry. PBMCs were isolated following whole blood centrifugation on Ficoll gradient. Cells were resuspended in heat inactivated fetal bovine serum (FBS) with 10% dimethyl-sulfoxide (DMSO) and stored in liquid nitrogen. Cells were thawed and washed in RPMI containing 5% heat inactivated FBS and 1% penicillin/streptomycin. One million PBMCs per sample were used for cell-surface staining. Non-specific sites were blocked by incubation for 10 minutes on ice with FACS buffer (1x PBS, 2% heat inactivated FBS and 0.1% sodium azide) containing 12% heat inactivated FBS and 10 µg total mouse IgG (Sigma Aldrich, Oakville, ON, Canada). Cells were labelled with a cocktail containing at least seven of the following mouse anti-human monoclonal antibodies: FITC-conjugated anti-CD3, CD19 and CD56 (lineage markers), PE-Cy7-conjugated anti-HLA-DR, PE-Cy5-conjugated anti-CD86, APC-conjugated anti-CD11c, R-PE-conjugated anti-CD123, or anti-CD14 (Becton Dickinson Biosciences, Mississauga, ON, Canada), and Alexa-Fluor 700 conjugated anti-CD16 (Invitrogen, Frederick, MD, USA).

Dead cells were identified by trypan blue exclusion and 7AAD staining. Data acquisition of 100,000 events per sample was performed on a BD LSRII apparatus (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) and analysis was done with Flow Jo 7.7.2 software (Tree Star, Ashland, OR, USA).

Statistical analyses. 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. The magnitude of the association between DC subpopulations and progressor rate was assessed by logistic regression controlling for CD4⁺ T count and HIV viral load in different analyses. Spearman's rank test was used to determine correlations between continuous variables. Analyses were performed using the GraphPad PRISM 5.0 for Windows (GraphPad Software inc, San Diego, CA, USA).

RESULTS

Socio-demographic and clinical characteristics of HIV-infected individuals

The study groups were similar with respect to sex, race, and modes of HIV acquisition (table 1). Mean age of LTNP subjects was higher. 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. The longitudinal assessment of the CD4⁺ T cell counts and viral loads during the course of HIV infection is depicted in figure 1 and the longitudinal changes in the percentages of monocytes in total PBMCs are shown in figure 2. In both rapid and normal progressors, the relative levels of CD4⁺ T cells and monocytes dropped during the acute phase of infection but were restored to normal levels in the subsequent phases of infection. There was no significant correlation between CD4⁺ T cell counts or viral loads and the DC subpopulations either within groups or among all patients during acute or chronic infection (data not shown).

Longitudinal monitoring of mDC in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

Upon analysis for variations in the relative frequencies of CD11c⁺ mDC populations, we have identified three different phenotypes: CD11c⁺CD16⁻, CD11c⁺CD16⁺ and CD11c⁺⁺CD123^{low} (figures 3a and 3b). The mean cell percentages of the CD11c⁺CD16⁻ mDC subset were significantly lower in acutely HIV-infected individuals (0-3 months) compared to HIV negative individuals (figure 3c, left and middle panels). The relative levels of these cells remained low throughout the two-year follow-up for both rapid and normal progressors, but were unaffected in LTNP subjects (figure 3c, right panel). We assessed the state of maturation/differentiation of each mDC subsets as to the percentage of cells expressing high surface levels of HLA-DR and CD86 (figure 4a). Although, the percentage of mature (HLA-DR⁺⁺CD86⁺) CD11c⁺CD16⁻ mDC during the acute phase of infection was lower in the rapid progressor group compared to those observed in other groups ($p < 0.0001$), it was partially replenished in the early phase of infection (5-8 months) and totally following the initiation of ART (figure 4b, left panel). On the other hand, the relative levels of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ expressing cells remained unaltered in both normal progressors and LTNPs (figure 4b, middle and right panels).

The mean cell percentages of the CD11c⁺CD16⁺ mDC subset were lower in acutely infected rapid progressors compared to those observed in both normal progressors and HIV negative donors ($p = 0.0009$ and $p < 0.0001$, respectively), and remained low throughout the study period (figure 3d, left panel). Importantly, the percentage of CD16⁺ mDC during acute infection in rapid progressors remained significantly lower even after adjusting for CD4⁺ T cells count ($p = 0.05$) or viraemia ($p = 0.02$). The percentages of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells were unaffected in all groups, except for slight decrease in the acute phase of infection for rapid progressors (figure 4c, left panel) and increase in LTNP subjects compared to those found in HIV negative donors (figure 4c, right panel).

The CD11c⁺⁺CD123^{low} mDC subtype was characterised by fluctuation of its percentage throughout the study period, in both rapid and normal progressors (figure 3e, left and middle panels). Lower relative levels were observed in acutely infected individuals, with partial replenishment in the early phase followed by another decrease in the chronic phase of

infection. Importantly, as with the other mDC subsets, ART did not restore the CD11c⁺⁺CD123^{low} cell levels in rapid progressors. There was no difference in the percentage of these cells in LTNP subjects compared to that in HIV negative donors (figure 3e, right panel). In rapid progressors, we observed a decrease in the percentage of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells in the acute phase of infection, which was totally replenished in the early phase and increased slightly above normal levels upon initiation of ART (figure 4d, left panel). Although we observed a significant decrease in the maturation level of CD11c⁺⁺CD123^{low} mDC in the chronic phase of infection of untreated normal progressors (figure 4d, middle panel), these cells appeared to be unaffected in chronically-infected LTNP subjects (figure 4d, right panel).

Thus, the longitudinal study of all three mDC subsets showed that their frequencies were decreased in the acute phase of HIV infection and remained low in the subsequent phases of infection beyond successful therapy and despite non-progressing clinical disease. Moreover, the levels of mDC subsets and state of maturation were more severely affected in the rapid progressor group compared to those in the other groups.

Longitudinal monitoring of mDC precursors in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

Upon analysis of the CD11c⁺CD14⁺ mDC precursors, we have observed Lin⁻HLA-DR⁺ cells that bear two different phenotypes, namely CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ and CD11c⁺CD14⁺CD16⁺ (figure 5a) which presented similar patterns of fluctuation over the course of infection. In the acute phase of infection, rapid progressors had lower percentages of both CD16⁻ and CD16⁺ precursor subsets compared to those in both normal progressors and HIV negative donors (p=0.0006 for CD16⁻ precursors and p=0.002 for CD16⁺ precursors). The percentage of CD16⁻ and CD16⁺ mDC precursors during acute infection in rapid progressors remained significantly lower even after adjusting for CD4⁺ T cells count (p=0.04 and p=0.05, respectively) or viraemia (p=0.04 and p=0.05, respectively). Acutely infected rapid progressors had lower percentages of CD16⁻ and CD16⁺ mDC precursors expressing HLA-DR⁺⁺CD86⁺ when compared to those observed in normal progressors (p=0.006 and p=0.01, respectively) and in HIV negative volunteers (p=0.002 and p=0.0003, respectively). In rapid progressors, both the relative levels of CD16⁻ and CD16⁺ precursor subsets (figures 5b and

5d, left panels) and the percentages of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells (figures 5c and 5e, left panels) were replenished upon initiation of ART. Interestingly, the CD16⁺ precursors were increased above normal levels in all chronically infected patients, reaching statistical significance in LTNP subjects (figure 5d, right panel). Moreover, the level of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells in the CD16⁻ subset in chronic phase of infection in normal progressors was significantly above that observed in HIV negative donors (p=0.006) (figure 5c, middle panel). LTNP subjects had normal levels of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells in both their CD16⁻ and CD16⁺ precursor populations (figures 5c and 5e, right panels).

Hence, the mDC and mDC precursor populations showed similar decrease in their relative levels during the acute phase of infection, more so in rapid than in normal progressors. However, there was a notable difference. In contrast to mDC, mDC precursor populations were replenished in the subsequent phases of infection in both the rapid and normal progressor groups and tended to increase above normal levels during chronic infection, particularly in the LTNP group.

Longitudinal monitoring of pDC in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

pDC are defined as Lin⁻HLA-DR⁺ CD11c⁻CD123⁺ cells (figure 6a). In the acute phase of infection, the mean cell percentages of the pDC population were significantly lower in both rapid and normal progressors compared to that observed in HIV negative donors (figure 6b, left and middle panels). A partial replenishment of this cell population was observed in the early phase of infection, followed by full restoration in the chronic phase for both treated rapid and untreated normal progressors. However, the pDC levels in ART naive normal progressors remained below those observed in both rapid progressors and HIV negative volunteers (p=0.02). We observed no difference in the cell percentage of pDC in LTNP subjects compared to that in HIV negative donors (figure 6b, right panel). Analysis of levels of surface expression of HLA-DR and CD86 on pDC revealed a peak in the early phase of infection in both rapid and normal progressors, followed by a noticeable decrease in the later stages of infection in untreated normal progressors. (figure 6c, left and middle panels). Although some LTNP subjects had relatively higher levels of pDC expressing the mature

phenotype compared to that in HIV negative donors, the difference was not statistically significant (figure 6c, right panel).

DISCUSSION

The *ex vivo* flow cytometry analysis of blood mDC revealed three different phenotypes, namely CD11c⁺CD16⁻, CD11c⁺CD16⁺ and CD11c⁺⁺CD123^{low} mDC. They were present in both HIV-infected and uninfected individuals and possibly reflect different sub-populations and/or stages of differentiation. The CD11c⁺CD16⁺ mDC have been associated with inflammatory conditions [25]. CD123 expression has been described on cultured sorted mDC [26] and monocyte-derived DC [27], the latter showing enhanced endocytosis and reduced antigen-presenting capacities when compared to CD123⁻ mDC. The longitudinal monitoring of mDC subsets showed that their levels decreased in the acute phase and remained low during the first two years of infection for both ART rapid progressor responders and untreated normal progressors. The decrease observed in rapid progressors is greater than that in normal progressors, suggesting that the extent of decrease in mDC subsets observed in acutely infected individuals may predict the rate of disease progression. The fact that mDC levels remained low throughout the course of infection despite the suppression of viraemia and the replenishment of monocytes and CD4⁺ T cells, suggests that there is an ongoing process affecting mDC in the very early stage of infection that persist beyond the apparent control of HIV infection. Although the mechanisms used by HIV to affect DC populations are not fully understood, the decrease in blood mDC populations could be due to HIV-induced or -related cell death. On the other hand, the low levels of mDC in circulating blood raises the possibility that they are actively recruited to lymphoid organs in response to the ongoing attempt of the immune system to fight disease progression. This has been shown in the HIV transgenic mouse model, where DC accumulated in the LN sub-capsular sinus and spleen [28]. Moreover, high levels of mDC were found in the tonsils of acutely HIV-infected individuals [17] and inguinal LN of chronically infected individuals [29].

The CD11c⁺CD14⁺ mDC precursor CD16⁻ and CD16⁺ subsets have been previously described in human peripheral blood. They have the ability to migrate to sites of inflammation and to differentiate into mature mDC [30,31]. As with the mDC, the relative

levels of blood mDC precursors were decreased during the acute phase of infection, more so in rapid than in normal progressors. In contrast to the mDC, the mDC precursors were replenished in the subsequent phases of infection in both the treated rapid and untreated normal progressors, and were increased above normal levels during chronic infection, particularly in LTNPs. Whether they represent cells blocked in their maturation processes and accumulate during HIV infection remains to be established. Nevertheless, the relative increase in the levels of these cells observed in the chronic phase of HIV infection may represent an attempt to replenish the mature mDC pool. This could be the case for LTNP subjects, which had elevated CD16⁺ mDC precursor and normal mDC levels. In these individuals, the increased capacity to produce mDC precursors may permit to maintain relatively normal mDC levels allowing for a better control of disease progression. However, this process may contribute to the maintenance of a chronic state of immune activation affecting other cell types, such as B lymphocytes. Indeed, we and others have found hyperglobulinemia and elevated serum auto-antibody levels in LTNP subjects as well as in ART rapid progressor responders (authors' unpublished data) [32-41]. The fact that these individuals had normal CD4⁺ T cells counts and low to undetectable viral loads, suggest that other factors contribute to the triggering and progression of the HIV-mediated B cell disease. The involvement of 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 B lymphocyte stimulator (BLyS)-dependent manner [42]. Furthermore, hyperglobulinemia and high serum anti-dsDNA titres in HIV-transgenic mice were accompanied by increased number of immature mDC in the enlarged MZ B cell compartment [28,43].

Although previous studies have reported that the DC maturation process is altered in the context of HIV [14-17], none of them monitored and compared the patterns of DC maturation during the course of infection in patients with different rates of disease progression. Here we show that the percentages of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ mDC and mDC precursor populations are differently affected in rapid progressors compared to those in both normal progressors and LTNPs, underlining another marker of disease progression. Indeed, the levels decreased significantly in the acute phase of infection in rapid but not in normal progressors, and were restored to normal levels upon initiation of ART. HIV products such as Nef were reported to

prevent maturation of *in vitro* transfected mDC [44] and mDC from HIV transgenic mice [43]. By reducing the level of infectious virus, successful ART may also reduce the blood concentration of HIV-related products affecting DC maturation. The mDC phenotypes were not affected in the LTNP group with the exception of a relative increase in the level of HLA-DR⁺⁺CD86⁺ cells in the CD11c⁺CD16⁺ subset. This cell population has been shown to produce high levels of inflammatory cytokines such as IL-6, IL-8 and TNF- α in HIV-infected individuals [45]. Interestingly, we have observed higher levels of IL-6 and IL-8 in the serum of LTNPs compared to those in both rapid and normal progressors (authors' unpublished data). These observations suggest, once again, that LTNP subjects show signs of chronic immune activation despite seemingly normal immune functions controlling HIV infection.

Blood pDC levels have been correlated directly with CD4⁺ T cell counts and inversely with viral loads [10,23]. Moreover, levels of viraemia prior to the initiation of therapy may predict the extent to which pDC are replenished once ART is initiated [46]. Accordingly, in both rapid and normal progressors, we found low levels of blood pDC in the early phases of infection when the CD4⁺ T cell counts are low and viral loads are elevated. HIV might be responsible for this depletion since it can induce pDC death [47]. However, the relative decrease in blood pDC levels may be due to cell migration in targeted areas, as HIV-1 has been shown to induce expression of the migration marker CCR7 [48]. pDC levels can be restored under ART as shown here in rapid progressors and in previous studies [22,46]. Moreover, we showed that they can also be restored to normal levels in the chronic phase of infection in untreated normal progressors that have normal CD4⁺ T cell counts but relatively high viral loads. Thus, it appears that in normal progressors the scheme of alteration in pDC levels follows that of CD4⁺ T cells regardless of the viral load.

We found that the levels of expression of HLA-DR and CD86 on blood pDC peaked at the early infection (five to eight months) time point. Interestingly, this corresponds to the virological set point, where a stabilisation of the viral load can be observed, partially due to the development of virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses [49]. This peak of activated pDC might represent an attempt of the immune system to control the viraemia. Indeed, activated pDC have been shown to inhibit HIV replication in CD4⁺ T cells, both by the production of IFN- α and by cell-to-cell contact [49].

The present study demonstrates that the alterations in the peripheral blood DC compartment should be considered as a criterion in the early assessment of clinical progression of HIV-infected individuals. The established clinical parameters (blood CD4⁺ T cells and viral levels) may underestimate the underlying conditions contributing to disease progression even beyond successful ART. Indeed, the longitudinal analysis of the DC populations in well-characterised HIV-infected patients with different rates of disease progression reveals alterations in mDC levels and phenotypes in the very early stage of infection that persist beyond the apparent control of HIV infection. These findings should be taken into account in the design of therapies involving autologous mDC vaccination.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the participants of the Montreal PHI and LTNP study groups. We also thank Sylvain Gimmig, Laurence Lejeune and Danièle Gagné for invaluable flow cytometry expertise. Igal Ifergan and Han Sang Valecke for helpful technical discussion. Marie-Pierre Boisvert, Maryse Lainesse, Rebecca Bordi, Véronique Lafontaine, Bader Yassine-Diab and Younes Chouick for processing the blood samples.

REFERENCES

1. Cameron PU, Freudenthal PS, Barker JM, Gezelter S, Inaba K, Steinman RM. Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells. *Science* **1992**;257:383-7.
2. Pope M, Betjes MG, Romani N, et al. Conjugates of dendritic cells and memory T lymphocytes from skin facilitate productive infection with HIV-1. *Cell* **1994**; 78:389-98
3. Cimarelli A, Zambruno G, Marconi A, Girolomoni G, Bertazzoni U, Giannetti A. Quantitation by competitive PCR of HIV-1 proviral DNA in epidermal Langerhans cells of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* **1994**; 7:230-5
4. Frankel SS, Wenig BM, Burke AP, et al. Replication of HIV-1 in dendritic cell-derived syncytia at the mucosal surface of the adenoid. *Science* **1996**; 272:115-7
5. Macatonia SE, Lau R, Patterson S, Pinching AJ, Knight SC. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology* **1990**;71:38-45
6. Rinfret A, Latendresse H, Lefebvre R, St-Louis G, Jolicoeur P, Lamarre L. Human immunodeficiency virus-infected multinucleated histiocytes in oropharyngeal lymphoid tissues from two asymptomatic patients. *Am J Pathol* **1991**; 138:421-6
7. Granelli-Piperno A, Delgado E, Finkel V, Paxton W, Steinman RM. 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* **1998**;72:2733-7
8. Granelli-Piperno A, Shimeliovich I, Pack M, Trumpfheller C, Steinman RM. HIV-1 selectively infects a subset of nonmaturing BDCA1-positive dendritic cells in human blood. *J Immunol* **2006**;176:991-8

9. Chehimi J, Campbell DE, Azzoni L, et al. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J Immunol* **2002**;168:4796-4801
10. Donaghy H, Pozniak A, Gazzard B, et al. Loss of blood CD11c+ myeloid and CD11c-plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood* **2001**;98:2574-6
11. Müller H, Weier S, Kojouharoff G, et al. Distribution and infection of Langerhans cells in the skin of HIV-infected healthy subjects and AIDS patients. *Res Virol* **1993**; 144:59-67
12. Spörri B, von Overbeck J, Brand CU, et al. Reduced number of Langerhans cells in oral mucosal washings from HIV-1 seropositives. *J Oral Pathol Med* **1994**; 23:399-402
13. Biancotto A, Grivel J-C, Iglehart SJ, et al. Abnormal activation and cytokine spectra in lymph nodes of people chronically infected with HIV-1. *Blood* **2007**;109:4272-9
14. Mellroy D, Autran B, Clauvel JP, Oksenhendler E, Debré P, Hosmalin A. Low CD83, but normal MHC class II and costimulatory molecule expression, on spleen dendritic cells from HIV+ patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* **1998**; 14:505-13
15. Eales LJ, Farrant J, Helbert M, Pinching AJ. Peripheral blood dendritic cells in persons with AIDS and AIDS related complex: loss of high intensity class II antigen expression and function. *Clin Exp Immunol* **1988**; 71:423-7
16. Pimpinelli N, Borgognoni L, Riccardi R, et al. CD36(OKM5)+ dendritic cells in the oral mucosa of HIV- and HIV+ subjects. *J Invest Dermatol* **1991**; 97:537-42
17. Loré K, Sönnernborg A, Broström C, et al. Accumulation of DC-SIGN+CD40+ dendritic cells with reduced CD80 and CD86 expression in lymphoid tissue during acute HIV-1 infection. *AIDS* **2002**; 16:683-92

18. Colonna M, Trinchieri G, Liu Y-J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol* **2004**;5:1219-26
19. Patterson S, Rae A, Hockey N, Gilmour J, Gotch F. Plasmacytoid dendritic cells are highly susceptible to human immunodeficiency virus type 1 infection and release infectious virus. *J Virol* **2001**;75:6710-3
20. Beignon AS, McKenna K, Skoberne M, et al. Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor-viral RNA interactions. *J Clin Invest* **2005**;115:3265-75
21. Groot F, van Capel TMM, Kapsenberg ML, Berkhout B, de Jong EC. Opposing roles of blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in HIV-1 infection of T cells: transmission facilitation versus replication inhibition. *Blood* **2006**;108:1957-64
22. Kamga I, Kahi S, Develioglu L, et al. Type I interferon production is profoundly and transiently impaired in primary HIV-1 infection. *J Infect Dis* **2005**;192:303-10
23. Donaghy H, Gazzard B, Gotch F, Patterson S. Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1. *Blood* **2003**;101:4505-11
24. Mercier F, Boulassel MR, Yassine-Diab B, et al. Persistent human immunodeficiency virus-1 antigenaemia affects the expression of interleukin-7Ralpha on central and effector memory CD4+ and CD8+ T cell subsets. *Clin Exp Immunol* **2008**;152:72-80
25. Piccioli D, Tavarini S, Borgogni E, et al. Functional specialization of human circulating CD16 and CD1c myeloid dendritic-cell subsets. *Blood* **2007**;109:5371-9

26. Ho CSK, Munster D, Pyke CM, Hart DNJ, Lopez JA. Spontaneous generation and survival of blood dendritic cells in mononuclear cell culture without exogenous cytokines. *Blood* **2002**;99:2897-904
27. Shi J, Ikeda K, Maeda Y, et al. Identification of CD123(+) myeloid dendritic cells as an early-stage immature subset with strong tumorigenic potential. *Cancer Lett* **2008**; 270:19-29
28. 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
29. Dillon SM, Robertson KB, Pan SC, et al. Plasmacytoid and myeloid dendritic cells with a partial activation phenotype accumulate in lymphoid tissue during asymptomatic chronic HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2008**;48:1-12
30. Ancuta P, Weiss L, Haefliger-Cavaillon N. CD14⁺CD16⁺⁺ cells derived in vitro from peripheral blood monocytes exhibit phenotypic and functional dendritic cell-like characteristics. *Eur J Immunol* **2000**;30:1872-83
31. Randolph GJ, Sanchez-Schmitz G, Liebman RM, Schakel K. The CD16⁺ (Fc gamma RIII⁺) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting. *J Exp Med* **2002**;196:517-27
32. Abelian A, Burling K, Easterbrook P, Winter G. Hyperimmunoglobulinemia and rate of HIV type 1 infection progression. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2004**;20:127-8
33. 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
34. 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

35. 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

36. Biggar RJ, Jaffe ES, Goedert JJ, et al. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood* **2006**;108:3786-3791

37. Schnittman SM, Lane HC, Higgins SE, Folks T, Fauci AS. Direct polyclonal activation of human B lymphocytes by the acquired immune deficiency syndrome virus. *Science* **1986** 233:1084-6

38. Monroe JG, Silberstein LE. HIV-mediated B-lymphocyte activation and lymphomagenesis. *J Clin Immunol* **1995**;15:61-8

39. De Milito A. B lymphocyte dysfunctions in HIV infection. *Curr HIV Res* 2004;2:11-21

40. Suarez F, Lortholary O, Hermine O, Lecuit M. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* **2006**;107:3034-44

41. Titanji K, De Milito A, Cagigi A, et al. Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection. *Blood* **2006**;108:1580-7

42. Cerutti A, Qiao X, He B. Plasmacytoid dendritic cells and the regulation of immunoglobulin heavy chain class switching. *Immunol Cell Biol* **2005**;83:554-62

43. 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 CD11b^{hi} dendritic cells. *J Virol* **2003**;77:11733-44
44. Messmer D, Jacque J-M, Santisteban C, et al. Endogenously expressed nef uncouples cytokine and chemokine production from membrane phenotypic maturation in dendritic cells. *J Immunol* **2002**;169:4172-82
45. Almeida M, Cordero M, Almeida J and Orfao A. Different subsets of peripheral blood dendritic cells show distinct phenotypic and functional abnormalities in HIV-1 infection. *AIDS* **2005**;19:261-71.
46. Chehimi J, Azzoni L, Farabaugh M, et al. Baseline viral load and immune activation determine the extent of reconstitution of innate immune effectors in HIV-1-infected subjects undergoing antiretroviral treatment. *J Immunol* **2007**;179:2642-50
47. Hartt Meyers J, Justement JS, Hallahan CW, et al. Impact of HIV on cell survival and antiviral activity of plasmacytoid dendritic cells. *PLoS ONE* **2007**;2:e458
48. Hardy AW, Graham DR, Shearer GM, Herbeuval J-P. HIV turns plasmacytoid dendritic cells (pDC) into TRAIL-expressing killer pDC and down-regulates HIV coreceptors by Toll-like receptor 7-induced IFN- α . *Proc Natl Acad Sci* **2007**;104:17453-8
49. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* **1994**;68:4650-5

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Longitudinal changes in CD4⁺ T cell counts and viral loads. A) CD4⁺ T cell counts (cell/mm³) of rapid and normal progressors (left and right panels, respectively) and LTNPs (left and right panels, right column). B) Viral loads (log copies/ml) of rapid and normal progressors (left and right panels, respectively), and LTNPs (left and right panels, right column). Same values are used for LTNP in left and right graphs. Cell population and viral loads 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), ** (p<0.001), and *** (p<0.0001). Same values are used for LTNP in left and right graphs to show this group as a control. LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

Figure 2. Relative percentage of monocytes. A) Cells were gated on total live peripheral blood mononuclear cells (PBMC), then on lineage⁻ HLA-DR⁺ cells (left panel), and on CD11c⁻CD14⁺ monocytes (right panel). B) Relative percentage of monocytes 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. Cell population percentages were evaluated with the Wilcoxon signed rank and 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). LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

Figure 3. Relative percentage of myeloid dendritic cell (mDC) sub-populations in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC). A) Cells were gated on lineage⁻ HLA-DR⁺ cells (left panel). mDC are CD11c⁺CD14⁻CD16⁻ (second panel) or CD11c⁺CD14⁻CD16⁺ (third panel). B) Second gating showing HLA-DR⁺Lin⁻CD11c⁺⁺CD123^{low} subpopulation (fourth panel). C) Relative percentage of CD11c⁺CD14⁻CD16⁻ mDC in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). D) Relative percentage of CD11c⁺CD14⁻CD16⁺ mDC in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). E) Relative percentage of CD11c⁺⁺CD123^{low} mDC 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. Cell population percentages 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 ** ($p < 0.001$). LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

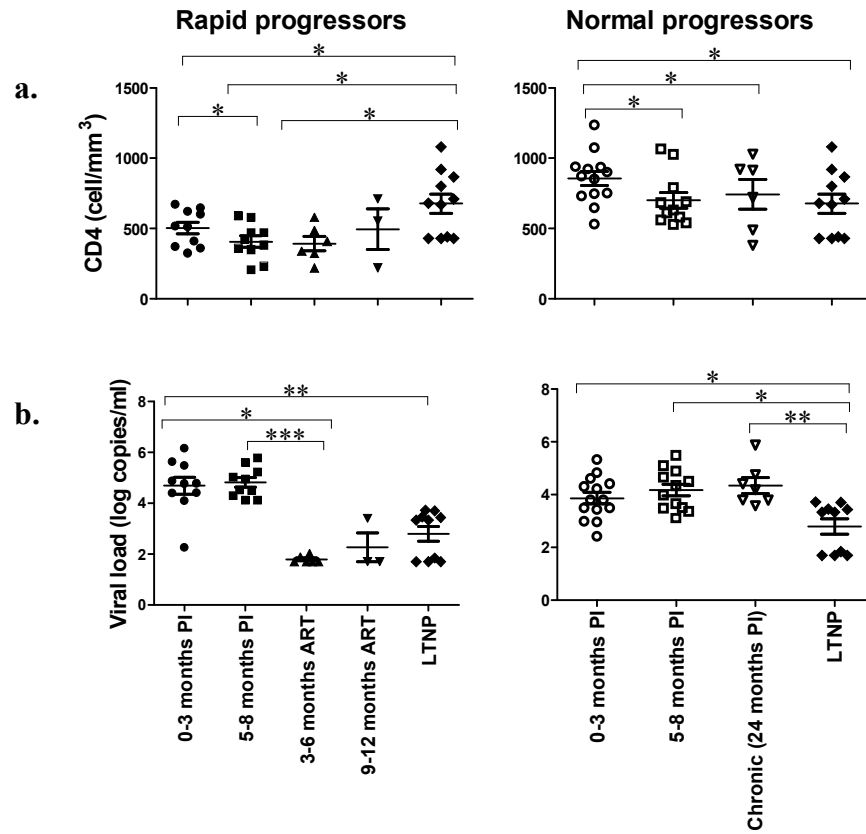
Figure 4. Relative levels of surface expression of CD86 and HLA-DR on myeloid dendritic cell (mDC) subsets. A) $CD11c^+CD14^-CD16^-$, $CD11c^+CD14^-CD16^+$ and $CD11c^{++}CD123^{low}$ mDC were divided into HLA-DR^{low}, HLA-DR⁺, HLA-DR⁺⁺ B) Percentage of $CD11c^+CD14^-CD16^-$ mDC expressing CD86⁺HLA-DR⁺⁺ in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). C) Percentage of $CD11c^+CD14^-CD16^+$ mDC expressing CD86⁺HLA-DR⁺⁺ in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). D) Percentage of $CD11c^{++}CD123^{low}$ expressing CD86⁺HLA-DR⁺⁺ 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. Cell maturation/differentiation 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 *** ($p < 0.0001$). LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection; ART, antiretroviral therapy.

Figure 5. Relative levels of myeloid dendritic (mDC) precursor subsets in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and levels of surface expression of HLA-DR and CD86. A) Cells were gated on lineage⁻ HLA-DR⁺ (left panel) and on $CD11c^+CD14^+$ cells (middle panel). mDC precursors are $CD11c^+CD14^+CD16^-$ or $CD11c^+CD14^+CD16^+$ (right panel) B) Percentage of $CD11c^+CD14^+CD16^-$ DC precursors in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). C) Percentage of $CD16^-$ DC precursors expressing HLA-DR⁺⁺CD86⁺ in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). D) Percentage of $CD11c^+CD14^+CD16^+$ DC precursors in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). E) Percentage of $CD16^+$ DC precursors expressing HLA-DR⁺⁺CD86⁺ in rapid progressors (left

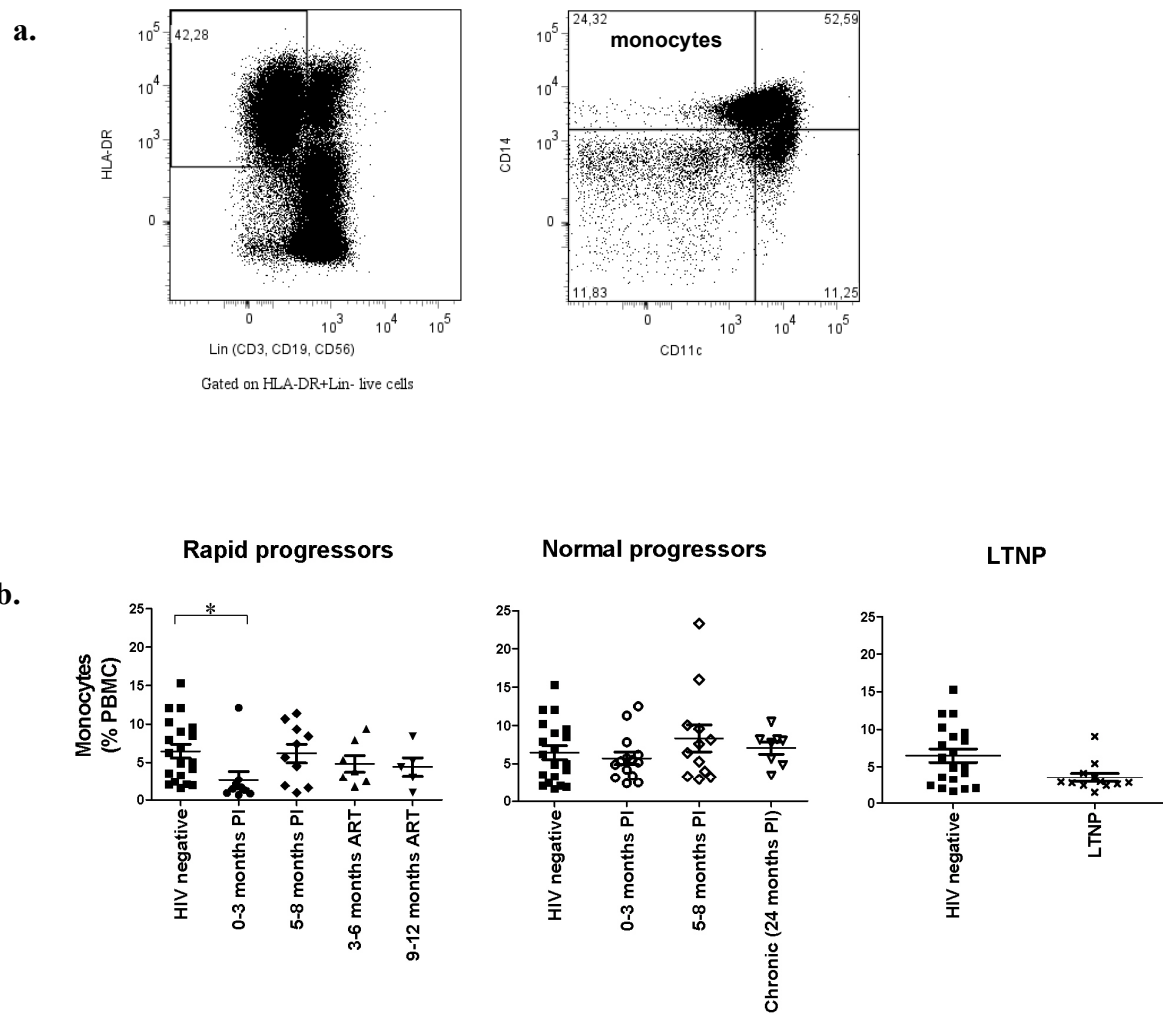
panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Cell population percentages and maturation/differentiation levels were evaluated with the Wilcoxon signed rank and the Mann-Whitney 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 ** ($p < 0.001$). LTNP, long-term non-progressor; PI, post infection; ART; antiretroviral therapy.

Figure 6. Relative levels of plasmacytoid dendritic cells (pDC) in total peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and levels of surface expression of HLA-DR and CD86. A) Cells were gated on lineage⁻ HLA-DR⁺ (left panel). pDC are CD11c⁻CD123⁺ (right panel). B) Percentage of pDC in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and LTNPs (right panel). C) Percentage of pDC expressing HLA-DR⁺⁺CD86⁺ 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. Cell population percentages and maturation/differentiation 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 * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$), and *** ($p < 0.0001$). LTNP, long-term non-progressor; PI, post-infection; ART, antiretroviral therapy.

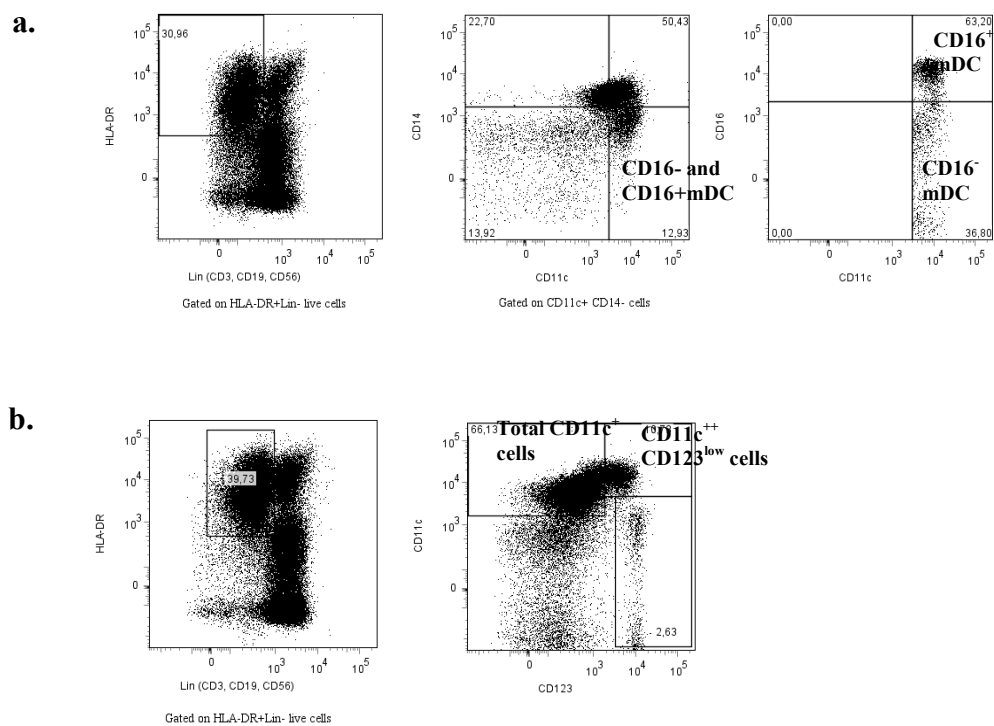
Article 1 - Figure 1

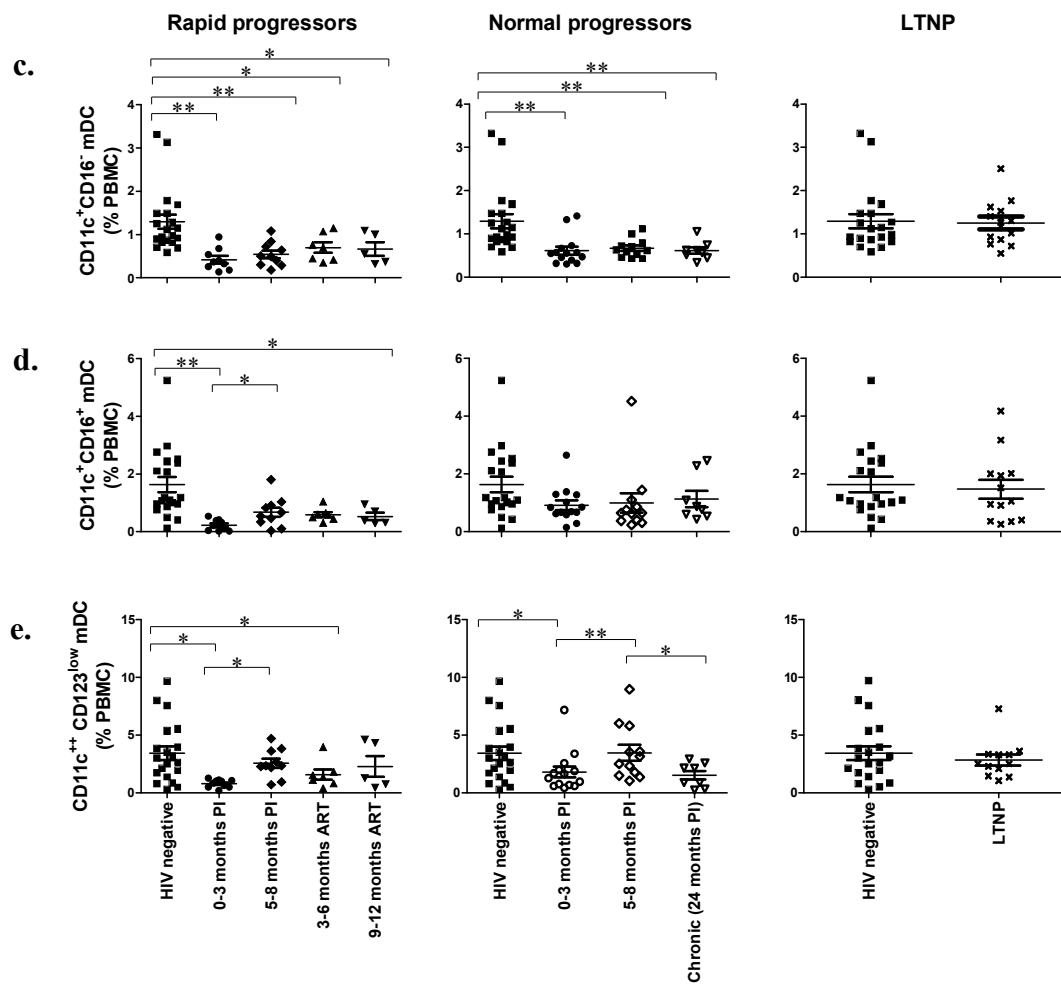


Article 1 - Figure 2

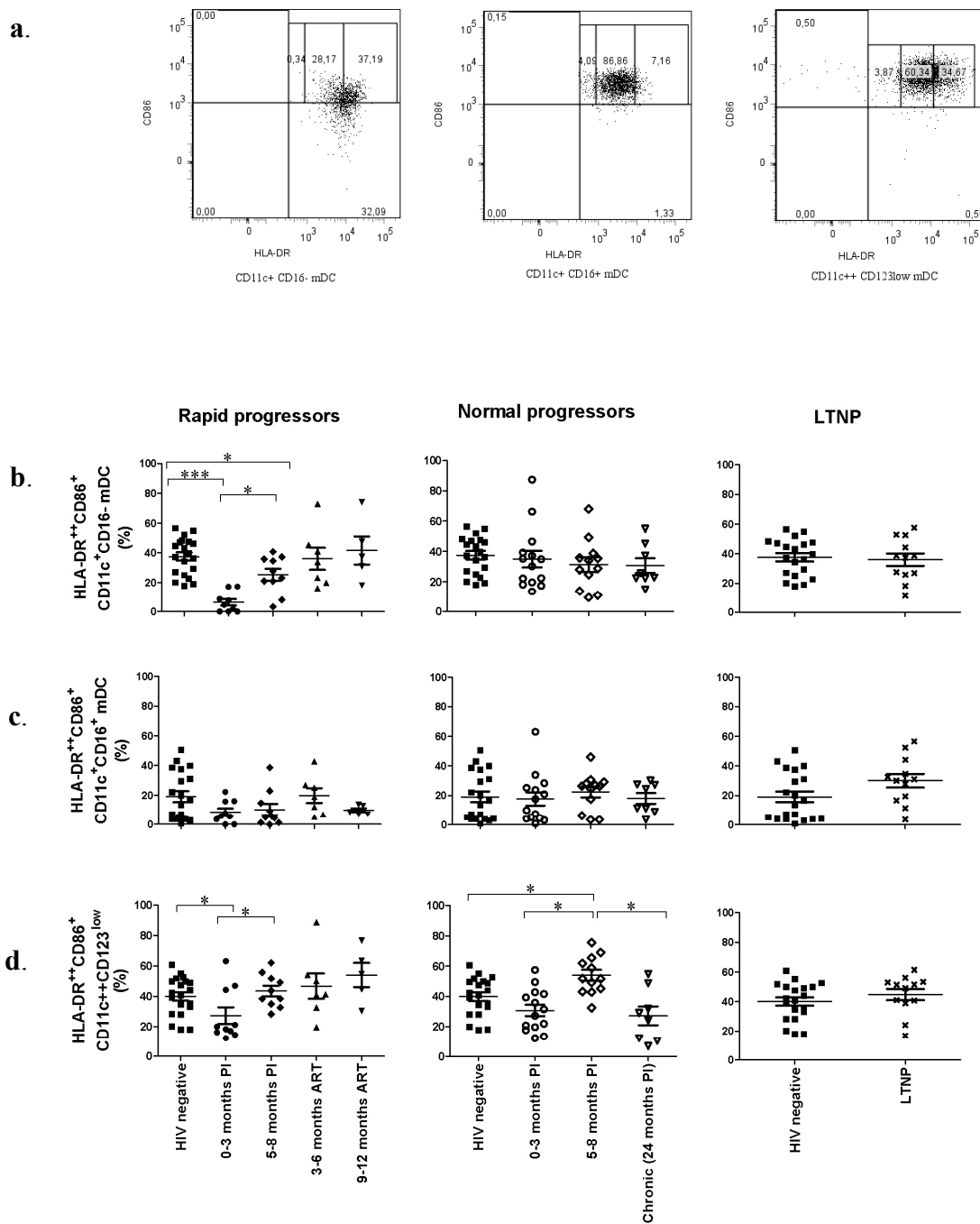


Article 1 - Figure 3

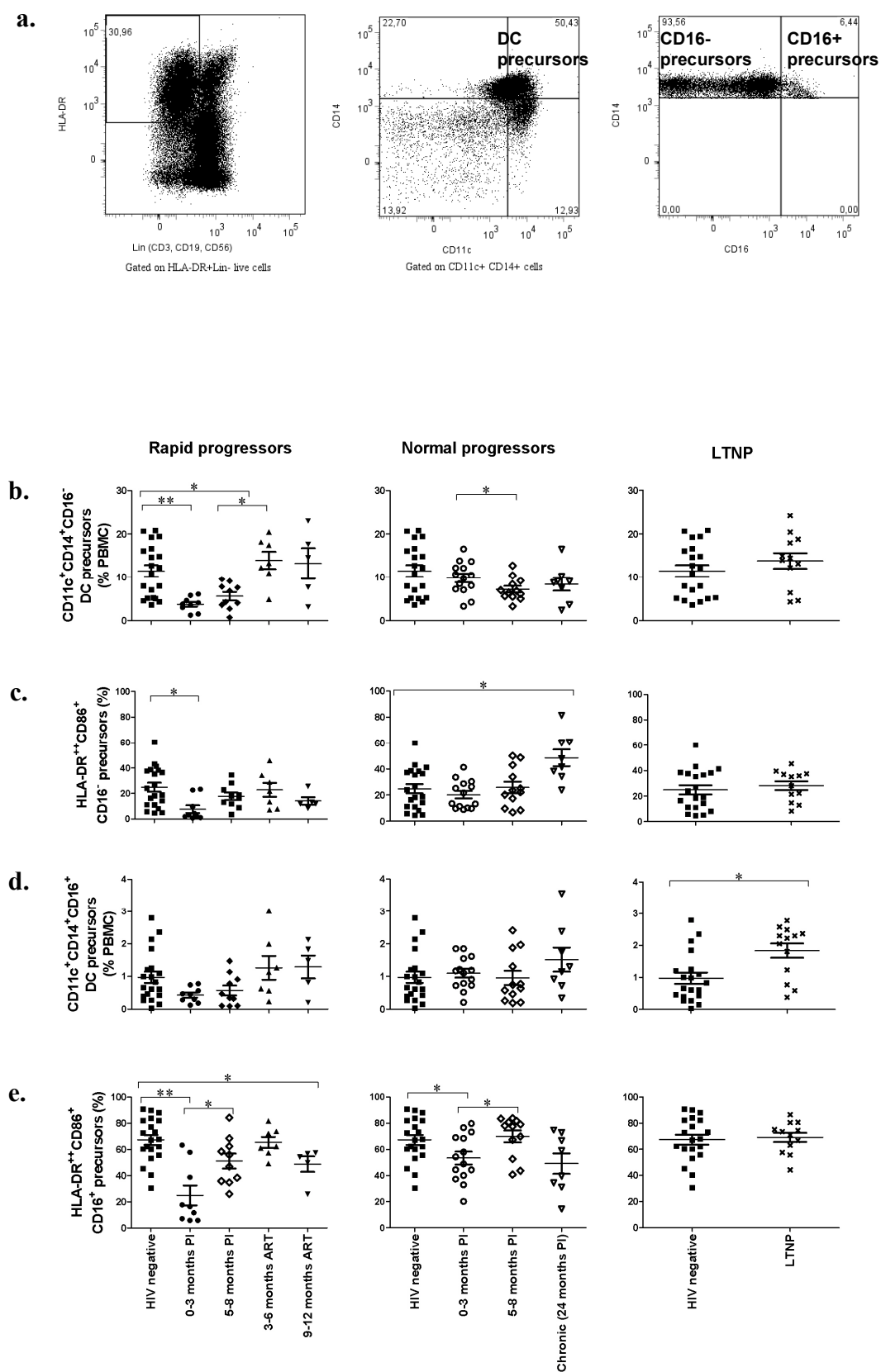




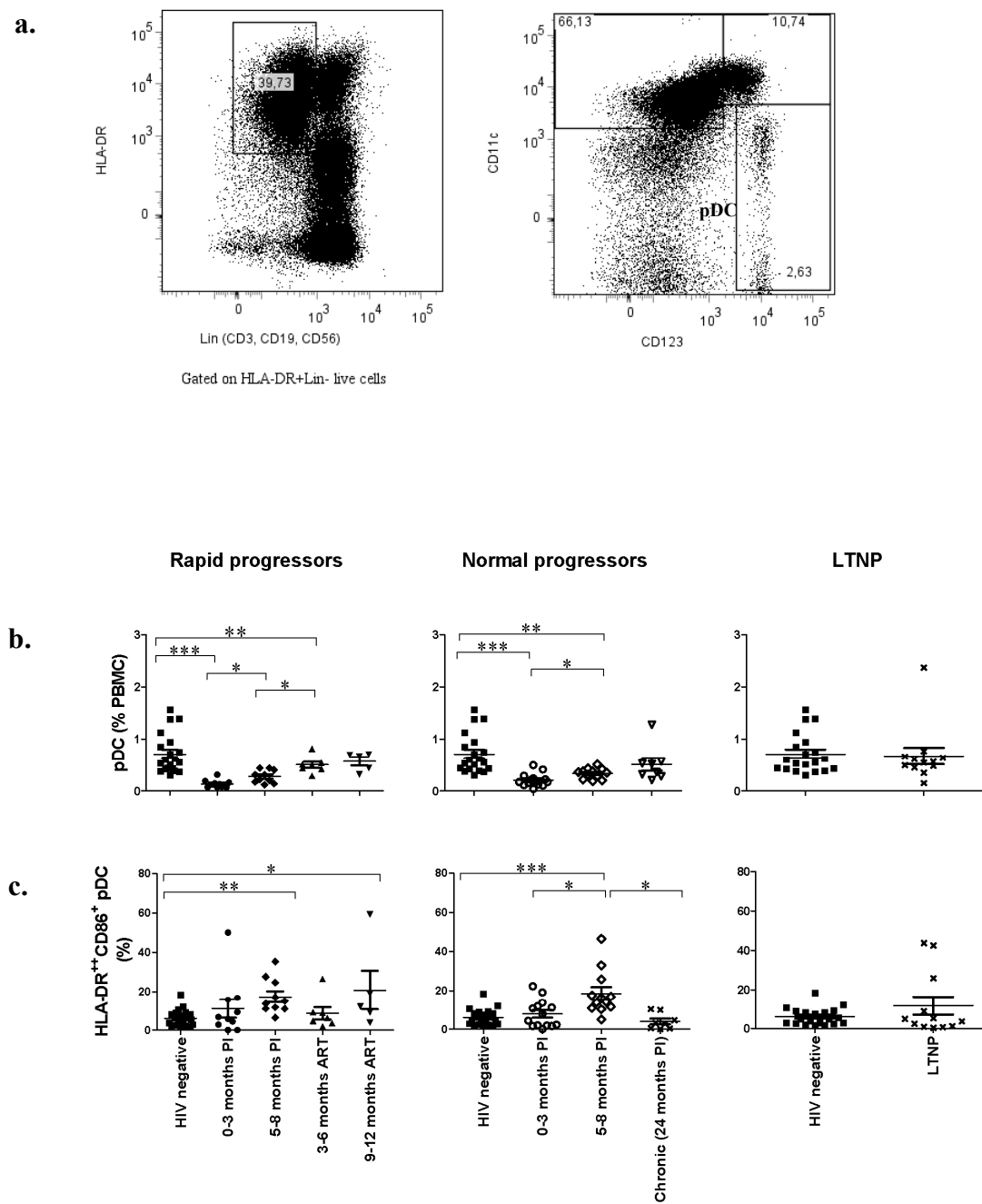
Article 1 - Figure 4



Article 1 - Figure 5



Article 1 - Figure 6



Article 1 - Table 1

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

		Rapid progressors (N=10)	Normal progressors (N=14)	LTNPs (N=12)	p value
Age at first visit (years)		34 ± 6	37 ± 8	45 ± 9	<0.0001 ^a
Sex (male/female)		10/0	14/0	9/3	0.04
Race (Caucasian/other)		10/0	14/0	10/2	ns
Route of transmission		6 MSM/3 HS/1 IDU	13 MSM/ 1 IDU	9 MSM/ 3 HS	ns
CD4+ T cell (cells/mm ³)	Acute phase	503 ± 129	857 ± 183	na	<0.0001
	Early phase	407 ± 128	701 ± 188	na	0.0003
	Chronic phase	495 ± 250	743 ± 261	679 ± 239	NS
	Nadir	235 ± 67	445 ± 154	493 ± 162	0.0001 ^b
Viraemia (log copies/ml)	Acute phase	4.7 + 1.06	3.9 + 0.80	na	0.04
	Early phase	4.8 + 0.59	4.2 + 0.76	na	0.04
	Chronic phase	2.3 + 1.0	4.34 + 0.79	2.79 ± 0.92	<0.003 ^c
	Peak	5.2 + 0.8	4.8 + 0.6	na	NS

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

Sex, race and route of transmission were compared using chi-square test.

Pairwise comparisons of CD4 and viraemia for acute and early phases were performed using unpaired T-tests.

Comparisons among all groups (age at first visit, CD4 and viraemia in the chronic phase, and nadir CD4) were performed with the one-way analysis of variance test.

^ap=0.0005 and 0.0009 for the comparisons of age between rapid progressors and LTNP, and normal progressors and LTNP, respectively, as determined by unpaired t-test.

^bp<0.0001 and 0.0009 for the comparisons of nadir CD4 between rapid and normal progressors, and rapid progressors and LTNP, respectively, as determined by Mann-Whitney test.

^cp=0.02 and 0.0004 for the comparison of viraemia in chronic phase between rapid and normal progressors, and normal progressors and LTNP, respectively, as determined by Mann-Whitney test.

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

Article 2

Persistence of high blood levels of the chemokines CCL2, CCL19 and CCL20 during the course of HIV infection.

Julie Fontaine, Johanne Poudrier et Michel Roger

Statut: Article soumis en tant que *brief report* dans *AIDS Research and Human Retroviruses*.

Contribution des co-auteurs :

Les personnes suivantes ont permis la réalisation des études menant à la publication de cet article. Julie Fontaine a participé à l'élaboration du devis de l'étude et à la rédaction de l'article, a effectué la quantification des chimiokines sur les spécimens et l'analyse des résultats. Johanne Poudrier a participé à l'élaboration du devis de l'étude, a supervisé les expériences et a participé à la rédaction de l'article. Michel Roger a participé à la rédaction de l'article et a coordonné les différents aspects de l'étude.

Persistence of high blood levels of the chemokines CCL2, CCL19 and CCL20 during the course of HIV infection.

Julie FONTAINE^{1,2}, Johanne POUDRIER^{1,2*}, Michel ROGER^{1,2}

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

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

Running head: CCL2, CCL19 and CCL20 levels in HIV infection

Word count in the text: 1097

Word count in abstract: 77

*JP and MR share senior authorship

Conflict of interest declaration

The authors declare no conflict of interest.

Sponsorship: This work was supported by the Réseau SIDA et maladies infectieuses of the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). J Fontaine holds a Studentship from the Canadian Institute of Health Research (CIHR). M Roger is recipient of Research Scholar award from the FRSQ.

Abstract

Dendritic cells (DC) are important mediators of the immune response against HIV and yet blood DC numbers fall substantially during HIV infection. Here we report that blood levels of the DC-tissue tropic chemokines monocyte chemotactic protein (MCP-1/CCL2), macrophage inflammatory proteins (MIP-3 α /CCL20), and MIP-3 β /CCL19 remained elevated throughout the course of HIV infection suggesting that the relatively low levels of blood circulating DC may be due to active recruitment of these cells to peripheral sites to fight disease progression.

Word count: 77

Keywords: Antiretroviral therapy, Chemokine, Dendritic cells, HIV disease progression

We and others have shown that dendritic cell (DC) populations are affected in number, phenotype and function in human HIV infection [1-4]. Blood levels of mature myeloid DC (mDC) in rapid and normal HIV progressors decreased in the acute phase of HIV infection and remained below normal levels in the subsequent phases of infection beyond successful antiretroviral therapy (ART). The percentages of $CD11c^+CD14^+CD16^-$ and $CD11c^+CD14^+CD16^+$ monocytic precursors, that differentiate into mDC *in vitro* [5], also decreased in acute infection but were restored to normal levels in the chronic phase of infection in both rapid and normal progressors [1]. The murine analogue of the $CD16^-$ precursors have been reported to be mainly recruited to inflammatory sites whereas the $CD16^+$ precursors are found in peripheral organs in steady state conditions [5]. Such modulation of blood DC population dynamics may reflect a high turnover and recruitment to peripheral lymphoid and non-lymphoid sites, in an ongoing attempt to fight and/or control HIV disease progression. In this view, we have performed the longitudinal assessment of plasma concentrations of DC-tissue tropic chemokines such as monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1/CCL2), macrophage inflammatory proteins (MIP-3 α /CCL20), and MIP-3 β /CCL19 in HIV-infected individuals with different rates of clinical disease progression.

Thirty HIV-infected subjects were selected from the Montreal Primary HIV infection cohort: 13 were classified as rapid and 17 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, Maryland, USA). Rapid progressors presented blood $CD4^+$ T cell counts below 250 cells/mm³ within two years of infection. Blood samples were taken in the acute (0-3 months) and early (5-8 months) phases of infection, three to six months and nine to twelve months following initiation of ART. Normal progressors were ART-naive patients whose blood $CD4^+$ 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 were also obtained from 13 slow progressors infected for eight years or more, with blood $CD4^+$ T cell counts above 500 cells/mm³, and low (viremic, N=7) to undetectable (aviremic, N=6) viral loads in the absence of ART. Samples from 20 age-matched HIV negative volunteers were included as controls. None of the study subjects had syphilis, hepatitis B or C. Peripheral blood samples for all subjects were collected by leukapheresis and plasmas were aliquoted and kept at -80°C until

used [1]. Informed consent was obtained from all subjects, and the research conformed to ethical guidelines of the authors' institution. CCL2 plasma levels were determined using the Milliplex Map Human Cytokine/chemokine Kit (Millipore, Billerica, MA). CCL19 and CCL20 plasma levels were determined by ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN). Statistical analyses were performed using GraphPad PRISM 5.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

The study groups were similar with respect to sex, race, and modes of HIV acquisition. The mean age of rapid progressors was lower than that in both normal ($p=0.04$) and viremic slow ($p=0.003$) progressors. Rapid progressors had lower $CD4^+$ T cell counts than did normal progressors during the acute ($p=0.002$) and early ($P=0.001$) phases of infection. During the chronic phase of infection, untreated normal progressors had similar levels of $CD4^+$ T cells and higher viral loads than those observed in both ART-treated rapid progressors ($p=0.04$) and slow progressors ($p=0.002$). The relative levels of $CD4^+$ T cells were restored to normal levels upon initiation of ART in all rapid progressors. There was no significant correlation between blood chemokine levels and viral loads or $CD4^+$ T cell counts either within groups or among all patients during acute or chronic infection (data not shown).

Longitudinal assessment of plasma chemokine levels in HIV-1 infected individuals with different rates of disease progression is depicted in Figure 1. The relative plasma levels of CCL2 during the acute and early phases of infection in both rapid and normal progressors were similar to those found in HIV negative donors. However, CCL2 concentrations increased above normal levels during the chronic phase of infection in both ART-treated rapid and untreated normal progressors (Figure 1a, left and middle panels). CCL20 and CCL19 increased above normal levels in both rapid and normal HIV progressors, as soon as in the acute phase of infection and remained elevated during the chronic phase of infection (Figures 1b and 1c, left and middle panels). Significant correlations were observed between CCL19, CCL20 and mDc blood levels previously measured in these individuals [1]. During the acute phase of infection, levels of CCL19 and CCL20 correlated negatively with mDC levels in rapid ($r=-0.93$, $p=0.0003$; $r=-0.72$, $p=0.03$, respectively) and normal ($r=-0.7$, $p=0.02$; $r=-0.72$, $p=0.03$, respectively) progressors (data not shown). CCL20 and CCL19 levels in viremic slow progressors were higher than those observed in HIV negative donors (Figures

1b and 1c, right panels), suggesting a certain level of inflammation or an active mechanism of control of disease progression.

We have previously shown that blood level of mature mDC in rapid and normal HIV progressors remained below normal level throughout the course of infection independently of the viral load and CD4⁺ T cell count [1]. Although the mechanisms used by HIV to affect DC populations are not fully understood, the high blood levels of the DC-tissue tropic chemokines CCL2, CCL19 and CCL20 found in these HIV-infected subjects suggests that the relatively low levels of mDC in circulating blood may be due to the active recruitment of these cells to peripheral sites in response to the ongoing attempt of the immune system to fight disease progression. Indeed CCL2 is involved in the recruitment of CCR2-expressing cells, such as DC, to inflammatory sites and has been shown to be elevated in HIV-infected individuals [6]. CCL20 is produced by epithelial cells upon inflammatory signals and attracts CCR6⁺ T cells and immature DC to mucosal tissues such as the gut [7]. As they mature, DC decrease their expression of CCR6 and increase that of CCR7, the receptor for CCL19, which is produced by stromal cells and attracts maturing DC to draining lymph nodes. CCL19 levels have been shown to be increased during HIV infection, to enhance HIV replication in T cells, and to promote release of inflammatory mediators [8-10].

In conclusion, the maintenance of relatively high levels of CCL2, CCL20 and CCL19 in HIV rapid and normal progressors may contribute to the recruitment of DC and other cell types to peripheral sites where the main battle with HIV takes place. In contrast, the relative normal level of these chemokines in aviremic HIV slow progressors reflects a better control of HIV-mediated disease.

Acknowledgments

We are grateful to the members of the Montreal Primary HIV Infection and Canadian Cohort of HIV Slow Progressors Study Groups: M Legault (coordinator); J Allan, N Bernard, J Cox, J Falutz, N Gilmore, M Klein, R Leblanc, RG Lalonde, 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); 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, R Thomas, B Trottier, S Vézina (Clinique médicale l'Actuel); JG Baril, MA Charron, P Côté, S Dufresne, MS Joyal, P Junod, F Laplante, B Lessard, D Poirier, Y Parent, E Sasseville, A Talbot, D Tessier, (Clinique médicale du Quartier Latin); N Lapointe (Hôpital Ste-Justine); A Dascal (Jewish General Hospital); M Munoz (CLSC Cote des Neiges).

Roles of authors: J. F wrote the article and performed chemokine measurements and analysis. JP supervised the experiments and revised the article. M.R wrote the article and coordinated all aspects of this study.

REFERENCES

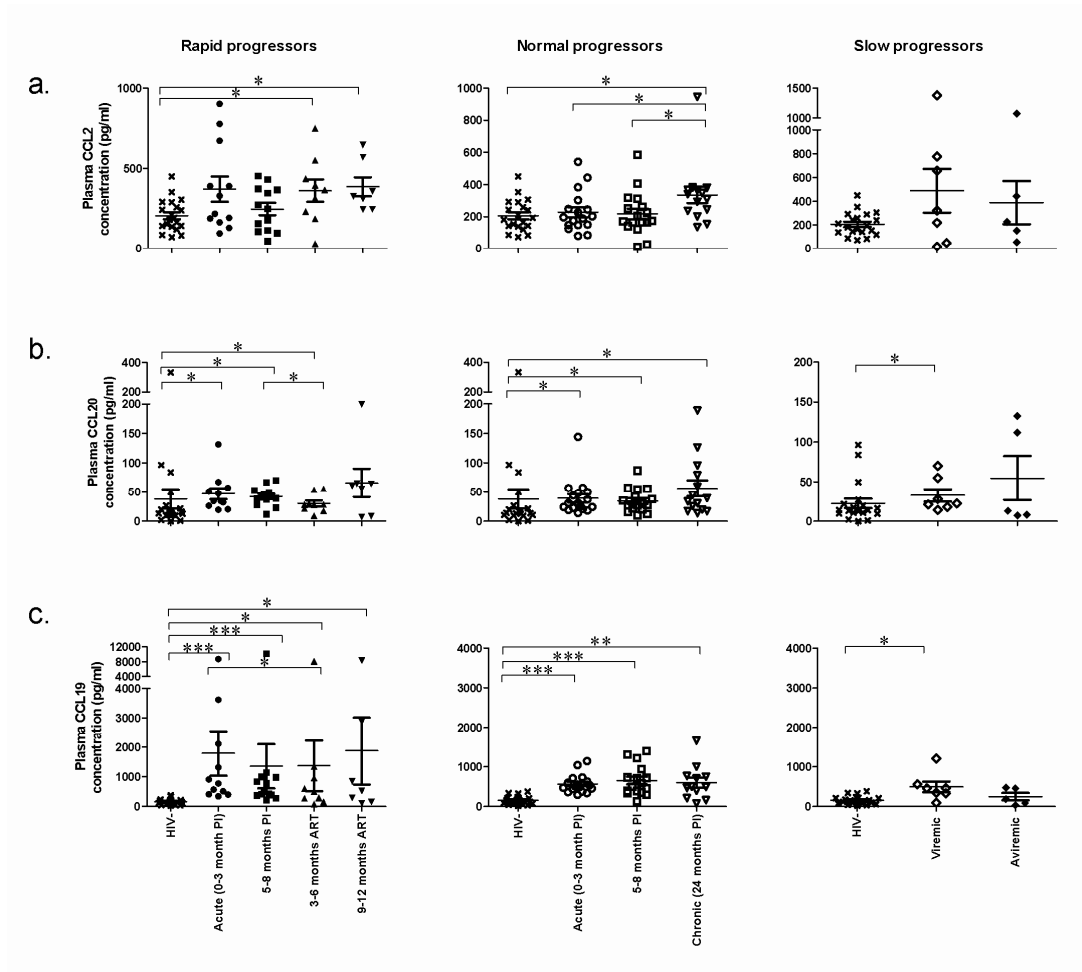
1. Fontaine J, Coutlee F, Tremblay C, Routy JP, Poudrier J, Roger M. HIV infection affects blood myeloid dendritic cells after successful therapy and despite nonprogressing clinical disease. *J. Infect. Dis.* 2009; **199**:1007-1018.
2. Chehimi J, Campbell DE, Azzoni L, Bacheller D, Papasavvas E, Jerandi G et al. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J. Immunol.* 2002; **168**:4796-4801.
3. Donaghy H, Pozniak A, Gazzard B, Qazi N, Gilmour J, Gotch F et al. Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood.* 2001; **98**:2574:2576.
4. Macatonia SE, Lau R, Patterson S, Pinching AJ, Knight SC. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology.* 1990; **71**:38-45.
- 5- Tacke F, Randolph GJ. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets. *Immunobiology* 2006; **211**:609-618.
6. Ansari AW, Bhatnagar N, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Schmidt RE, Heiken H. Host chemokine (C-C motif) ligand-2 (CCL2) is differentially regulated in HIV type 1 (HIV-1)-infected individuals. *Int Immunol* 2006; **18**:1443-1451.
7. Izadpanah A, Dwinell MB, Eckmann L, Varki NM, Kagnoff MF. Regulated MIP-3alpha/CCL20 production by human intestinal epithelium: mechanism for modulating mucosal immunity. *Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol* 2001; **280**:G710-G719.
8. Nagira M, Sato A, Miki S, Imai T, Yoshie O. Enhanced HIV-1 replication by chemokines constitutively expressed in secondary lymphoid tissues *Virology* 1999; **264**:422-426.
9. Saleh S, Solomon A, Wightman F, Xhilara M, Cameron PU, Lewin SR. CCR7 ligands CCL19 and CCL21 increase permissiveness of resting memory CD4+ T cells to HIV-1 infection: a novel model of HIV-1 latency. *Blood* 2007; **110**:4161-4164.
10. Damas JK, Landro L, Fevang B, Heggelund L, Tjonnfjord GE, Floisand Y et al. Homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 promote inflammation in human

immunodeficiency virus-infected patients with ongoing viral replication. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; **157**:400-407.

Figure legend

Figure 1. Plasma concentrations (pg/ml) of CCL2 (A), CCL20 (B) and CCL19 (C) in rapid (left panel), normal (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Chemokine concentrations were compared with the Wilcoxon signed rank and 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 * ($p<0.05$), ** ($p<0.001$), and *** ($p<0.0001$). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

Article 2 - Figure 1



Article 3

High expression levels of B Lymphocyte Stimulator (BLyS) by dendritic cells correlate with HIV-related B cell disease progression in humans.

Julie Fontaine, Josiane Chagnon-Choquet, Han Sang Valcke, Johanne Poudrier et Michel Roger

Statut: Article publié dans *Blood*, première édition 24 septembre 2010.

Contribution des co-auteurs :

Les personnes suivantes ont permis la réalisation des études menant à la publication de cet article. Julie Fontaine a participé à l'élaboration du devis de l'étude et à la rédaction de l'article, a effectué les analyses de cytométrie, et de quantification de cytokines sur les spécimens, de même que les analyses statistiques des résultats. Josiane Chagnon-Choquet et Han Sang Valcke ont participé aux analyses de quantification de marqueurs d'inflammation et d'immunoglobulines sur les spécimens. Johanne Poudrier a participé à l'élaboration du devis de l'étude, a supervisé les expériences et a participé à la rédaction de l'article. Michel Roger a participé à la rédaction de l'article et a coordonné les différents aspects de l'étude.

High expression levels of B Lymphocyte Stimulator (BLyS) by dendritic cells correlate with HIV-related B cell disease progression in humans.

Julie Fontaine^{1,2}, Josiane Chagnon-Choquet^{1,2}, Han Sang Valcke^{1,2}, Johanne Poudrier^{1,2*}, Michel Roger^{1,2*} and the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Groups.

¹Laboratoire d'immunogénétique, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and ²Département de Microbiologie et Immunologie de l'Université de Montréal, Canada.

*JP and MR share senior authorship

Word count in the text: 3975

Word count in abstract: 209

Running head: BLyS expression and HIV-related B cell disease

Number of figures and tables: Figures: 5, table: 1

Reference count: 50

Part of this work was presented at 18th International AIDS Conference, July 18-23 2010, Vienna, Austria.

The members of the Montreal Primary HIV Infection and Long-Term Non-Progressor Study Groups are M Legault (coordinator); J Allan, N Bernard, J Cox, J Falutz, N Gilmore, M Klein, R Leblanc, RG Lalonde, 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); 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, R Thomas, B Trottier, S Vézina (Clinique médicale l'Actuel); JG Baril, MA Charron, P Côté, S Dufresne, MS Joyal, P Junod, F Laplante, B Lessard, D Poirier, Y Parent, E Sasseville, A Talbot, D Tessier, (Clinique médicale du Quartier Latin); N Lapointe (Hôpital Ste-Justine); A Dascal (Jewish General Hospital); M Munoz (CLSC Cote des Neiges).

ABSTRACT

In view of assessing the possible contribution of dendritic cells (DC) to HIV-related B cell disorders, we have longitudinally measured B Lymphocyte Stimulator (BLyS) surface expression by myeloid DC (mDC) and concentrations of B cell growth factors in the blood of subjects undergoing primary HIV infection with different rates of disease progression. We report that BLyS surface expression by mature mDC and precursors, as well as blood levels of BLyS, a Proliferation-Inducing Ligand (APRIL), Interleukin (IL)-6 and IL-10 increased above normal levels in both rapid and normal HIV progressors, as soon as in the acute phase of infection and persisting throughout the course of disease despite successful therapy. Consequently, hyperglobulinemia and high blood levels of circulating activated mature B cells and precursor/activated marginal zone (MZ)-like B cells were found throughout follow-up for both rapid and normal progressors. In contrast, mDC cell surface expression of BLyS as well as blood levels of BLyS, immunoglobulin, activated mature B cells and precursor/activated MZ-like B cells in aviremic slow progressors were similar to those observed in healthy donors. Interestingly, the levels of mature MZ B cells were significantly reduced in slow progressors. Our results suggest that DC might modulate the outcome of the HIV-related B cell disease progression through the expression of BLyS.

INTRODUCTION

B lymphocyte disorders are important consequences of HIV infection and can evolve towards autoimmune disorders and malignancies. Given that the status and activation requirements of the different B cell populations vary, they are likely to be affected differentially during HIV infection, a process reflected by events such as polyclonal activation, breakage of tolerance, altered sub-population dynamics, exhaustion, as well as loss of the capacity to generate and maintain memory. All of which contribute to a global impairment of the humoral immune compartment in HIV-infected individuals (reviewed in (769)).

The mechanisms involved in the triggering and progression of such B cell disorders are poorly understood, and have been thought to be mainly the consequence of high viral load and the altered CD4⁺ T cell compartment (769-771). However, there is a controversy regarding the persistence of these defects beyond antiretroviral treatment (ART) and in absence of apparent disease progression. While a previous study has shown decreased activated B cell and increased memory B cell frequencies upon initiation of ART (771), others have demonstrated persistence of hypergammaglobulinemia, increased apoptosis of memory B cells, as well as autoimmune complications in treated patients (770,772,773). This suggests that factors other than or complementary to the viral load and CD4⁺ T cell levels may contribute to the alteration of the B cell compartment.

Dendritic cells (DC) play a pivotal role in regulating the outcome of B cell development, activation and survival, in T-dependent and -independent manners, mainly through production of B cell growth factors such as B Lymphocyte Stimulator (BLyS) and a Proliferation-Inducing Ligand (APRIL) (774-776). Early data supporting the hypothesis that DC are involved in the dysregulation of the B cell compartment in the context of HIV, were obtained with HIV transgenic (HIV-Tg) mice expressing *rev*, *env* and/or *nef* of HIV-1 (777). In HIV-Tg mice, myeloid DC (mDC) accumulated at entry points of secondary lymphoid organs contributing to the enlargement of the marginal zone (MZ) B cell population, polyclonal activation and breakage of tolerance observed in these animals (778,779). This is possibly due to a process involving delivery of altered/excessive contact events and/or B cell growth factors. In this view, BLyS-Tg mice showed enlarged splenic MZ accompanied by B cell hyperactivity, decreased T cell numbers and development of an autoimmune disease

(780), a phenotype reminiscent of that reported for HIV-Tg mice (777-779). The involvement of BLyS in the gp-120-DC-SIGN mediated polyclonal stimulation of human MZ type B cells is also in support of this (781). Importantly, BLyS as well as factors such as Interleukin (IL)-6 and IL-10, have been shown to be increased in the blood of HIV viremic individuals and correlate with elevated serum auto-Ab titres (734,782,783). Finally, we and others have shown that mDC populations are affected in number, phenotype and function in human HIV infection (784-787), suggesting that their alterations may affect the faith of the B cell compartment.

We aimed to investigate the potential involvement of DC and derived growth factors in the triggering and perpetuation of B cell disorders in the context of HIV. We have thus endeavoured a longitudinal measurement of BLyS and other B cell growth factors known to be expressed and/or produced by mDC and their precursors in HIV-infected subjects with different rates of disease progression. We report that BLyS expression on blood mDC and monocytic precursors as well as blood levels of BLyS, APRIL, IL-6, and IL-10 were elevated in the early phases of infection and remained high in the chronic phase of infection and despite successful therapy in HIV rapid and normal progressors. This was concomitant with elevated levels of blood activated B cells and hyperglobulinemia. In contrast, aviremic slow progressors had normal BLyS expression levels on mDC and precursors, as well as normal blood levels of BLyS and activated B cells. Interestingly, the levels of mature MZ B cells were significantly reduced in slow progressors. Our results suggest that DC might affect the outcome of the HIV-related B cell disease progression through over expression of BLyS.

METHODS

Subjects. Thirty HIV-infected subjects were selected from the Montreal Primary HIV Infection (PHI) cohort: thirteen were classified as rapid and seventeen 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, Maryland, USA). Rapid progressors had CD4⁺ T cell counts below 250 cells/mm³ within two years of infection. Blood samples were taken at four time-points: acute (0-3 months) and early (5-8 months) phases of infection, three to six months and nine to twelve 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 were also obtained from thirteen slow progressors infected for eight years or more with CD4⁺ T cell counts above 500 cells/mm³ and low (viremic, N=7) to undetectable (aviremic, N=6) viral loads in the absence of ART and from twenty age-matched HIV negative volunteers. HIV viral loads were determined in the plasma using VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNA, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown NY, USA). Blood CD4⁺ T cell counts were determined as previously reported (788). None of the study subjects had syphilis, hepatitis B or hepatitis C. Informed consent was obtained from all subjects, and the research conformed to ethical guidelines of all authors' institutions.

Evaluation of cell populations and membrane-bound BLyS by flow cytometry.

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated following whole blood centrifugation on Ficoll gradient. Cells were resuspended in heat inactivated fetal bovine serum (FBS) with 10% dimethyl-sulfoxide (DMSO) and stored in liquid nitrogen. Cells were thawed and washed in RPMI containing 5% heat inactivated FBS and 1% penicillin/streptomycin. One million PBMCs per sample were used for cell-surface staining. Non-specific sites were blocked by incubation for 10 minutes on ice with FACS buffer (1x PBS, 2% heat inactivated FBS and 0.1% sodium azide) supplemented with 10% heat inactivated FBS and 10 µg total mouse IgG per million PBMCs (Sigma Aldrich, Oakville, ON, Canada). Cells were labelled with the following cocktails of mouse anti-human monoclonal antibodies: fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-IgM,

phycoerythrin (PE)-conjugated anti-CD21, PE-Cy7-conjugated anti-CD10 (Becton Dickinson Biosciences, Mississauga, ON, Canada), Pacific Blue-Conjugated anti-CD19, Alexa-Fluor 700 conjugated anti-CD27 (eBioscience, San Diego, California, USA) and allophycocyanin (APC)-conjugated anti-CD1c (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) for identification of B cells. Membrane-bound BLYS was evaluated by using PE-conjugated anti-BLYS (eBioscience, San Diego, California, USA) and by co-staining cells with PE-Cy7-conjugated anti-HLA-DR, APC-conjugated anti-CD11c, PerCP-Cy5.5-conjugated anti-CD14, FITC-conjugated anti-CD3, Alexa-Fluor 700-conjugated anti-CD16 (Becton Dickinson Biosciences, Mississauga, ON, Canada). BLYS levels per cell were calibrated using 8 peaks Rainbow calibration particles (Becton Dickinson Biosciences, Mississauga, ON, Canada). Dead cells were identified by trypan blue exclusion and 7AAD staining. Data acquisition of 100,000 events per sample was performed on a BD LSRII apparatus (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) and analysis was done with Flow Jo 7.5.4 software (Tree Star, Ashland, OR, USA).

Evaluation of plasma cytokine and serum immunoglobulin concentrations. Plasma levels of IL-6 and IL-10 were determined using the Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammation Kit (Becton Dickinson Biosciences) according to the manufacturer's instructions. Data were acquired on a FACSaria apparatus and analysed with the FCAP software (Becton Dickinson). Plasma concentrations of BLYS and APRIL were measured by ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA and Invitrogen, Burlington, ON, Canada, respectively). Serum immunoglobulin levels were measured using multiplex Beadlyte[®] Human IgG, IgA, IgM Kit (Millipore, Billerica, MA) with the Luminex[®] 200[™] Total System (Luminex Corporation, Austin, TX).

Evaluation of plasma soluble CD14 (sCD14), lipopolysacharride (LPS) and LPS binding protein (LBP) concentrations. Plasma levels of sCD14 were measured with a commercially available ELISA kit (R&D systems), according to the manufacturer's protocol. Plasma LPS concentrations were quantified with the Limulus Amebocyte Lysate assay (Lonza, Basel, Switzerland) according to the manufacturer's protocol, in plasma samples diluted 1/100 in endotoxin-free water (as determined by spike recovery test) and heated to 70°C for 10

minutes to inactivate plasma proteins. Plasma LBP concentrations were measured by ELISA (Hycult Biotech Frontstraat, the Netherlands) according to manufacturer's protocol.

Statistical analyses. 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 for Windows (GraphPad Software inc, San Diego, CA, USA).

RESULTS

Socio-demographic and clinical characteristics of HIV-infected individuals

The socio-demographic and clinical characteristics of the HIV-infected subjects are shown in table 1, and the longitudinal assessment of blood CD4⁺ T cell counts and viral loads during the course of HIV infection is depicted in supplemental figure 1. Slow progressors were divided into two groups: viremic and aviremic. All study groups were similar with respect to sex, race, and modes of HIV acquisition. Mean age of rapid progressors was lower than that in both normal and viremic slow progressors. Rapid progressors had lower CD4⁺ T cell counts during the acute and early phases of infection compared to those observed in normal progressors, and lower nadir CD4 counts than those found in both normal and slow progressors. Chronically-infected normal progressors had higher viral load than that observed in both ART-treated rapid progressors and slow progressors, but rapid progressors had the highest peak viraemia. There is no significant correlation between CD4⁺ T cell counts or viral loads and the monocyte, DC, B cell populations, and cytokine levels studied here either within groups or among all patients during acute or chronic infection (data not shown).

Longitudinal monitoring of membrane-bound BLyS expression on mDC and monocytic precursors in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

The descriptions of the cell gating experiments shown in Figures 1a and 2a are indicated in the legends to these figures. The levels of BLyS cell surface expression on blood CD16⁻ mDC and CD14⁺CD11c⁺CD16⁻ mDC precursors were significantly higher in the rapid and normal progressor groups compared to those observed in the HIV negative donor group (figures 1b and 2c, left and middle panels). The relative levels of BLyS expression on the CD16⁻ mDC population remained high throughout the course of infection regardless of ART. BLyS membrane expression on CD16⁺ mDC, monocytes and CD14⁺CD11c⁺CD16⁺ mDC precursors in both rapid and normal progressors was also above normal levels, however this was less sustained than for the CD16⁻ mDC subsets (figures 1c, 2b, 2d, left and middle panels). On the other hand, the expression levels of membrane BLyS in both viremic and aviremic slow progressors were similar to those observed in the HIV negative donors (figures 1 and 2, right panels).

The percentage of mDC and precursors expressing BLyS in rapid progressors was elevated throughout the study follow-up and despite successful therapy (CD16⁺ mDC precursors, 9-12 months post-ART, $p=0.01$). As for normal progressors, this percentage was elevated during acute infection and decreased to normal values in the subsequent phases of infection, with a significant drop between the acute and early phases of infection (CD16⁻ mDC $p=0.02$, CD16⁺ mDC $p=0.01$, CD16⁺ mDC precursors $p=0.006$). We observed no significant difference in the percentage of monocytes expressing BLyS between the HIV negative and HIV positive groups at all time points analysed.

Longitudinal monitoring of plasma concentrations of B cell growth factors in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

Consistent with the above observations, BLyS plasma concentrations were increased in the acute and early phases of infection in both rapid and normal progressors (figure 3a, left and middle panels, respectively). Although BLyS concentrations decreased slightly upon initiation of ART in rapid progressors, it remained elevated in both chronically-infected ART-naive normal progressors and viremic slow progressors (figure 3a, middle and right panels). Thus despite the lack of correlation between plasma BLyS concentration and viral load (data not shown), significantly higher levels of BLyS were observed in the blood of HIV-infected patients with uncontrolled viraemia.

The blood levels of APRIL, IL-6, and IL-10 were higher throughout the course of infection in all HIV-infected individuals compared to those observed in HIV negative donors (figures 3b, 3c, 3d). In contrast to BLyS, the secretion of APRIL, IL-6 and IL-10 was also increased in aviremic subjects. Indeed, significant increases in the plasma levels of these cytokines were observed in ART-treated rapid progressors and aviremic slow progressors (figures 3c and 3d, right panels).

Longitudinal monitoring of blood circulating B cell sub-populations in HIV-infected individuals with different rates of disease progression

The relative frequencies of naive CD19⁺CD10⁻CD27⁻IgM⁺CD21⁺, mature activated CD19⁺CD10⁻CD27⁺IgM⁻CD21^{low}, and resting memory CD19⁺CD10⁻CD27⁺IgM⁻CD21^{high} B cells are depicted in figure 4. The mean cell percentages of naive B cells in all HIV-infected

individuals were lower throughout the course of infection than those observed in HIV negative donors, reaching statistical significance in both normal and slow progressors (figure 4b). However, the situation is quite different for mature activated B cells, where the mean percentages remained significantly above normal levels in rapid, normal and viremic slow progressors (figure 4c). A significant decrease in memory B cell frequencies was observed in chronically infected normal progressors and viremic slow progressors (figure 4d, middle and right panels).

Upon analysis for variations in the relative frequencies of circulating MZ B cells, we identified $CD19^+CD27^+CD1c^+IgM^{high}$ cells with two different phenotypes, namely $CD21^{high}$ and $CD21^{low}$ (Figure 5a). $CD21^{high}$ cells correspond to mature MZ B cells, while $CD21^{low}$ cells, which also express CD10, present features of both transitional immature (TI) and MZ B cells (789,790) and are thus considered here as precursor/activated MZ-like B cells. Although, the frequencies of mature MZ B cells remained unaltered in both rapid and normal progressors (figure 5b, left and middle panels), the percentages were significantly below normal levels in slow progressors (figure 5b, right panel). On the other hand, the mean cell percentages of precursor/activated MZ-like B cells were increased in the acute and early phases of infection in both rapid and normal progressors (figure 5c, left and middle panels). Although frequencies decreased upon initiation of ART in rapid progressors, they remained elevated in both chronically-infected ART-naive normal progressors and viremic slow progressors (figure 5c, middle and right panels). No alterations in blood frequencies of TI B cells were found in the HIV-infected subjects at the time points studied (data not shown). The elevated levels of activated mature B cells and precursor/activated MZ-like B cells observed in the blood of rapid, normal, and viremic slow progressors, are indicative of a persisting immune activation, which is further illustrated by high serum levels of IgG found in these individuals over the course of infection (supplemental figure 2).

DISCUSSION

We have previously shown that blood levels of mature mDC in rapid and normal HIV progressors were decreased in the acute phase of HIV infection and remained below normal levels in the subsequent phases of infection beyond successful therapy and despite non-progressing clinical disease (786). These HIV-infected subjects also had elevated blood levels of CCL2 (MCP-1), CCL19 (MIP-3 β) and CCL20 (MIP-3 α) (Fontaine et al, unpublished), suggesting that the relatively low levels of mDC in circulating blood may be secondary to the active recruitment of these cells to peripheral sites. We now report that these mature mDC are driven to excessive expression of surface BLyS, with a concomitant increase in blood levels of BLyS and B cell growth factors. A previous study by Stohl *et al* (2002) has shown that BLyS expression levels by blood monocytes correlated with serum auto-Ab titers in HIV-infected subjects (791). Our results have also demonstrated that blood monocytes from HIV-infected individuals express BLyS, but the level of expression was less elevated and sustained than that found on mDC. Nevertheless, a CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ monocytic DC precursor population, which was increased in the blood of chronically infected untreated HIV normal progressors (786), was found herein to express high levels of BLyS. A murine analog of this precursor population has been described and reported to be mainly recruited to inflammatory sites and linked to the formation of inflammatory “Tip-DC”, which are a source of cytokines and tumour necrosis factor (TNF), of which BLyS is a family member (792). This is suggestive of pressure on the monocytic precursors to drive DC differentiation towards an inflammatory phenotype, and indicative of the major involvement of DC as a source of BLyS. However, BLyS can be produced by T cells in situations of autoimmunity (793), and we observed that BLyS expression on total activated blood T lymphocytes was also elevated throughout the course of infection in both rapid and normal progressors (data not shown).

Consistent with the high mDC BLyS expression levels and concentrations of BLyS and other B cell growth factors in the blood of HIV rapid and normal progressors, these subjects also presented elevated levels of blood mature activated B cells (figure 4c) and serum hyperglobulinemia (supplemental figure 2), as previously reported in clinically progressive HIV infection (794,795). However, the fact that we find these events to occur

independently of the plasma viral load and blood CD4⁺ T cell counts, and beyond successful ART, resolves previous controversies (770-773), and supports the notion that although a certain control of viral replication and lymphopenia may remediate to some abnormalities, others will carry-on as a consequence of the persistent HIV infection and chronic immune activation. It is unlikely that the effects of HIV disease progression on the B cell compartment result from their direct infection. Indeed, despite the fact that HIV seems to replicate in CD40 stimulated B cells *in vitro*, the virus has not yet been shown to infect or replicate in B cells *in vivo* (796-800). Therefore, our data suggest that the altered DC status we found in rapid and normal progressors, may be a major contributor to driving B cell dysregulations throughout the course of infection, as early as in the acute phase and despite successful therapy. As to whether such events are regulated by the host response and/or modulated by direct and indirect viral effects, remains to be established. The chronic inflammatory status in HIV-infected subjects resulting from factors such as HIV-products, excessive apoptosis and products from microbial translocation may be responsible for such events (801,802). In support of this, blood levels of lipopolysaccharide (LPS), LPS binding protein (LBP) and soluble CD14 (sCD14) were elevated in HIV rapid and normal progressors as soon as in the acute phase and despite successful therapy (Supplemental figure 3).

Interestingly, our study revealed for the first time, that a population with features shared by both TI and circulating MZ B cells and presenting a CD1c⁺CD21^{low}IgM^{high}CD10⁺CD27⁺ precursor/activated MZ-like B cell phenotype, was increased in the blood of viremic HIV-infected subjects throughout the study follow-up (figure 5c). This finding is consistent with the fact that TI B cells were found to be increased in the blood of HIV-infected patients with advanced disease (803). However, our staining strategy suggests that these cells maybe driven towards MZ-like B cell differentiation. Accordingly, TI B cells were shown to give rise to MZ type B cells in conditions associated with chronic pathology (789). Furthermore, the fact that TI B cells are hyper-responsive to BLyS (789,804), raises the possibility that mDC over-expressing/producing BLyS may contribute to the skewing of TI B cells towards a MZ phenotype and to driving their expansion. The high level of blood precursor/activated MZ-like B cells, along with the recently described defects of IgM⁺ memory B cells in HIV-infected individuals (769) and

with the fact that DC accumulated in particularly enlarged MZ in HIV-Tg mice (778,779), suggests that the DC-mediated B cell dysregulation process is likely to affect “first line” B cell populations. Indeed, given their localisation within lymphoid organs and mucosal associated structures, these B cells are highly influenced by DC and constitute first line T-independent defence against invading pathogens (805,806). First line B cells are found in various pathologic conditions such as infection, autoimmunity, and lymphomas (804,807,808), and mDC may be driving such complications. Also, the fact that MZ-type B cells play a pivotal role in establishment of germinal center reactions by shuttling blood-borne immune complexes to follicular DC (809), suggests that perturbations at the level of MZ-type B cells are likely to contribute to the defects observed in the generation of adaptive responses and maintenance of memory, which are lost with chronicity in HIV-infected individuals as shown here and previously (810,811).

This study has also raised another important issue, in that the mDC and B cell compartments are better preserved in slow progressors. Indeed, in contrast to that observed in HIV rapid and normal progressors, blood mature mDC frequencies (786) and their BLYS expression levels were unaltered in slow progressors. Interestingly, monocytic DC precursors of a CD11c⁺CD14⁺CD16⁺ phenotype, of which murine analogs are thought to settle peripheral organs in steady state conditions (792), were found to be significantly increased in the blood of slow progressors (786), and to bear normal BLYS levels. This suggests homeostasis and replenishment of a “non-inflammatory” DC sub-population, which appears to be beneficial to the control of disease progression. Accordingly, B cell dysregulations were found to a lesser extent in slow progressors, with hardly any signs detected in the blood of aviremic individuals. Although serum IgG and activated mature B cells as well as precursor/activated MZ B cells were increased in the blood of viremic individuals, serum IgA titers were not elevated in these subjects (supplemental figure 2), suggesting a certain level of control. Interestingly, aviremic slow progressors did not show increased BLYS serum levels, nor enhanced frequencies of activated mature and precursor/activated MZ B cells in their blood, supporting the notion that these individuals present a greater level of “control” over disease progression. Surprisingly, both groups of slow progressors presented lower frequencies of circulating mature MZ B cells when compared to healthy donors, HIV rapid

and normal progressors, suggesting that recruitment of this population to peripheral sites may also be beneficial to the control of disease progression. Although our observations with slow progressors may reflect early stages of malfunction, we rather favour the possibility by which these events reflect disease control, which might be an active process involving the production of effective HIV-specific antibody responses, such as IgA at mucosal sites. In this view, DC have been shown to support T-independent IgA class switch recombination in human mucosal sites (806,812). IgA is the most abundant mucosal Ig and aids several functions including immune-mediated exclusion of both pathogenic and commensal microorganisms (806,812,813). Thus, the favouring of its production at mucosal sites, which are major for HIV entry, propagation and perpetuation, is likely beneficial to the host, allowing for a better preservation of membranes. This is consistent with the normal levels of microbial products measured in the blood of slow progressors (Supplemental figure 3). Also, mucosal HIV-specific IgA levels and neutralizing capacity have been correlated with HIV disease progression (814). Although the issue of “protection” conferred by mucosal HIV-specific IgA remains controversial, in many studies these Igs have been found to neutralize HIV infection and inhibit viral transcytosis *in vitro* (814-816). Furthermore, a recent study on HIV gp41 specific mucosal IgA, produced by cervical B cells from highly-exposed uninfected individuals, demonstrated evidence for hypermutation, suggesting affinity maturation (817).

Thus, DC are involved in maintaining a balance between tolerance and protective immunity at both the innate and adaptive levels, which process is pivotal at mucosal sites, where immune homeostasis processes warrant peripheral integrity, and where the main battle with HIV takes place. Our results support the notion that the extent to which disease progression is controlled may be linked to the capacity to orchestrate DC inflammatory conditions, as reflected by their BLYS expression levels, which may influence the outcome of B cell disorders, and this may be involved in modulating the threshold towards disease progression.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support: This work was supported in part by the Réseau SIDA from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). J Fontaine and HS Valcke hold Studentships from the Canadian Institute of Health Research (CIHR). M Roger is recipient of Research Scholar award from the FRSQ.

We are grateful to the participants of the Montreal PHI and LTNP study groups. We also thank Sylvain Gimmig and Laurence Lejeune for invaluable flow cytometry expertise, and Brigitte St-Denis for technical assistance. Marie-Pierre Boisvert, Maryse Lainesse, Rebecca Bordi, Véronique Lafontaine, Bader Yassine-Diab and Younes Chouick for processing the blood samples.

Conflict of interest declaration: The authors declare no conflict of interest

Authors' contributions: J. F. performed the flow cytometry analysis and cytokine measurements, analyzed the data and wrote the article. J.C.C. performed the plasma LPS, LBP and sCD14 measurements. H.S.V. performed the serum immunoglobulin measurements. JP supervised the experiments and wrote the article. M.R wrote the article and coordinated all aspects of this study.

REFERENCES

1. Moir S, Fauci AS. B cells in HIV infection and disease. *Nat.Rev.Immunol.* 2009;9:235-245.
2. 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.Syindr.* 2002;31:472-477.
3. Moir S, Malaspina A, Ho J et al. Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease. *J.Infect.Dis.* 2008;197:572-579.
4. Bekker V, Scherpbier H, Pajkrt D et al. 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-e322.
5. 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;35:166-174.
6. 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;101:4464-4471.
7. Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM et al. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLyS and APRIL. *Nat.Immunol.* 2002;3:822-829.
8. Hanna Z, Kay DG, Rebai N et al. Nef harbors a major determinant of pathogenicity for an AIDS-like disease induced by HIV-1 in transgenic mice. *Cell* 1998;95:163-175.

9. 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;77:11733-11744.
10. 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;15:173-185.
11. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P et al. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J.Exp.Med.* 1999;190:1697-1710.
12. 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;176:3931-3941.
13. Emilie D, Zou W, Fior R et al. Production and roles of IL-6, IL-10, and IL-13 in B-lymphocyte malignancies and in B-lymphocyte hyperactivity of HIV infection and autoimmunity. *Methods* 1997;11:133-142.
14. Lafeuillade A, Poizot-Martin I, Quilichini R et al. Increased interleukin-6 production is associated with disease progression in HIV infection. *AIDS* 1991;5:1139-1140.
15. Rodriguez B, Valdez H, Freimuth W et al. Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression. *AIDS* 2003;17:1983-1985.
16. Chehimi J, Campbell DE, Azzoni L et al. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J.Immunol.* 2002;168:4796-4801.

17. Donaghy H, Pozniak A, Gazzard B et al. Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood* 2001;98:2574-2576.
18. Fontaine J, Coutlee F, Tremblay C et al. HIV infection affects blood myeloid dendritic cells after successful therapy and despite nonprogressing clinical disease. *J.Infect.Dis.* 2009;199:1007-1018.
19. Macatonia SE, Lau R, Patterson S, Pinching AJ, Knight SC. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology* 1990;71:38-45.
20. Mercier F, Boulassel MR, Yassine-Diab B et al. Persistent human immunodeficiency virus-1 antigenaemia affects the expression of interleukin-7Ralpha on central and effector memory CD4+ and CD8+ T cell subsets. *Clin.Exp.Immunol.* 2008;152:72-80.
21. Srivastava B, Quinn WJ, III, Hazard K, Erikson J, Allman D. Characterization of marginal zone B cell precursors. *J.Exp.Med.* 2005;202:1225-1234.
22. Weill JC, Weller S, Reynaud CA. Human marginal zone B cells. *Annu.Rev.Immunol.* 2009;27:267-285.
23. 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;104:115-122.
24. Tacke F, Randolph GJ. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets. *Immunobiology* 2006;211:609-618.
25. Lavie F, Miceli-Richard C, Quillard J et al. Expression of BAFF (BLyS) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *J.Pathol.* 2004;202:496-502.

26. De Milito A., Nilsson A, Titanji K et al. Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection. *Blood* 2004;103:2180-2186.
27. Moir S, Malaspina A, Ogwaro KM et al. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2001;98:10362-10367.
28. Gras G, Richard Y, Roques P, Olivier R, Dormont D. Complement and virus-specific antibody-dependent infection of normal B lymphocytes by human immunodeficiency virus type 1. *Blood* 1993;81:1808-1818.
29. Gras G, Legendre C, Krzysiek R et al. CD40/CD40L interactions and cytokines regulate HIV replication in B cells in vitro. *Virology* 1996;220:309-319.
30. Moir S, Lapointe R, Malaspina A et al. CD40-Mediated induction of CD4 and CXCR4 on B lymphocytes correlates with restricted susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection: potential role of B lymphocytes as a viral reservoir. *J.Virol.* 1999;73:7972-7980.
31. Moir S, Malaspina A, Li Y et al. B cells of HIV-1-infected patients bind virions through CD21-complement interactions and transmit infectious virus to activated T cells. *J.Exp.Med.* 2000;192:637-646.
32. Rappocciolo G, Piazza P, Fuller CL et al. DC-SIGN on B lymphocytes is required for transmission of HIV-1 to T lymphocytes. *PLoS.Pathog.* 2006;2:e70.
33. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat.Med.* 2006;12:1365-1371.
34. Marchetti G, Bellistri GM, Borghi E et al. Microbial translocation is associated with sustained failure in CD4+ T-cell reconstitution in HIV-infected patients on long-term highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2008;22:2035-2038.

35. Malaspina A, Moir S, Ho J et al. Appearance of immature/transitional B cells in HIV-infected individuals with advanced disease: correlation with increased IL-7. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2006;103:2262-2267.
36. Suarez F, Lortholary O, Hermine O, Lecuit M. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* 2006;107:3034-3044.
37. Balazs M, Martin F, Zhou T, Kearney J. Blood dendritic cells interact with splenic marginal zone B cells to initiate T-independent immune responses. *Immunity*. 2002;17:341-352.
38. Fagarasan S, Kawamoto S, Kanagawa O, Suzuki K. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annu.Rev.Immunol.* 2010;28:243-273.
39. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin.Immunol.* 2006;18:305-317.
40. Varin MM, Le PL, Youinou P et al. B-cell tolerance breakdown in Sjogren's syndrome: focus on BAFF. *Autoimmun.Rev.* 2010;9:604-608.
41. Cinamon G, Zachariah MA, Lam OM, Foss FW, Jr., Cyster JG. Follicular shuttling of marginal zone B cells facilitates antigen transport. *Nat.Immunol.* 2008;9:54-62.
42. MacLennan IC. B cells: the follicular dimension of the marginal zone. *Immunol.Cell Biol.* 2008;86:219-220.
43. Malaspina A, Moir S, Orsega SM et al. Compromised B cell responses to influenza vaccination in HIV-infected individuals. *J.Infect.Dis.* 2005;191:1442-1450.

44. Titanji K, De MA, Cagigi A et al. Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection. *Blood* 2006;108:1580-1587.
45. Cerutti A. The regulation of IgA class switching. *Nat.Rev.Immunol.* 2008;8:421-434.
46. Cerutti A, Rescigno M. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity.* 2008;28:740-750.
47. Shacklett BL. Immune responses to HIV and SIV in mucosal tissues: 'location, location, location'. *Curr.Opin.HIV.AIDS* 2010;5:128-134.
48. Belec L, Ghys PD, Hocini H et al. Cervicovaginal secretory antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that block viral transcytosis through tight epithelial barriers in highly exposed HIV-1-seronegative African women. *J.Infect.Dis.* 2001;184:1412-1422.
49. Kaul R, Trabattoni D, Bwayo JJ et al. HIV-1-specific mucosal IgA in a cohort of HIV-1-resistant Kenyan sex workers. *AIDS* 1999;13:23-29.
50. Tudor D, Derrien M, Diomedea L et al. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(+) cell infection: an IgA gene and functional analysis. *Mucosal.Immunol.* 2009;2:412-426.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. BLyS expression by myeloid dendritic cells (mDC). A) Cells were gated on total live peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and then on CD3⁻HLA-DR⁺ cells (mDC) (left panel). MDC are CD11c⁺CD14⁻CD16⁻ or CD11c⁺CD14⁻CD16⁺ (middle and right panels). B) Membrane BLyS expression in CD16⁻ mDC of rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). C) Membrane BLyS expression in CD16⁺ mDC of rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Membrane BLyS expression is defined as the calibrated geometric and compared with the Wilcoxon signed rank and 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), ** (p<0.01) and *** (p<0.001). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

Figure 2. BLyS expression by monocytes and myeloid dendritic cell (mDC) precursors. A) Cells were gated on total live peripheral blood mononuclear cells (PBMC), then on HLA-DR⁺CD3⁻ cells (left panel). Monocytes are CD11c⁻CD14⁺ (middle panel), and mDC precursors are CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ or CD11c⁺CD14⁺CD16⁺ (middle and right panels). B) Membrane BLyS expression in monocytes of rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). C) Membrane BLyS expression in CD16⁻ mDC precursors of rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). D) Membrane BLyS expression in CD16⁺ mDC precursors of rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Membrane BLyS expression is defined as the calibrated geometric and compared with the Wilcoxon signed rank and 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).

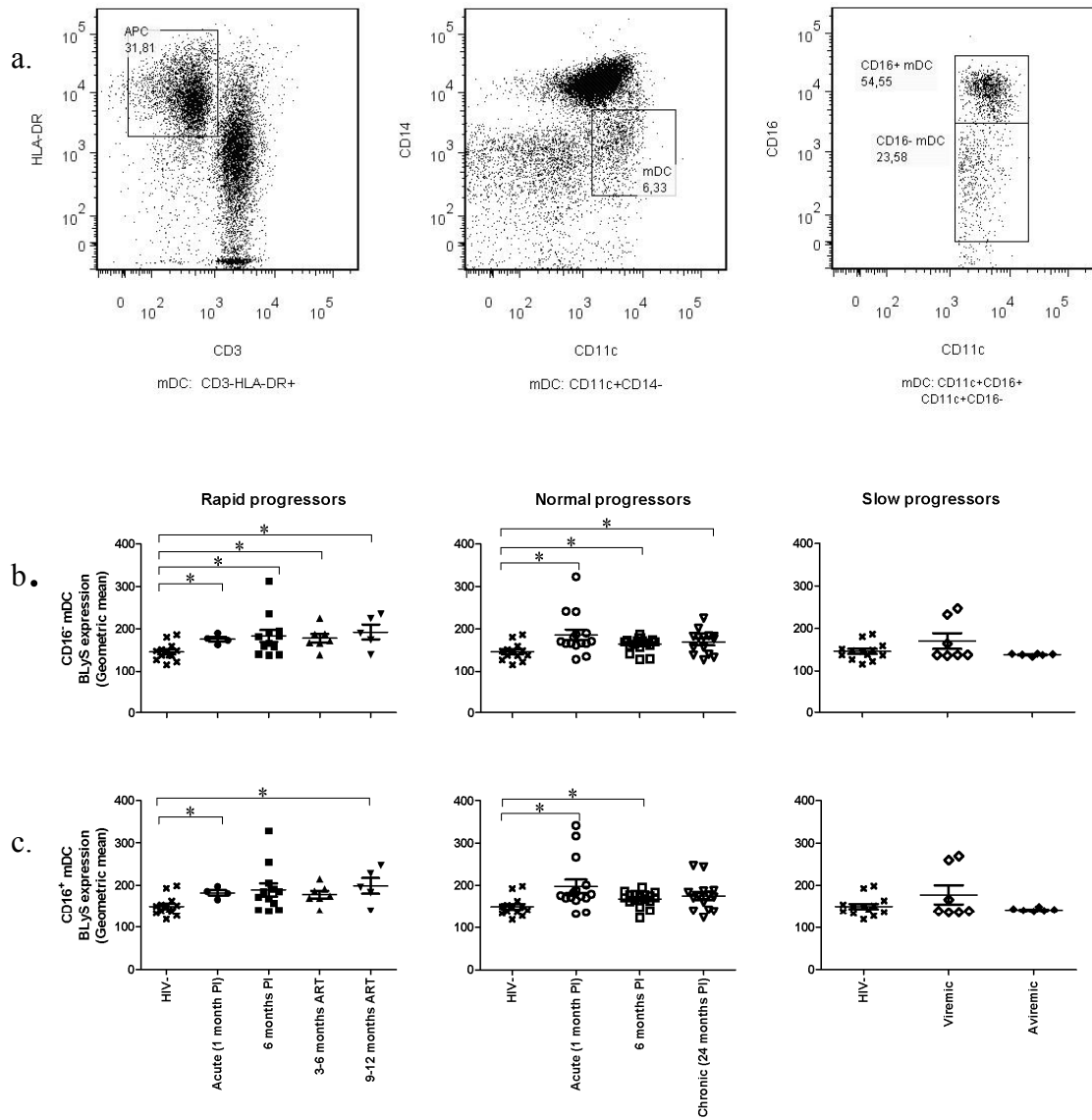
Figure 3. Plasma concentration of A) B lymphocyte stimulator (BLyS), B) a proliferation-inducing ligand (APRIL), C) interleukin (IL) -6 and D) IL-10 in rapid progressors (left

panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Plasma concentrations were compared with the Wilcoxon signed rank and 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 * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$) and *** ($p < 0.0001$). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment. Values greater than the mean plus three times standard deviation were removed from the analysis.

Figure 4. Relative frequencies of circulating B cell populations. A) Cells were gated on total live peripheral blood mononuclear cells (PBMC), then on $CD19^+$ cells (left panel). Naive B cells are $CD27^-CD10^-CD21^+IgM^+$ (upper panels). Mature activated B cells are $CD27^+IgM^-CD21^{low}$ and memory B cells are $CD27^+IgM^-CD21^{high}$ (lower panels). B) Relative frequency of naive B cells in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). C) Relative frequency of mature activated B cells in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). D) Relative frequency of resting memory B cells in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Cell population percentages were compared with the Wilcoxon signed rank and 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 * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$) and *** ($p < 0.0001$). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

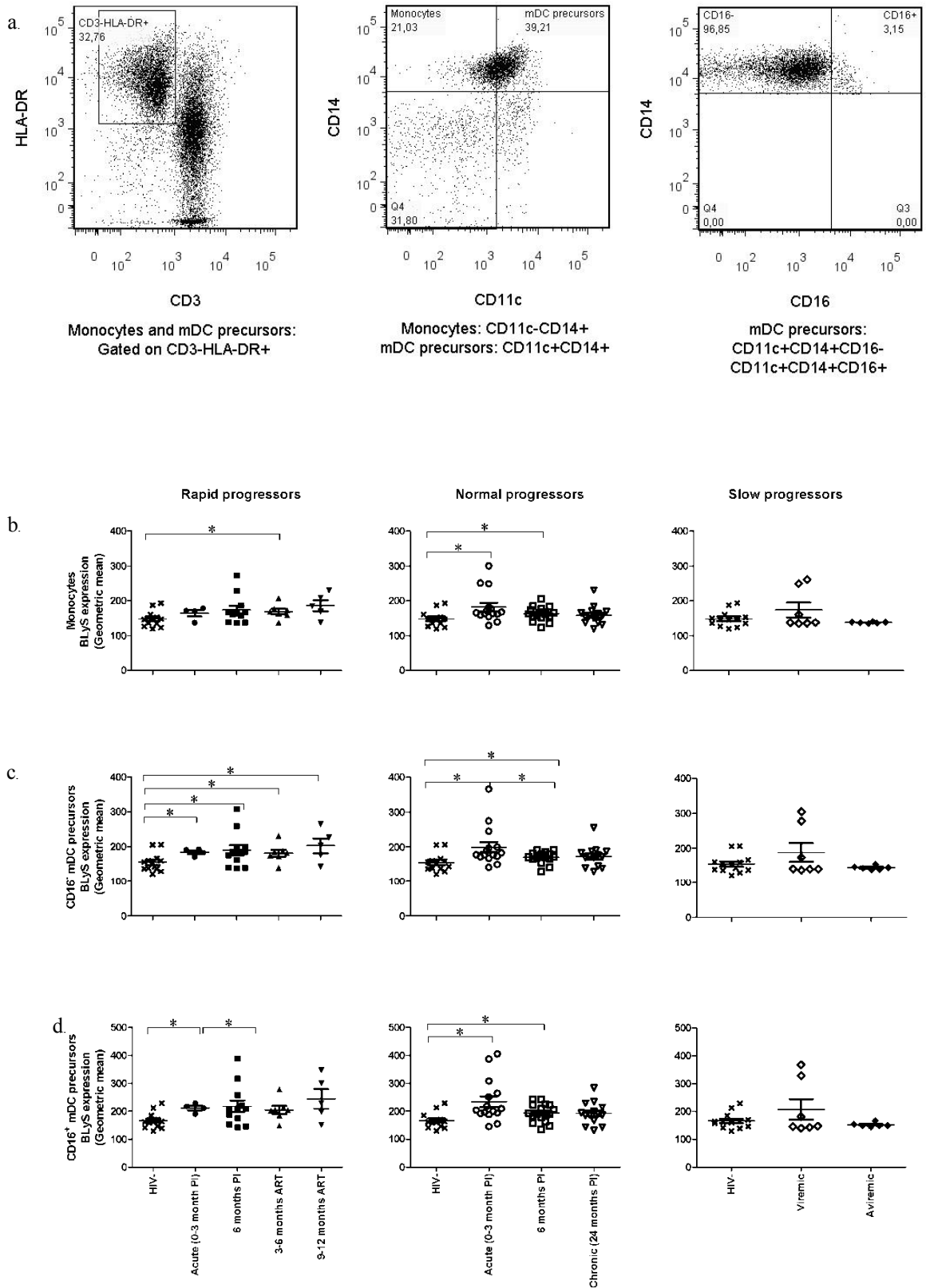
Figure 5. Relative frequency of marginal zone type B cells. A) Cells were gated on total live peripheral blood mononuclear cells (PBMC), then on $CD19^+CD27^+IgM^+$ cells (first, second and third panels, respectively). The two populations are defined as $CD1c^+CD21^{high}$ for marginal zone B cells and $CD1c^+CD21^{low}$ B cells (fourth panel). B) Relative frequency of marginal zone B cells in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). C) Relative frequency of $CD1c^+CD21^{low}$ B cells in rapid progressors (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Cell population percentages were compared with the Wilcoxon

signed rank and 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 ** ($p < 0.001$). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

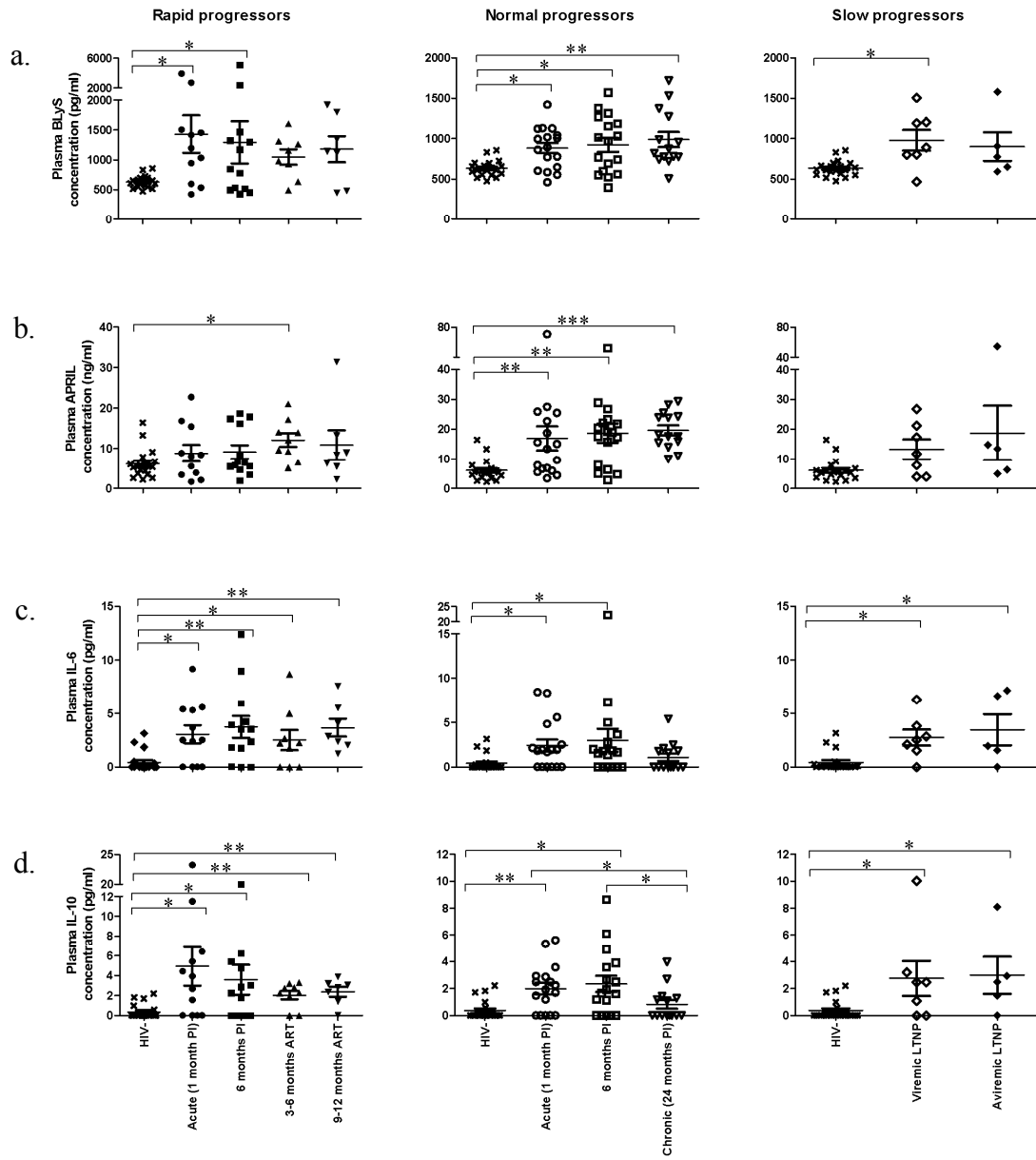


Article 3 - Figure 1

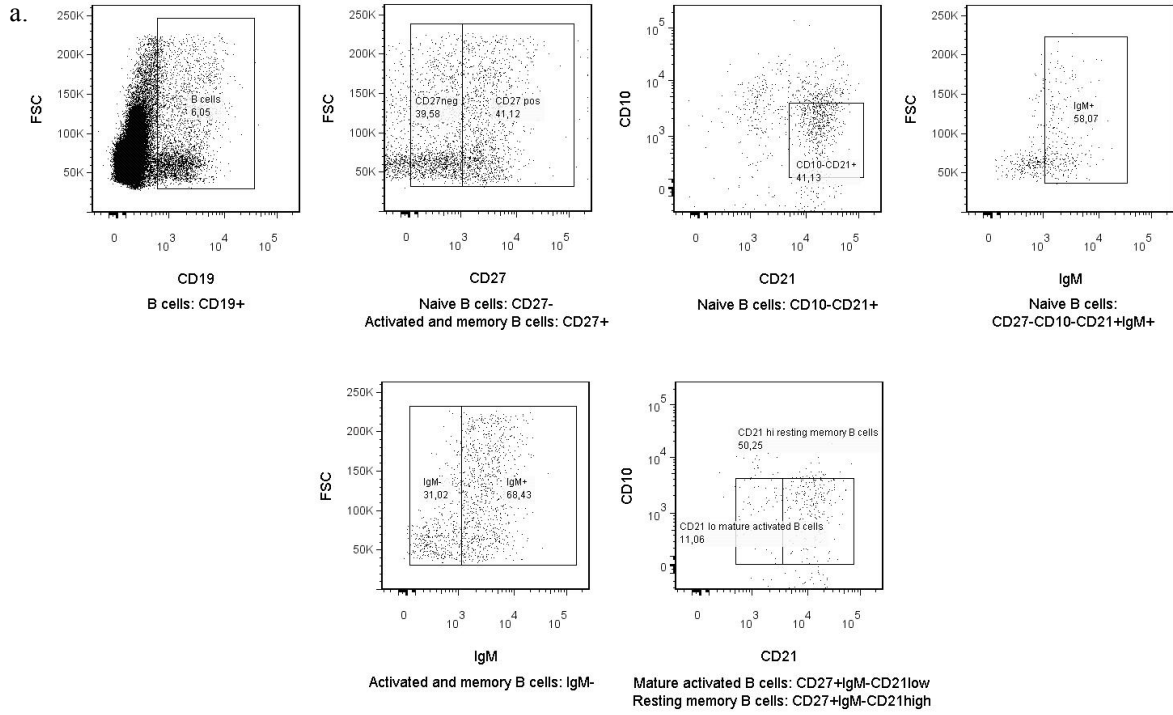
Article 3 - Figure 2

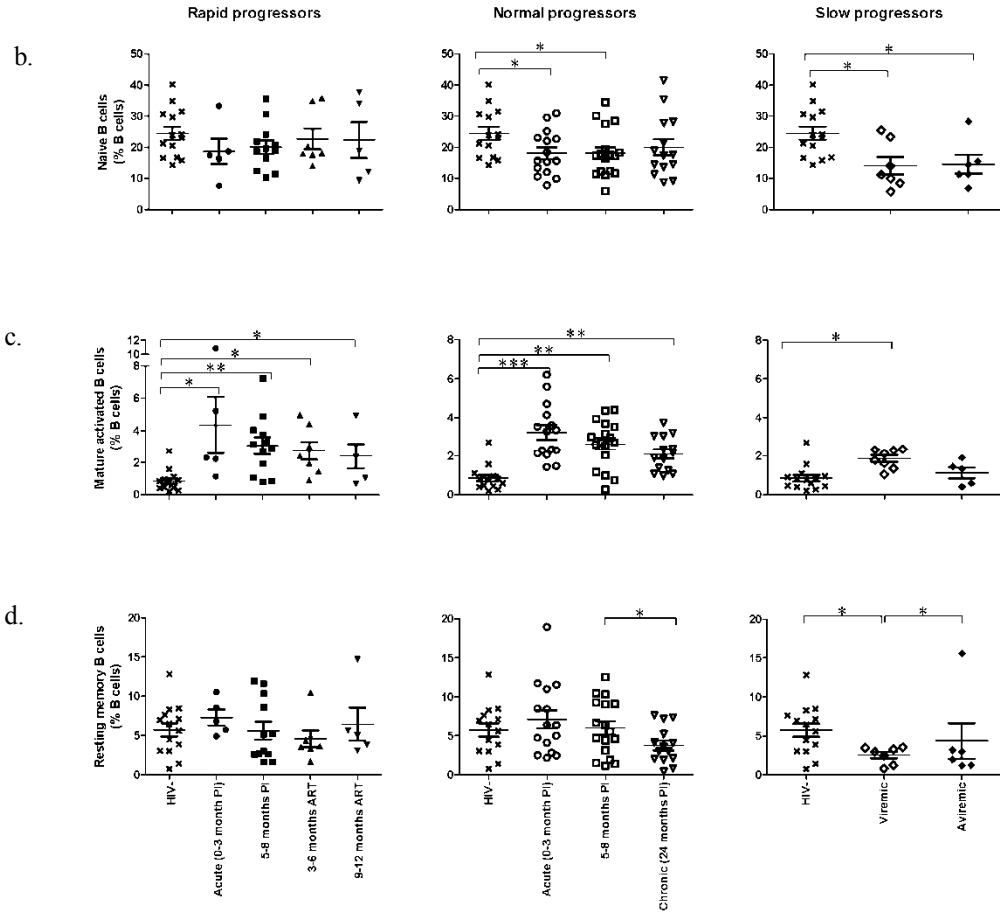


Article 3 - Figure 3

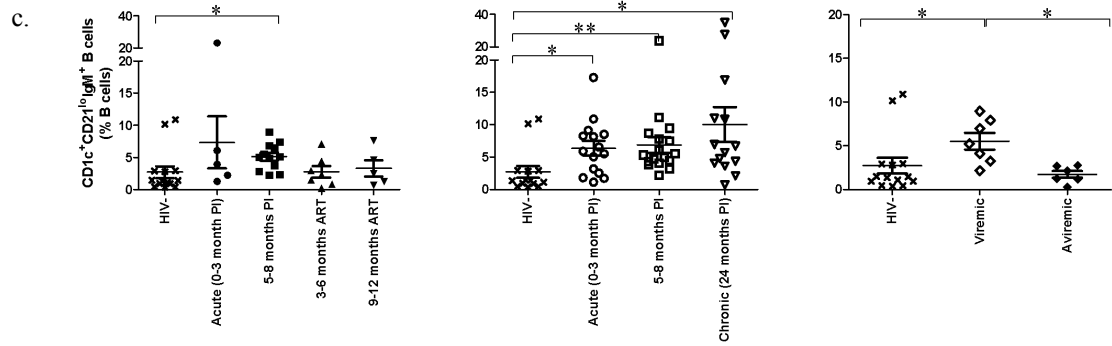
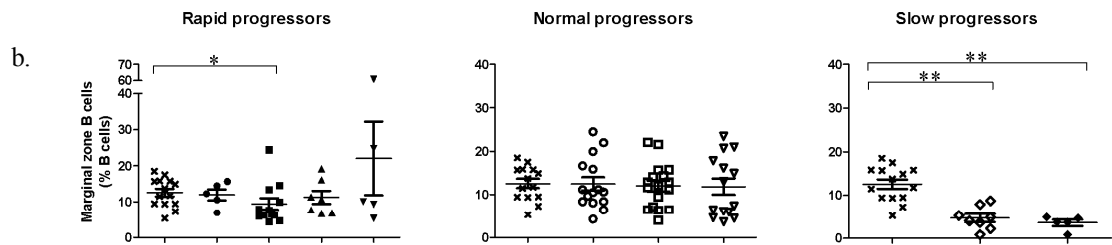
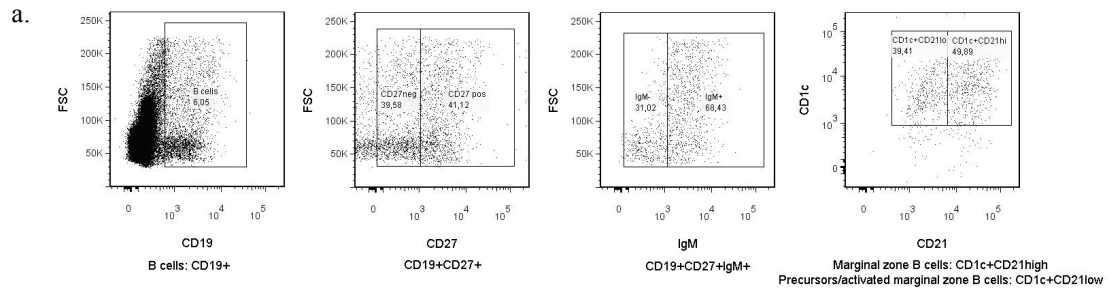


Article 3 - Figure 4





Article 3 - Figure 5



Article 3 - Table 1

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

	Rapid progressors (N=13)	Normal progressors (N=17)	Viremic slow progressors (N=7)	Aviremic slow progressors (N=6)	p value
Age at first visit (years)	33 ± 7	39 ± 7	43 ± 4	41 ± 8	0.02 ^a
Sex (male/female)	12/1	17/0	7/0	3/3	NS
Race (Caucasian/other)	12/1	16/1	6/1	5/1	NS
Route of transmission	8 MSM/ 3 HS/ 2 IDU	16 MSM/ 1 IDU	6 MSM/ 1 IDU	3 MSM/ 3 HS	NS
CD4+ T cell (cells/mm ³)					
Acute phase	544 ± 143	797 ± 210	na	na	0.002
Early phase	428 ± 148	685 ± 185	na	na	0.001
Chronic phase	394 ± 231	601 ± 271	532 ± 130	887 ± 122	NS
Nadir	254 ± 118	432 ± 140	506 ± 129	506 ± 175	0.0005 ^b
Viraemia (*10 ³ copies/ml)					
Acute phase	369 ± 703	85.6 ± 132	na	na	NS
Early phase	127 ± 184	80.1 ± 100	na	na	NS
Chronic phase	8.3 ± 17	101 ± 225	3.3 ± 1.5	<0.005 ^e	0.0009 ^c
Peak	570 ± 808	202 ± 236	8.5 ± 6.5	0.065 ± 0.027	<0.0001 ^d

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

Sex, race and route of transmission were compared using chi-square test.

Pairwise comparisons of CD4 for acute and early phases were performed using unpaired T-tests.

Pairwise comparisons viraemia for acute and early phases were performed using Mann-Whitney tests.

Comparisons among all groups (age at first visit, CD4 and viraemia in the chronic phase, and nadir CD4) were performed with the one-way analysis of variance test.

^ap=0.04 and 0.003 for the comparisons of age between rapid and normal progressors and rapid progressors and viremic slow progressors, respectively, as determined by Mann-Whitney test.

^bp=0.0008 and 0.001, and 0.02 nadir CD4 compared between rapid and normal progressors, rapid and viremic slow progressors, and rapid and aviremic slow progressors, respectively, as determined by Mann-Whitney test.

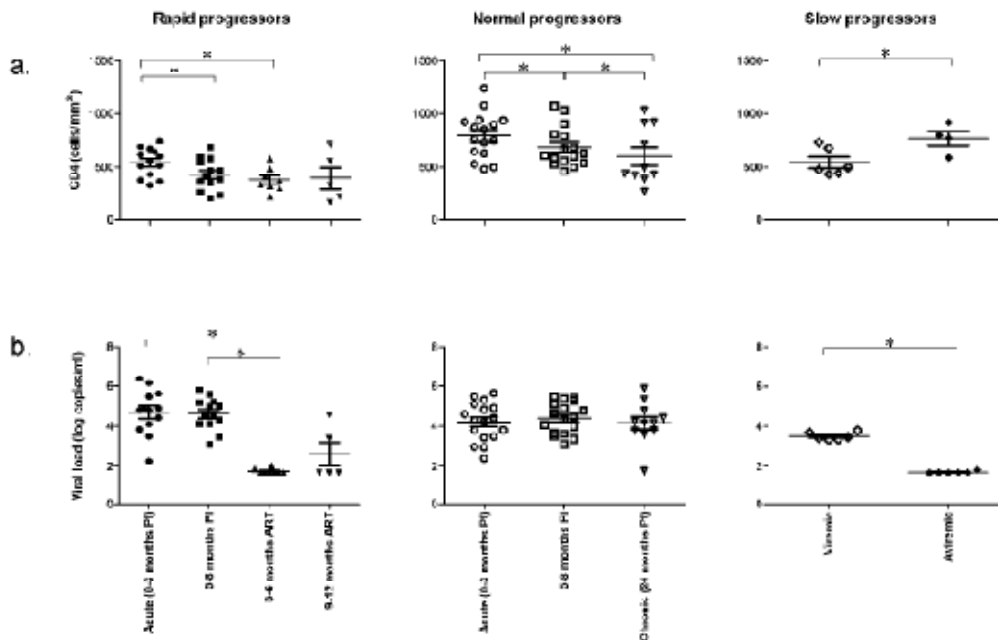
^cp=0.04, 0.02, 0.002, and 0.002 for the comparison of viraemia in chronic phase between rapid and normal progressors, normal progressors and viremic slow progressors, normal progressors and aviremic slow progressors, and viremic and aviremic slow progressors respectively, as determined by Mann-Whitney test.

^dp=0.006, 0.0007, 0.0005, 0.0004 and 0.001 for the comparison of peak viraemia between rapid progressors and viremic slow progressors, rapid progressors and aviremic slow progressors, normal progressors and viremic slow progressors, normal progressors and aviremic slow progressors, and viremic and aviremic slow progressors, respectively, as determined by Mann-Whitney test.

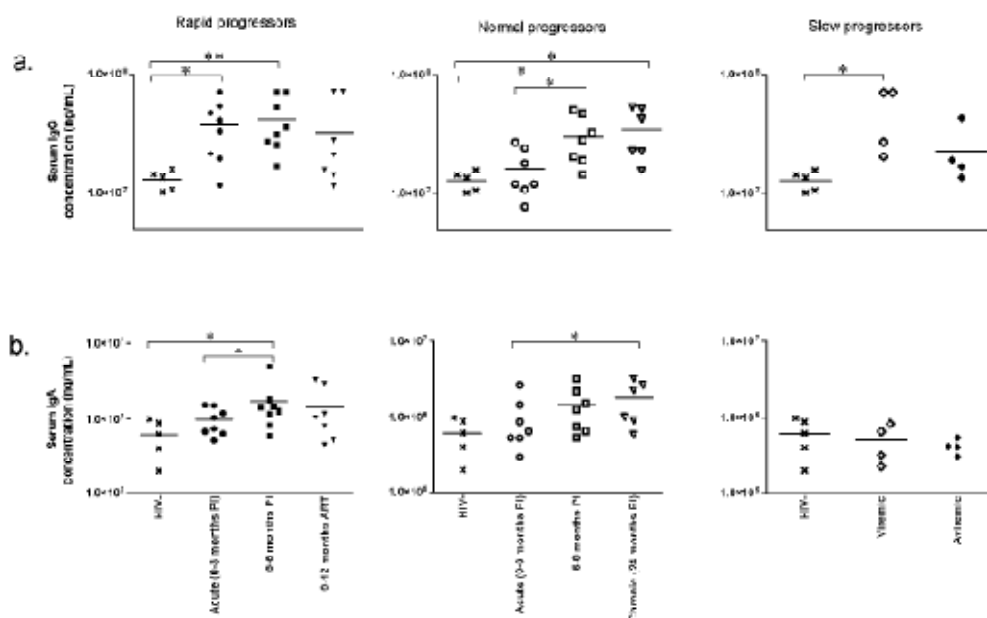
^e50copies/ml corresponds to the detection threshold of the viral load test.

HS, heterosexual; IDU, intravenous drug users; MSM, men who have sex with men; N, numbers; NS, not significant; na, not available.

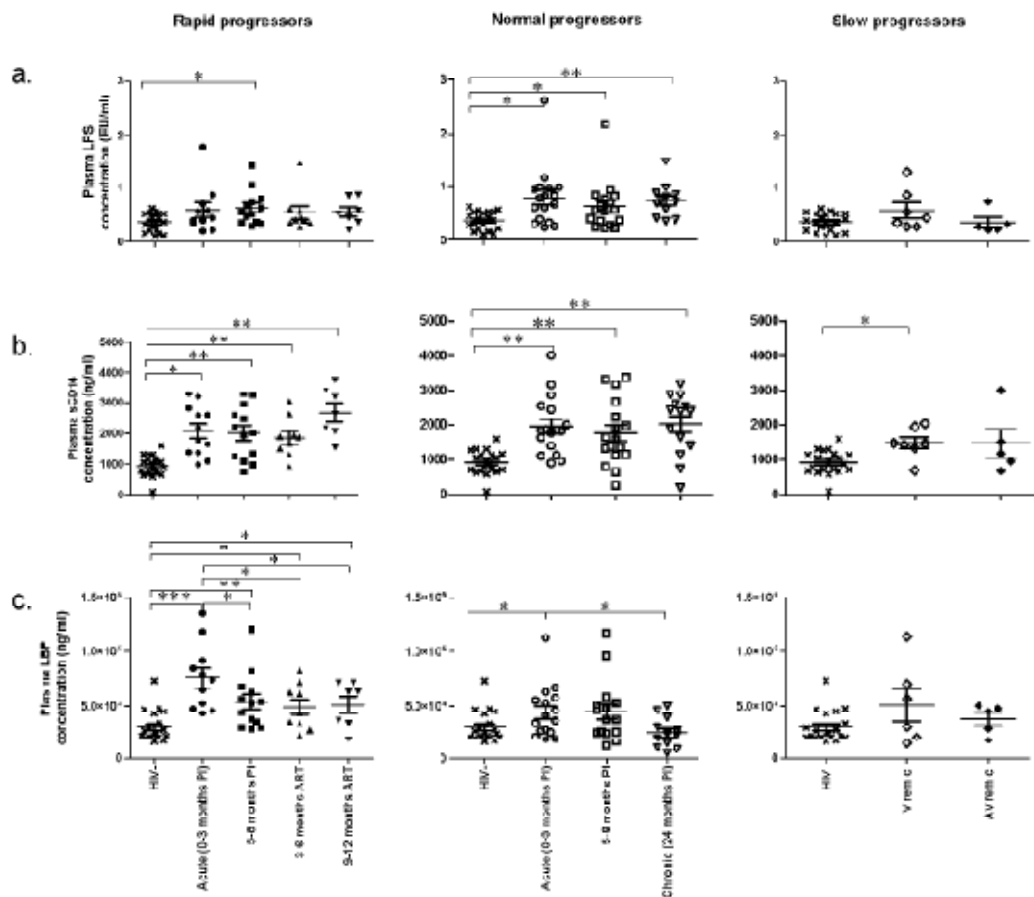
Supplemental figures



Supplemental figure 1. Longitudinal changes in CD4 T cell counts and viral loads. a) CD4 T cell counts in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). b) Viral loads in rapid (left panel), normal progressors (middle panel) and slow progressors (right panel). Cell populations and viral loads were compared using the Wilcoxon signed-rank and Mann-Whitney U tests for pairwise comparisons of different phases of infection within each group and between study groups, respectively. Significance levels are shown as * $p < 0.05$. ART, antiretroviral therapy; PI, postinfection.



Supplemental figure 2. Longitudinal changes in serum IgG and IgA. a) Serum concentrations of IgG in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). b) Serum concentrations of IgA in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. IgG and IgA concentrations were compared using the Wilcoxon signed-rank and Mann-Whitney U tests for pairwise comparisons of different phases of infection within each group and between study groups, respectively. Significance levels are shown as * $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$. Ig, immunoglobulin; ART, antiretroviral therapy; PI, postinfection.



Supplemental figure 3. Longitudinal changes in inflammation markers plasma lipopolysaccharide (LPS), soluble (s)CD14 and LPS binding protein (LPB). a) Plasma LPS concentrations in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). b) Plasma sCD14 concentrations in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). c) Plasma LPB concentrations in rapid (left panel), normal progressors (middle panel), and slow progressors (right panel). Same values are used for HIV-negative donors in left, middle and right graphs to show this group as a control. Plasma concentrations were compared with the Wilcoxon signed rank and 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 ** ($p < 0.001$). PI, post-infection; ART, antiretroviral treatment.

Discussion

1 Progression clinique du VIH

1.1 Dynamiques des mDC dans un contexte de progression clinique

Lors de l'infection par le VIH, les DC résidant dans les muqueuses sont parmi les premières populations cellulaires à entrer en contact avec le virus. Elles sont directement impliquées dans la transmission du virus aux lymphocytes T CD4⁺ dans les couches sous-jacentes ainsi que les ganglions drainants (818,819). Des études *in vitro* ont démontré que les DC immatures peuvent supporter une infection par le VIH, et ceci est supporté par des études *in vivo*, où des DC infectées ont été détectées chez des patients infectés par le VIH (499,820-823). De plus, des facteurs viraux peuvent affecter les DC même en l'absence d'infection (21,543,544,548-551). Elles s'en trouvent alors affectées au niveau de la fréquence, du phénotype et des fonctions. En effet, les patients infectés par le VIH présentent des fréquences diminuées de DC dans le sang et les muqueuses, ainsi qu'un niveau d'activation partiel des mDC (14,15,20-22,820,824). Bien que les dynamiques des DC chez les patients infectés par le VIH aient été associées aux taux de cellules T CD4⁺ et à la charge virale, une controverse perdure quant à leurs altérations en présence du traitement antirétroviral (16,19,143,144,152,153). Ces discordances de résultats sont dues au manque d'uniformité des études effectuées, à la rareté des études longitudinales et au manque de définition des groupes de patients infectés par le VIH.

Par conséquent, la première étape du présent travail a été de résoudre ces questions controversées en évaluant, de façon longitudinale, les dynamiques des différentes populations de DC chez les patients infectés par le VIH. Nous avons donc analysé les fréquences relatives et niveau d'activation des DC au niveau des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*), de façon longitudinale chez des patients affichant divers taux de progression clinique. Les patients étaient divisés selon les groupes suivants :

- Les progresseurs rapides, pour qui les niveaux de cellules T CD4⁺ sont descendus sous 250 cellules/mm³ durant les deux premières années de l'infection par le VIH.

Chez ces patients, les analyses ont été effectuées à quatre moments, soit lors de la phase aiguë et la phase précoce de l'infection, et à la suite du traitement antirétroviral (trois à six mois, et neuf à douze mois).

- Les progressseurs « normaux » ou classiques, qui ont maintenu des niveaux de cellules T CD4⁺ supérieurs à 500 cellules/mm³ durant les deux premières années suivant l'infection. Nous avons obtenu des données pour trois visites, correspondant à la phase aiguë, la phase précoce et la phase chronique de l'infection.
- Les progressseurs lents, qui sont des patients qui vivent avec le VIH depuis un minimum de huit ans, et qui ont maintenu des niveaux de cellules T CD4⁺ supérieurs à 500 cellules/mm³ en l'absence de traitement antirétroviral. Les progressseurs lents étaient divisés en deux groupes, soit les patients avirémiques et les patients ayant une charge virale détectable.
- Un groupe contrôle constitué de donneurs sains sans facteurs de risque d'infection par le VIH.

Ces divisions nous ont permis de discerner la présence de mécanismes liés à la progression clinique ou à un contrôle actif de cette progression. Par conséquent, les résultats seront d'abord traités dans un contexte de progression clinique, et dans un contexte d'absence de progression par la suite.

L'étude des mDC du sang a révélé les sous-populations CD11c⁺CD16⁻, CD11c⁺CD16⁺ et CD11c⁺⁺CD123^{low}, qui étaient présentes chez les patients infectés par le VIH et les donneurs sains. La population CD16⁺ a été associée à des conditions d'inflammation, en raison de la production spontanée de cytokines pro-inflammatoires (825). Les mDC CD11c⁺⁺CD123^{low} ont par ailleurs été identifiées in vitro, et représentent possiblement une population immature, car ces cellules présentent des capacités phagocytaires supérieures et moins de présentation d'antigènes que les cellules CD123⁻ (826,827). L'analyse de ces populations a révélé qu'en présence de progression clinique, une diminution de la fréquence et de l'activation des mDC survient dès la primo-infection, et distingue les progressseurs rapides des progressseurs normaux et lents. À la suite du traitement antirétroviral, les niveaux d'expression de HLA-DR sont restaurés à des niveaux normaux, mais les fréquences cellulaires demeurent diminuées, et ce indépendamment des niveaux de

cellules T CD4⁺ du sang circulant et de la charge virale des patients. Par conséquent, la diminution observée des mDC semble constituer un marqueur précoce de progression clinique. Ce phénomène indique également qu'un mécanisme affecte de façon précoce les mDC chez les patients infectés par le VIH, et perdure malgré un contrôle de la maladie effectué par les antirétroviraux.

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine des fluctuations de mDC, notamment la mort cellulaire induite par le VIH, ou reliée à l'infection. Toutefois, il est également possible que ces diminutions reflètent un drainage en périphérie, dans une tentative de combattre la progression de la maladie. En effet, ce phénomène a été démontré précédemment, où la baisse des DC du sang semble être attribuée à un recrutement des cellules dans les organes lymphoïdes et aux sites d'inflammation (22,535-537). Ceci demeure toutefois controversé, car certains patients infectés par le VIH présentent des niveaux diminués de mDC et pDC à la fois dans le sang et les organes lymphoïdes (22,535,536,538). Nous avons donc tenté de trouver une explication possible afin de répondre à cette question, en mesurant les concentrations plasmatiques de chimiokines susceptibles d'attirer les DC en périphérie.

D'une part, les chimiokines MCP-1 et MIP-3 α sont produites en excès dans des conditions d'inflammation, et sont responsable de la migration des cellules exprimant CCR2 et CCR6, respectivement, aux sites d'inflammation. Par exemple, on peut observer une production accrue de MIP-3 α dans des maladies inflammatoires de l'intestin, où on assiste également à un recrutement massif de DC immatures (430,458). Chez les patients ayant une progression clinique rapide ou normale, nous avons observé des niveaux plasmatiques élevés de MCP-1, qui traduisent possiblement une production accrue dans des sites d'inflammation. Cette augmentation renforce l'hypothèse du recrutement des DC immatures au niveau des muqueuses. De plus, la production soutenue de ces chimiokines à la suite du traitement antirétroviral efficace coïncide avec l'absence de restauration des DC, et souligne également la présence d'inflammation même dans un contexte de contrôle de la maladie (410). D'autre part, la chimiokine MIP-3 β , produite par les cellules stromales des organes lymphoïdes secondaires, lie le récepteur CCR7, exprimé par les cellules T et les DC matures. La liaison de CCR7 attire ces cellules vers les organes lymphoïdes secondaires. Par conséquent, il est

possible que les hautes concentrations plasmatiques de MIP-3 β observées chez les progresseurs reflètent une production accrue dans ainsi qu'un recrutement aux tissus lymphoïdes.

1.2 Dynamiques des précurseurs de mDC dans un contexte de progression clinique

Nous avons observé trois populations de précurseurs de mDC, notamment les monocytes CD11c⁻CD14⁺, les précurseurs CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ et les précurseurs CD11c⁺CD14⁺CD16⁺. Ces deux dernières populations représentent des précurseurs engagés à se différencier en DC. Les monocytes semblaient peu affectés par l'infection au VIH et la progression clinique, et ont démontré peu de variations. Toutefois, nous avons observé que les progresseurs rapides étaient sujets à une diminution de la fréquence des précurseurs CD11c⁺CD14⁺CD16⁻ lors de l'infection aiguë. À la suite du traitement antirétroviral, nous avons observé une augmentation de la fréquence de cette population à des niveaux supérieurs à la normale. Cette augmentation représente possiblement une tentative de reconstitution des populations de mDC en périphérie. Un analogue murin de cette population de précurseurs mDC exprime le récepteur de chimiokines CCR2, et est recruté aux sites d'inflammation où MCP-1 est exprimé, afin de devenir des DC inflammatoires productrices de plusieurs cytokines telles que le TNF (412,416). En outre, ces cellules sont des productrices de MCP-1, ce qui contribue à l'exacerbation de l'inflammation, et au recrutement de cellules permissives au VIH. Par conséquent, l'augmentation de la fréquence de cette population est compatible avec l'augmentation de MCP-1 chez les patients, et est possiblement impliquée dans l'acquisition d'un phénotype inflammatoire caractéristique de l'infection au VIH.

1.3 Dynamiques des pDC dans un contexte de progression clinique

À l'instar des mDC, les fréquences de pDC des patients infectés par le VIH ont été corrélées avec les taux de cellules T CD4⁺ du sang circulant. De plus, la charge virale au moment de l'initiation du traitement semble être un facteur de prédiction de la restauration de ces cellules (15,144,502). En accord avec ces observations, les progresseurs rapides et normaux présentent une diminution des pDC lors de la phase aigüe de l'infection, au moment où les CD4 sont au plus bas et où la charge virale est élevée. Le VIH pouvant causer des effets cytopathiques et la mort des pDC, il est possible qu'un tel mécanisme soit à l'origine de cette baisse (558). Toutefois, il est également possible que les pDC soient recrutées en périphérie. En effet, VIH induit l'expression de CCR7 par les pDC (565), et nous avons observé de hautes concentrations plasmatiques de MIP-3 β chez les patients infectés par le VIH, qui reflètent possiblement une production accrue au niveau des organes lymphoïdes secondaires.

En accord avec les études antérieures, nous avons observé une restauration des pDC du sang chez les progresseurs rapides à la suite du traitement antirétroviral. Par contre, les pDC circulantes sont également restaurées chez les progresseurs normaux, qui sont demeurés naïfs au traitement tout au long du suivi, et qui présentent des charges virales élevées. Les dynamiques de pDC chez les patients infectés par le VIH varient donc en fonction des taux de cellules T CD4⁺ dans le sang, mais indépendamment de la charge virale.

Il est également intéressant de constater que nous observons un « pic » d'activation des pDC, traduit par une augmentation de l'expression de HLA-DR lors de la phase précoce de l'infection, au moment de la stabilisation de la charge virale. Cette augmentation temporaire de l'activation des pDC représente possiblement une tentative de contrôle de la virémie, due à la production d'IFN- α et à l'inhibition de la réplication virale effectuée par ces cellules (321).

1.4 Production de BLyS par les DC et leurs précurseurs dans un contexte de progression clinique

Les cellules myéloïdes, soit les mDC, mais également les monocytes et les macrophages, sont impliquées dans la production de BLyS, qui est un des principaux facteurs de croissance et de survie des cellules B. Toutefois, une production excessive de cette cytokine est associée avec la sur-activation et l'activation polyclonale des cellules B, notamment les cellules de la zone marginale, qui incluent des cellules auto-réactives. Par conséquent, cette cytokine a une implication majeure dans la rupture de la tolérance et le développement d'auto-immunité (619,620). De hautes concentrations de BLyS ont fréquemment été observées chez les patients infectés par le VIH, et contribuent possiblement à l'hyperactivation des cellules B et à l'hyperglobulinémie (737).

Ainsi, nous avons observé des hauts taux d'expression de BLyS membranaire sur les DC, principalement les DC CD16⁻, dès les premières phases de l'infection, et perdurant tout au long du suivi, même en présence du traitement ART. L'expression de BLyS sur les mDC CD16⁻ concorde avec les hautes concentrations plasmatiques de BLyS, et souligne l'importance des mDC dans la production de cette cytokine et dans la régulation des cellules B. Les monocytes, dont les fréquences étaient moins affectées que celles des mDC, étaient également moins sujets à sur-exprimer BLyS. En outre, nous avons observé que les précurseurs mDC CD11c⁺CD14⁺CD16⁻, desquels un analogue murin est lié à la formation de DC inflammatoires ou « tip DC », présentaient de hautes concentrations de BLyS membranaire. Chez la souris, ces précurseurs mDC migrent en réponse à MCP-1, et se différencient en DC impliquées dans la production de TNF, famille de cytokines à laquelle appartient BLyS (412,416). Il est donc probable que la production de BLyS par les mDC et leur précurseurs soit régulée par un phénomène similaire : un excès de MCP-1 tel qu'observé chez les progressseurs cause un drainage des précurseurs vers des sites d'inflammation, ce qui entraîne la maturation des DC et l'expression et la production de BLyS. Cette observation supporte la notion de recrutement des DC vers la périphérie et de l'acquisition d'un phénotype inflammatoire, de même que l'implication des mDC dans la production de BLyS et l'altération des populations de lymphocytes B tel qu'observé lors de cette étude et discuté

dans la prochaine section. De plus, certaines cytokines telles que l'IL-10 sont impliquées dans une régulation à la hausse de l'expression de BLyS par les mDC (828). Comme IL-10 est élevé ici chez les progressseurs, il est possible que cette augmentation soit liée à une production accrue de BLyS. Il est également possible que l'augmentation de BLyS soit causée par des facteurs viraux produits par les cellules infectées, ou par des facteurs inflammatoires, tel qu'observé lors de cette étude.

1.5 Cytokines avec potentiel de croissance pour les lymphocytes B chez les patients progressseurs

Les DC jouent un rôle crucial dans la régulation des réponses des lymphocytes B, et dans la survie de ces derniers, à la fois par contact direct et par la sécrétion de cytokines (829-833). De telles cytokines incluent APRIL, IL-6 et IL-10. Ces cytokines sont notamment importantes dans la survie des plasmocytes et la commutation de classe. L'IL-6 et l'IL-10 sont importantes dans les réponses générées par les cellules B matures. D'une part IL-6 est responsable de la différenciation des plasmablastes en plasmocytes. D'autre part, l'IL-10 est responsable de la commutation de classe et de la production d'IgG, dans un processus qui nécessite également la signalisation via CD40, le BCR ou les TLR (24,486,685,693).

Nous avons dénoté de hautes concentrations d'IL-6 et d'IL-10 chez les progressseurs. Par le passé, de hauts niveaux de ces cytokines ont été observés dans des pathologies telles que le SIDA, des lymphomes ou des maladies autoimmunes. Elles sont associées avec la progression de la maladie chez les patients infectés par le VIH, et corrélient souvent avec l'hyperactivation des lymphocytes B et des titres élevés d'auto-anticorps (385,734,834-837). De plus, une production excessive d'IL-10 est délétère pour les réponses immunes anti-VIH, car elle est également responsable de l'inhibition des cellules T via l'activation des cellules T régulatrices (387). Même en l'absence d'infection des DC, une telle production peut être induite par des facteurs viraux tels que Nef, Tat ou Env qui sont produits et relargués par les cellules infectées dans des environnements tels que les ganglions, et peuvent avoir un impact sur les fonctions des mDC environnantes (496-504).

Nous avons également observé de hautes concentrations plasmatiques d'APRIL. Cette cytokine est impliquée dans la commutation de classe T-indépendante et la production d'IgG ou IgA lorsque conjuguée à une activation via le BCR ou les TLR, dans des sites tels que la lamina propria de la muqueuse intestinale et les amygdales (24). Or, les progresseurs ont affiché de l'hyper-IgG et -IgA, ce qui indique un lien potentiel entre la production accrue d'anticorps et l'excès d'APRIL. De plus, cette cytokine est impliquée dans l'activation des cellules B de la zone marginale. Un excès d'APRIL dans une telle niche peut par conséquent entraîner l'activation de cellules potentiellement autoréactives. Tel que discuté plus bas, les progresseurs démontrent une expansion d'une population de cellules B partageant des caractéristiques des cellules TI, des cellules matures activées et des cellules de la zone marginale. Il est possible qu'une surproduction d'APRIL, couplée à la surexpression de BLYS observée chez ces patients, soit une des causes de cette expansion, et qu'elle soit également à l'origine de l'activation de ces cellules.

1.6 Altérations des populations de cellules B chez les progresseurs

En raison de l'implication des DC dans la régulation et l'activation des cellules B, un excès de cytokines avec potentiel de croissance pour les cellules B peut contribuer à l'altération des fonctions et des dynamiques de celles-ci (25,676,829-833,838). De telles altérations incluent l'activation polyclonale accompagnée d'hypergammaglobulinémie, de même qu'une rupture de la tolérance en périphérie (620,726,727). La présente étude a révélé une augmentation des cellules B matures activées chez les progresseurs, accompagnée d'hyper-IgG et d'hyper-IgA. Ces anomalies ont été observées dès l'infection aiguë, et ont perduré en phase chronique malgré le traitement ART, indépendamment des taux de cellules T CD4⁺ et de la charge virale. Les patients traités ayant une charge virale indétectable, des facteurs d'origine autre que virale peuvent être impliqués dans la sur-activation des cellules B. Ainsi, l'excès de BLYS mesuré dans le plasma des patients ou exprimé par les mDC ou leurs précurseurs peuvent être en cause.

En outre, nous avons observé une population avec des caractéristiques des cellules TI, des cellules B activées et des cellules B de la zone marginale, que nous avons nommé cellules précurseurs/activées de la zone marginale. Ceci rappelle les observations obtenues des modèles murins HIV-Tg et BLYS-Tg, dans lesquels la population de cellules B de la zone marginale est augmentée et suractivée dans une condition similaire au SIDA et lorsqu'un excès de BLYS est présent (27,29,30). Lors de notre étude, cette population était augmentée dès l'infection aiguë, et tout au long du suivi. Les cellules B de la zone marginale sont préférentiellement augmentées en situation lymphopénique. La déplétion des cellules T et la destruction des structures folliculaires empêchent les interactions essentielles à la formation de centres germinatifs, ce qui favorise l'activation de ces cellules, afin de fournir une défense de première ligne contre d'éventuels pathogènes. De plus, un excès de BLYS favorise la rétention des cellules TI dans la zone marginale, et leur différenciation en cellules MZ plutôt qu'en cellules naïves (27). La localisation de ces cellules à l'entrée des organes lymphoïdes permet leur activation de façon T-indépendante par les DC, et suggère qu'elles seront les premières affectées par des DC dont la fonction est altérée (24,621,650). L'activation de ces cellules est dépendante de BLYS, et elles sont par conséquent suractivées dans des conditions pathologiques telles que des infections chroniques et des maladies autoimmunes où cette cytokine est produite en excès. Dans de telles situations, ces cellules sont impliquées dans la production d'auto-anticorps (621,622). Par conséquent, une altération des DC et la production excessive de BLYS peuvent contribuer à l'augmentation et à la suractivation de ces cellules. De plus, une altération des populations de cellules B en faveur de cellules de première ligne est possiblement à l'origine des altérations de l'immunité humorale observées chez les patients infectés par le VIH. En effet, un biais de sélection qui favorise la génération de cellules ayant un réservoir polyclonal entrave la production de réponses immunes spécifiques.

Les altérations observées au niveau du compartiment B peuvent être indirectement causées par des facteurs inflammatoires tels que LBP et la protéine CD14 soluble. De hautes concentrations de ces protéines ont été détectées chez les patients dès la phase aiguë et perdurent à la suite de ART. Ils sont indicatifs d'une rupture de l'intégrité mucoale, et peuvent être liés à l'activation des DC via le TLR4, et entraîner l'activation non-spécifique des lymphocytes B.

1.7 Implication des DC dans les altérations du compartiment des cellules B chez les progressseurs

Les données obtenues lors de cette étude semblent confirmer l'existence d'un lien entre le maintien de l'intégrité des dynamiques et fonctions des DC et la préservation d'un compartiment B. En effet, l'absence de corrélation entre les niveaux sanguins de cellules T CD4⁺ et la charge virale des patients infectés par le VIH indiquent que d'autres facteurs sont en cause dans les altérations des cellules B et la progression de la maladie. Le rôle joué par les DC dans la régulation des réponses des cellules B, de même que les altérations observées au niveau des DC suggèrent qu'une altération de ces cellules pourrait avoir un impact sur les dynamiques et les fonctions des cellules B.

En conclusion, nous observons que la présence d'altérations des DC chez les progressseurs est liée à un phénotype inflammatoire, où il y a expression et production de BLyS, cytokine de la famille des TNF. Ce phénotype altéré des DC semble être lié à l'apparition d'altérations des lymphocytes B dès les premiers stades de l'infection VIH, et qui perdurent malgré l'initiation du traitement antirétroviral. Par conséquent, bien que le contrôle de la virémie et des CD4 chez les patients maintiennent certaines fonctions immunes, un processus sous-jacent continue d'affecter d'autres fonctions essentielles, contribuant à la progression clinique des patients.

2 Mécanismes de contrôle liés à l'absence de progression clinique du VIH

Tel que revu dans l'introduction, les mécanismes de protection contre la progression clinique de l'infection au VIH demeurent méconnus et controversés. Tandis que certaines études soutiennent l'importance de l'activation immune, d'autres tendent à dire que cette dernière est délétère et que l'absence de progression est liée à des fonctions immunologiques

dités normales ou non-inflammatoires. La présente étude suggère la présence de mécanismes actifs liés au contrôle de la progression ayant lieu chez les progresseurs lents. Nous avons observé, chez les contrôleurs, des fréquences normales des différentes sous-populations de mDC, accompagnées d'une augmentation des précurseurs CD11c⁺CD14⁺CD16⁺. Un analogue murin de ces cellules a été décrit, qui n'exprime pas le récepteur CCR2, et se différencie en mDC tissulaire dans des conditions non-inflammatoires (415,839). Par conséquent, une telle augmentation illustre possiblement une production accrue liée à la régénération et l'homéostasie des DC, et la reconstitution des populations avec un phénotype non-inflammatoire. Ces observations sont cohérentes avec les niveaux normaux de chimiokines « DC-tropiques » observés chez les progresseurs lents, notamment des niveaux normaux de MCP-1, MIP-3 α et MIP-3 β . Ceci concorde également avec les niveaux d'expression normaux de BLYS sur les mDC et leurs précurseurs, qui renforcent la notion de l'absence d'un phénotype inflammatoire des DC. Ceci est également en accord avec les concentrations plasmatiques normales de BLYS observées chez ces patients, qui concordent avec l'observation de fréquences normales de cellules B matures activées et de cellules B précurseurs/activées de la zone marginale chez les progresseurs lents. Ces observations soulignent l'importance de ces populations cellulaires dans l'inflammation caractéristique de la progression clinique du VIH, et dans les altérations des cellules B que nous avons observées chez les progresseurs. Par conséquent, la préservation du compartiment des DC est cruciale afin de maintenir l'intégrité du compartiment B dans l'infection par le VIH.

Chez les progresseurs lents, nous avons également observé une baisse de la fréquence des cellules B matures de la zone marginale. Cette diminution au niveau du sang suggère fortement un recrutement à des sites périphériques, phénomène possiblement lié à un contrôle actif de l'infection, bénéfique pour les patients. Cette notion est renforcée par l'observation de hautes concentrations plasmatiques d'APRIL, IL-6 et IL-10. Ces cytokines jouent un rôle dans la régulation des réponses des lymphocytes B, car elles sont principalement impliquées dans la différenciation des cellules B matures et dans la commutation de classe (24,486,685,693). APRIL est notamment responsable de la commutation de classe et la production d'IgA par les cellules B de la lamina propria des muqueuses, essentielle au maintien de l'intégrité (689,840). En effet, ces cellules sont activées de façon T-indépendante par les DC, et produisent des IgA qui ont pour effet de contrôler la flore

commensale, neutraliser des pathogènes potentiels, et prévenir la translocation de produits microbiens de l'intestin (841). Ceci est donc en accord avec les basses concentrations d'endotoxines mesurées chez les progresseurs lents. Il est possible que les observations que nous avons faites chez les progresseurs lents représentent des débuts d'altérations du compartiment DC, qui pourraient avoir un impact à long terme sur l'intégrité du compartiment B. Toutefois, nos résultats suggèrent plutôt la présence d'un processus de contrôle actif, qui contribue à maintenir l'intégrité et l'équilibre des populations cellulaires et des fonctions immunes, et qui est lié à l'absence de progression clinique et de maladie apparente.

Les progresseurs lents virémiques, bien que présentant des fréquences normales de mDC circulantes, ont affiché de hautes concentrations de la chimiokine MIP-3 α , reflétant possiblement une production accrue et un recrutement des cellules immatures au niveau de sites tels que les muqueuses. De plus, les hautes concentrations de MIP-3 β observées chez ces patients est signe d'une hausse de production et d'un recrutement des cellules matures au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Ces observations reflètent un processus d'inflammation sous-jacent malgré l'absence apparente de progression clinique. En effet, nous avons mesuré, chez ces patients, des niveaux élevés de BLyS plasmatique, malgré une expression normale sur les mDC et leurs précurseurs. Des données préliminaires semblent indiquer une surexpression de BLyS sur les lymphocytes T activés de ces patients, tel qu'il a déjà été observé dans des cas d'auto-immunité (842). De plus, nous avons observé chez ces patients de hautes concentrations plasmatiques des cytokines IL-6 et IL-10. Ces mesures concordent avec l'augmentation des populations de cellules B matures activées, des cellules B de la zone marginale précurseurs/activées, et de l'hyper-IgG observée chez ces patients. Ce phénomène illustre la présence d'inflammation chez ces patients et démontre l'importance de considérer des facteurs autres que les niveaux de cellules T CD4⁺ et la charge virale dans l'évaluation de l'état clinique des patients. Toutefois, l'absence d'hyper-IgA chez ces patients suggère la présence d'un certain contrôle de la maladie, qui semble moindre que chez les progresseurs lents avirémiques mais qui n'est pas observé chez les progresseurs rapides et normaux. Par conséquent, le fait de créer deux groupes distincts de progresseurs lents nous indique d'une part que les mécanismes de contrôles de la maladie sont meilleurs et plus efficaces chez les patients avirémiques. Ces mécanismes semblent en effet incomplets chez

les progresseurs lents virémiques, et semblent inadéquats pour protéger contre les débuts d'altérations des compartiments DC et B que nous avons observés.

Conclusion

D'une part, nos observations viennent résoudre certaines controverses et divergences de la littérature, notamment concernant la restauration de l'équilibre des populations de DC et de cellules B chez les patients infectés par le VIH sous ART. En effet, la restauration des niveaux de cellules T CD4⁺ du sang circulant et la suppression de la virémie ne sont pas liées à une restauration des fréquences de DC circulantes. Une production accrue de chimiokines attirant les DC, de même qu'une augmentation des précurseurs liés à la génération de DC inflammatoires suggèrent un recrutement vers la périphérie, lié à l'acquisition d'un phénotype inflammatoire. En accord avec ceci, nous avons observé de hauts taux d'expression de BLYS ainsi que la présence d'altérations des cellules B telles que l'expansion des populations de matures activées et précurseurs/activées de la zone marginale dès la phase aiguë et qui perdurent à la suite du traitement antirétroviral. Ces observations suggèrent fortement l'implication de facteurs autres que les niveaux de cellules T CD4⁺ sanguins et la charge virale.

D'autre part, nous avons observé que l'absence de progression clinique est caractérisée par des mécanismes actifs de protection ou de contrôle de la maladie. L'augmentation d'une population de précurseurs de mDC liés à la génération de DC tissulaires illustre possiblement une production et une reconstitution constante des DC avec un potentiel non inflammatoire, qui semble lié à un maintien de l'équilibre des populations de cellules B.

En outre, les résultats obtenus indiquent un lien entre les dérégulations des DC dans l'infection à VIH, et les altérations observées au niveau des cellules B. Les altérations observées chez les DC entraînent l'acquisition d'un phénotype inflammatoire, et la production de plusieurs cytokines semblent avoir un effet sur l'équilibre et les fonctions des sous-populations de lymphocytes B. La préservation des DC en l'absence de progression clinique est liée à l'absence d'inflammation, et permet le maintien de l'intégrité du compartiment des cellules B et la mise en place d'un contrôle actif qui permet d'empêcher ou de repousser l'apparition de la progression de la maladie. La préservation de l'équilibre des

populations et des fonctions des DC est donc étroitement liée à la balance des populations de cellules B, essentielle au maintien de l'immunité humorale et cellulaire.

En conclusion, le rétablissement de fonctions immunes lors de ART, mesurées par les taux de lymphocytes T CD4⁺ des patients, peuvent masquer ou sous-estimer la présence d'une progression clinique à un autre niveau, soit celui des lymphocytes B. Par conséquent, le maintien de l'équilibre des fonctions DC, notamment les fonctions non-inflammatoires, pourrait avoir un impact important dans la prévention de la progression de maladies associées aux altérations du compartiment des cellules B. Un tel maintien pourrait aider à prévenir le développement de manifestations auto-immunes ou de lymphomes, fréquemment retrouvés chez les patients infectés par le VIH.

Perspectives

Les données obtenues lors de la présente étude ont permis de résoudre plusieurs controverses et de répondre à plusieurs questions, mais elles ont également ouvert la voie à plusieurs projets futurs. Toutefois, certaines hypothèses n'ont pu être confirmées en raison de la nature de nos échantillons. L'élaboration de projets de recherche incluant des éléments de muqueuses, tels que des lavages ou des biopsies, et de ganglions, bien qu'étant plus complexe à obtenir que des prélèvements sanguins, permettrait de répondre à plusieurs questions.

1 Migration des DC en périphérie

Tel qu'observé lors de la présente étude, la diminution de la fréquence des DC circulantes semble être causée par un recrutement actif sur des sites périphériques. Il est possible que ces cellules soient en effet appelées à se rendre dans les organes lymphoïdes secondaires et les muqueuses. L'évaluation des différentes concentrations de chimiokines au niveau des ganglions et de la muqueuse gastro-intestinale nous permettrait d'établir la présence ou l'absence d'un gradient de concentration, essentiel à la migration des cellules. De plus, l'évaluation des fréquences de DC dans ces différents compartiments obtenus de biopsies ganglionnaires et/ou intestinales, de même que l'expression des récepteurs de chimiokines sur les DC, constitue une seconde mesure permettant d'évaluer le recrutement des DC en périphérie. L'expression doit être quantifiée en parallèle par cytométrie et par RT-PCR (*reverse-transcriptase polymerase chain reaction*), car la liaison des chimiokines à leur récepteur peut entraîner une internalisation et une diminution de l'expression des récepteurs, nuisant à leur détection. Par la suite des essais *in vitro* des réponses cellulaires aux différentes chimiokines permettraient de confirmer nos hypothèses.

2 Caractérisation du compartiment mucosal

Deux principales populations de DC de la muqueuse gastro-intestinale sont importantes dans le maintien de la tolérance. Les DC CD103⁺ ont un potentiel tolérogénique via la différenciation des cellules T régulatrices, et les DC CD103⁻ ont des fonctions inflammatoires liées à l'exclusion des pathogènes, via la différenciation et l'activation des cellules Th17. Il a été démontré que chez la souris, les DC CD103⁻ sont générées à partir de l'analogue du précurseur de mDC CD16⁻, également lié à la formation de « Tip-DC », et non à partir du précurseur CD16⁺ (843,844). Si les précurseurs CD16⁻ sont recrutés à la muqueuse gastro-intestinale favorablement aux précurseurs CD16⁺, ceci peut avoir des conséquences importantes au niveau de l'inflammation chronique des patients, tel qu'observé dans des modèles murins (843,844). De plus, un tel phénomène peut causer une suractivation des cellules Th17, perpétuant ainsi le bassin de cellules permissives à l'infection. Par conséquent, les DC localisées dans les muqueuses jouent un rôle important non seulement dans les fonctions des cellules B, mais également dans une série de mécanismes complexes liés au contrôle de la progression clinique du VIH. Ainsi, il serait intéressant, avec des biopsies intestinales, de caractériser les populations de DC mucosales des patients infectés par le VIH avec différents types de progression clinique. Il est possible que les progressseurs soient sujets à une rupture de l'équilibre entre les populations de DC CD103⁻ et CD103⁺.

De plus, des signaux générés par l'épithélium sont cruciaux dans la génération et l'activation de ces cellules. La TSLP, avec l'acide rétinoïque et le TGF- β , entraînent la différenciation des cellules T CD103⁺, qui à leur tour causent l'activation des cellules T régulatrices (446). Or, on peut observer, chez les patients infectés par le VIH, une augmentation relative de la fréquence de ces cellules, qui suppriment les réponses anti-VIH (295-298). En outre, le contact entre le VIH et les cellules épithéliales induit la production de TSLP par ces dernières, et promeut la réplication virale, tel que démontré dans une étude in vitro (845). Or, dans des macaques infectés par le VIS (virus de l'immunodéficience simienne), on peut observer une augmentation de la production de TSLP, qui corrèle avec une charge virale élevée (845). Par conséquent, la production de TSLP au niveau des muqueuses a deux effets majeurs sur la progression clinique des patients. Elle peut à la fois inhiber la génération de réponses immunes spécifiques, et contribuer à perpétuer l'infection

en stimulant la réplication virale. Il serait donc intéressant de mesurer la TSLP dans des échantillons de muqueuses des patients, et d'évaluer la présence d'une corrélation potentielle avec leur rythme de progression.

3 Caractérisation du compartiment des cellules B

L'étude du compartiment des cellules B nous a permis d'observer une hausse des cellules B matures activées et d'une population que nous avons appelée « cellules B précurseurs/activées » de la zone marginale. Cette dernière population a été appelée ainsi en raison de l'expression de marqueurs de cellules B de la zone marginale et de marqueurs de cellules B immatures. Une analyse plus approfondie de cette population cellulaire permettrait d'élucider ses fonctions et son implication dans la progression clinique. L'étude de plus de marqueurs d'activation et du niveau d'expression du récepteur BAFF-R permettrait d'estimer le niveau d'activation et d'établir une corrélation éventuelle entre l'activation de ces cellules et la production de BLyS. En outre, des essais *in vitro* de stimulation par BLyS, selon une courbe de concentration, donnerait une indication sur l'activité de ces cellules et leur implication dans la production d'anticorps en présence d'un excès de BLyS.

Nous avons observé des concentrations élevées d'APRIL chez les progresseurs lents, de même que l'augmentation de précurseurs de mDC non-inflammatoires et une diminution de la fréquence des cellules B de la zone marginale. Ceci nous a permis de formuler l'hypothèse que les cellules B de la zone marginale sont recrutées sur certains sites en périphérie, notamment les muqueuses, et soient activées de façon à produire des IgA protecteurs. Ceci permet de maintenir l'intégrité mucoale et ainsi de restreindre l'inflammation et la progression clinique. L'évaluation des mesures d'APRIL et d'IgA au niveau de la muqueuse intestinale permettrait d'approfondir cette hypothèse. Puisque la production dans les muqueuses d'IgA spécifiques pour le VIH est associée avec la résistance à l'infection (846,847), il serait intéressant d'évaluer la production d'IgA VIH-spécifiques en lien avec les différences de progression clinique. En effet, la muqueuse gastro-intestinale étant un des principaux sites de réplication et de propagation virale, il est probable que la

présence d'IgA permette de restreindre l'infection et constitue un mécanisme de contrôle de la progression de la maladie.

Des études chez la souris ont démontré que les cellules B de première ligne « B1 » migrent vers la lamina propria de la muqueuse gastro-intestinale, et se différencient en cellules productrices d'IgA (24,690,848). Lors de la présente étude, nous avons observé une diminution des cellules B matures de la zone marginale, et supposé un recrutement aux muqueuses, reflétant un contrôle actif de l'infection. L'expression de récepteurs de chimiokines sur ces cellules, la concentration de chimiokines dans la muqueuse, ainsi que l'évaluation de la présence de ces cellules dans l'intestin permettrait d'évaluer cette hypothèse. Ces analyses seraient indicatives de l'implication de cette population cellulaire dans le contrôle de la maladie.

4 Implication des DC dans les altérations du compartiment de cellules B chez les patients infectés par le VIH

Nous avons démontré, lors de la présente étude, un lien entre les altérations du compartiment des cellules B et des DC chez les patients infectés par le VIH. En effet, nos résultats indiquent que les anomalies observées sont indépendantes de la charge virale et des taux de cellules T CD4⁺ des patients. Ceci indique l'implication de mécanismes autres ou complémentaires, comme la présence de composantes virales dans les microenvironnements tels que les ganglions, ou l'expression de ces protéines à la surface de cellules infectées, ayant un impact sur les fonctions des cellules environnantes. Toutefois, les mécanismes impliqués doivent être caractérisés plus en profondeur par des essais *in vitro*. Ainsi, nous devons déterminer l'effet de ces protéines sur la production de facteurs de croissance de cellules B par les DC, et évaluer l'impact des facteurs produits sur la différenciation des cellules B immatures, leur activation et la production d'anticorps. De tels effets peuvent être causés par des surnageants de culture si ils impliquent la production de facteurs solubles, ou par un contact direct entre les DC et les cellules B immatures si il s'agit de protéines

exprimés à la surface des DC. Par conséquent l'élaboration d'un système de co-culture et d'un système de culture cellulaire à deux chambres permettrait d'approfondir ces hypothèses.

D'autre part, il est possible que même en l'absence d'infection productive, différentes composantes virales aient un effet direct sur les phénotypes et les fonctions des cellules B, tel qu'il a été observé pour Nef (755,756). Cette hypothèse devra être évaluée en testant l'effet de diverses protéines virales sur la différenciation de cellules B immatures, et sur le niveau d'activation des cellules B, notamment par la voie des TLR.

Bibliographie

1. ONUSIDA. 2009. Le point sur l'épidémie de SIDA.
2. Agence de la santé publique du Canada. 2007. Actualités en épidémiologie sur le VIH/SIDA.
3. Hall, H. I., J. Geduld, D. Boulos, P. Rhodes, Q. An, T. D. Mastro, R. S. Janssen, and C. P. Archibald. 2009. Epidemiology of HIV in the United States and Canada: current status and ongoing challenges. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 51 Suppl 1: S13-S20.
4. Kallings, L. O. 2008. The first postmodern pandemic: 25 years of HIV/ AIDS. *J. Intern. Med.* 263: 218-243.
5. Richman, D. D., D. M. Margolis, M. Delaney, W. C. Greene, D. Hazuda, and R. J. Pomerantz. 2009. The challenge of finding a cure for HIV infection. *Science* 323: 1304-1307.
6. Aasa-Chapman, M. M., A. Hayman, P. Newton, D. Cornforth, I. Williams, P. Borrow, P. Balfe, and A. McKnight. 2004. Development of the antibody response in acute HIV-1 infection. *AIDS* 18: 371-381.
7. Ho, J., S. Moir, A. Malaspina, M. L. Howell, W. Wang, A. C. DiPoto, M. A. O'Shea, G. A. Roby, R. Kwan, J. M. Mican, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2006. Two overrepresented B cell populations in HIV-infected individuals undergo apoptosis by different mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 19436-19441.
8. Lane, H. C., H. Masur, L. C. Edgar, G. Whalen, A. H. Rook, and A. S. Fauci. 1983. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.* 309: 453-458.
9. Levesque, M. C., M. A. Moody, K. K. Hwang, D. J. Marshall, J. F. Whitesides, J. D. Amos, T. C. Gurley, S. Allgood, B. B. Haynes, N. A. Vandergrift, S. Plonk, D. C. Parker, M. S. Cohen, G. D. Tomaras, P. A. Goepfert, G. M. Shaw, J. E. Schmitz, J. J. Eron, N. J. Shaheen, C. B. Hicks, H. X. Liao, M. Markowitz, G. Kelsoe, D. M. Margolis, and B. F. Haynes. 2009. Polyclonal B cell differentiation and loss of gastrointestinal tract germinal centers in the earliest stages of HIV-1 infection. *PLoS. Med.* 6: e1000107.
10. Moir, S., A. Malaspina, O. K. Pickeral, E. T. Donoghue, J. Vasquez, N. J. Miller, S. R. Krishnan, M. A. Planta, J. F. Turney, J. S. Justement, S. Kottlil, M. Dybul, J. M. Mican, C. Kovacs, T. W. Chun, C. E. Birse, and A. S. Fauci. 2004. Decreased survival of B cells of HIV-viremic patients mediated by altered expression of receptors of the TNF superfamily. *J. Exp. Med.* 200: 587-599.

11. Titanji, K., F. Chiodi, R. Bellocco, D. Schepis, L. Osorio, C. Tassandin, G. Tambussi, S. Grutzmeier, L. Lopalco, and M. A. De. 2005. Primary HIV-1 infection sets the stage for important B lymphocyte dysfunctions. *AIDS* 19: 1947-1955.
12. Almeida, M., M. Cordero, J. Almeida, and A. Orfao. 2005. Different subsets of peripheral blood dendritic cells show distinct phenotypic and functional abnormalities in HIV-1 infection. *AIDS* 19: 261-271.
13. Azzoni, L., R. M. Rutstein, J. Chehimi, M. A. Farabaugh, A. Nowmos, and L. J. Montaner. 2005. Dendritic and natural killer cell subsets associated with stable or declining CD4+ cell counts in treated HIV-1-infected children. *J. Infect. Dis.* 191: 1451-1459.
14. Barron, M. A., N. Blyveis, B. E. Palmer, S. Mawhinney, and C. C. Wilson. 2003. Influence of plasma viremia on defects in number and immunophenotype of blood dendritic cell subsets in human immunodeficiency virus 1-infected individuals. *J. Infect. Dis.* 187: 26-37.
15. Donaghy, H., A. Pozniak, B. Gazzard, N. Qazi, J. Gilmour, F. Gotch, and S. Patterson. 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: 2574-2576.
16. Finke, J. S., M. Shodell, K. Shah, F. P. Siegal, and R. M. Steinman. 2004. Dendritic cell numbers in the blood of HIV-1 infected patients before and after changes in antiretroviral therapy. *J. Clin. Immunol.* 24: 647-652.
17. Grassi, F., A. Hosmalin, D. McIlroy, V. Calvez, P. Debre, and B. Autran. 1999. Depletion in blood CD11c-positive dendritic cells from HIV-infected patients. *AIDS* 13: 759-766.
18. Pacanowski, J., S. Kahi, M. Baillet, P. Lebon, C. Deveau, C. Goujard, L. Meyer, E. Oksenhendler, M. Sinet, and A. Hosmalin. 2001. Reduced blood CD123+ (lymphoid) and CD11c+ (myeloid) dendritic cell numbers in primary HIV-1 infection. *Blood* 98: 3016-3021.
19. Schmidt, B., S. H. Fujimura, J. N. Martin, and J. A. Levy. 2006. Variations in plasmacytoid dendritic cell (PDC) and myeloid dendritic cell (MDC) levels in HIV-infected subjects on and off antiretroviral therapy. *J. Clin. Immunol.* 26: 55-64.
20. Lore, K., A. Sonnerborg, C. Brostrom, L. E. Goh, L. Perrin, H. McDade, H. J. Stellbrink, B. Gazzard, R. Weber, L. A. Napolitano, K. Y. van, and J. Andersson. 2002. Accumulation of DC-SIGN+CD40+ dendritic cells with reduced CD80 and CD86 expression in lymphoid tissue during acute HIV-1 infection. *AIDS* 16: 683-692.
21. Harman, A. N., J. Wilkinson, C. R. Bye, L. Bosnjak, J. L. Stern, M. Nicholle, J. Lai, and A. L. Cunningham. 2006. HIV induces maturation of monocyte-derived dendritic cells and Langerhans cells. *J. Immunol.* 177: 7103-7113.

22. Dillon, S. M., K. B. Robertson, S. C. Pan, S. Mawhinney, A. L. Meditz, J. M. Folkvord, E. Connick, M. D. McCarter, and C. C. Wilson. 2008. Plasmacytoid and myeloid dendritic cells with a partial activation phenotype accumulate in lymphoid tissue during asymptomatic chronic HIV-1 infection. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 48: 1-12.
23. Craxton, A., D. Magaletti, E. J. Ryan, and E. A. Clark. 2003. Macrophage- and dendritic cell--dependent regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF. *Blood* 101: 4464-4471.
24. Litinskiy, M. B., B. Nardelli, D. M. Hilbert, B. He, A. Schaffer, P. Casali, and A. Cerutti. 2002. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLyS and APRIL. *Nat. Immunol.* 3: 822-829.
25. Nardelli, B., O. Belvedere, V. Roschke, P. A. Moore, H. S. Olsen, T. S. Migone, S. Sosnovtseva, J. A. Carrell, P. Feng, J. G. Giri, and D. M. Hilbert. 2001. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 97: 198-204.
26. von Bulow, G. U., J. M. van Deursen, and R. J. Bram. 2001. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity.* 14: 573-582.
27. Enzler, T., G. Bonizzi, G. J. Silverman, D. C. Otero, G. F. Widhopf, A. Anzelon-Mills, R. C. Rickert, and M. Karin. 2006. Alternative and classical NF-kappa B signaling retain autoreactive B cells in the splenic marginal zone and result in lupus-like disease. *Immunity.* 25: 403-415.
28. Mackay, F., S. A. Woodcock, P. Lawton, C. Ambrose, M. Baetscher, P. Schneider, J. Tschopp, and J. L. Browning. 1999. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J. Exp. Med.* 190: 1697-1710.
29. Poudrier, J., X. Weng, D. G. Kay, G. Pare, E. L. Calvo, Z. Hanna, M. H. Kosco-Vilbois, and P. Jolicoeur. 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: 173-185.
30. Poudrier, J., X. Weng, D. G. Kay, Z. Hanna, and P. Jolicoeur. 2003. The AIDS-like disease of CD4C/human immunodeficiency virus transgenic mice is associated with accumulation of immature CD11bHi dendritic cells. *J. Virol.* 77: 11733-11744.
31. Freed, E. O., and M. A. Martin. 2001. HIVs and their replication. In *Fundamental Virology*, 4 ed. D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, and S. E. Straus, eds. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 913-984.
32. Pomerantz, R. J., and D. L. Horn. 2003. Twenty years of therapy for HIV-1 infection. *Nat. Med.* 9: 867-873.
33. Salmon, P., R. Olivier, Y. Riviere, E. Brisson, J. C. Gluckman, M. P. Kienny, L. Montagnier, and D. Klatzmann. 1988. Loss of CD4 membrane expression and CD4

- mRNA during acute human immunodeficiency virus replication. *J. Exp. Med.* 168: 1953-1969.
34. Dalglish, A. G., P. C. Beverley, P. R. Clapham, D. H. Crawford, M. F. Greaves, and R. A. Weiss. 1984. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 312: 763-767.
 35. Maddon, P. J., A. G. Dalglish, J. S. McDougal, P. R. Clapham, R. A. Weiss, and R. Axel. 1986. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 47: 333-348.
 36. Janeway, C. A., Jr., J. Yagi, J. Rojo, P. Portoles, S. Carding, M. Luqman, and K. Bottomly. 1988. Immune recognition and effector function in subsets of CD4 T cells. *Princess Takamatsu Symp.* 19: 193-208.
 37. Salmon, P., A. Giovane, B. Wasylyk, and D. Klatzmann. 1993. Characterization of the human CD4 gene promoter: transcription from the CD4 gene core promoter is tissue-specific and is activated by Ets proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 90: 7739-7743.
 38. Killeen, N., C. B. Davis, K. Chu, M. E. Crooks, S. Sawada, J. D. Scarborough, K. A. Boyd, S. G. Stuart, H. Xu, and D. R. Littman. 1993. CD4 function in thymocyte differentiation and T cell activation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 342: 25-34.
 39. Ledbetter, J. A., J. P. Deans, A. Aruffo, L. S. Grosmaire, S. B. Kanner, J. B. Bolen, and G. L. Schieven. 1993. CD4, CD8 and the role of CD45 in T-cell activation. *Curr. Opin. Immunol.* 5: 334-340.
 40. Lafontaine, M., D. Landry, and S. Montplaisir. 1997. Human thymic dendritic cells. *Microsc. Res. Tech.* 38: 267-275.
 41. Evans, V. A., P. U. Cameron, and S. R. Lewin. 2008. Human thymic dendritic cells: regulators of T cell development in health and HIV-1 infection. *Clin. Immunol.* 126: 1-12.
 42. Gibbings, D., and A. D. Befus. 2009. CD4 and CD8: an inside-out coreceptor model for innate immune cells. *J. Leukoc. Biol.* 86: 251-259.
 43. Dragic, T., V. Litwin, G. P. Allaway, S. R. Martin, Y. Huang, K. A. Nagashima, C. Cayanan, P. J. Maddon, R. A. Koup, J. P. Moore, and W. A. Paxton. 1996. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 381: 667-673.
 44. Feng, Y., C. C. Broder, P. E. Kennedy, and E. A. Berger. 1996. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 272: 872-877.

45. Mo, H., S. Monard, H. Pollack, J. Ip, G. Rochford, L. Wu, J. Hoxie, W. Borkowsky, D. D. Ho, and J. P. Moore. 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: 607-617.
46. Pierson, T., T. L. Hoffman, J. Blankson, D. Finzi, K. Chadwick, J. B. Margolick, C. Buck, J. D. Siliciano, R. W. Doms, and R. F. Siliciano. 2000. Characterization of chemokine receptor utilization of viruses in the latent reservoir for human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 74: 7824-7833.
47. 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: 673-680.
48. Kilby, J. M., and J. J. Eron. 2003. Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. *N. Engl. J. Med.* 348: 2228-2238.
49. Chun, T. W., K. Chadwick, J. Margolick, and R. F. Siliciano. 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: 4436-4444.
50. Eckert, D. M., and P. S. Kim. 2001. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Annu. Rev. Biochem.* 70: 777-810.
51. Gomez, C., and T. J. Hope. 2005. The ins and outs of HIV replication. *Cell Microbiol.* 7: 621-626.
52. Miyauchi, K., Y. Kim, O. Latinovic, V. Morozov, and G. B. Melikyan. 2009. HIV enters cells via endocytosis and dynamin-dependent fusion with endosomes. *Cell* 137: 433-444.
53. Bukrinskaya, A., B. Brichacek, A. Mann, and M. Stevenson. 1998. Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton. *J. Exp. Med.* 188: 2113-2125.
54. Iordanskiy, S., R. Berro, M. Altieri, F. Kashanchi, and M. Bukrinsky. 2006. Intracytoplasmic maturation of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcription complexes determines their capacity to integrate into chromatin. *Retrovirology*. 3: 4.
55. Engelman, A. 2009. Isolation and analysis of HIV-1 preintegration complexes. *Methods Mol. Biol.* 485: 135-149.
56. Popov, S., M. Rexach, G. Zybarth, N. Reiling, M. A. Lee, L. Ratner, C. M. Lane, M. S. Moore, G. Blobel, and M. Bukrinsky. 1998. Viral protein R regulates nuclear import of the HIV-1 pre-integration complex. *EMBO J.* 17: 909-917.

57. Lee, K., Z. Ambrose, T. D. Martin, I. Oztop, A. Mulky, J. G. Julias, N. Vandegraaff, J. G. Baumann, R. Wang, W. Yuen, T. Takemura, K. Shelton, I. Taniuchi, Y. Li, J. Sodroski, D. R. Littman, J. M. Coffin, S. H. Hughes, D. Unutmaz, A. Engelman, and V. N. KewalRamani. 2010. Flexible use of nuclear import pathways by HIV-1. *Cell Host. Microbe* 7: 221-233.
58. Acel, A., B. E. Udashkin, M. A. Wainberg, and E. A. Faust. 1998. Efficient gap repair catalyzed in vitro by an intrinsic DNA polymerase activity of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *J. Virol.* 72: 2062-2071.
59. Brin, E., J. Yi, A. M. Skalka, and J. Leis. 2000. Modeling the late steps in HIV-1 retroviral integrase-catalyzed DNA integration. *J. Biol. Chem.* 275: 39287-39295.
60. Yoder, K. E., and F. D. Bushman. 2000. Repair of gaps in retroviral DNA integration intermediates. *J. Virol.* 74: 11191-11200.
61. Van, M. B., and Z. Debyser. 2005. HIV-1 integration: an interplay between HIV-1 integrase, cellular and viral proteins. *AIDS Rev.* 7: 26-43.
62. Cherepanov, P., A. L. Ambrosio, S. Rahman, T. Ellenberger, and A. Engelman. 2005. Structural basis for the recognition between HIV-1 integrase and transcriptional coactivator p75. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 102: 17308-17313.
63. Ferris, A. L., X. Wu, C. M. Hughes, C. Stewart, S. J. Smith, T. A. Milne, G. G. Wang, M. C. Shun, C. D. Allis, A. Engelman, and S. H. Hughes. 2010. Lens epithelium-derived growth factor fusion proteins redirect HIV-1 DNA integration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 107: 3135-3140.
64. Krishnan, L., X. Li, H. L. Naraharisetty, S. Hare, P. Cherepanov, and A. Engelman. 2010. Structure-based modeling of the functional HIV-1 intasome and its inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 107: 15910-15915.
65. Farnet, C. M., and W. A. Haseltine. 1991. Circularization of human immunodeficiency virus type 1 DNA in vitro. *J. Virol.* 65: 6942-6952.
66. Li, Y., J. C. Kappes, J. A. Conway, R. W. Price, G. M. Shaw, and B. H. Hahn. 1991. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 cloned directly from uncultured human brain tissue: identification of replication-competent and -defective viral genomes. *J. Virol.* 65: 3973-3985.
67. Pauza, C. D., P. Trivedi, T. S. McKechnie, D. D. Richman, and F. M. Graziano. 1994. 2-LTR circular viral DNA as a marker for human immunodeficiency virus type 1 infection in vivo. *Virology* 205: 470-478.
68. Pierson, T. C., T. L. Kieffer, C. T. Ruff, C. Buck, S. J. Gange, and R. F. Siliciano. 2002. Intrinsic stability of episomal circles formed during human immunodeficiency virus type 1 replication. *J. Virol.* 76: 4138-4144.

69. Brussel, A., D. Mathez, S. Broche-Pierre, R. Lancar, T. Calvez, P. Sonigo, and J. Leibowitch. 2003. Longitudinal monitoring of 2-long terminal repeat circles in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic HIV-1 infection. *AIDS* 17: 645-652.
70. Mandal, D., and V. R. Prasad. 2009. Analysis of 2-LTR circle junctions of viral DNA in infected cells. *Methods Mol. Biol.* 485: 73-85.
71. Majello, B., L. P. De, G. Hagen, G. Suske, and L. Lania. 1994. Different members of the Sp1 multigene family exert opposite transcriptional regulation of the long terminal repeat of HIV-1. *Nucleic Acids Res.* 22: 4914-4921.
72. Sune, C., and M. A. Garcia-Blanco. 1995. Sp1 transcription factor is required for in vitro basal and Tat-activated transcription from the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat. *J. Virol.* 69: 6572-6576.
73. Bieniasz, P. D., T. A. Grdina, H. P. Bogerd, and B. R. Cullen. 1999. Recruitment of cyclin T1/P-TEFb to an HIV type 1 long terminal repeat promoter proximal RNA target is both necessary and sufficient for full activation of transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 96: 7791-7796.
74. Naghavi, M. H., S. Schwartz, A. Sonnerborg, and A. Vahlne. 1999. Long terminal repeat promoter/enhancer activity of different subtypes of HIV type 1. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 15: 1293-1303.
75. Schwartz, C., P. Catez, O. Rohr, D. Lecestre, D. Aunis, and E. Schaeffer. 2000. Functional interactions between C/EBP, Sp1, and COUP-TF regulate human immunodeficiency virus type 1 gene transcription in human brain cells. *J. Virol.* 74: 65-73.
76. Cron, R. Q., S. R. Bartz, A. Clausell, S. J. Bort, S. J. Klebanoff, and D. B. Lewis. 2000. NFAT1 enhances HIV-1 gene expression in primary human CD4 T cells. *Clin. Immunol.* 94: 179-191.
77. Battistini, A., G. Marsili, M. Sgarbanti, B. Ensoli, and J. Hiscott. 2002. IRF regulation of HIV-1 long terminal repeat activity. *J. Interferon Cytokine Res.* 22: 27-37.
78. Mukerjee, R., B. E. Sawaya, K. Khalili, and S. Amini. 2007. Association of p65 and C/EBPbeta with HIV-1 LTR modulates transcription of the viral promoter. *J. Cell Biochem.* 100: 1210-1216.
79. Horiba, M., L. B. Martinez, J. L. Buescher, S. Sato, J. Limoges, Y. Jiang, C. Jones, and T. Ikezu. 2007. OTK18, a zinc-finger protein, regulates human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat through two distinct regulatory regions. *J. Gen. Virol.* 88: 236-241.

80. Ranjbar, S., A. V. Tsytsykova, S. K. Lee, R. Rajsbaum, J. V. Falvo, J. Lieberman, P. Shankar, and A. E. Goldfeld. 2006. NFAT5 regulates HIV-1 in primary monocytes via a highly conserved long terminal repeat site. *PLoS. Pathog.* 2: e130.
81. Sgarbanti, M., A. L. Remoli, G. Marsili, B. Ridolfi, A. Borsetti, E. Perrotti, R. Orsatti, R. Ilari, L. Sernicola, E. Stellacci, B. Ensoli, and A. Battistini. 2008. IRF-1 is required for full NF-kappaB transcriptional activity at the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat enhancer. *J. Virol.* 82: 3632-3641.
82. Wei, P., M. E. Garber, S. M. Fang, W. H. Fischer, and K. A. Jones. 1998. A novel CDK9-associated C-type cyclin interacts directly with HIV-1 Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA. *Cell* 92: 451-462.
83. Zhou, Q., and P. A. Sharp. 1995. Novel mechanism and factor for regulation by HIV-1 Tat. *EMBO J.* 14: 321-328.
84. Fraldi, A., P. Licciardo, B. Majello, A. Giordano, and L. Lania. 2001. Distinct regions of cyclinT1 are required for binding to CDK9 and for recruitment to the HIV-1 Tat/TAR complex. *J. Cell Biochem. Suppl* 36: 247-253.
85. Cullen, B. R. 1998. Retroviruses as model systems for the study of nuclear RNA export pathways. *Virology* 249: 203-210.
86. Pollard, V. W., and M. H. Malim. 1998. The HIV-1 Rev protein. *Annu. Rev. Microbiol.* 52: 491-532.
87. Freed, E. O. 1998. HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. *Virology* 251: 1-15.
88. Karacostas, V., E. J. Wolffe, K. Nagashima, M. A. Gonda, and B. Moss. 1993. Overexpression of the HIV-1 gag-pol polyprotein results in intracellular activation of HIV-1 protease and inhibition of assembly and budding of virus-like particles. *Virology* 193: 661-671.
89. Rein, A., L. E. Henderson, and J. G. Levin. 1998. Nucleic-acid-chaperone activity of retroviral nucleocapsid proteins: significance for viral replication. *Trends Biochem. Sci.* 23: 297-301.
90. Wilk, T., I. Gross, B. E. Gowen, T. Rutten, H. F. de, R. Welker, H. G. Krausslich, P. Boulanger, and S. D. Fuller. 2001. Organization of immature human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 75: 759-771.
91. Garrus, J. E., U. K. von Schwedler, O. W. Pornillos, S. G. Morham, K. H. Zavitz, H. E. Wang, D. A. Wettstein, K. M. Stray, M. Cote, R. L. Rich, D. G. Myszka, and W. I. Sundquist. 2001. Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding. *Cell* 107: 55-65.

92. VerPlank, L., F. Bouamr, T. J. LaGrassa, B. Agresta, A. Kikonyogo, J. Leis, and C. A. Carter. 2001. Tsg101, a homologue of ubiquitin-conjugating (E2) enzymes, binds the L domain in HIV type 1 Pr55(Gag). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98: 7724-7729.
93. Grossman, Z., M. Meier-Schellersheim, W. E. Paul, and L. J. Picker. 2006. Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. *Nat. Med.* 12: 289-295.
94. Howell, A. L., S. N. Asin, G. R. Yeaman, and C. R. Wira. 2005. HIV-1 infection of the female reproductive tract. *Curr. HIV. /AIDS Rep.* 2: 35-38.
95. Haase, A. T. 2005. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 783-792.
96. Lekkerkerker, A. N., K. Y. van, and T. B. Geijtenbeek. 2006. Viral piracy: HIV-1 targets dendritic cells for transmission. *Curr. HIV. Res.* 4: 169-176.
97. Boggiano, C., and D. R. Littman. 2007. HIV's vagina travelogue. *Immunity.* 26: 145-147.
98. Morrow, G., L. Vachot, P. Vagenas, and M. Robbiani. 2007. Current concepts of HIV transmission. *Curr. HIV. /AIDS Rep.* 4: 29-35.
99. Kaul, R., C. Pettengell, P. M. Sheth, S. Sunderji, A. Biringer, K. MacDonald, S. Walmsley, and A. Rebbapragada. 2008. The genital tract immune milieu: an important determinant of HIV susceptibility and secondary transmission. *J. Reprod. Immunol.* 77: 32-40.
100. Hladik, F., and T. J. Hope. 2009. HIV infection of the genital mucosa in women. *Curr. HIV. /AIDS Rep.* 6: 20-28.
101. Haase, A. T. 2010. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. *Nature* 464: 217-223.
102. Taruishi, M., K. Terashima, Z. Dewan, N. Yamamoto, S. Ikeda, D. Kobayashi, Y. Eishi, M. Yamazaki, T. Furusaka, M. Sugimoto, M. Ishii, K. Kitamura, and N. Yamamoto. 2004. Role of follicular dendritic cells in the early HIV-1 infection: in vitro model without specific antibody. *Microbiol. Immunol.* 48: 693-702.
103. Ho, J., S. Moir, L. Kulik, A. Malaspina, E. T. Donoghue, N. J. Miller, W. Wang, T. W. Chun, A. S. Fauci, and V. M. Holers. 2007. Role for CD21 in the establishment of an extracellular HIV reservoir in lymphoid tissues. *J. Immunol.* 178: 6968-6974.
104. Cooper, D. A., J. Gold, P. Maclean, B. Donovan, R. Finlayson, T. G. Barnes, H. M. Michelmore, P. Brooke, and R. Penny. 1985. Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet* 1: 537-540.
105. Henrard, D. R., E. Daar, H. Farzadegan, S. J. Clark, J. Phillips, G. M. Shaw, and M. P. Busch. 1995. Virologic and immunologic characterization of symptomatic and

- asymptomatic primary HIV-1 infection. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 9: 305-310.
106. Ho, D. D., M. G. Sarngadharan, L. Resnick, F. Dimarzo-Veronese, T. R. Rota, and M. S. Hirsch. 1985. Primary human T-lymphotropic virus type III infection. *Ann. Intern. Med.* 103: 880-883.
107. Clark, S. J., M. S. Saag, W. D. Decker, S. Campbell-Hill, J. L. Roberson, P. J. Veldkamp, J. C. Kappes, B. H. Hahn, and G. M. Shaw. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Med.* 324: 954-960.
108. Schacker, T. W., J. P. Hughes, T. Shea, R. W. Coombs, and L. Corey. 1998. Biological and virologic characteristics of primary HIV infection. *Ann. Intern. Med.* 128: 613-620.
109. Lyles, R. H., A. Munoz, T. E. Yamashita, H. Bazmi, R. Detels, C. R. Rinaldo, J. B. Margolick, J. P. Phair, and J. W. Mellors. 2000. Natural history of human immunodeficiency virus type 1 viremia after seroconversion and proximal to AIDS in a large cohort of homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study. *J. Infect. Dis.* 181: 872-880.
110. Phair, J. P., H. Farzadegan, J. Chmiel, A. Munoz, R. Detels, A. Saah, and R. Kaslow. 1993. Progression of HIV-infection: markers or determinants. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 104: 123-128.
111. Pantaleo, G., C. Graziosi, J. F. Demarest, L. Butini, M. Montroni, C. H. Fox, J. M. Orenstein, D. P. Kotler, and A. S. Fauci. 1993. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 362: 355-358.
112. Piatak, M., Jr., L. C. Yang, K. C. Luk, J. D. Lifson, M. S. Saag, S. J. Clark, J. C. Kappes, B. H. Hahn, and G. M. Shaw. 1993. Viral dynamics in primary HIV-1 infection. *Lancet* 341: 1099.
113. Piatak, M., Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 259: 1749-1754.
114. Embretson, J., M. Zupancic, J. L. Ribas, A. Burke, P. Racz, K. Tenner-Racz, and A. T. Haase. 1993. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 362: 359-362.
115. Farzadegan, H., D. R. Henrard, C. A. Kleeberger, L. Schragar, A. J. Kirby, A. J. Saah, C. R. Rinaldo, Jr., M. O'Gorman, R. Detels, E. Taylor, J. P. Phair, and J. B. Margolick. 1996. Virologic and serologic markers of rapid progression to AIDS after HIV-1 seroconversion. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 13: 448-455.

116. Khanlou, H., D. Salmon-Ceron, and D. Sicard. 1997. [Characteristics of rapid progressors in HIV infection]. *Ann. Med. Interne (Paris)* 148: 163-166.
117. Phair, J. P. 1994. Keynote address: variations in the natural history of HIV infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10: 883-885.
118. Audige, A., P. Taffe, M. Rickenbach, M. Battegay, P. Vernazza, D. Nadal, and R. F. Speck. 2010. Low postseroconversion CD4 count and rapid decrease of CD4 density identify HIV+ fast progressors. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 26: 997-1005.
119. Centers for Disease Control and Prevention. 1999. CDC Guidelines for National Human Immunodeficiency Virus Case Surveillance, Including Monitoring for Human Immunodeficiency Virus Infection and Acquired Immunodeficiency Syndrome.
120. Liner, K. J., M. J. Ro, and K. R. Robertson. 2010. HIV, antiretroviral therapies, and the brain. *Curr. HIV. /AIDS Rep.* 7: 85-91.
121. Gras, G., and M. Kaul. 2010. Molecular mechanisms of neuroinvasion by monocytes-macrophages in HIV-1 infection. *Retrovirology.* 7: 30.
122. Yadav, A., and R. G. Collman. 2009. CNS inflammation and macrophage/microglial biology associated with HIV-1 infection. *J. Neuroimmune. Pharmacol.* 4: 430-447.
123. Kaul, M. 2009. HIV-1 associated dementia: update on pathological mechanisms and therapeutic approaches. *Curr. Opin. Neurol.* 22: 315-320.
124. Aquaro, S., V. Svicher, L. Ronga, C. F. Perno, and M. Pollicita. 2008. HIV-1-associated dementia during HAART therapy. *Recent Pat CNS. Drug Discov.* 3: 23-33.
125. Letendre, S., B. Ances, S. Gibson, and R. J. Ellis. 2007. Neurologic complications of HIV disease and their treatment. *Top. HIV. Med.* 15: 32-39.
126. Ances, B. M., and R. J. Ellis. 2007. Dementia and neurocognitive disorders due to HIV-1 infection. *Semin. Neurol.* 27: 86-92.
127. Toborek, M., Y. W. Lee, G. Flora, H. Pu, I. E. Andras, E. Wylegala, B. Hennig, and A. Nath. 2005. Mechanisms of the blood-brain barrier disruption in HIV-1 infection. *Cell Mol. Neurobiol.* 25: 181-199.
128. Gonzalez-Scarano, F., and J. Martin-Garcia. 2005. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 69-81.
129. Organisation mondiale de la Santé. 2010. Recommandations rapides, Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent.
130. Dornadula, G., H. Zhang, B. VanUitert, J. Stern, L. Livornese, Jr., M. J. Ingerman, J. Witek, R. J. Kedanis, J. Natkin, J. DeSimone, and R. J. Pomerantz. 1999. Residual

- HIV-1 RNA in blood plasma of patients taking suppressive highly active antiretroviral therapy. *JAMA* 282: 1627-1632.
131. Viard, J. P., M. Burgard, J. B. Hubert, L. Aaron, C. Rabian, N. Pertuiset, M. Lourenco, C. Rothschild, and C. Rouzioux. 2004. Impact of 5 years of maximally successful highly active antiretroviral therapy on CD4 cell count and HIV-1 DNA level. *AIDS* 18: 45-49.
 132. Furtado, M. R., D. S. Callaway, J. P. Phair, K. J. Kunstman, J. L. Stanton, C. A. Macken, A. S. Perelson, and S. M. Wolinsky. 1999. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.* 340: 1614-1622.
 133. Zhang, L., B. Ramratnam, K. Tenner-Racz, Y. He, M. Vesanen, S. Lewin, A. Talal, P. Racz, A. S. Perelson, B. T. Korber, M. Markowitz, and D. D. Ho. 1999. Quantifying residual HIV-1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.* 340: 1605-1613.
 134. Sharkey, M. E., I. Teo, T. Greenough, N. Sharova, K. Luzuriaga, J. L. Sullivan, R. P. Bucy, L. G. Kostrikis, A. Haase, C. Veryard, R. E. Davaro, S. H. Cheeseman, J. S. Daly, C. Bova, R. T. Ellison, III, B. Mady, K. K. Lai, G. Moyle, M. Nelson, B. Gazzard, S. Shaunak, and M. Stevenson. 2000. Persistence of episomal HIV-1 infection intermediates in patients on highly active anti-retroviral therapy. *Nat. Med.* 6: 76-81.
 135. Trono, D., L. C. Van, C. Rouzioux, E. Verdin, F. Barre-Sinoussi, T. W. Chun, and N. Chomont. 2010. HIV persistence and the prospect of long-term drug-free remissions for HIV-infected individuals. *Science* 329: 174-180.
 136. Izzedine, H., M. Harris, and M. A. Perazella. 2009. The nephrotoxic effects of HAART. *Nat. Rev. Nephrol.* 5: 563-573.
 137. Ingersoll, K. S., and J. Cohen. 2008. The impact of medication regimen factors on adherence to chronic treatment: a review of literature. *J. Behav. Med.* 31: 213-224.
 138. Mallon, P. W. 2007. Pathogenesis of lipodystrophy and lipid abnormalities in patients taking antiretroviral therapy. *AIDS Rev.* 9: 3-15.
 139. Mallon, P. W. 2007. Antiretroviral therapy-induced lipid alterations: in-vitro, animal and human studies. *Curr. Opin. HIV. AIDS* 2: 282-292.
 140. Roling, J., H. Schmid, M. Fischereeder, R. Draenert, and F. D. Goebel. 2006. HIV-associated renal diseases and highly active antiretroviral therapy-induced nephropathy. *Clin. Infect. Dis.* 42: 1488-1495.
 141. James, C. W., M. C. Steinhaus, S. Szabo, and R. M. Dressier. 2004. Tenofovir-related nephrotoxicity: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 24: 415-418.

142. Este, J. A., and T. Cihlar. 2010. Current status and challenges of antiretroviral research and therapy. *Antiviral Res.* 85: 25-33.
143. Chehimi, J., D. E. Campbell, L. Azzoni, D. Bacheller, E. Papasavvas, G. Jerandi, K. Mounzer, J. Kostman, G. Trinchieri, and L. J. Montaner. 2002. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J. Immunol.* 168: 4796-4801.
144. Chehimi, J., L. Azzoni, M. Farabaugh, S. A. Creer, C. Tomescu, A. Hancock, A. Mackiewicz, L. D'Alessandro, S. Ghanekar, A. S. Foulkes, K. Mounzer, J. Kostman, and L. J. Montaner. 2007. Baseline viral load and immune activation determine the extent of reconstitution of innate immune effectors in HIV-1-infected subjects undergoing antiretroviral treatment. *J. Immunol.* 179: 2642-2650.
145. Fournier, A. M., V. Baillat, C. Alix-Panabieres, J. M. Fondere, C. Merle, M. Segondy, M. F. Huguet, J. Reynes, and J. P. Vendrell. 2002. Dynamics of spontaneous HIV-1 specific and non-specific B-cell responses in patients receiving antiretroviral therapy. *AIDS* 16: 1755-1760.
146. Jacobson, M. A., H. Khayam-Bashi, J. N. Martin, D. Black, and V. Ng. 2002. Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B-lymphocyte function. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 31: 472-477.
147. Killian, M. S., S. H. Fujimura, F. M. Hecht, and J. A. Levy. 2006. Similar changes in plasmacytoid dendritic cell and CD4 T-cell counts during primary HIV-1 infection and treatment. *AIDS* 20: 1247-1252.
148. Moir, S., A. Malaspina, J. Ho, W. Wang, A. C. DiPoto, M. A. O'Shea, G. Roby, J. M. Mican, S. Kottlil, T. W. Chun, M. A. Proschan, and A. S. Fauci. 2008. Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease. *J. Infect. Dis.* 197: 572-579.
149. Morris, L., J. M. Binley, B. A. Clas, S. Bonhoeffer, T. P. Astill, R. Kost, A. Hurley, Y. Cao, M. Markowitz, D. D. Ho, and J. P. Moore. 1998. HIV-1 antigen-specific and -nonspecific B cell responses are sensitive to combination antiretroviral therapy. *J. Exp. Med.* 188: 233-245.
150. Nilssen, D. E., O. Oktedalen, and P. Brandtzaeg. 2004. Intestinal B cell hyperactivity in AIDS is controlled by highly active antiretroviral therapy. *Gut* 53: 487-493.
151. Notermans, D. W., J. J. de Jong, J. Goudsmit, M. Bakker, M. T. Roos, L. Nijholt, J. Cremers, J. A. Hellings, S. A. Danner, and R. A. de. 2001. Potent antiretroviral therapy initiates normalization of hypergammaglobulinemia and a decline in HIV type 1-specific antibody responses. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 17: 1003-1008.
152. Sachdeva, N., V. Asthana, T. H. Brewer, D. Garcia, and D. Asthana. 2008. Impaired restoration of plasmacytoid dendritic cells in HIV-1-infected patients with poor CD4

T cell reconstitution is associated with decrease in capacity to produce IFN-alpha but not proinflammatory cytokines. *J. Immunol.* 181: 2887-2897.

153. Siegal, F. P., P. Fitzgerald-Bocarsly, B. K. Holland, and M. Shodell. 2001. Interferon-alpha generation and immune reconstitution during antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus infection. *AIDS* 15: 1603-1612.
154. Deeks, S. G., and B. D. Walker. 2007. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity.* 27: 406-416.
155. Learmont, J., B. Tindall, L. Evans, A. Cunningham, P. Cunningham, J. Wells, R. Penny, J. Kaldor, and D. A. Cooper. 1992. Long-term symptomless HIV-1 infection in recipients of blood products from a single donor. *Lancet* 340: 863-867.
156. Saksena, N. K., B. Rodes, B. Wang, and V. Soriano. 2007. Elite HIV controllers: myth or reality? *AIDS Rev.* 9: 195-207.
157. Saez-Cirion, A., G. Pancino, M. Sinet, A. Venet, and O. Lambotte. 2007. HIV controllers: how do they tame the virus? *Trends Immunol.* 28: 532-540.
158. O'Connell, K. A., J. R. Bailey, and J. N. Blankson. 2009. Elucidating the elite: mechanisms of control in HIV-1 infection. *Trends Pharmacol. Sci.* 30: 631-637.
159. Blankson, J. N. 2010. Effector mechanisms in HIV-1 infected elite controllers: highly active immune responses? *Antiviral Res.* 85: 295-302.
160. Baker, B. M., B. L. Block, A. C. Rothchild, and B. D. Walker. 2009. Elite control of HIV infection: implications for vaccine design. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 9: 55-69.
161. Hogervorst, E., S. Jurriaans, W. F. de, W. A. van, A. Wiersma, M. Valk, M. Roos, G. B. van, R. Coutinho, F. Miedema, and . 1995. Predictors for non- and slow progression in human immunodeficiency virus (HIV) type 1 infection: low viral RNA copy numbers in serum and maintenance of high HIV-1 p24-specific but not V3-specific antibody levels. *J. Infect. Dis.* 171: 811-821.
162. Haase, A. T. 2010. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. *Nature* 464: 217-223.
163. Simon, B., K. Grabmeier-Pfistershammer, A. Rieger, M. Sarcletti, B. Schmied, and E. Puchhammer-Stockl. 2010. HIV coreceptor tropism in antiretroviral treatment-naive patients newly diagnosed at a late stage of HIV infection. *AIDS* 24: 2051-2058.
164. Dalmau, J., M. C. Puertas, M. Azuara, A. Marino, N. Frahm, B. Mothe, N. Izquierdo-Useros, M. J. Buzon, R. Paredes, L. Matas, T. M. Allen, C. Brander, C. Rodrigo, B. Clotet, and J. Martinez-Picado. 2009. Contribution of immunological and virological factors to extremely severe primary HIV type 1 infection. *Clin. Infect. Dis.* 48: 229-238.

165. Waters, L., S. Mandalia, P. Randell, A. Wildfire, B. Gazzard, and G. Moyle. 2008. The impact of HIV tropism on decreases in CD4 cell count, clinical progression, and subsequent response to a first antiretroviral therapy regimen. *Clin. Infect. Dis.* 46: 1617-1623.
166. Weiser, B., S. Philpott, T. Klimkait, H. Burger, C. Kitchen, P. Burgisser, M. Gorgievski, L. Perrin, J. C. Piffaretti, and B. Ledergerber. 2008. HIV-1 coreceptor usage and CXCR4-specific viral load predict clinical disease progression during combination antiretroviral therapy. *AIDS* 22: 469-479.
167. Philpott, S. M. 2003. HIV-1 coreceptor usage, transmission, and disease progression. *Curr. HIV. Res.* 1: 217-227.
168. Diaz, R. S., R. Pardini, M. Catroxo, E. A. Operskalski, J. W. Mosley, and M. P. Busch. 2005. HIV-1 superinfection is not a common event. *J. Clin. Virol.* 33: 328-330.
169. Piantadosi, A., B. Chohan, V. Chohan, R. S. McClelland, and J. Overbaugh. 2007. Chronic HIV-1 infection frequently fails to protect against superinfection. *PLoS. Pathog.* 3: e177.
170. Smith, D. M., M. C. Strain, S. D. Frost, S. K. Pillai, J. K. Wong, T. Wrin, Y. Liu, C. J. Petropoulos, E. S. Daar, S. J. Little, and D. D. Richman. 2006. Lack of neutralizing antibody response to HIV-1 predisposes to superinfection. *Virology* 355: 1-5.
171. Quan, Y., C. Liang, B. G. Brenner, and M. A. Wainberg. 2009. Multidrug-resistant variants of HIV type 1 (HIV-1) can exist in cells as defective quasispecies and be rescued by superinfection with other defective HIV-1 variants. *J. Infect. Dis.* 200: 1479-1483.
172. Streeck, H., B. Li, A. F. Poon, A. Schneidewind, A. D. Gladden, K. A. Power, D. Daskalakis, S. Bazner, R. Zuniga, C. Brander, E. S. Rosenberg, S. D. Frost, M. Altfeld, and T. M. Allen. 2008. Immune-driven recombination and loss of control after HIV superinfection. *J. Exp. Med.* 205: 1789-1796.
173. Gottlieb, G. S., D. C. Nickle, M. A. Jensen, K. G. Wong, J. Grobler, F. Li, S. L. Liu, C. Rademeyer, G. H. Learn, S. S. Karim, C. Williamson, L. Corey, J. B. Margolick, and J. I. Mullins. 2004. Dual HIV-1 infection associated with rapid disease progression. *Lancet* 363: 619-622.
174. Grobler, J., C. M. Gray, C. Rademeyer, C. Seoghe, G. Ramjee, S. A. Karim, L. Morris, and C. Williamson. 2004. Incidence of HIV-1 dual infection and its association with increased viral load set point in a cohort of HIV-1 subtype C-infected female sex workers. *J. Infect. Dis.* 190: 1355-1359.
175. Casado, C., M. Pernas, T. Alvaro, V. Sandonis, S. Garcia, C. Rodriguez, R. J. Del, E. Grau, L. Ruiz, and C. Lopez-Galindez. 2007. Coinfection and superinfection in patients with long-term, nonprogressive HIV-1 disease. *J. Infect. Dis.* 196: 895-899.

176. Deacon, N. J., A. Tsykin, A. Solomon, K. Smith, M. Ludford-Menting, D. J. Hooker, D. A. McPhee, A. L. Greenway, A. Ellett, C. Chatfield, V. A. Lawson, S. Crowe, A. Maerz, S. Sonza, J. Learmont, J. S. Sullivan, A. Cunningham, D. Dwyer, D. Dowton, and J. Mills. 1995. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 270: 988-991.
177. Kirchhoff, F., T. C. Greenough, D. B. Brettler, J. L. Sullivan, and R. C. Desrosiers. 1995. Brief report: absence of intact nef sequences in a long-term survivor with nonprogressive HIV-1 infection. *N. Engl. J. Med.* 332: 228-232.
178. Brambilla, A., L. Turchetto, A. Gatti, C. Bovolenta, F. Veglia, E. Santagostino, A. Gringeri, M. Clementi, G. Poli, P. Bagnarelli, and E. Vicenzi. 1999. Defective nef alleles in a cohort of hemophiliacs with progressing and nonprogressing HIV-1 infection. *Virology* 259: 349-368.
179. Wang, B., Y. C. Ge, P. Palasanthiran, S. H. Xiang, J. Ziegler, D. E. Dwyer, C. Randle, D. Dowton, A. Cunningham, and N. K. Saxena. 1996. Gene defects clustered at the C-terminus of the vpr gene of HIV-1 in long-term nonprogressing mother and child pair: in vivo evolution of vpr quasispecies in blood and plasma. *Virology* 223: 224-232.
180. Lum, J. J., O. J. Cohen, Z. Nie, J. G. Weaver, T. S. Gomez, X. J. Yao, D. Lynch, A. A. Pilon, N. Hawley, J. E. Kim, Z. Chen, M. Montpetit, J. Sanchez-Dardon, E. A. Cohen, and A. D. Badley. 2003. Vpr R77Q is associated with long-term nonprogressive HIV infection and impaired induction of apoptosis. *J. Clin. Invest* 111: 1547-1554.
181. Mologni, D., P. Citterio, B. Menzaghi, P. B. Zanone, C. Riva, V. Broggin, A. Sinicco, L. Milazzo, F. Adorni, S. Rusconi, M. Galli, and A. Riva. 2006. Vpr and HIV-1 disease progression: R77Q mutation is associated with long-term control of HIV-1 infection in different groups of patients. *AIDS* 20: 567-574.
182. Rajan, D., S. Wildum, E. Rucker, M. Schindler, and F. Kirchhoff. 2006. Effect of R77Q, R77A and R80A changes in Vpr on HIV-1 replication and CD4 T cell depletion in human lymphoid tissue ex vivo. *AIDS* 20: 831-836.
183. Hassaine, G., I. Agostini, D. Candotti, G. Bessou, M. Caballero, H. Agut, B. Autran, Y. Barthalay, and R. Vigne. 2000. Characterization of human immunodeficiency virus type 1 vif gene in long-term asymptomatic individuals. *Virology* 276: 169-180.
184. Farrow, M. A., M. Somasundaran, C. Zhang, D. Gabuzda, J. L. Sullivan, and T. C. Greenough. 2005. Nuclear localization of HIV type 1 Vif isolated from a long-term asymptomatic individual and potential role in virus attenuation. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 21: 565-574.
185. Rangel, H. R., D. Garzaro, A. K. Rodriguez, A. H. Ramirez, G. Ameli, G. C. Del Rosario, and F. H. Pujol. 2009. Deletion, insertion and stop codon mutations in vif genes of HIV-1 infecting slow progressor patients. *J. Infect. Dev. Ctries.* 3: 531-538.

186. Alexander, L., L. Cuchura, B. J. Simpson, and W. A. Andiman. 2006. Virologic and host characteristics of human immunodeficiency virus type 1-infected pediatric long term survivors. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 25: 135-141.
187. Spina, C. A., T. J. Kwoh, M. Y. Chowes, J. C. Guatelli, and D. D. Richman. 1994. The importance of nef in the induction of human immunodeficiency virus type 1 replication from primary quiescent CD4 lymphocytes. *J. Exp. Med.* 179: 115-123.
188. Chowes, M. Y., C. A. Spina, T. J. Kwoh, N. J. Fitch, D. D. Richman, and J. C. Guatelli. 1994. Optimal infectivity in vitro of human immunodeficiency virus type 1 requires an intact nef gene. *J. Virol.* 68: 2906-2914.
189. Lundquist, C. A., M. Tobiume, J. Zhou, D. Unutmaz, and C. Aiken. 2002. Nef-mediated downregulation of CD4 enhances human immunodeficiency virus type 1 replication in primary T lymphocytes. *J. Virol.* 76: 4625-4633.
190. Derrien, M., N. Pizzato, G. Dolcini, E. Menu, G. Chaouat, F. Lenfant, F. Barre-Sinoussi, and P. L. Bouteiller. 2004. Human immunodeficiency virus 1 downregulates cell surface expression of the non-classical major histocompatibility class I molecule HLA-G1. *J. Gen. Virol.* 85: 1945-1954.
191. Glushakova, S., J. Munch, S. Carl, T. C. Greenough, J. L. Sullivan, L. Margolis, and F. Kirchhoff. 2001. CD4 down-modulation by human immunodeficiency virus type 1 Nef correlates with the efficiency of viral replication and with CD4(+) T-cell depletion in human lymphoid tissue ex vivo. *J. Virol.* 75: 10113-10117.
192. Nobile, C., D. Rudnicka, M. Hasan, N. Aulner, F. Porrot, C. Machu, O. Renaud, M. C. Prevost, C. Hivroz, O. Schwartz, and N. Sol-Foulon. 2010. HIV-1 Nef inhibits ruffles, induces filopodia, and modulates migration of infected lymphocytes. *J. Virol.* 84: 2282-2293.
193. Cohen, E. A., G. Dehni, J. G. Sodroski, and W. A. Haseltine. 1990. Human immunodeficiency virus vpr product is a virion-associated regulatory protein. *J. Virol.* 64: 3097-3099.
194. Levy, D. N., Y. Refaeli, and D. B. Weiner. 1995. Extracellular Vpr protein increases cellular permissiveness to human immunodeficiency virus replication and reactivates virus from latency. *J. Virol.* 69: 1243-1252.
195. Poon, B., K. Grovit-Ferbas, S. A. Stewart, and I. S. Chen. 1998. Cell cycle arrest by Vpr in HIV-1 virions and insensitivity to antiretroviral agents. *Science* 281: 266-269.
196. Eckstein, D. A., M. P. Sherman, M. L. Penn, P. S. Chin, C. M. De Noronha, W. C. Greene, and M. A. Goldsmith. 2001. HIV-1 Vpr enhances viral burden by facilitating infection of tissue macrophages but not nondividing CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 194: 1407-1419.

197. Muthumani, K., S. Kudchodkar, E. Pappasavvas, L. J. Montaner, D. B. Weiner, and V. Ayyavoo. 2000. HIV-1 Vpr regulates expression of beta chemokines in human primary lymphocytes and macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 68: 366-372.
198. Venkatachari, N. J., B. Majumder, and V. Ayyavoo. 2007. Human immunodeficiency virus (HIV) type 1 Vpr induces differential regulation of T cell costimulatory molecules: direct effect of Vpr on T cell activation and immune function. *Virology* 358: 347-356.
199. Conticello, S. G., C. J. Thomas, S. K. Petersen-Mahrt, and M. S. Neuberger. 2005. Evolution of the AID/APOBEC family of polynucleotide (deoxy)cytidine deaminases. *Mol. Biol. Evol.* 22: 367-377.
200. Harris, R. S., and M. T. Liddament. 2004. Retroviral restriction by APOBEC proteins. *Nat. Rev. Immunol.* 4: 868-877.
201. Liddament, M. T., W. L. Brown, A. J. Schumacher, and R. S. Harris. 2004. APOBEC3F properties and hypermutation preferences indicate activity against HIV-1 in vivo. *Curr. Biol.* 14: 1385-1391.
202. Malim, M. H. 2006. Natural resistance to HIV infection: The Vif-APOBEC interaction. *C. R. Biol.* 329: 871-875.
203. Henriot, S., G. Mercenne, S. Bernacchi, J. C. Paillart, and R. Marquet. 2009. Tumultuous relationship between the human immunodeficiency virus type 1 viral infectivity factor (Vif) and the human APOBEC-3G and APOBEC-3F restriction factors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73: 211-232.
204. Mehle, A., J. Goncalves, M. Santa-Marta, M. McPike, and D. Gabuzda. 2004. Phosphorylation of a novel SOCS-box regulates assembly of the HIV-1 Vif-Cul5 complex that promotes APOBEC3G degradation. *Genes Dev.* 18: 2861-2866.
205. Mehle, A., B. Strack, P. Ancuta, C. Zhang, M. McPike, and D. Gabuzda. 2004. Vif overcomes the innate antiviral activity of APOBEC3G by promoting its degradation in the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.* 279: 7792-7798.
206. Conticello, S. G., R. S. Harris, and M. S. Neuberger. 2003. The Vif protein of HIV triggers degradation of the human antiretroviral DNA deaminase APOBEC3G. *Curr. Biol.* 13: 2009-2013.
207. Marin, M., K. M. Rose, S. L. Kozak, and D. Kabat. 2003. HIV-1 Vif protein binds the editing enzyme APOBEC3G and induces its degradation. *Nat. Med.* 9: 1398-1403.
208. Sheehy, A. M., N. C. Gaddis, and M. H. Malim. 2003. The antiretroviral enzyme APOBEC3G is degraded by the proteasome in response to HIV-1 Vif. *Nat. Med.* 9: 1404-1407.

209. Shao, Q., Y. Wang, J. E. Hildreth, and B. Liu. 2010. Polyubiquitination of APOBEC3G is essential for its degradation by HIV-1 Vif. *J. Virol.* 84: 4840-4844.
210. Mercenne, G., S. Bernacchi, D. Richer, G. Bec, S. Henriët, J. C. Paillart, and R. Marquet. 2010. HIV-1 Vif binds to APOBEC3G mRNA and inhibits its translation. *Nucleic Acids Res.* 38: 633-646.
211. Goncalves, J., and M. Santa-Marta. 2004. HIV-1 Vif and APOBEC3G: multiple roads to one goal. *Retrovirology.* 1: 28.
212. Santa-Marta, M., F. A. da Silva, A. M. Fonseca, and J. Goncalves. 2005. HIV-1 Vif can directly inhibit apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G-mediated cytidine deamination by using a single amino acid interaction and without protein degradation. *J. Biol. Chem.* 280: 8765-8775.
213. Opi, S., S. Kao, R. Goila-Gaur, M. A. Khan, E. Miyagi, H. Takeuchi, and K. Strebel. 2007. Human immunodeficiency virus type 1 Vif inhibits packaging and antiviral activity of a degradation-resistant APOBEC3G variant. *J. Virol.* 81: 8236-8246.
214. Okumura, A., T. Alce, B. Lubyova, H. Ezelle, K. Strebel, and P. M. Pitha. 2008. HIV-1 accessory proteins VPR and Vif modulate antiviral response by targeting IRF-3 for degradation. *Virology* 373: 85-97.
215. Neil, S. J., T. Zang, and P. D. Bieniasz. 2008. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature* 451: 425-430.
216. Tokarev, A., M. Skasko, K. Fitzpatrick, and J. Guatelli. 2009. Antiviral activity of the interferon-induced cellular protein BST-2/tetherin. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 25: 1197-1210.
217. Evans, D. T., R. Serra-Moreno, R. K. Singh, and J. C. Guatelli. 2010. BST-2/tetherin: a new component of the innate immune response to enveloped viruses. *Trends Microbiol.* 18: 388-396.
218. Perez-Caballero, D., T. Zang, A. Ebrahimi, M. W. McNatt, D. A. Gregory, M. C. Johnson, and P. D. Bieniasz. 2009. Tetherin inhibits HIV-1 release by directly tethering virions to cells. *Cell* 139: 499-511.
219. Yang, H., J. Wang, X. Jia, M. W. McNatt, T. Zang, B. Pan, W. Meng, H. W. Wang, P. D. Bieniasz, and Y. Xiong. 2010. Structural insight into the mechanisms of enveloped virus tethering by tetherin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*
220. Hinz, A., N. Miguët, G. Natrajan, Y. Usami, H. Yamanaka, P. Renesto, B. Hartlieb, A. A. McCarthy, J. P. Simorre, H. Gottlinger, and W. Weissenhorn. 2010. Structural basis of HIV-1 tethering to membranes by the BST-2/tetherin ectodomain. *Cell Host. Microbe* 7: 314-323.

221. Fitzpatrick, K., M. Skasko, T. J. Deerinck, J. Crum, M. H. Ellisman, and J. Guatelli. 2010. Direct restriction of virus release and incorporation of the interferon-induced protein BST-2 into HIV-1 particles. *PLoS. Pathog.* 6: e1000701.
222. Casartelli, N., M. Sourisseau, J. Feldmann, F. Guivel-Benhassine, A. Mallet, A. G. Marcelin, J. Guatelli, and O. Schwartz. 2010. Tetherin restricts productive HIV-1 cell-to-cell transmission. *PLoS. Pathog.* 6: e1000955.
223. Dube, M., B. B. Roy, P. Guiot-Guillain, J. Mercier, J. Binette, G. Leung, and E. A. Cohen. 2009. Suppression of Tetherin-restricting activity upon human immunodeficiency virus type 1 particle release correlates with localization of Vpu in the trans-Golgi network. *J. Virol.* 83: 4574-4590.
224. Miyagi, E., A. J. Andrew, S. Kao, and K. Strebel. 2009. Vpu enhances HIV-1 virus release in the absence of Bst-2 cell surface down-modulation and intracellular depletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106: 2868-2873.
225. Mitchell, R. S., C. Katsura, M. A. Skasko, K. Fitzpatrick, D. Lau, A. Ruiz, E. B. Stephens, F. Margottin-Goguet, R. Benarous, and J. C. Guatelli. 2009. Vpu antagonizes BST-2-mediated restriction of HIV-1 release via beta-TrCP and endo-lysosomal trafficking. *PLoS. Pathog.* 5: e1000450.
226. Douglas, J. L., K. Viswanathan, M. N. McCarroll, J. K. Gustin, K. Fruh, and A. V. Moses. 2009. Vpu directs the degradation of the human immunodeficiency virus restriction factor BST-2/Tetherin via a {beta}TrCP-dependent mechanism. *J. Virol.* 83: 7931-7947.
227. Iwabu, Y., H. Fujita, M. Kinomoto, K. Kaneko, Y. Ishizaka, Y. Tanaka, T. Sata, and K. Tokunaga. 2009. HIV-1 accessory protein Vpu internalizes cell-surface BST-2/tetherin through transmembrane interactions leading to lysosomes. *J. Biol. Chem.* 284: 35060-35072.
228. Mangeat, B., G. Gers-Huber, M. Lehmann, M. Zufferey, J. Luban, and V. Pignatelli. 2009. HIV-1 Vpu neutralizes the antiviral factor Tetherin/BST-2 by binding it and directing its beta-TrCP2-dependent degradation. *PLoS. Pathog.* 5: e1000574.
229. Vigan, R., and S. J. Neil. 2010. DETERMINANTS OF TETHERIN ANTAGONISM IN THE TRANSMEMBRANE DOMAIN OF THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE-1 (HIV-1) VPU PROTEIN. *J. Virol.*
230. Iwabu, Y., H. Fujita, Y. Tanaka, T. Sata, and K. Tokunaga. 2010. Direct internalization of cell-surface BST-2/tetherin by the HIV-1 accessory protein Vpu. *Commun. Integr. Biol.* 3: 366-369.
231. Hauser, H., L. A. Lopez, S. J. Yang, J. E. Oldenburg, C. M. Exline, J. C. Guatelli, and P. M. Cannon. 2010. HIV-1 Vpu and HIV-2 Env counteract BST-2/tetherin by sequestration in a perinuclear compartment. *Retrovirology.* 7: 51.

232. Schindler, M., D. Rajan, C. Banning, P. Wimmer, H. Koppensteiner, A. Iwanski, A. Specht, D. Sauter, T. Dobner, and F. Kirchhoff. 2010. Vpu serine 52 dependent counteraction of tetherin is required for HIV-1 replication in macrophages, but not in ex vivo human lymphoid tissue. *Retrovirology*. 7: 1.
233. Alexander, L., E. Weiskopf, T. C. Greenough, N. C. Gaddis, M. R. Auerbach, M. H. Malim, S. J. O'Brien, B. D. Walker, J. L. Sullivan, and R. C. Desrosiers. 2000. Unusual polymorphisms in human immunodeficiency virus type 1 associated with nonprogressive infection. *J. Virol.* 74: 4361-4376.
234. Yamada, T., and A. Iwamoto. 2000. Comparison of proviral accessory genes between long-term nonprogressors and progressors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Arch. Virol.* 145: 1021-1027.
235. Thomas, E. R., R. L. Dunfee, J. Stanton, D. Bogdan, K. Kunstman, S. M. Wolinsky, and D. Gabuzda. 2007. High frequency of defective vpu compared with tat and rev genes in brain from patients with HIV type 1-associated dementia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 23: 575-580.
236. Saurya, S., Z. Lichtenstein, and A. Karpas. 2002. Characterization of pol, vif, vpr, and vpu genes of HIV type 1 in AIDS patients with high viral load and stable CD4+ T cell counts on combination therapy. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 18: 1151-1155.
237. Klasse, P. J., M. T. Boyd, R. A. Weiss, and T. F. Schulz. 1996. Mutations in the vpu, env, and nef genes of a syncytium-inducing variant of HIV type 1 JR-CSF that infects a range of T cell lines. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12: 347-350.
238. Ioannidis, J. P., P. S. Rosenberg, J. J. Goedert, L. J. Ashton, T. L. Benfield, S. P. Buchbinder, R. A. Coutinho, J. Eugen-Olsen, T. Gallart, T. L. Katzenstein, L. G. Kostrikis, H. Kuipers, L. G. Louie, S. A. Mallal, J. B. Margolick, O. P. Martinez, L. Meyer, N. L. Michael, E. Operskalski, G. Pantaleo, G. P. Rizzard, H. Schuitemaker, H. W. Sheppard, G. J. Stewart, I. D. Theodorou, H. Ullum, E. Vicenzi, D. Vlahov, D. Wilkinson, C. Workman, J. F. Zagury, and T. R. O'Brien. 2001. Effects of CCR5-Delta32, CCR2-64I, and SDF-1 3'A alleles on HIV-1 disease progression: An international meta-analysis of individual-patient data. *Ann. Intern. Med.* 135: 782-795.
239. Michael, N. L., G. Chang, L. G. Louie, J. R. Mascola, D. Dondero, D. L. Birx, and H. W. Sheppard. 1997. The role of viral phenotype and CCR-5 gene defects in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat. Med.* 3: 338-340.
240. Smith, M. W., M. Dean, M. Carrington, C. Winkler, G. A. Huttley, D. A. Lomb, J. J. Goedert, T. R. O'Brien, L. P. Jacobson, R. Kaslow, S. Buchbinder, E. Vittinghoff, D. Vlahov, K. Hoots, M. W. Hilgartner, and S. J. O'Brien. 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: 959-965.

241. Hutter, G., D. Nowak, M. Mossner, S. Ganepola, A. Mussig, K. Allers, T. Schneider, J. Hofmann, C. Kucherer, O. Blau, I. W. Blau, W. K. Hofmann, and E. Thiel. 2009. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* 360: 692-698.
242. Frade, J. M., M. Llorente, M. Mellado, J. Alcami, J. C. Gutierrez-Ramos, A. Zaballos, G. Real, and A. Martinez. 1997. The amino-terminal domain of the CCR2 chemokine receptor acts as coreceptor for HIV-1 infection. *J. Clin. Invest* 100: 497-502.
243. Singh, K. K., R. J. Ellis, J. Marquie-Beck, S. Letendre, R. K. Heaton, I. Grant, and S. A. Spector. 2004. CCR2 polymorphisms affect neuropsychological impairment in HIV-1-infected adults. *J. Neuroimmunol.* 157: 185-192.
244. Gonzalez-Scarano, F., and J. Martin-Garcia. 2005. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 69-81.
245. Carrington, M., G. W. Nelson, M. P. Martin, T. Kissner, D. Vlahov, J. J. Goedert, R. Kaslow, S. Buchbinder, K. Hoots, and S. J. O'Brien. 1999. HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science* 283: 1748-1752.
246. Tang, J., C. Costello, I. P. Keet, C. Rivers, S. Leblanc, E. Karita, S. Allen, and R. A. Kaslow. 1999. HLA class I homozygosity accelerates disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 15: 317-324.
247. Goulder, P. J., and D. I. Watkins. 2008. Impact of MHC class I diversity on immune control of immunodeficiency virus replication. *Nat. Rev. Immunol.* 8: 619-630.
248. Hendel, H., S. Caillat-Zucman, H. Lebuane, M. Carrington, S. O'Brien, J. M. Andrieu, F. Schachter, D. Zagury, J. Rappaport, C. Winkler, G. W. Nelson, and J. F. Zagury. 1999. New class I and II HLA alleles strongly associated with opposite patterns of progression to AIDS. *J. Immunol.* 162: 6942-6946.
249. Migueles, S. A., M. S. Sabbaghian, W. L. Shupert, M. P. Bettinotti, F. M. Marincola, L. Martino, C. W. Hallahan, S. M. Selig, D. Schwartz, J. Sullivan, and M. Connors. 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: 2709-2714.
250. Altfeld, M., M. M. Addo, E. S. Rosenberg, F. M. Hecht, P. K. Lee, M. Vogel, X. G. Yu, R. Draenert, M. N. Johnston, D. Strick, T. M. Allen, M. E. Feeney, J. O. Kahn, R. P. Sekaly, J. A. Levy, J. K. Rockstroh, P. J. Goulder, and B. D. Walker. 2003. Influence of HLA-B57 on clinical presentation and viral control during acute HIV-1 infection. *AIDS* 17: 2581-2591.
251. Gao, X., A. Bashirova, A. K. Iversen, J. Phair, J. J. Goedert, S. Buchbinder, K. Hoots, D. Vlahov, M. Altfeld, S. J. O'Brien, and M. Carrington. 2005. AIDS restriction HLA allotypes target distinct intervals of HIV-1 pathogenesis. *Nat. Med.* 11: 1290-1292.

252. Goulder, P. J., R. E. Phillips, R. A. Colbert, S. McAdam, G. Ogg, M. A. Nowak, P. Giangrande, G. Luzzi, B. Morgan, A. Edwards, A. J. McMichael, and S. Rowland-Jones. 1997. Late escape from an immunodominant cytotoxic T-lymphocyte response associated with progression to AIDS. *Nat. Med.* 3: 212-217.
253. Miura, T., M. A. Brockman, A. Schneidewind, M. Lobritz, F. Pereyra, A. Rathod, B. L. Block, Z. L. Brumme, C. J. Brumme, B. Baker, A. C. Rothchild, B. Li, A. Trocha, E. Cutrell, N. Frahm, C. Brander, I. Toth, E. J. Arts, T. M. Allen, and B. D. Walker. 2009. HLA-B57/B*5801 human immunodeficiency virus type 1 elite controllers select for rare gag variants associated with reduced viral replication capacity and strong cytotoxic T-lymphocyte [corrected] recognition. *J. Virol.* 83: 2743-2755.
254. Lajoie, J., J. Fontaine, C. Tremblay, J. P. Routy, J. Poudrier, and M. Roger. 2009. Persistence of high levels of blood soluble human leukocyte antigen-G is associated with rapid progression of HIV infection. *AIDS* 23: 1437-1440.
255. Martinez, G. J., R. I. Nurieva, X. O. Yang, and C. Dong. 2008. Regulation and function of proinflammatory TH17 cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1143: 188-211.
256. Wan, Y. Y. 2010. Multi-tasking of helper T cells. *Immunology* 130: 166-171.
257. Amsen, D., C. G. Spilianakis, and R. A. Flavell. 2009. How are T(H)1 and T(H)2 effector cells made? *Curr. Opin. Immunol.* 21: 153-160.
258. Korn, T., E. Bettelli, M. Oukka, and V. K. Kuchroo. 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 27: 485-517.
259. Annunziato, F., L. Cosmi, F. Liotta, E. Maggi, and S. Romagnani. 2009. Type 17 T helper cells-origins, features and possible roles in rheumatic disease. *Nat. Rev. Rheumatol.* 5: 325-331.
260. Mai, J., H. Wang, and X. F. Yang. 2010. Th 17 cells interplay with Foxp3+ Tregs in regulation of inflammation and autoimmunity. *Front Biosci.* 15: 986-1006.
261. Annunziato, F., L. Cosmi, and S. Romagnani. 2010. Human and murine Th17. *Curr. Opin. HIV. AIDS* 5: 114-119.
262. Blaschitz, C., and M. Raffatellu. 2010. Th17 cytokines and the gut mucosal barrier. *J. Clin. Immunol.* 30: 196-203.
263. Chen, W., W. Jin, N. Hardegen, K. J. Lei, L. Li, N. Marinos, G. McGrady, and S. M. Wahl. 2003. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor FoxP3. *J. Exp. Med.* 198: 1875-1886.
264. Corthay, A. 2009. How do regulatory T cells work? *Scand. J. Immunol.* 70: 326-336.

265. Leung, S., X. Liu, L. Fang, X. Chen, T. Guo, and J. Zhang. 2010. The cytokine milieu in the interplay of pathogenic Th1/Th17 cells and regulatory T cells in autoimmune disease. *Cell Mol. Immunol.* 7: 182-189.
266. Fazilleau, N., L. Mark, L. J. McHeyzer-Williams, and M. G. McHeyzer-Williams. 2009. Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity.* 30: 324-335.
267. King, C., S. G. Tangye, and C. R. Mackay. 2008. T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 26: 741-766.
268. Linterman, M. A., and C. G. Vinuesa. 2010. Signals that influence T follicular helper cell differentiation and function. *Semin. Immunopathol.* 32: 183-196.
269. Linterman, M. A., and C. G. Vinuesa. 2010. T follicular helper cells during immunity and tolerance. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 92: 207-248.
270. Rolf, J., K. Fairfax, and M. Turner. 2010. Signaling pathways in T follicular helper cells. *J. Immunol.* 184: 6563-6568.
271. Lackner, A. A., M. Mohan, and R. S. Veazey. 2009. The gastrointestinal tract and AIDS pathogenesis. *Gastroenterology* 136: 1965-1978.
272. Bishop, P. E., A. McMillan, and H. M. Gilmour. 1987. Immunological study of the rectal mucosa of men with and without human immunodeficiency virus infection. *Gut* 28: 1619-1624.
273. Brenchley, J. M., T. W. Schacker, L. E. Ruff, D. A. Price, J. H. Taylor, G. J. Beilman, P. L. Nguyen, A. Khoruts, M. Larson, A. T. Haase, and D. C. Douek. 2004. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *J. Exp. Med.* 200: 749-759.
274. Mehandru, S., M. A. Poles, K. Tenner-Racz, A. Horowitz, A. Hurley, C. Hogan, D. Boden, P. Racz, and M. Markowitz. 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: 761-770.
275. Macal, M., S. Sankaran, T. W. Chun, E. Reay, J. Flamm, T. J. Prindiville, and S. Dandekar. 2008. Effective CD4+ T-cell restoration in gut-associated lymphoid tissue of HIV-infected patients is associated with enhanced Th17 cells and polyfunctional HIV-specific T-cell responses. *Mucosal. Immunol.* 1: 475-488.
276. Gosselin, A., P. Monteiro, N. Chomont, F. Diaz-Griffero, E. A. Said, S. Fonseca, V. Wacleche, M. El-Far, M. R. Boulassel, J. P. Routy, R. P. Sekaly, and P. Ancuta. 2010. Peripheral blood CCR4+CCR6+ and CXCR3+CCR6+CD4+ T cells are highly permissive to HIV-1 infection. *J. Immunol.* 184: 1604-1616.
277. El Hed, A., A. Khaitan, L. Kozhaya, N. Manel, D. Daskalakis, W. Borkowsky, F. Valentine, D. R. Littman, and D. Unutmaz. 2010. Susceptibility of human Th17 cells

- to human immunodeficiency virus and their perturbation during infection. *J. Infect. Dis.* 201: 843-854.
278. Prendergast, A., J. G. Prado, Y. H. Kang, F. Chen, L. A. Riddell, G. Luzzi, P. Goulder, and P. Klenerman. 2010. HIV-1 infection is characterized by profound depletion of CD161+ Th17 cells and gradual decline in regulatory T cells. *AIDS* 24: 491-502.
279. Lenassi, M., G. Cagney, M. Liao, T. Vaupotic, K. Bartholomeeusen, Y. Cheng, N. J. Krogan, A. Plemenitas, and B. M. Peterlin. 2010. HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4+ T cells. *Traffic*. 11: 110-122.
280. Ji, J., J. J. Chen, V. L. Braciale, and M. W. Cloyd. 2007. Apoptosis induced in HIV-1-exposed, resting CD4+ T cells subsequent to signaling through homing receptors is Fas/Fas ligand-mediated. *J. Leukoc. Biol.* 81: 297-305.
281. Moon, H. S., and J. S. Yang. 2006. Role of HIV Vpr as a regulator of apoptosis and an effector on bystander cells. *Mol. Cells* 21: 7-20.
282. Chougnet, C. 2003. Role of CD40 ligand dysregulation in HIV-associated dysfunction of antigen-presenting cells. *J. Leukoc. Biol.* 74: 702-709.
283. Kornbluth, R. S. 2000. The emerging role of CD40 ligand in HIV infection. *J. Leukoc. Biol.* 68: 373-382.
284. Kornbluth, R. S. 2002. An expanding role for CD40L and other tumor necrosis factor superfamily ligands in HIV infection. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 11: 787-801.
285. O'Gorman, M. R., B. DuChateau, M. Paniagua, J. Hunt, N. Bensen, and R. Yogev. 2001. Abnormal CD40 ligand (CD154) expression in human immunodeficiency virus-infected children. *Clin. Diagn. Lab Immunol.* 8: 1104-1109.
286. Vanham, G., L. Penne, J. Devalck, L. Kestens, R. Colebunders, E. Bosmans, K. Thielemans, and J. L. Ceuppens. 1999. Decreased CD40 ligand induction in CD4 T cells and dysregulated IL-12 production during HIV infection. *Clin. Exp. Immunol.* 117: 335-342.
287. Zhang, R., J. D. Lifson, and C. Chougnet. 2006. Failure of HIV-exposed CD4+ T cells to activate dendritic cells is reversed by restoration of CD40/CD154 interactions. *Blood* 107: 1989-1995.
288. Subauste, C. S., M. Wessendarp, J. A. Portillo, R. M. Andrade, L. M. Hinds, F. J. Gomez, A. G. Smulian, P. A. Grubbs, and L. A. Haglund. 2004. Pathogen-specific induction of CD154 is impaired in CD4+ T cells from human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Infect. Dis.* 189: 61-70.
289. Wilson, J. D., N. Imami, A. Watkins, J. Gill, P. Hay, B. Gazzard, M. Westby, and F. M. Gotch. 2000. Loss of CD4+ T cell proliferative ability but not loss of human

- immunodeficiency virus type 1 specificity equates with progression to disease. *J. Infect. Dis.* 182: 792-798.
290. Dyer, W. B., A. F. Geczy, S. J. Kent, L. B. McIntyre, S. A. Blasdall, J. C. Learmont, and J. S. Sullivan. 1997. Lymphoproliferative immune function in the Sydney Blood Bank Cohort, infected with natural nef/long terminal repeat mutants, and in other long-term survivors of transfusion-acquired HIV-1 infection. *AIDS* 11: 1565-1574.
291. Rosenberg, E. S., J. M. Billingsley, A. M. Caliendo, S. L. Boswell, P. E. Sax, S. A. Kalams, and B. D. Walker. 1997. Vigorous HIV-1-specific CD4⁺ T cell responses associated with control of viremia. *Science* 278: 1447-1450.
292. Day, C. L., D. E. Kaufmann, P. Kiepiela, J. A. Brown, E. S. Moodley, S. Reddy, E. W. Mackey, J. D. Miller, A. J. Leslie, C. DePierres, Z. Mncube, J. Duraiswamy, B. Zhu, Q. Eichbaum, M. Altfeld, E. J. Wherry, H. M. Coovadia, P. J. Goulder, P. Klenerman, R. Ahmed, G. J. Freeman, and B. D. Walker. 2006. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 443: 350-354.
293. Kaufmann, D. E., D. G. Kavanagh, F. Pereyra, J. J. Zaunders, E. W. Mackey, T. Miura, S. Palmer, M. Brockman, A. Rathod, A. Piechocka-Trocha, B. Baker, B. Zhu, G. S. Le, M. T. Waring, R. Ahern, K. Moss, A. D. Kelleher, J. M. Coffin, G. J. Freeman, E. S. Rosenberg, and B. D. Walker. 2007. Upregulation of CTLA-4 by HIV-specific CD4⁺ T cells correlates with disease progression and defines a reversible immune dysfunction. *Nat. Immunol.* 8: 1246-1254.
294. Casazza, J. P., J. M. Brenchley, B. J. Hill, R. Ayana, D. Ambrozak, M. Roederer, D. C. Douek, M. R. Betts, and R. A. Koup. 2009. Autocrine production of beta-chemokines protects CMV-Specific CD4 T cells from HIV infection. *PLoS. Pathog.* 5: e1000646.
295. Weiss, L., V. Donkova-Petrini, L. Caccavelli, M. Balbo, C. Carbonneil, and Y. Levy. 2004. Human immunodeficiency virus-driven expansion of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells, which suppress HIV-specific CD4 T-cell responses in HIV-infected patients. *Blood* 104: 3249-3256.
296. Kinter, A., J. McNally, L. Riggin, R. Jackson, G. Roby, and A. S. Fauci. 2007. Suppression of HIV-specific T cell activity by lymph node CD25⁺ regulatory T cells from HIV-infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104: 3390-3395.
297. Kinter, A. L., R. Horak, M. Sion, L. Riggin, J. McNally, Y. Lin, R. Jackson, A. O'shea, G. Roby, C. Kovacs, M. Connors, S. A. Migueles, and A. S. Fauci. 2007. CD25⁺ regulatory T cells isolated from HIV-infected individuals suppress the cytolytic and nonlytic antiviral activity of HIV-specific CD8⁺ T cells in vitro. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 23: 438-450.
298. Tsunemi, S., T. Iwasaki, T. Imado, S. Higasa, E. Kakishita, T. Shirasaka, and H. Sano. 2005. Relationship of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells to immune status in HIV-infected patients. *AIDS* 19: 879-886.

299. Andersson, J., A. Boasso, J. Nilsson, R. Zhang, N. J. Shire, S. Lindback, G. M. Shearer, and C. A. Chougnnet. 2005. The prevalence of regulatory T cells in lymphoid tissue is correlated with viral load in HIV-infected patients. *J. Immunol.* 174: 3143-3147.
300. Epple, H. J., C. Loddenkemper, D. Kunkel, H. Troger, J. Maul, V. Moos, E. Berg, R. Ullrich, J. D. Schulzke, H. Stein, R. Duchmann, M. Zeitz, and T. Schneider. 2006. Mucosal but not peripheral FOXP3⁺ regulatory T cells are highly increased in untreated HIV infection and normalize after suppressive HAART. *Blood* 108: 3072-3078.
301. Ji, J., and M. W. Cloyd. 2009. HIV-1 binding to CD4 on CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells enhances their suppressive function and induces them to home to, and accumulate in, peripheral and mucosal lymphoid tissues: an additional mechanism of immunosuppression. *Int. Immunol.* 21: 283-294.
302. Eggena, M. P., B. Barugahare, N. Jones, M. Okello, S. Mutalya, C. Kityo, P. Mugenyi, and H. Cao. 2005. Depletion of regulatory T cells in HIV infection is associated with immune activation. *J. Immunol.* 174: 4407-4414.
303. Carbone, J., J. Gil, J. M. Benito, and E. Fernandez-Cruz. 2003. Decreased expression of activation markers on CD4 T lymphocytes of HIV-infected long-term non-progressors. *AIDS* 17: 133-134.
304. Owen, R. E., J. W. Heitman, D. F. Hirschhorn, M. C. Lanteri, H. H. Biswas, J. N. Martin, M. R. Krone, S. G. Deeks, and P. J. Norris. 2010. HIV⁺ elite controllers have low HIV-specific T-cell activation yet maintain strong, polyfunctional T-cell responses. *AIDS*.
305. Loke, P., D. Favre, P. W. Hunt, J. M. Leung, B. Kanwar, J. N. Martin, S. G. Deeks, and J. M. McCune. 2010. Correlating cellular and molecular signatures of mucosal immunity that distinguish HIV controllers from noncontrollers. *Blood* 115: e20-e32.
306. Jenkins, M. R., and G. M. Griffiths. 2010. The synapse and cytolytic machinery of cytotoxic T cells. *Curr. Opin. Immunol.* 22: 308-313.
307. Dustin, M. L., and E. O. Long. 2010. Cytotoxic immunological synapses. *Immunol. Rev.* 235: 24-34.
308. Mackey, M. F., R. J. Barth, Jr., and R. J. Noelle. 1998. The role of CD40/CD154 interactions in the priming, differentiation, and effector function of helper and cytotoxic T cells. *J. Leukoc. Biol.* 63: 418-428.
309. Flutter, B., and B. Gao. 2004. MHC class I antigen presentation--recently trimmed and well presented. *Cell Mol. Immunol.* 1: 22-30.
310. Stager, S., and P. M. Kaye. 2004. CD8⁺ T-cell priming regulated by cytokines of the innate immune system. *Trends Mol. Med.* 10: 366-371.

311. Shen, L., and K. L. Rock. 2006. Priming of T cells by exogenous antigen cross-presented on MHC class I molecules. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 85-91.
312. Mescher, M. F., J. M. Curtsinger, P. Agarwal, K. A. Casey, M. Gerner, C. D. Hammerbeck, F. Popescu, and Z. Xiao. 2006. Signals required for programming effector and memory development by CD8+ T cells. *Immunol. Rev.* 211: 81-92.
313. Mescher, M. F., P. Agarwal, K. A. Casey, C. D. Hammerbeck, Z. Xiao, and J. M. Curtsinger. 2007. Molecular basis for checkpoints in the CD8 T cell response: tolerance versus activation. *Semin. Immunol.* 19: 153-161.
314. Dolfi, D. V., and P. D. Katsikis. 2007. CD28 and CD27 costimulation of CD8+ T cells: a story of survival. *Adv. Exp. Med. Biol.* 590: 149-170.
315. Arens, R., and S. P. Schoenberger. 2010. Plasticity in programming of effector and memory CD8 T-cell formation. *Immunol. Rev.* 235: 190-205.
316. Slifka, M. K., and J. L. Whitton. 2000. Antigen-specific regulation of T cell-mediated cytokine production. *Immunity.* 12: 451-457.
317. Drake, D. R., III, and T. J. Braciale. 2003. Not all effector CD8+ T cells are alike. *Microbes. Infect.* 5: 199-204.
318. Chouquet, C., B. Autran, E. Gomard, J. M. Bouley, V. Calvez, C. Katlama, D. Costagliola, and Y. Riviere. 2002. Correlation between breadth of memory HIV-specific cytotoxic T cells, viral load and disease progression in HIV infection. *AIDS* 16: 2399-2407.
319. Borrow, P., H. Lewicki, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and M. B. Oldstone. 1994. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.* 68: 6103-6110.
320. Goonetilleke, N., M. K. Liu, J. F. Salazar-Gonzalez, G. Ferrari, E. Giorgi, V. V. Ganusov, B. F. Keele, G. H. Learn, E. L. Turnbull, M. G. Salazar, K. J. Weinhold, S. Moore, N. Letvin, B. F. Haynes, M. S. Cohen, P. Hraber, T. Bhattacharya, P. Borrow, A. S. Perelson, B. H. Hahn, G. M. Shaw, B. T. Korber, and A. J. McMichael. 2009. The first T cell response to transmitted/founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection. *J. Exp. Med.* 206: 1253-1272.
321. Koup, R. A., J. T. Safrit, Y. Cao, C. A. Andrews, G. McLeod, W. Borkowsky, C. Farthing, and D. D. Ho. 1994. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J. Virol.* 68: 4650-4655.
322. Bernardin, F., D. Kong, L. Peddada, L. A. Baxter-Lowe, and E. Delwart. 2005. Human immunodeficiency virus mutations during the first month of infection are preferentially found in known cytotoxic T-lymphocyte epitopes. *J. Virol.* 79: 11523-11528.

323. Carmichael, A., X. Jin, P. Sissons, and L. Borysiewicz. 1993. Quantitative analysis of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) response at different stages of HIV-1 infection: differential CTL responses to HIV-1 and Epstein-Barr virus in late disease. *J. Exp. Med.* 177: 249-256.
324. Geels, M. J., C. A. Jansen, E. Baan, I. M. De Cuyper, G. J. van Schijndel, H. Schuitemaker, J. Goudsmit, G. Pollakis, F. Miedema, W. A. Paxton, and B. D. van. 2006. CTL escape and increased viremia irrespective of HIV-specific CD4+ T-helper responses in two HIV-infected individuals. *Virology* 345: 209-219.
325. van der Most, R. G., K. Murali-Krishna, J. G. Lanier, E. J. Wherry, M. T. Puglielli, J. N. Blattman, A. Sette, and R. Ahmed. 2003. Changing immunodominance patterns in antiviral CD8 T-cell responses after loss of epitope presentation or chronic antigenic stimulation. *Virology* 315: 93-102.
326. Zajac, A. J., J. N. Blattman, K. Murali-Krishna, D. J. Sourdive, M. Suresh, J. D. Altman, and R. Ahmed. 1998. Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J. Exp. Med.* 188: 2205-2213.
327. Addo, M. M., R. Draenert, A. Rathod, C. L. Verrill, B. T. Davis, R. T. Gandhi, G. K. Robbins, N. O. Basgoz, D. R. Stone, D. E. Cohen, M. N. Johnston, T. Flynn, A. G. Wurcel, E. S. Rosenberg, M. Altfeld, and B. D. Walker. 2007. Fully differentiated HIV-1 specific CD8+ T effector cells are more frequently detectable in controlled than in progressive HIV-1 infection. *PLoS. One.* 2: e321.
328. Migueles, S. A., A. C. Laborico, W. L. Shupert, M. S. Sabbaghian, R. Rabin, C. W. Hallahan, B. D. van, S. Kostense, F. Miedema, M. McLaughlin, L. Ehler, J. Metcalf, S. Liu, and M. Connors. 2002. HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nat. Immunol.* 3: 1061-1068.
329. Streeck, H., Z. L. Brumme, M. Anastario, K. W. Cohen, J. S. Jolin, A. Meier, C. J. Brumme, E. S. Rosenberg, G. Alter, T. M. Allen, B. D. Walker, and M. Altfeld. 2008. Antigen load and viral sequence diversification determine the functional profile of HIV-1-specific CD8+ T cells. *PLoS. Med.* 5: e100.
330. Zhang, J. Y., Z. Zhang, X. Wang, J. L. Fu, J. Yao, Y. Jiao, L. Chen, H. Zhang, J. Wei, L. Jin, M. Shi, G. F. Gao, H. Wu, and F. S. Wang. 2007. PD-1 up-regulation is correlated with HIV-specific memory CD8+ T-cell exhaustion in typical progressors but not in long-term nonprogressors. *Blood* 109: 4671-4678.
331. Petrovas, C., J. P. Casazza, J. M. Brenchley, D. A. Price, E. Gostick, W. C. Adams, M. L. Precopio, T. Schacker, M. Roederer, D. C. Douek, and R. A. Koup. 2006. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8+ T cell survival in HIV infection. *J. Exp. Med.* 203: 2281-2292.
332. Trautmann, L., L. Janbazian, N. Chomont, E. A. Said, S. Gimmig, B. Bessette, M. R. Boulassel, E. Delwart, H. Sepulveda, R. S. Balderas, J. P. Routy, E. K. Haddad, and

- R. P. Sekaly. 2006. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat. Med.* 12: 1198-1202.
333. Pereyra, F., M. M. Addo, D. E. Kaufmann, Y. Liu, T. Miura, A. Rathod, B. Baker, A. Trocha, R. Rosenberg, E. Mackey, P. Ueda, Z. Lu, D. Cohen, T. Wrin, C. J. Petropoulos, E. S. Rosenberg, and B. D. Walker. 2008. Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy. *J. Infect. Dis.* 197: 563-571.
334. Harrer, E., T. Harrer, S. Buchbinder, D. L. Mann, M. Feinberg, T. Yilma, R. P. Johnson, and B. D. Walker. 1994. HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte response in healthy, long-term nonprogressing seropositive persons. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10 Suppl 2: S77-S78.
335. Jansen, C. A., E. Piriou, C. Bronke, J. Vingerhoed, S. Kostense, B. D. van, and F. Miedema. 2004. Characterization of virus-specific CD8(+) effector T cells in the course of HIV-1 infection: longitudinal analyses in slow and rapid progressors. *Clin. Immunol.* 113: 299-309.
336. Migueles, S. A., C. M. Osborne, C. Royce, A. A. Compton, R. P. Joshi, K. A. Weeks, J. E. Rood, A. M. Berkley, J. B. Sacha, N. A. Cogliano-Shutta, M. Lloyd, G. Roby, R. Kwan, M. McLaughlin, S. Stallings, C. Rehm, M. A. O'Shea, J. Mican, B. Z. Packard, A. Komoriya, S. Palmer, A. P. Wiegand, F. Maldarelli, J. M. Coffin, J. W. Mellors, C. W. Hallahan, D. A. Follman, and M. Connors. 2008. Lytic granule loading of CD8+ T cells is required for HIV-infected cell elimination associated with immune control. *Immunity.* 29: 1009-1021.
337. Rinaldo, C., X. L. Huang, Z. F. Fan, M. Ding, L. Beltz, A. Logar, D. Panicali, G. Mazzara, J. Liebmann, M. Cottrill, and . 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: 5838-5842.
338. Saez-Cirion, A., C. Lacabartz, O. Lambotte, P. Versmisse, A. Urrutia, F. Boufassa, F. Barre-Sinoussi, J. F. Delfraissy, M. Sinet, G. Pancino, and A. Venet. 2007. HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104: 6776-6781.
339. Ferre, A. L., P. W. Hunt, J. W. Critchfield, D. H. Young, M. M. Morris, J. C. Garcia, R. B. Pollard, H. F. Yee, Jr., J. N. Martin, S. G. Deeks, and B. L. Shacklett. 2009. Mucosal immune responses to HIV-1 in elite controllers: a potential correlate of immune control. *Blood* 113: 3978-3989.
340. Clerici, M., and G. M. Shearer. 1996. Correlates of protection in HIV infection and the progression of HIV infection to AIDS. *Immunol. Lett.* 51: 69-73.

341. Haynes, B. F., G. Pantaleo, and A. S. Fauci. 1996. Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. *Science* 271: 324-328.
342. Rowland-Jones, S. L., and A. McMichael. 1995. Immune responses in HIV-exposed seronegatives: have they repelled the virus? *Curr. Opin. Immunol.* 7: 448-455.
343. Saez-Cirion, A., M. Sinet, S. Y. Shin, A. Urrutia, P. Versmisse, C. Lacabaratz, F. Boufassa, V. Avettand-Fenoel, C. Rouzioux, J. F. Delfraissy, F. Barre-Sinoussi, O. Lambotte, A. Venet, and G. Pancino. 2009. Heterogeneity in HIV suppression by CD8 T cells from HIV controllers: association with Gag-specific CD8 T cell responses. *J. Immunol.* 182: 7828-7837.
344. Bernard, N. F., K. Pederson, F. Chung, L. Ouellet, M. A. Wainberg, and C. M. Tsoukas. 1998. HIV-specific cytotoxic T-lymphocyte activity in immunologically normal HIV-infected persons. *AIDS* 12: 2125-2139.
345. Bello, G., C. A. Velasco-de-Castro, V. Bongertz, C. A. Rodrigues, C. B. Giacoia-Gripp, J. H. Pilotto, B. Grinsztejn, V. G. Veloso, and M. G. Morgado. 2009. Immune activation and antibody responses in non-progressing elite controller individuals infected with HIV-1. *J. Med. Virol.* 81: 1681-1690.
346. Richman, D. D., T. Wrin, S. J. Little, and C. J. Petropoulos. 2003. Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100: 4144-4149.
347. Wei, X., J. M. Decker, S. Wang, H. Hui, J. C. Kappes, X. Wu, J. F. Salazar-Gonzalez, M. G. Salazar, J. M. Kilby, M. S. Saag, N. L. Komarova, M. A. Nowak, B. H. Hahn, P. D. Kwong, and G. M. Shaw. 2003. Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature* 422: 307-312.
348. Pilgrim, A. K., G. Pantaleo, O. J. Cohen, L. M. Fink, J. Y. Zhou, J. T. Zhou, D. P. Bolognesi, A. S. Fauci, and D. C. Montefiori. 1997. Neutralizing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in primary infection and long-term-nonprogressive infection. *J. Infect. Dis.* 176: 924-932.
349. Tomaras, G. D., N. L. Yates, P. Liu, L. Qin, G. G. Fouda, L. L. Chavez, A. C. Decamp, R. J. Parks, V. C. Ashley, J. T. Lucas, M. Cohen, J. Eron, C. B. Hicks, H. X. Liao, S. G. Self, G. Landucci, D. N. Forthal, K. J. Weinhold, B. F. Keele, B. H. Hahn, M. L. Greenberg, L. Morris, S. S. Karim, W. A. Blattner, D. C. Montefiori, G. M. Shaw, A. S. Perelson, and B. F. Haynes. 2008. Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia. *J. Virol.* 82: 12449-12463.
350. Zhou, T., I. Georgiev, X. Wu, Z. Y. Yang, K. Dai, A. Finzi, Y. D. Kwon, J. F. Scheid, W. Shi, L. Xu, Y. Yang, J. Zhu, M. C. Nussenzweig, J. Sodroski, L. Shapiro, G. J. Nabel, J. R. Mascola, and P. D. Kwong. 2010. Structural basis for broad and potent neutralization of HIV-1 by antibody VRC01. *Science* 329: 811-817.

351. Wu, X., Z. Y. Yang, Y. Li, C. M. Hogerkorp, W. R. Schief, M. S. Seaman, T. Zhou, S. D. Schmidt, L. Wu, L. Xu, N. S. Longo, K. McKee, S. O'Dell, M. K. Louder, D. L. Wycuff, Y. Feng, M. Nason, N. Doria-Rose, M. Connors, P. D. Kwong, M. Roederer, R. T. Wyatt, G. J. Nabel, and J. R. Mascola. 2010. Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1. *Science* 329: 856-861.
352. Montefiori, D. C., G. Pantaleo, L. M. Fink, J. T. Zhou, J. Y. Zhou, M. Bilska, G. D. Miralles, and A. S. Fauci. 1996. Neutralizing and infection-enhancing antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 in long-term nonprogressors. *J. Infect. Dis.* 173: 60-67.
353. Zhang, Y. J., C. Fracasso, J. R. Fiore, A. Bjorndal, G. Angarano, A. Gringeri, and E. M. Fenyo. 1997. Augmented serum neutralizing activity against primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) isolates in two groups of HIV-1-infected long-term nonprogressors. *J. Infect. Dis.* 176: 1180-1187.
354. Bailey, J. R., K. G. Lassen, H. C. Yang, T. C. Quinn, S. C. Ray, J. N. Blankson, and R. F. Siliciano. 2006. Neutralizing antibodies do not mediate suppression of human immunodeficiency virus type 1 in elite suppressors or selection of plasma virus variants in patients on highly active antiretroviral therapy. *J. Virol.* 80: 4758-4770.
355. Harrer, T., E. Harrer, S. A. Kalams, T. Elbeik, S. I. Staprans, M. B. Feinberg, Y. Cao, D. D. Ho, T. Yilma, A. M. Caliendo, R. P. Johnson, S. P. Buchbinder, and B. D. Walker. 1996. Strong cytotoxic T cell and weak neutralizing antibody responses in a subset of persons with stable nonprogressing HIV type 1 infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12: 585-592.
356. Pereyra, F., S. Palmer, T. Miura, B. L. Block, A. Wiegand, A. C. Rothchild, B. Baker, R. Rosenberg, E. Cutrell, M. S. Seaman, J. M. Coffin, and B. D. Walker. 2009. Persistent low-level viremia in HIV-1 elite controllers and relationship to immunologic parameters. *J. Infect. Dis.* 200: 984-990.
357. Piantadosi, A., D. Panteleeff, C. A. Blish, J. M. Baeten, W. Jaoko, R. S. McClelland, and J. Overbaugh. 2009. Breadth of neutralizing antibody response to human immunodeficiency virus type 1 is affected by factors early in infection but does not influence disease progression. *J. Virol.* 83: 10269-10274.
358. Broliden, K., J. Hinkula, C. Devito, P. Kiama, J. Kimani, D. Trabattoni, J. J. Bwayo, M. Clerici, F. Plummer, and R. Kaul. 2001. Functional HIV-1 specific IgA antibodies in HIV-1 exposed, persistently IgG seronegative female sex workers. *Immunol. Lett.* 79: 29-36.
359. Devito, C., K. Broliden, R. Kaul, L. Svensson, K. Johansen, P. Kiama, J. Kimani, L. Lopalco, S. Piconi, J. J. Bwayo, F. Plummer, M. Clerici, and J. Hinkula. 2000. Mucosal and plasma IgA from HIV-1-exposed uninfected individuals inhibit HIV-1 transcytosis across human epithelial cells. *J. Immunol.* 165: 5170-5176.

360. Devito, C., J. Hinkula, R. Kaul, L. Lopalco, J. J. Bwayo, F. Plummer, M. Clerici, and K. Broliden. 2000. Mucosal and plasma IgA from HIV-exposed seronegative individuals neutralize a primary HIV-1 isolate. *AIDS* 14: 1917-1920.
361. Devito, C., J. Hinkula, R. Kaul, J. Kimani, P. Kiama, L. Lopalco, C. Barass, S. Piconi, D. Trabattoni, J. J. Bwayo, F. Plummer, M. Clerici, and K. Broliden. 2002. Cross-clade HIV-1-specific neutralizing IgA in mucosal and systemic compartments of HIV-1-exposed, persistently seronegative subjects. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 30: 413-420.
362. Hirbod, T., K. Broliden, and R. Kaul. 2008. Genital immunoglobulin A and HIV-1 protection: virus neutralization versus specificity. *AIDS* 22: 2401-2402.
363. Hirbod, T., R. Kaul, C. Reichard, J. Kimani, E. Ngugi, J. J. Bwayo, N. Nagelkerke, K. Hasselrot, B. Li, S. Moses, K. S. MacDonald, and K. Broliden. 2008. HIV-neutralizing immunoglobulin A and HIV-specific proliferation are independently associated with reduced HIV acquisition in Kenyan sex workers. *AIDS* 22: 727-735.
364. Bentwich, Z., A. Kalinkovich, and Z. Weisman. 1995. Immune activation is a dominant factor in the pathogenesis of African AIDS. *Immunol. Today* 16: 187-191.
365. Biancotto, A., J. C. Grivel, S. J. Iglehart, C. Vanpouille, A. Lisco, S. F. Sieg, R. Debernardo, K. Garate, B. Rodriguez, L. B. Margolis, and M. M. Lederman. 2007. Abnormal activation and cytokine spectra in lymph nodes of people chronically infected with HIV-1. *Blood* 109: 4272-4279.
366. Ancuta, P., A. Kamat, K. J. Kunstman, E. Y. Kim, P. Autissier, A. Wurcel, T. Zaman, D. Stone, M. Mefford, S. Morgello, E. J. Singer, S. M. Wolinsky, and D. Gabuzda. 2008. Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS. One.* 3: e2516.
367. Brenchley, J. M., D. A. Price, T. W. Schacker, T. E. Asher, G. Silvestri, S. Rao, Z. Kazzaz, E. Bornstein, O. Lambotte, D. Altmann, B. R. Blazar, B. Rodriguez, L. Teixeira-Johnson, A. Landay, J. N. Martin, F. M. Hecht, L. J. Picker, M. M. Lederman, S. G. Deeks, and D. C. Douek. 2006. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* 12: 1365-1371.
368. Miller, S. C., J. M. Cruse, and R. E. Lewis. 2010. Toll-like receptor and chemokine receptor expression in HIV-infected T lymphocyte subsets. *Exp. Mol. Pathol.* 88: 26-31.
369. Frey, E. A., D. S. Miller, T. G. Jahr, A. Sundan, V. Bazil, T. Espevik, B. B. Finlay, and S. D. Wright. 1992. Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.* 176: 1665-1671.
370. Latz, E., A. Visintin, E. Lien, K. A. Fitzgerald, B. G. Monks, E. A. Kurt-Jones, D. T. Golenbock, and T. Espevik. 2002. Lipopolysaccharide rapidly traffics to and from the Golgi apparatus with the toll-like receptor 4-MD-2-CD14 complex in a process

- that is distinct from the initiation of signal transduction. *J. Biol. Chem.* 277: 47834-47843.
371. Sandanger, O., L. Ryan, J. Bohnhorst, A. C. Iversen, H. Husebye, O. Halaas, L. Landro, P. Aukrust, S. S. Froland, G. Elson, A. Visintin, O. Oktedalen, J. K. Damas, A. Sundan, D. Golenbock, and T. Espevik. 2009. IL-10 enhances MD-2 and CD14 expression in monocytes and the proteins are increased and correlated in HIV-infected patients. *J. Immunol.* 182: 588-595.
372. Grunwald, U., X. Fan, R. S. Jack, G. Workalemahu, A. Kallies, F. Stelter, and C. Schutt. 1996. Monocytes can phagocytose Gram-negative bacteria by a CD14-dependent mechanism. *J. Immunol.* 157: 4119-4125.
373. Lien, E., P. Aukrust, A. Sundan, F. Muller, S. S. Froland, and T. Espevik. 1998. Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. *Blood* 92: 2084-2092.
374. Meier, A., G. Alter, N. Frahm, H. Sidhu, B. Li, A. Bagchi, N. Teigen, H. Streeck, H. J. Stellbrink, J. Hellman, L. J. van, and M. Altfeld. 2007. MyD88-dependent immune activation mediated by human immunodeficiency virus type 1-encoded Toll-like receptor ligands. *J. Virol.* 81: 8180-8191.
375. Barqasho, B., P. Nowak, A. Tjernlund, S. Kinloch, L. E. Goh, F. Lampe, M. Fisher, J. Andersson, and A. Sonnerborg. 2009. Kinetics of plasma cytokines and chemokines during primary HIV-1 infection and after analytical treatment interruption. *HIV. Med.* 10: 94-102.
376. Haissman, J. M., L. S. Vestergaard, S. Sembuche, C. Erikstrup, B. Mmbando, S. Mtullu, M. M. Lemnge, J. Gerstoft, and H. Ullum. 2009. Plasma cytokine levels in Tanzanian HIV-1-infected adults and the effect of antiretroviral treatment. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 52: 493-497.
377. Roberts, L., J. A. Passmore, C. Williamson, F. Little, L. M. Bebell, K. Mlisana, W. A. Burgers, L. F. van, G. Walzl, J. F. Siawaya, Q. A. Karim, and S. S. Karim. 2010. Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression. *AIDS* 24: 819-831.
378. Sachdeva, R. K., A. Wanchu, R. Bagga, N. Malla, and M. Sharma. 2010. Effect of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors on cytokine, chemokine, and immunoglobulin profiles in serum and genital secretions of HIV-infected women. *J. Interferon Cytokine Res.* 30: 299-310.
379. Spear, G. T., M. R. Zariffard, H. Y. Chen, J. J. Anzinger, K. Anastos, J. Rusine, J. Gatabazi, A. L. French, M. Cohen, and A. L. Landay. 2008. Positive association between HIV RNA and IL-6 in the genital tract of Rwandan women. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 24: 973-976.

380. Kinter, A. L., M. Ostrowski, D. Goletti, A. Oliva, D. Weissman, K. Gantt, E. Hardy, R. Jackson, L. Ehler, and A. S. Fauci. 1996. HIV replication in CD4+ T cells of HIV-infected individuals is regulated by a balance between the viral suppressive effects of endogenous beta-chemokines and the viral inductive effects of other endogenous cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93: 14076-14081.
381. Clerici, M., A. Sarin, P. A. Henkart, and G. M. Shearer. 1997. Apoptotic cell death and cytokine dysregulation in human immunodeficiency virus infection: pivotal factors in disease progression. *Cell Death. Differ.* 4: 699-706.
382. Mavilio, D., G. Lombardo, A. Kinter, M. Fogli, S. A. La, S. Ortolano, A. Farschi, D. Follmann, R. Gregg, C. Kovacs, E. Marcenaro, D. Pende, A. Moretta, and A. S. Fauci. 2006. Characterization of the defective interaction between a subset of natural killer cells and dendritic cells in HIV-1 infection. *J. Exp. Med.* 203: 2339-2350.
383. Martinelli, E., C. Cicala, R. D. Van, D. J. Goode, K. Macleod, J. Arthos, and A. S. Fauci. 2007. HIV-1 gp120 inhibits TLR9-mediated activation and IFN- α secretion in plasmacytoid dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104: 3396-3401.
384. Salvaggio, A., C. Balotta, M. Galli, and M. Clerici. 1996. CD4 count in HIV infection is positively correlated to interferon-gamma and negatively correlated to interleukin-10 in vitro production. *AIDS* 10: 449-451.
385. Graziosi, C., K. R. Gantt, M. Vaccarezza, J. F. Demarest, M. Daucher, M. S. Saag, G. M. Shaw, T. C. Quinn, O. J. Cohen, C. C. Welbon, G. Pantaleo, and A. S. Fauci. 1996. Kinetics of cytokine expression during primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93: 4386-4391.
386. Orsilles, M. A., E. Pieri, P. Cooke, and C. Caula. 2006. IL-2 and IL-10 serum levels in HIV-1-infected patients with or without active antiretroviral therapy. *APMIS* 114: 55-60.
387. Brockman, M. A., D. S. Kwon, D. P. Tighe, D. F. Pavlik, P. C. Rosato, J. Sela, F. Porichis, G. S. Le, M. T. Waring, K. Moss, H. Jessen, F. Pereyra, D. G. Kavanagh, B. D. Walker, and D. E. Kaufmann. 2009. IL-10 is up-regulated in multiple cell types during viremic HIV infection and reversibly inhibits virus-specific T cells. *Blood* 114: 346-356.
388. Zagury, D., A. Lachgar, V. Chams, L. S. Fall, J. Bernard, J. F. Zagury, B. Bizzini, A. Gringeri, E. Santagostino, J. Rappaport, M. Feldman, S. J. O'Brien, A. Burny, and R. C. Gallo. 1998. C-C chemokines, pivotal in protection against HIV type 1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 95: 3857-3861.
389. Abdelwahab, S. F., F. Cocchi, K. C. Bagley, R. Kamin-Lewis, R. C. Gallo, A. DeVico, and G. K. Lewis. 2003. HIV-1-suppressive factors are secreted by CD4+ T cells during primary immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100: 15006-15010.

390. Kinter, A., A. Catanzaro, J. Monaco, M. Ruiz, J. Justement, S. Moir, J. Arthos, A. Oliva, L. Ehler, S. Mizell, R. Jackson, M. Ostrowski, J. Hoxie, R. Offord, and A. S. Fauci. 1998. CC-chemokines enhance the replication of T-tropic strains of HIV-1 in CD4(+) T cells: role of signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 95: 11880-11885.
391. Garzino-Demo, A., R. B. Moss, J. B. Margolick, F. Cleghorn, A. Sill, W. A. Blattner, F. Cocchi, D. J. Carlo, A. L. DeVico, and R. C. Gallo. 1999. Spontaneous and antigen-induced production of HIV-inhibitory beta-chemokines are associated with AIDS-free status. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 96: 11986-11991.
392. Fransen, S., K. F. Copeland, M. Smieja, F. Smaill, and K. L. Rosenthal. 2000. RANTES production by T cells and CD8-mediated inhibition of human immunodeficiency virus gene expression before initiation of potent antiretroviral therapy predict sustained suppression of viral replication. *J. Infect. Dis.* 181: 505-512.
393. Carter, L. M., B. S. Peters, B. A. Ellis, and R. A. Wolstencroft. 2000. Highly active antiretroviral therapy normalizes the potential for MIP-1alpha production in HIV infection. *J. Infect.* 41: 252-255.
394. Ullum, H., L. A. Cozzi, J. Victor, H. Aladdin, A. N. Phillips, J. Gerstoft, P. Skinhoj, and B. K. Pedersen. 1998. Production of beta-chemokines in human immunodeficiency virus (HIV) infection: evidence that high levels of macrophage inflammatory protein-1beta are associated with a decreased risk of HIV disease progression. *J. Infect. Dis.* 177: 331-336.
395. Cocchi, F., A. L. DeVico, R. Yarchoan, R. Redfield, F. Cleghorn, W. A. Blattner, A. Garzino-Demo, S. Colombini-Hatch, D. Margolis, and R. C. Gallo. 2000. Higher macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta levels from CD8+ T cells are associated with asymptomatic HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 97: 13812-13817.
396. Lambert, J. S., E. S. Machado, D. C. Watson, A. M. Sill, J. K. Lim, M. Charurat, S. M. Cunha, A. O. Afonso, R. H. Oliviera, A. Tanuri, and A. L. DeVico. 2007. Production of the HIV-suppressive chemokines CCL3/MIP-1alpha and CCL22/MDC is associated with more effective antiretroviral therapy in HIV-infected children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 26: 935-944.
397. Brito, A., A. Almeida, C. R. Gonzalez, M. Mendonca, F. Ferreira, S. S. Fernandes, A. J. Duarte, and J. Casseb. 2007. Successful HAART is associated with high B-chemokine levels in chronic HIV type 1-infected patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 23: 906-912.
398. Hofmann-Lehmann, R., A. L. Williams, R. K. Swenerton, P. L. Li, R. A. Rasmussen, A. L. Chenine, H. M. McClure, and R. M. Ruprecht. 2002. Quantitation of simian cytokine and beta-chemokine mRNAs, using real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction: variations in expression during chronic primate lentivirus infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 18: 627-639.

399. Jennes, W., S. Sawadogo, S. Koblavi-Deme, B. Vuylsteke, C. Maurice, T. H. Roels, T. Chorba, J. N. Nkengasong, and L. Kestens. 2002. Positive association between beta-chemokine-producing T cells and HIV type 1 viral load in HIV-infected subjects in Abidjan, Cote d'Ivoire. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 18: 171-177.
400. LaFranco-Scheuch, L., K. Abel, N. Makori, K. Rothausler, and C. J. Miller. 2004. High beta-chemokine expression levels in lymphoid tissues of simian/human immunodeficiency virus 89.6-vaccinated rhesus macaques are associated with uncontrolled replication of simian immunodeficiency virus challenge inoculum. *J. Virol.* 78: 6399-6408.
401. Lajoie, J., J. Poudrier, L. M. Massinga, F. Guedou, F. Leblond, A. C. Labbe, M. Alary, and M. Roger. 2010. Chemokine expression patterns in the systemic and genital tract compartments are associated with HIV-1 infection in women from Benin. *J. Clin. Immunol.* 30: 90-98.
402. Li, Q., J. D. Estes, P. M. Schlievert, L. Duan, A. J. Brosnahan, P. J. Southern, C. S. Reilly, M. L. Peterson, N. Schultz-Darken, K. G. Brunner, K. R. Nephew, S. Pambuccian, J. D. Lifson, J. V. Carlis, and A. T. Haase. 2009. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. *Nature* 458: 1034-1038.
403. Nagira, M., A. Sato, S. Miki, T. Imai, and O. Yoshie. 1999. Enhanced HIV-1 replication by chemokines constitutively expressed in secondary lymphoid tissues. *Virology* 264: 422-426.
404. Saleh, S., A. Solomon, F. Wightman, M. Xhilaga, P. U. Cameron, and S. R. Lewin. 2007. CCR7 ligands CCL19 and CCL21 increase permissiveness of resting memory CD4+ T cells to HIV-1 infection: a novel model of HIV-1 latency. *Blood* 110: 4161-4164.
405. Damas, J. K., L. Landro, B. Fevang, L. Heggelund, S. S. Froland, and P. Aukrust. 2009. Enhanced levels of the CCR7 ligands CCL19 and CCL21 in HIV infection: correlation with viral load, disease progression and response to highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 23: 135-138.
406. Damas, J. K., L. Landro, B. Fevang, L. Heggelund, G. E. Tjonnfjord, Y. Floisand, B. Halvorsen, S. S. Froland, and P. Aukrust. 2009. Homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 promote inflammation in human immunodeficiency virus-infected patients with ongoing viral replication. *Clin. Exp. Immunol.* 157: 400-407.
407. Cameron, P. U., S. Saleh, G. Sallmann, A. Solomon, F. Wightman, V. A. Evans, G. Boucher, E. K. Haddad, R. P. Sekaly, A. N. Harman, J. L. Anderson, K. L. Jones, J. Mak, A. L. Cunningham, A. Jaworowski, and S. R. Lewin. 2010. Establishment of HIV-1 latency in resting CD4+ T cells depends on chemokine-induced changes in the actin cytoskeleton. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 107: 16934-16939.
408. Campbell, G. R., and S. A. Spector. 2008. CCL2 increases X4-tropic HIV-1 entry into resting CD4+ T cells. *J. Biol. Chem.* 283: 30745-30753.

409. Monteiro de, A. S., S. Letendre, J. Zimmerman, D. Lazzaretto, A. McCutchan, and R. Ellis. 2005. Dynamics of monocyte chemoattractant protein type one (MCP-1) and HIV viral load in human cerebrospinal fluid and plasma. *J. Neuroimmunol.* 169: 144-152.
410. Ansari, A. W., N. Bhatnagar, O. Dittrich-Breiholz, M. Kracht, R. E. Schmidt, and H. Heiken. 2006. Host chemokine (C-C motif) ligand-2 (CCL2) is differentially regulated in HIV type 1 (HIV-1)-infected individuals. *Int. Immunol.* 18: 1443-1451.
411. Randolph, G. J., S. Beaulieu, S. Lebecque, R. M. Steinman, and W. A. Muller. 1998. Differentiation of monocytes into dendritic cells in a model of transendothelial trafficking. *Science* 282: 480-483.
412. Randolph, G. J., K. Inaba, D. F. Robbiani, R. M. Steinman, and W. A. Muller. 1999. Differentiation of phagocytic monocytes into lymph node dendritic cells in vivo. *Immunity.* 11: 753-761.
413. Grage-Griebenow, E., H. D. Flad, M. Ernst, M. Bzowska, J. Skrzeczynska, and J. Pryjma. 2000. Human MO subsets as defined by expression of CD64 and CD16 differ in phagocytic activity and generation of oxygen intermediates. *Immunobiology* 202: 42-50.
414. Swirski, F. K., M. Nahrendorf, M. Etzrodt, M. Wildgruber, V. Cortez-Retamozo, P. Panizzi, J. L. Figueiredo, R. H. Kohler, A. Chudnovskiy, P. Waterman, E. Aikawa, T. R. Mempel, P. Libby, R. Weissleder, and M. J. Pittet. 2009. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science* 325: 612-616.
415. Tacke, F., and G. J. Randolph. 2006. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets. *Immunobiology* 211: 609-618.
416. Geissmann, F., S. Jung, and D. R. Littman. 2003. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity.* 19: 71-82.
417. Geissmann, F., C. Auffray, R. Palframan, C. Wirrig, A. Ciocca, L. Campisi, E. Narni-Mancinelli, and G. Lauvau. 2008. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol. Cell Biol.* 86: 398-408.
418. Randolph, G. J., G. Sanchez-Schmitz, R. M. Liebman, and K. Schakel. 2002. The CD16(+) (FcγR3(+)) subset of human monocytes preferentially becomes migratory dendritic cells in a model tissue setting. *J. Exp. Med.* 196: 517-527.
419. Ancuta, P., L. Weiss, and N. Haeflner-Cavaillon. 2000. CD14+CD16++ cells derived in vitro from peripheral blood monocytes exhibit phenotypic and functional dendritic cell-like characteristics. *Eur. J. Immunol.* 30: 1872-1883.

420. Auffray, C., D. Fogg, M. Garfa, G. Elain, O. Join-Lambert, S. Kayal, S. Sarnacki, A. Cumanó, G. Lauvau, and F. Geissmann. 2007. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science* 317: 666-670.
421. Ancuta, P., R. Rao, A. Moses, A. Mehle, S. K. Shaw, F. W. Luscinskas, and D. Gabuzda. 2003. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16⁺ monocytes. *J. Exp. Med.* 197: 1701-1707.
422. Liu, K., G. D. Victora, T. A. Schwickert, P. Guermonprez, M. M. Meredith, K. Yao, F. F. Chu, G. J. Randolph, A. Y. Rudensky, and M. Nussenzweig. 2009. In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science* 324: 392-397.
423. Yona, S., and S. Jung. 2010. Monocytes: subsets, origins, fates and functions. *Curr. Opin. Hematol.* 17: 53-59.
424. Zhan, Y., Y. Xu, S. Seah, J. L. Brady, E. M. Carrington, C. Cheers, B. A. Croker, L. Wu, J. A. Villadangos, and A. M. Lew. 2010. Resident and monocyte-derived dendritic cells become dominant IL-12 producers under different conditions and signaling pathways. *J. Immunol.* 185: 2125-2133.
425. Ziegler-Heitbrock, H. W., M. Strobel, D. Kieper, G. Fingerle, T. Schlunck, I. Petersmann, J. Ellwart, M. Blumenstein, and J. G. Haas. 1992. Differential expression of cytokines in human blood monocyte subpopulations. *Blood* 79: 503-511.
426. Belge, K. U., F. Dayyani, A. Horelt, M. Siedlar, M. Frankenberger, B. Frankenberger, T. Espevik, and L. Ziegler-Heitbrock. 2002. The proinflammatory CD14⁺CD16⁺DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF. *J. Immunol.* 168: 3536-3542.
427. Mizuno, K., T. Toma, H. Tsukiji, H. Okamoto, H. Yamazaki, K. Ohta, K. Ohta, Y. Kasahara, S. Koizumi, and A. Yachie. 2005. Selective expansion of CD16^{high}. *Clin. Exp. Immunol.* 142: 461-470.
428. Gordon, S., and P. R. Taylor. 2005. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 953-964.
429. Manz, M. G., D. Traver, K. Akashi, M. Merad, T. Miyamoto, E. G. Engleman, and I. L. Weissman. 2001. Dendritic cell development from common myeloid progenitors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 938: 167-173.
430. Izadpanah, A., M. B. Dwinell, L. Eckmann, N. M. Varki, and M. F. Kagnoff. 2001. Regulated MIP-3 α /CCL20 production by human intestinal epithelium: mechanism for modulating mucosal immunity. *Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol* 280: G710-G719.
431. Imaizumi, T., H. Yoshida, and K. Satoh. 2004. Regulation of CX3CL1/fractalkine expression in endothelial cells. *J. Atheroscler. Thromb.* 11: 15-21.

432. Dieu-Nosjean, M. C., A. Vicari, S. Lebecque, and C. Caux. 1999. Regulation of dendritic cell trafficking: a process that involves the participation of selective chemokines. *J. Leukoc. Biol.* 66: 252-262.
433. Caux, C., S. Ait-Yahia, K. Chemin, B. O. de, M. C. Dieu-Nosjean, B. Homey, C. Massacrier, B. Vanbervliet, A. Zlotnik, and A. Vicari. 2000. Dendritic cell biology and regulation of dendritic cell trafficking by chemokines. *Springer Semin. Immunopathol.* 22: 345-369.
434. Jonuleit, H., E. Schmitt, G. Schuler, J. Knop, and A. H. Enk. 2000. Induction of interleukin 10-producing, nonproliferating CD4(+) T cells with regulatory properties by repetitive stimulation with allogeneic immature human dendritic cells. *J. Exp. Med.* 192: 1213-1222.
435. Roncarolo, M. G., M. K. Levings, and C. Traversari. 2001. Differentiation of T regulatory cells by immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* 193: F5-F9.
436. Kubach, J., C. Becker, E. Schmitt, K. Steinbrink, E. Huter, A. Tuettenberg, and H. Jonuleit. 2005. Dendritic cells: sentinels of immunity and tolerance. *Int. J. Hematol.* 81: 197-203.
437. Almeida, J., C. Bueno, M. C. Alguero, M. L. Sanchez, M. C. Canizo, M. E. Fernandez, J. M. Vaquero, F. J. Laso, L. Escribano, J. F. San Miguel, and A. Orfao. 1999. Extensive characterization of the immunophenotype and pattern of cytokine production by distinct subpopulations of normal human peripheral blood MHC II+/lineage- cells. *Clin. Exp. Immunol.* 118: 392-401.
438. Mullins, D. W., S. L. Sheasley, R. M. Ream, T. N. Bullock, Y. X. Fu, and V. H. Engelhard. 2003. Route of immunization with peptide-pulsed dendritic cells controls the distribution of memory and effector T cells in lymphoid tissues and determines the pattern of regional tumor control. *J. Exp. Med.* 198: 1023-1034.
439. Alvarez, D., E. H. Vollmann, and U. H. von Andrian. 2008. Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity.* 29: 325-342.
440. Dhodapkar, M. V., R. M. Steinman, J. Krasovsky, C. Munz, and N. Bhardwaj. 2001. Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* 193: 233-238.
441. Mahnke, K., E. Schmitt, L. Bonifaz, A. H. Enk, and H. Jonuleit. 2002. Immature, but not inactive: the tolerogenic function of immature dendritic cells. *Immunol. Cell Biol.* 80: 477-483.
442. Iliev, I. D., E. Mileti, G. Matteoli, M. Chieppa, and M. Rescigno. 2009. Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning. *Mucosal. Immunol.* 2: 340-350.

443. Rescigno, M., and S. A. Di. 2009. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J. Clin. Invest* 119: 2441-2450.
444. Rescigno, M. 2010. Functional specialization of antigen presenting cells in the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Immunol.* 22: 131-136.
445. del Rio, M. L., G. Bernhardt, J. I. Rodriguez-Barbosa, and R. Forster. 2010. Development and functional specialization of CD103+ dendritic cells. *Immunol. Rev.* 234: 268-281.
446. Schulz, O., E. Jaensson, E. K. Persson, X. Liu, T. Worbs, W. W. Agace, and O. Pabst. 2009. Intestinal CD103+, but not CX3CR1+, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions. *J. Exp. Med.* 206: 3101-3114.
447. Westendorf, A. M., D. Fleissner, W. Hansen, and J. Buer. 2010. T cells, dendritic cells and epithelial cells in intestinal homeostasis. *Int. J. Med. Microbiol.* 300: 11-18.
448. Tezuka, H., and T. Ohteki. 2010. Regulation of intestinal homeostasis by dendritic cells. *Immunol. Rev.* 234: 247-258.
449. MacLennan, I., and C. Vinuesa. 2002. Dendritic cells, BAFF, and APRIL: innate players in adaptive antibody responses. *Immunity.* 17: 235-238.
450. Mackay, F., and J. L. Browning. 2002. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2: 465-475.
451. Tangye, S. G., V. L. Bryant, A. K. Cuss, and K. L. Good. 2006. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin. Immunol.* 18: 305-317.
452. Trembl, J. F., Y. Hao, J. E. Stadanlick, and M. P. Cancro. 2009. The BLYS family: toward a molecular understanding of B cell homeostasis. *Cell Biochem. Biophys.* 53: 1-16.
453. Hsu, B. L., S. M. Harless, R. C. Lindsley, D. M. Hilbert, and M. P. Cancro. 2002. Cutting edge: BLYS enables survival of transitional and mature B cells through distinct mediators. *J. Immunol.* 168: 5993-5996.
454. Crowley, J. E., J. L. Scholz, W. J. Quinn, III, J. E. Stadanlick, J. F. Trembl, L. S. Trembl, Y. Hao, R. Goenka, P. J. O'Neill, A. H. Matthews, R. F. Parsons, and M. P. Cancro. 2008. Homeostatic control of B lymphocyte subsets. *Immunol. Res.* 42: 75-83.
455. Benson, M. J., S. R. Dillon, E. Castigli, R. S. Geha, S. Xu, K. P. Lam, and R. J. Noelle. 2008. Cutting edge: the dependence of plasma cells and independence of memory B cells on BAFF and APRIL. *J. Immunol.* 180: 3655-3659.
456. Rauch, M., R. Tussiwand, N. Bosco, and A. G. Rolink. 2009. Crucial role for BAFF-BAFF-R signaling in the survival and maintenance of mature B cells. *PLoS. One.* 4: e5456.

457. Bursch, L. S., L. Wang, B. Igyarto, A. Kissenpfennig, B. Malissen, D. H. Kaplan, and K. A. Hogquist. 2007. Identification of a novel population of Langerin⁺ dendritic cells. *J. Exp. Med.* 204: 3147-3156.
458. Dieu-Nosjean, M. C., C. Massacrier, B. Homey, B. Vanbervliet, J. J. Pin, A. Vicari, S. Lebecque, C. Dezutter-Dambuyant, D. Schmitt, A. Zlotnik, and C. Caux. 2000. Macrophage inflammatory protein 3 α is expressed at inflamed epithelial surfaces and is the most potent chemokine known in attracting Langerhans cell precursors. *J. Exp. Med.* 192: 705-718.
459. Dieu-Nosjean, M. C., C. Massacrier, B. Vanbervliet, W. H. Fridman, and C. Caux. 2001. IL-10 induces CCR6 expression during Langerhans cell development while IL-4 and IFN- γ suppress it. *J. Immunol.* 167: 5594-5602.
460. Sato, N., S. K. Ahuja, M. Quinones, V. KostECKi, R. L. Reddick, P. C. Melby, W. A. Kuziel, and S. S. Ahuja. 2000. CC chemokine receptor (CCR)2 is required for langerhans cell migration and localization of T helper cell type 1 (Th1)-inducing dendritic cells. Absence of CCR2 shifts the Leishmania major-resistant phenotype to a susceptible state dominated by Th2 cytokines, b cell outgrowth, and sustained neutrophilic inflammation. *J. Exp. Med.* 192: 205-218.
461. Paglia, P., C. Chiodoni, M. Rodolfo, and M. P. Colombo. 1996. Murine dendritic cells loaded in vitro with soluble protein prime cytotoxic T lymphocytes against tumor antigen in vivo. *J. Exp. Med.* 183: 317-322.
462. Stoitzner, P., C. H. Tripp, A. Eberhart, K. M. Price, J. Y. Jung, L. Bursch, F. Ronchese, and N. Romani. 2006. Langerhans cells cross-present antigen derived from skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 7783-7788.
463. Cao, T., H. Ueno, C. Glaser, J. W. Fay, A. K. Palucka, and J. Banchereau. 2007. Both Langerhans cells and interstitial DC cross-present melanoma antigens and efficiently activate antigen-specific CTL. *Eur. J. Immunol.* 37: 2657-2667.
464. Yan, M., J. Peng, I. A. Jabbar, X. Liu, L. Filgueira, I. H. Frazer, and R. Thomas. 2004. Despite differences between dendritic cells and Langerhans cells in the mechanism of papillomavirus-like particle antigen uptake, both cells cross-prime T cells. *Virology* 324: 297-310.
465. Flacher, V., M. Bouschbacher, E. Verronese, C. Massacrier, V. Sisirak, O. Berthier-Vergnes, B. de Saint-Vis, C. Caux, C. Dezutter-Dambuyant, S. Lebecque, and J. Valladeau. 2006. Human Langerhans cells express a specific TLR profile and differentially respond to viruses and Gram-positive bacteria. *J. Immunol.* 177: 7959-7967.
466. Peiser, M., J. Koeck, C. J. Kirschning, B. Wittig, and R. Wanner. 2008. Human Langerhans cells selectively activated via Toll-like receptor 2 agonists acquire migratory and CD4⁺T cell stimulatory capacity. *J. Leukoc. Biol.* 83: 1118-1127.

467. van der Vlist, M., and T. B. Geijtenbeek. 2010. Langerin functions as an antiviral receptor on Langerhans cells. *Immunol. Cell Biol.* 88: 410-415.
468. McDermott, R., U. Ziylan, D. Spehner, H. Bausinger, D. Lipsker, M. Mommaas, J. P. Cazenave, G. Raposo, B. Goud, H. de la Salle, J. Salamero, and D. Hanau. 2002. Birbeck granules are subdomains of endosomal recycling compartment in human epidermal Langerhans cells, which form where Langerin accumulates. *Mol. Biol. Cell* 13: 317-335.
469. McDermott, R., H. Bausinger, D. Fricker, D. Spehner, F. Proamer, D. Lipsker, J. P. Cazenave, B. Goud, H. de la Salle, J. Salamero, and D. Hanau. 2004. Reproduction of Langerin/CD207 traffic and Birbeck granule formation in a human cell line model. *J. Invest Dermatol.* 123: 72-77.
470. Merad, M., M. G. Manz, H. Karsunky, A. Wagers, W. Peters, I. Charo, I. L. Weissman, J. G. Cyster, and E. G. Engleman. 2002. Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions. *Nat. Immunol.* 3: 1135-1141.
471. Enk, A. H., H. Jonuleit, J. Saloga, and J. Knop. 1997. Dendritic cells as mediators of tumor-induced tolerance in metastatic melanoma. *Int. J. Cancer* 73: 309-316.
472. Siegal, F. P., N. Kadowaki, M. Shodell, P. A. Fitzgerald-Bocarsly, K. Shah, S. Ho, S. Antonenko, and Y. J. Liu. 1999. The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood. *Science* 284: 1835-1837.
473. Woltman, A. M., J. W. de Fijter, K. Zuidwijk, A. G. Vlug, I. M. Bajema, S. W. van der Kooij, H. van, V, and K. C. van. 2007. Quantification of dendritic cell subsets in human renal tissue under normal and pathological conditions. *Kidney Int.* 71: 1001-1008.
474. Farkas, L., K. Beiske, F. Lund-Johansen, P. Brandtzaeg, and F. L. Jahnsen. 2001. Plasmacytoid dendritic cells (natural interferon- alpha/beta-producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions. *Am. J. Pathol.* 159: 237-243.
475. Jahnsen, F. L., E. Gran, R. Haye, and P. Brandtzaeg. 2004. Human nasal mucosa contains antigen-presenting cells of strikingly different functional phenotypes. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 30: 31-37.
476. Kadowaki, N., S. Ho, S. Antonenko, R. W. Malefyt, R. A. Kastelein, F. Bazan, and Y. J. Liu. 2001. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J. Exp. Med.* 194: 863-869.
477. Cella, M., D. Jarrossay, F. Facchetti, O. Alebardi, H. Nakajima, A. Lanzavecchia, and M. Colonna. 1999. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nat. Med.* 5: 919-923.

478. Luft, T., K. C. Pang, E. Thomas, P. Hertzog, D. N. Hart, J. Trapani, and J. Cebon. 1998. Type I IFNs enhance the terminal differentiation of dendritic cells. *J. Immunol.* 161: 1947-1953.
479. Paquette, R. L., N. C. Hsu, S. M. Kiertscher, A. N. Park, L. Tran, M. D. Roth, and J. A. Glaspy. 1998. Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells. *J. Leukoc. Biol.* 64: 358-367.
480. Kadowaki, N., S. Antonenko, J. Y. Lau, and Y. J. Liu. 2000. Natural interferon alpha/beta-producing cells link innate and adaptive immunity. *J. Exp. Med.* 192: 219-226.
481. Marrack, P., J. Kappler, and T. Mitchell. 1999. Type I interferons keep activated T cells alive. *J. Exp. Med.* 189: 521-530.
482. Tough, D. F., P. Borrow, and J. Sprent. 1996. Induction of bystander T cell proliferation by viruses and type I interferon in vivo. *Science* 272: 1947-1950.
483. Keir, M. E., C. A. Stoddart, V. Linquist-Stepps, M. E. Moreno, and J. M. McCune. 2002. IFN-alpha secretion by type 2 predendritic cells up-regulates MHC class I in the HIV-1-infected thymus. *J. Immunol.* 168: 325-331.
484. Le, B. A., N. Etchart, C. Rossmann, M. Ashton, S. Hou, D. Gewert, P. Borrow, and D. F. Tough. 2003. Cross-priming of CD8+ T cells stimulated by virus-induced type I interferon. *Nat. Immunol.* 4: 1009-1015.
485. Santodonato, L., G. D'Agostino, R. Nisini, S. Mariotti, D. M. Monque, M. Spada, L. Lattanzi, M. P. Perrone, M. Andreotti, F. Belardelli, and M. Ferrantini. 2003. Monocyte-derived dendritic cells generated after a short-term culture with IFN-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulate a potent Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cell response. *J. Immunol.* 170: 5195-5202.
486. Jego, G., A. K. Palucka, J. P. Blanck, C. Chalouni, V. Pascual, and J. Banchereau. 2003. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity.* 19: 225-234.
487. Kuwana, M., J. Kaburaki, T. M. Wright, Y. Kawakami, and Y. Ikeda. 2001. Induction of antigen-specific human CD4(+) T cell anergy by peripheral blood DC2 precursors. *Eur. J. Immunol.* 31: 2547-2557.
488. Krug, A., R. Veeraswamy, A. Pekosz, O. Kanagawa, E. R. Unanue, M. Colonna, and M. Cella. 2003. Interferon-producing cells fail to induce proliferation of naive T cells but can promote expansion and T helper 1 differentiation of antigen-experienced unpolarized T cells. *J. Exp. Med.* 197: 899-906.

489. Ito, T., M. Yang, Y. H. Wang, R. Lande, J. Gregorio, O. A. Perng, X. F. Qin, Y. J. Liu, and M. Gilliet. 2007. Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10-producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. *J. Exp. Med.* 204: 105-115.
490. Patterson, S., M. S. Roberts, N. R. English, S. E. Macatonia, M. N. Gompels, A. J. Pinching, and S. C. Knight. 1994. Detection of HIV DNA in peripheral blood dendritic cells of HIV-infected individuals. *Res. Virol.* 145: 171-176.
491. Cameron, P. U., M. G. Lowe, F. Sotzik, A. F. Coughlan, S. M. Crowe, and K. Shortman. 1995. Preferential entry and productive infection of CD4 expressing lymphoid dendritic cells by macrophage-tropic HIV-1. *Adv. Exp. Med. Biol.* 378: 429-433.
492. Burleigh, L., P. Y. Lozach, C. Schiffer, I. Staropoli, V. Pezo, F. Porrot, B. Canque, J. L. Virelizier, F. Arenzana-Seisdedos, and A. Amara. 2006. Infection of dendritic cells (DCs), not DC-SIGN-mediated internalization of human immunodeficiency virus, is required for long-term transfer of virus to T cells. *J. Virol.* 80: 2949-2957.
493. Smed-Sorensen, A., K. Lore, J. Vasudevan, M. K. Louder, J. Andersson, J. R. Mascola, A. L. Spetz, and R. A. Koup. 2005. Differential susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection of myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *J. Virol.* 79: 8861-8869.
494. Pope, M., and A. T. Haase. 2003. Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection. *Nat. Med.* 9: 847-852.
495. Teleshova, N., I. Frank, and M. Pope. 2003. Immunodeficiency virus exploitation of dendritic cells in the early steps of infection. *J. Leuk. Biol.* 74: 683-690.
496. Canque, B., Y. Bakri, S. Camus, M. Yagello, A. Benjouad, and J. C. Gluckman. 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: 3866-3875.
497. Hsia, K., V. Tsai, N. J. Zvaifler, and S. A. Spector. 1995. Low prevalence of HIV-1 proviral DNA in peripheral blood monocytes and dendritic cells from HIV-1-infected individuals. *AIDS* 9: 398-399.
498. Patterson, S., N. R. English, H. Longhurst, P. Balfé, M. Helbert, A. J. Pinching, and S. C. Knight. 1998. Analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) variants and levels of infection in dendritic and T cells from symptomatic HIV-1-infected patients. *J. Gen. Virol.* 79 (Pt 2): 247-257.
499. Granelli-Piperno, A., I. Shimeliovich, M. Pack, C. Trumpheller, and R. M. Steinman. 2006. HIV-1 selectively infects a subset of nonmaturing BDCA1-positive dendritic cells in human blood. *J. Immunol.* 176: 991-998.

500. Cavrois, M., J. Neidleman, J. F. Kreisberg, D. Fenard, C. Callebaut, and W. C. Greene. 2006. Human immunodeficiency virus fusion to dendritic cells declines as cells mature. *J. Virol.* 80: 1992-1999.
501. MacDougall, T. H., R. J. Shattock, C. Madsen, B. M. Chain, and D. R. Katz. 2002. Regulation of primary HIV-1 isolate replication in dendritic cells. *Clin. Exp. Immunol.* 127: 66-71.
502. Donaghy, H., B. Gazzard, F. Gotch, and S. Patterson. 2003. Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1. *Blood* 101: 4505-4511.
503. Granelli-Piperno, A., A. Golebiowska, C. Trumpfheller, F. P. Siegal, and R. M. Steinman. 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: 7669-7674.
504. Smed-Sorensen, A., K. Lore, L. Walther-Jallow, J. Andersson, and A. L. Spetz. 2004. HIV-1-infected dendritic cells up-regulate cell surface markers but fail to produce IL-12 p70 in response to CD40 ligand stimulation. *Blood* 104: 2810-2817.
505. Lichtner, M., C. Maranon, P. O. Vidalain, O. Azocar, D. Hanau, P. Lebon, M. Burgard, C. Rouzioux, V. Vullo, H. Yagita, C. Roubourdin-Combe, C. Served, and A. Hosmalin. 2004. HIV type 1-infected dendritic cells induce apoptotic death in infected and uninfected primary CD4 T lymphocytes. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20: 175-182.
506. Patterson, S., S. P. Robinson, N. R. English, and S. C. Knight. 1999. Subpopulations of peripheral blood dendritic cells show differential susceptibility to infection with a lymphotropic strain of HIV-1. *Immunol. Lett.* 66: 111-116.
507. Schmidt, B., I. Scott, R. G. Whitmore, H. Foster, S. Fujimura, J. Schmitz, and J. A. Levy. 2004. Low-level HIV infection of plasmacytoid dendritic cells: onset of cytopathic effects and cell death after PDC maturation. *Virology* 329: 280-288.
508. Patterson, S., A. Rae, N. Hockey, J. Gilmour, and F. Gotch. 2001. Plasmacytoid dendritic cells are highly susceptible to human immunodeficiency virus type 1 infection and release infectious virus. *J. Virol.* 75: 6710-6713.
509. Cameron, P. U., M. G. Lowe, S. M. Crowe, U. O'Doherty, M. Pope, S. Gezelter, and R. M. Steinman. 1994. Susceptibility of dendritic cells to HIV-1 infection in vitro. *J. Leukoc. Biol.* 56: 257-265.
510. Groot, F., T. M. van Capel, M. L. Kapsenberg, B. Berkhout, and E. C. de Jong. 2006. Opposing roles of blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in HIV-1 infection of T cells: transmission facilitation versus replication inhibition. *Blood* 108: 1957-1964.

511. Lore, K., A. Smed-Sorensen, J. Vasudevan, J. R. Mascola, and R. A. Koup. 2005. Myeloid and plasmacytoid dendritic cells transfer HIV-1 preferentially to antigen-specific CD4⁺ T cells. *J. Exp. Med.* 201: 2023-2033.
512. Moris, A., A. Pajot, F. Blanchet, F. Guivel-Benhassine, M. Salcedo, and O. Schwartz. 2006. Dendritic cells and HIV-specific CD4⁺ T cells: HIV antigen presentation, T-cell activation, and viral transfer. *Blood* 108: 1643-1651.
513. Shen, R., L. E. Smythies, R. H. Clements, L. Novak, and P. D. Smith. 2010. Dendritic cells transmit HIV-1 through human small intestinal mucosa. *J. Leukoc. Biol.* 87: 663-670.
514. Trumpfheller, C., C. G. Park, J. Finke, R. M. Steinman, and A. Granelli-Piperno. 2003. Cell type-dependent retention and transmission of HIV-1 by DC-SIGN. *Int. Immunol.* 15: 289-298.
515. Ganor, Y., Z. Zhou, D. Tudor, A. Schmitt, M. C. Vacher-Lavenu, L. Gibault, N. Thiounn, J. Tomasini, J. P. Wolf, and M. Bomsel. 2010. Within 1 h, HIV-1 uses viral synapses to enter efficiently the inner, but not outer, foreskin mucosa and engages Langerhans-T cell conjugates. *Mucosal. Immunol.*
516. Bouschbacher, M., M. Bomsel, E. Verronese, S. Gofflo, Y. Ganor, C. Dezutter-Dambuyant, and J. Valladeau. 2008. Early events in HIV transmission through a human reconstructed vaginal mucosa. *AIDS* 22: 1257-1266.
517. Geijtenbeek, T. B., D. S. Kwon, R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Duijnhoven, J. Middel, I. L. Cornelissen, H. S. Nottet, V. N. KewalRamani, D. R. Littman, C. G. Figdor, and K. Y. van. 2000. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 100: 587-597.
518. Fahrbach, K. M., S. M. Barry, S. Ayehunie, S. Lamore, M. Klausner, and T. J. Hope. 2007. Activated CD34-derived Langerhans cells mediate transinfection with human immunodeficiency virus. *J. Virol.* 81: 6858-6868.
519. Lambert, A. A., C. Gilbert, M. Richard, A. D. Beaulieu, and M. J. Tremblay. 2008. The C-type lectin surface receptor DCIR acts as a new attachment factor for HIV-1 in dendritic cells and contributes to trans- and cis-infection pathways. *Blood* 112: 1299-1307.
520. Yu, H. J., M. A. Reuter, and D. McDonald. 2008. HIV traffics through a specialized, surface-accessible intracellular compartment during trans-infection of T cells by mature dendritic cells. *PLoS. Pathog.* 4: e1000134.
521. Muratori, C., R. Bona, E. Ruggiero, G. D'Ettore, V. Vullo, M. Andreotti, and M. Federico. 2009. DC contact with HIV-1-infected cells leads to high levels of Env-mediated virion endocytosis coupled with enhanced HIV-1 Ag presentation. *Eur. J. Immunol.* 39: 404-416.

522. Cavrois, M., J. Neidleman, J. F. Kreisberg, and W. C. Greene. 2007. In vitro derived dendritic cells trans-infect CD4 T cells primarily with surface-bound HIV-1 virions. *PLoS. Pathog.* 3: e4.
523. Groot, F., T. W. Kuijpers, B. Berkhout, and E. C. de Jong. 2006. Dendritic cell-mediated HIV-1 transmission to T cells of LAD-1 patients is impaired due to the defect in LFA-1. *Retrovirology.* 3: 75.
524. McDonald, D., L. Wu, S. M. Bohks, V. N. KewalRamani, D. Unutmaz, and T. J. Hope. 2003. Recruitment of HIV and its receptors to dendritic cell-T cell junctions. *Science* 300: 1295-1297.
525. Wang, J. H., C. Wells, and L. Wu. 2008. Macropinocytosis and cytoskeleton contribute to dendritic cell-mediated HIV-1 transmission to CD4⁺ T cells. *Virology* 381: 143-154.
526. Wang, J. H., C. Kwas, and L. Wu. 2009. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), but not ICAM-2 and -3, is important for dendritic cell-mediated human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J. Virol.* 83: 4195-4204.
527. Wiley, R. D., and S. Gummuluru. 2006. Immature dendritic cell-derived exosomes can mediate HIV-1 trans infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 738-743.
528. de Witte, L., A. Nabatov, M. Pion, D. Fluitsma, M. A. de Jong, G. T. de, V. Piguet, K. Y. van, and T. B. Geijtenbeek. 2007. Langerin is a natural barrier to HIV-1 transmission by Langerhans cells. *Nat. Med.* 13: 367-371.
529. Hladik, F., P. Sakchalathorn, L. Ballweber, G. Lentz, M. Fialkow, D. Eschenbach, and M. J. McElrath. 2007. Initial events in establishing vaginal entry and infection by human immunodeficiency virus type-1. *Immunity.* 26: 257-270.
530. Kawamura, T., F. O. Gulden, M. Sugaya, D. T. McNamara, D. L. Borris, M. M. Lederman, J. M. Orenstein, P. A. Zimmerman, and A. Blauvelt. 2003. R5 HIV productively infects Langerhans cells, and infection levels are regulated by compound CCR5 polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100: 8401-8406.
531. de Jong, M. A., W. L. de, M. J. Oudhoff, S. I. Gringhuis, P. Gallay, and T. B. Geijtenbeek. 2008. TNF-alpha and TLR agonists increase susceptibility to HIV-1 transmission by human Langerhans cells ex vivo. *J. Clin. Invest* 118: 3440-3452.
532. Soumelis, V., I. Scott, F. Gheyas, D. Bouhour, G. Cozon, L. Cotte, L. Huang, J. A. Levy, and Y. J. Liu. 2001. Depletion of circulating natural type 1 interferon-producing cells in HIV-infected AIDS patients. *Blood* 98: 906-912.
533. Feldman, S., D. Stein, S. Amrute, T. Denny, Z. Garcia, P. Kloser, Y. Sun, N. Megjugorac, and P. Fitzgerald-Bocarsly. 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: 201-210.
534. Kanga, I., S. Kahi, L. Develioglu, M. Lichtner, C. Maranon, C. Deveau, L. Meyer, C. Goujard, P. Lebon, M. Sinet, and A. Hosmalin. 2005. Type I interferon production is profoundly and transiently impaired in primary HIV-1 infection. *J. Infect. Dis.* 192: 303-310.
535. Brown, K. N., V. Wijewardana, X. Liu, and S. M. Barratt-Boyes. 2009. Rapid influx and death of plasmacytoid dendritic cells in lymph nodes mediate depletion in acute simian immunodeficiency virus infection. *PLoS. Pathog.* 5: e1000413.
536. Malleret, B., B. Maneglier, I. Karlsson, P. Lebon, M. Nascimbeni, L. Perie, P. Brochard, B. Delache, J. Calvo, T. Andrieu, O. Spreux-Varoquaux, A. Hosmalin, G. R. Le, and B. Vaslin. 2008. Primary infection with simian immunodeficiency virus: plasmacytoid dendritic cell homing to lymph nodes, type I interferon, and immune suppression. *Blood* 112: 4598-4608.
537. Nascimbeni, M., L. Perie, L. Chorro, S. Diocou, L. Kreitmann, S. Louis, L. Garderet, B. Fabiani, A. Berger, J. Schmitz, J. P. Marie, T. J. Molina, J. Pacanowski, J. P. Viard, E. Oksenhendler, S. Beq, O. Abehsira-Amar, R. Cheynier, and A. Hosmalin. 2009. Plasmacytoid dendritic cells accumulate in spleens from chronically HIV-infected patients but barely participate in interferon-alpha expression. *Blood* 113: 6112-6119.
538. Desai, S., A. Chaparro, H. Liu, P. Haslett, K. Arheart, G. Scott, R. Pahwa, and S. Pahwa. 2007. Impaired CCR7 expression on plasmacytoid dendritic cells of HIV-infected children and adolescents with immunologic and virologic failure. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 45: 501-507.
539. Almeida, M., M. Cordero, J. Almeida, and A. Orfao. 2006. Persistent abnormalities in peripheral blood dendritic cells and monocytes from HIV-1-positive patients after 1 year of antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 41: 405-415.
540. Almeida, M., M. Cordero, J. Almeida, and A. Orfao. 2007. Abnormal cytokine production by circulating monocytes and dendritic cells of myeloid origin in ART-treated HIV-1+ patients relates to CD4+ T-cell recovery and HCV co-infection. *Curr. HIV. Res.* 5: 325-336.
541. Chehimi, J., S. E. Starr, I. Frank, A. D'Andrea, X. Ma, R. R. MacGregor, J. Sennelier, and G. Trinchieri. 1994. Impaired interleukin 12 production in human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Exp. Med.* 179: 1361-1366.
542. Anthony, D. D., N. L. Yonkers, A. B. Post, R. Asaad, F. P. Heinzl, M. M. Lederman, P. V. Lehmann, and H. Valdez. 2004. Selective impairments in dendritic cell-associated function distinguish hepatitis C virus and HIV infection. *J. Immunol.* 172: 4907-4916.
543. Stevenson, M. 2003. HIV-1 pathogenesis. *Nat. Med.* 9: 853-860.

544. Williams, M. A., R. Trout, and S. A. Spector. 2002. HIV-1 gp120 modulates the immunological function and expression of accessory and co-stimulatory molecules of monocyte-derived dendritic cells. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 11: 829-847.
545. Yokozeki, H., K. Takayama, O. Ohki, T. Satoh, T. Umeda, I. Katayama, and K. Nishioka. 1998. Comparative analysis of CD80 and CD86 on human Langerhans cells: expression and function. *Arch. Dermatol. Res.* 290: 547-552.
546. Fahrback, K. M., S. M. Barry, M. R. Anderson, and T. J. Hope. 2010. Enhanced cellular responses and environmental sampling within inner foreskin explants: implications for the foreskin's role in HIV transmission. *Mucosal. Immunol.*
547. Hogue, I. B., S. H. Bajaria, B. A. Fallert, S. Qin, T. A. Reinhart, and D. E. Kirschner. 2008. The dual role of dendritic cells in the immune response to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Gen. Virol.* 89: 2228-2239.
548. Quaranta, M. G., B. Mattioli, L. Giordani, and M. Viora. 2004. HIV-1 Nef equips dendritic cells to reduce survival and function of CD8+ T cells: a mechanism of immune evasion. *FASEB J.* 18: 1459-1461.
549. Messmer, D., J. M. Jacque, C. Santisteban, C. Bristow, S. Y. Han, L. Villamide-Herrera, E. Mehlhop, P. A. Marx, R. M. Steinman, A. Gettie, and M. Pope. 2002. Endogenously expressed nef uncouples cytokine and chemokine production from membrane phenotypic maturation in dendritic cells. *J. Immunol.* 169: 4172-4182.
550. Quaranta, M. G., E. Tritarelli, L. Giordani, and M. Viora. 2002. HIV-1 Nef induces dendritic cell differentiation: a possible mechanism of uninfected CD4(+) T cell activation. *Exp. Cell Res.* 275: 243-254.
551. Messmer, D., J. Bromberg, G. Devgan, J. M. Jacque, A. Granelli-Piperno, and M. Pope. 2002. Human immunodeficiency virus type 1 Nef mediates activation of STAT3 in immature dendritic cells. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 18: 1043-1050.
552. Chaudhry, A., S. R. Das, A. Hussain, S. Mayor, A. George, V. Bal, S. Jameel, and S. Rath. 2005. The Nef protein of HIV-1 induces loss of cell surface costimulatory molecules CD80 and CD86 in APCs. *J. Immunol.* 175: 4566-4574.
553. Majumder, B., M. L. Janket, E. A. Schafer, K. Schaubert, X. L. Huang, J. Kan-Mitchell, C. R. Rinaldo, Jr., and V. Ayyavoo. 2005. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr impairs dendritic cell maturation and T-cell activation: implications for viral immune escape. *J. Virol.* 79: 7990-8003.
554. Muthumani, K., D. S. Hwang, A. Y. Choo, S. Mayilvahanan, N. S. Dayes, K. P. Thieu, and D. B. Weiner. 2005. HIV-1 Vpr inhibits the maturation and activation of macrophages and dendritic cells in vitro. *Int. Immunol.* 17: 103-116.

555. Buimovici-Klein, E., M. Lange, R. J. Klein, M. H. Grieco, and L. Z. Cooper. 1986. Long-term follow-up of serum-interferon and its acid-stability in a group of homosexual men. *AIDS Res.* 2: 99-108.
556. Gurney, K. B., A. D. Colantonio, B. Blom, H. Spits, and C. H. Uittenbogaart. 2004. Endogenous IFN-alpha production by plasmacytoid dendritic cells exerts an antiviral effect on thymic HIV-1 infection. *J. Immunol.* 173: 7269-7276.
557. Lehmann, C., J. M. Harper, D. Taubert, P. Hartmann, G. Fatkenheuer, N. Jung, L. J. van, H. J. Stellbrink, R. C. Gallo, and F. Romero. 2008. Increased interferon alpha expression in circulating plasmacytoid dendritic cells of HIV-1-infected patients. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 48: 522-530.
558. Meyers, J. H., J. S. Justement, C. W. Hallahan, E. T. Blair, Y. A. Sun, M. A. O'Shea, G. Roby, S. Kottlilil, S. Moir, C. M. Kovacs, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2007. Impact of HIV on cell survival and antiviral activity of plasmacytoid dendritic cells. *PLoS. One.* 2: e458.
559. Martinson, J. A., A. Roman-Gonzalez, A. R. Tenorio, C. J. Montoya, C. N. Gichinga, M. T. Rugeles, M. Tomai, A. M. Krieg, S. Ghanekar, L. L. Baum, and A. L. Landay. 2007. Dendritic cells from HIV-1 infected individuals are less responsive to toll-like receptor (TLR) ligands. *Cell Immunol.* 250: 75-84.
560. Beignon, A. S., K. McKenna, M. Skoberne, O. Manches, I. DaSilva, D. G. Kavanagh, M. Larsson, R. J. Gorelick, J. D. Lifson, and N. Bhardwaj. 2005. Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor-viral RNA interactions. *J. Clin. Invest* 115: 3265-3275.
561. Fonteneau, J. F., M. Larsson, A. S. Beignon, K. McKenna, I. DaSilva, A. Amara, Y. J. Liu, J. D. Lifson, D. R. Littman, and N. Bhardwaj. 2004. Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells. *J. Virol.* 78: 5223-5232.
562. Schmidt, B., B. M. Ashlock, H. Foster, S. H. Fujimura, and J. A. Levy. 2005. HIV-infected cells are major inducers of plasmacytoid dendritic cell interferon production, maturation, and migration. *Virology* 343: 256-266.
563. Lopez, C., P. A. Fitzgerald, and F. P. Siegal. 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: 962-966.
564. Siegal, F. P., C. Lopez, P. A. Fitzgerald, K. Shah, P. Baron, I. Z. Leiderman, D. Imperato, and S. Landesman. 1986. Opportunistic infections in acquired immune deficiency syndrome result from synergistic defects of both the natural and adaptive components of cellular immunity. *J. Clin. Invest* 78: 115-123.
565. Hardy, A. W., D. R. Graham, G. M. Shearer, and J. P. Herbeuval. 2007. HIV turns plasmacytoid dendritic cells (pDC) into TRAIL-expressing killer pDC and down-

- regulates HIV coreceptors by Toll-like receptor 7-induced IFN- α . *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104: 17453-17458.
566. Herbeuval, J. P., J. Nilsson, A. Boasso, A. W. Hardy, M. J. Kruhlak, S. A. Anderson, M. J. Dolan, M. Dy, J. Andersson, and G. M. Shearer. 2006. Differential expression of IFN- α and TRAIL/DR5 in lymphoid tissue of progressor versus nonprogressor HIV-1-infected patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 7000-7005.
567. Chehimi, J., E. Papasavvas, C. Tomescu, B. Gekonge, S. Abdulhaqq, A. Raymond, A. Hancock, K. Vinekar, C. Carty, G. Reynolds, M. Pistilli, K. Mounzer, J. Kostman, and L. J. Montaner. 2010. Inability of plasmacytoid dendritic cells to directly lyse HIV-infected autologous CD4⁺ T cells despite induction of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *J. Virol.* 84: 2762-2773.
568. Stary, G., I. Klein, S. Kohlhofer, F. Koszik, T. Scherzer, L. Mullauer, H. Quendler, N. Kohrgruber, and G. Stingl. 2009. Plasmacytoid dendritic cells express TRAIL and induce CD4⁺ T-cell apoptosis in HIV-1 viremic patients. *Blood* 114: 3854-3863.
569. Boasso, A., J. P. Herbeuval, A. W. Hardy, S. A. Anderson, M. J. Dolan, D. Fuchs, and G. M. Shearer. 2007. HIV inhibits CD4⁺ T-cell proliferation by inducing indoleamine 2,3-dioxygenase in plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 109: 3351-3359.
570. Manches, O., D. Munn, A. Fallahi, J. Lifson, L. Chaperot, J. Plumas, and N. Bhardwaj. 2008. HIV-activated human plasmacytoid DCs induce Tregs through an indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent mechanism. *J. Clin. Invest* 118: 3431-3439.
571. Fiorentini, S., E. Riboldi, F. Facchetti, M. Avolio, M. Fabbri, G. Tosti, P. D. Becker, C. A. Guzman, S. Sozzani, and A. Caruso. 2008. HIV-1 matrix protein p17 induces human plasmacytoid dendritic cells to acquire a migratory immature cell phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 105: 3867-3872.
572. Del, C. M., M. C. Gauzzi, G. Penna, F. Belardelli, L. Adorini, and S. Gessani. 2005. Human immunodeficiency virus type 1 gp120 and other activation stimuli are highly effective in triggering alpha interferon and CC chemokine production in circulating plasmacytoid but not myeloid dendritic cells. *J. Virol.* 79: 12597-12601.
573. Sonza, S., A. Maerz, N. Deacon, J. Meanger, J. Mills, and S. Crowe. 1996. Human immunodeficiency virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes. *J. Virol.* 70: 3863-3869.
574. Triques, K., and M. Stevenson. 2004. Characterization of restrictions to human immunodeficiency virus type 1 infection of monocytes. *J. Virol.* 78: 5523-5527.
575. Lambotte, O., Y. Taoufik, M. G. de Goer, C. Wallon, C. Goujard, and J. F. Delfraissy. 2000. Detection of infectious HIV in circulating monocytes from patients on prolonged highly active antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 23: 114-119.

576. McElrath, M. J., R. M. Steinman, and Z. A. Cohn. 1991. Latent HIV-1 infection in enriched populations of blood monocytes and T cells from seropositive patients. *J. Clin. Invest* 87: 27-30.
577. Mikovits, J. A., N. C. Lohrey, R. Schulof, J. Courtless, and F. W. Ruscetti. 1992. Activation of infectious virus from latent human immunodeficiency virus infection of monocytes in vivo. *J. Clin. Invest* 90: 1486-1491.
578. Sonza, S., H. P. Mutimer, R. Oelrichs, D. Jardine, K. Harvey, A. Dunne, D. F. Purcell, C. Birch, and S. M. Crowe. 2001. Monocytes harbour replication-competent, non-latent HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 15: 17-22.
579. Zhu, T., D. Muthui, S. Holte, D. Nickle, F. Feng, S. Brodie, Y. Hwangbo, J. I. Mullins, and L. Corey. 2002. Evidence for human immunodeficiency virus type 1 replication in vivo in CD14(+) monocytes and its potential role as a source of virus in patients on highly active antiretroviral therapy. *J. Virol.* 76: 707-716.
580. Boasso, A., A. W. Hardy, A. L. Landay, J. L. Martinson, S. A. Anderson, M. J. Dolan, M. Clerici, and G. M. Shearer. 2008. PDL-1 upregulation on monocytes and T cells by HIV via type I interferon: restricted expression of type I interferon receptor by CCR5-expressing leukocytes. *Clin. Immunol.* 129: 132-144.
581. Meier, A., A. Bagchi, H. K. Sidhu, G. Alter, T. J. Suscovich, D. G. Kavanagh, H. Streeck, M. A. Brockman, S. LeGall, J. Hellman, and M. Altfeld. 2008. Upregulation of PD-L1 on monocytes and dendritic cells by HIV-1 derived TLR ligands. *AIDS* 22: 655-658.
582. Sharpe, A. H., E. J. Wherry, R. Ahmed, and G. J. Freeman. 2007. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat. Immunol.* 8: 239-245.
583. Said, E. A., F. P. Dupuy, L. Trautmann, Y. Zhang, Y. Shi, M. El-Far, B. J. Hill, A. Noto, P. Ancuta, Y. Peretz, S. G. Fonseca, G. J. Van, M. R. Boulassel, J. Bruneau, N. H. Shoukry, J. P. Routy, D. C. Douek, E. K. Haddad, and R. P. Sekaly. 2010. Programmed death-1-induced interleukin-10 production by monocytes impairs CD4+ T cell activation during HIV infection. *Nat. Med.* 16: 452-459.
584. Brigino, E., S. Haraguchi, A. Koutsonikolis, G. J. Cianciolo, U. Owens, R. A. Good, and N. K. Day. 1997. Interleukin 10 is induced by recombinant HIV-1 Nef protein involving the calcium/calmodulin-dependent phosphodiesterase signal transduction pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 94: 3178-3182.
585. Tangsinmankong, N., N. K. Day, R. A. Good, and S. Haraguchi. 2000. Monocytes are target cells for IL-10 induction by HIV-1 Nef protein. *Cytokine* 12: 1506-1511.
586. Creery, D., J. B. Angel, S. Aucoin, W. Weiss, W. D. Cameron, F. Diaz-Mitoma, and A. Kumar. 2002. Nef protein of human immunodeficiency virus and lipopolysaccharide

- induce expression of CD14 on human monocytes through differential utilization of interleukin-10. *Clin. Diagn. Lab Immunol.* 9: 1212-1221.
587. Tangsinmankong, N., N. K. Day, R. A. Good, and S. Haraguchi. 2002. Different mechanisms are utilized by HIV-1 Nef and staphylococcal enterotoxin A to control and regulate interleukin-10 production. *Immunol. Lett.* 84: 97-101.
588. Ji, J., G. K. Sahu, V. L. Braciale, and M. W. Cloyd. 2005. HIV-1 induces IL-10 production in human monocytes via a CD4-independent pathway. *Int. Immunol.* 17: 729-736.
589. Leghmari, K., Y. Bennasser, and E. Bahraoui. 2008. HIV-1 Tat protein induces IL-10 production in monocytes by classical and alternative NF-kappaB pathways. *Eur. J. Cell Biol.* 87: 947-962.
590. Leghmari, K., Y. Bennasser, J. Tkaczuk, and E. Bahraoui. 2008. HIV-1 Tat protein induces IL-10 production by an alternative TNF-alpha-independent pathway in monocytes: role of PKC-delta and p38 MAP kinase. *Cell Immunol.* 253: 45-53.
591. Marini, E., L. Tiberio, S. Caracciolo, G. Tosti, C. A. Guzman, L. Schiaffonati, S. Fiorentini, and A. Caruso. 2008. HIV-1 matrix protein p17 binds to monocytes and selectively stimulates MCP-1 secretion: role of transcriptional factor AP-1. *Cell Microbiol.* 10: 655-666.
592. Allen, J. B., H. L. Wong, P. M. Guyre, G. L. Simon, and S. M. Wahl. 1991. Association of circulating receptor Fc gamma RIII-positive monocytes in AIDS patients with elevated levels of transforming growth factor-beta. *J. Clin. Invest* 87: 1773-1779.
593. Locher, C., G. Vanham, L. Kestens, M. Kruger, J. L. Ceuppens, J. Vingerhoets, and P. Gigase. 1994. Expression patterns of Fc gamma receptors, HLA-DR and selected adhesion molecules on monocytes from normal and HIV-infected individuals. *Clin. Exp. Immunol.* 98: 115-122.
594. Pulliam, L., R. Gascon, M. Stubblebine, D. McGuire, and M. S. McGrath. 1997. Unique monocyte subset in patients with AIDS dementia. *Lancet* 349: 692-695.
595. Thieblemont, N., L. Weiss, H. M. Sadeghi, C. Estcourt, and N. Haeffner-Cavaillon. 1995. CD14^{low}CD16^{high}: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. *Eur. J. Immunol.* 25: 3418-3424.
596. Han, J., B. Wang, N. Han, Y. Zhao, C. Song, X. Feng, Y. Mao, F. Zhang, H. Zhao, and H. Zeng. 2009. CD14^(high)CD16⁽⁺⁾ rather than CD14^(low)CD16⁽⁺⁾ monocytes correlate with disease progression in chronic HIV-infected patients. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 52: 553-559.
597. Amirayan-Chevillard, N., H. Tissot-Dupont, C. Capo, C. Brunet, F. Dignat-George, Y. Obadia, H. Gallais, and J. L. Mege. 2000. Impact of highly active anti-retroviral

- therapy (HAART) on cytokine production and monocyte subsets in HIV-infected patients. *Clin. Exp. Immunol.* 120: 107-112.
598. Fischer-Smith, T., S. Croul, A. E. Sverstiuk, C. Capini, D. L'Heureux, E. G. Regulier, M. W. Richardson, S. Amini, S. Morgello, K. Khalili, and J. Rappaport. 2001. CNS invasion by CD14+/CD16+ peripheral blood-derived monocytes in HIV dementia: perivascular accumulation and reservoir of HIV infection. *J. Neurovirol.* 7: 528-541.
599. Williams, K., S. Westmoreland, J. Greco, E. Ratai, M. Lentz, W. K. Kim, R. A. Fuller, J. P. Kim, P. Autissier, P. K. Sehgal, R. F. Schinazi, N. Bischofberger, M. Piatak, J. D. Lifson, E. Masliah, and R. G. Gonzalez. 2005. Magnetic resonance spectroscopy reveals that activated monocytes contribute to neuronal injury in SIV neuroAIDS. *J. Clin. Invest* 115: 2534-2545.
600. Acosta-Rodriguez, E. V., M. C. Merino, C. L. Montes, C. C. Motran, and A. Gruppi. 2007. Cytokines and chemokines shaping the B-cell compartment. *Cytokine Growth Factor Rev.* 18: 73-83.
601. Oettinger, M. A., D. G. Schatz, C. Gorka, and D. Baltimore. 1990. RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science* 248: 1517-1523.
602. Schatz, D. G., M. A. Oettinger, and D. Baltimore. 1989. The V(D)J recombination activating gene, RAG-1. *Cell* 59: 1035-1048.
603. Karasuyama, H., A. Kudo, and F. Melchers. 1990. The proteins encoded by the VpreB and lambda 5 pre-B cell-specific genes can associate with each other and with mu heavy chain. *J. Exp. Med.* 172: 969-972.
604. Kerr, W. G., M. D. Cooper, L. Feng, P. D. Burrows, and L. M. Hendershot. 1989. Mu heavy chains can associate with a pseudo-light chain complex (psi L) in human pre-B cell lines. *Int. Immunol.* 1: 355-361.
605. Tsubata, T., and M. Reth. 1990. The products of pre-B cell-specific genes (lambda 5 and VpreB) and the immunoglobulin mu chain form a complex that is transported onto the cell surface. *J. Exp. Med.* 172: 973-976.
606. Bankovich, A. J., S. Raunser, Z. S. Juo, T. Walz, M. M. Davis, and K. C. Garcia. 2007. Structural insight into pre-B cell receptor function. *Science* 316: 291-294.
607. Monroe, J. G. 2004. Ligand-independent tonic signaling in B-cell receptor function. *Curr. Opin. Immunol.* 16: 288-295.
608. Rowland, S. L., K. F. Leahy, R. Halverson, R. M. Torres, and R. Pelanda. 2010. BAFF receptor signaling aids the differentiation of immature B cells into transitional B cells following tonic BCR signaling. *J. Immunol.* 185: 4570-4581.

609. Wardemann, H., S. Yurasov, A. Schaefer, J. W. Young, E. Meffre, and M. C. Nussenzweig. 2003. Predominant autoantibody production by early human B cell precursors. *Science* 301: 1374-1377.
610. Tiegs, S. L., D. M. Russell, and D. Nemazee. 1993. Receptor editing in self-reactive bone marrow B cells. *J. Exp. Med.* 177: 1009-1020.
611. Gay, D., T. Saunders, S. Camper, and M. Weigert. 1993. Receptor editing: an approach by autoreactive B cells to escape tolerance. *J. Exp. Med.* 177: 999-1008.
612. Casellas, R., T. A. Shih, M. Kleinewietfeld, J. Rakonjac, D. Nemazee, K. Rajewsky, and M. C. Nussenzweig. 2001. Contribution of receptor editing to the antibody repertoire. *Science* 291: 1541-1544.
613. Chen, C., Z. Nagy, E. L. Prak, and M. Weigert. 1995. Immunoglobulin heavy chain gene replacement: a mechanism of receptor editing. *Immunity*. 3: 747-755.
614. Prak, E. L., and M. Weigert. 1995. Light chain replacement: a new model for antibody gene rearrangement. *J. Exp. Med.* 182: 541-548.
615. Palanichamy, A., J. Barnard, B. Zheng, T. Owen, T. Quach, C. Wei, R. J. Looney, I. Sanz, and J. H. Anolik. 2009. Novel human transitional B cell populations revealed by B cell depletion therapy. *J. Immunol.* 182: 5982-5993.
616. Suryani, S., D. A. Fulcher, B. Santner-Nanan, R. Nanan, M. Wong, P. J. Shaw, J. Gibson, A. Williams, and S. G. Tangye. 2010. Differential expression of CD21 identifies developmentally and functionally distinct subsets of human transitional B cells. *Blood* 115: 519-529.
617. Sims, G. P., R. Ettinger, Y. Shirota, C. H. Yarboro, G. G. Illei, and P. E. Lipsky. 2005. Identification and characterization of circulating human transitional B cells. *Blood* 105: 4390-4398.
618. Schiemann, B., J. L. Gommerman, K. Vora, T. G. Cachero, S. Shulga-Morskaya, M. Dobles, E. Frew, and M. L. Scott. 2001. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science* 293: 2111-2114.
619. Lesley, R., Y. Xu, S. L. Kalled, D. M. Hess, S. R. Schwab, H. B. Shu, and J. G. Cyster. 2004. Reduced competitiveness of autoantigen-engaged B cells due to increased dependence on BAFF. *Immunity*. 20: 441-453.
620. Thien, M., T. G. Phan, S. Gardam, M. Amesbury, A. Basten, F. Mackay, and R. Brink. 2004. Excess BAFF rescues self-reactive B cells from peripheral deletion and allows them to enter forbidden follicular and marginal zone niches. *Immunity*. 20: 785-798.
621. Srivastava, B., W. J. Quinn, III, K. Hazard, J. Erikson, and D. Allman. 2005. Characterization of marginal zone B cell precursors. *J. Exp. Med.* 202: 1225-1234.

622. Suarez, F., O. Lortholary, O. Hermine, and M. Lecuit. 2006. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* 107: 3034-3044.
623. Benson, M. J., L. D. Erickson, M. W. Gleeson, and R. J. Noelle. 2007. Affinity of antigen encounter and other early B-cell signals determine B-cell fate. *Curr. Opin. Immunol.* 19: 275-280.
624. O'Connor, B. P., L. A. Vogel, W. Zhang, W. Loo, D. Shnider, E. F. Lind, M. Ratliff, R. J. Noelle, and L. D. Erickson. 2006. Imprinting the fate of antigen-reactive B cells through the affinity of the B cell receptor. *J. Immunol.* 177: 7723-7732.
625. Paus, D., T. G. Phan, T. D. Chan, S. Gardam, A. Basten, and R. Brink. 2006. Antigen recognition strength regulates the choice between extrafollicular plasma cell and germinal center B cell differentiation. *J. Exp. Med.* 203: 1081-1091.
626. Goodnow, C. C., C. G. Vinuesa, K. L. Randall, F. Mackay, and R. Brink. 2010. Control systems and decision making for antibody production. *Nat. Immunol.* 11: 681-688.
627. Bergqvist, P., A. Stensson, N. Y. Lycke, and M. Bemark. 2010. T cell-independent IgA class switch recombination is restricted to the GALT and occurs prior to manifest germinal center formation. *J. Immunol.* 184: 3545-3553.
628. MacLennan, I. C., A. Gulbranson-Judge, K. M. Toellner, M. Casamayor-Palleja, E. Chan, D. M. Sze, S. A. Luther, and H. A. Orbea. 1997. The changing preference of T and B cells for partners as T-dependent antibody responses develop. *Immunol. Rev.* 156: 53-66.
629. Gulbranson-Judge, A., M. Casamayor-Palleja, and I. C. MacLennan. 1997. Mutually dependent T and B cell responses in germinal centers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 815: 199-210.
630. Miga, A., S. Masters, M. Gonzalez, and R. J. Noelle. 2000. The role of CD40-CD154 interactions in the regulation of cell mediated immunity. *Immunol. Invest* 29: 111-114.
631. Han, S., K. Hathcock, B. Zheng, T. B. Kepler, R. Hodes, and G. Kelsoe. 1995. Cellular interaction in germinal centers. Roles of CD40 ligand and B7-2 in established germinal centers. *J. Immunol.* 155: 556-567.
632. Elgueta, R., M. J. Benson, V. C. de Vries, A. Wasiuk, Y. Guo, and R. J. Noelle. 2009. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. *Immunol. Rev.* 229: 152-172.
633. Klein, U., and R. Dalla-Favera. 2008. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat. Rev. Immunol.* 8: 22-33.

634. Liu, Y. J., D. E. Joshua, G. T. Williams, C. A. Smith, J. Gordon, and I. C. MacLennan. 1989. Mechanism of antigen-driven selection in germinal centres. *Nature* 342: 929-931.
635. Jacob, J., G. Kelsoe, K. Rajewsky, and U. Weiss. 1991. Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centres. *Nature* 354: 389-392.
636. Berek, C., A. Berger, and M. Apel. 1991. Maturation of the immune response in germinal centers. *Cell* 67: 1121-1129.
637. Park, C. S., and Y. S. Choi. 2005. How do follicular dendritic cells interact intimately with B cells in the germinal centre? *Immunology* 114: 2-10.
638. Raman, V. S., E. F. Lind, M. J. Benson, and R. J. Noelle. 2007. Strategies for selective priming of memory B cells. *Immunol. Lett.* 109: 93-100.
639. Benson, M. J., R. Elgueta, W. Schpero, M. Molloy, W. Zhang, E. Usherwood, and R. J. Noelle. 2009. Distinction of the memory B cell response to cognate antigen versus bystander inflammatory signals. *J. Exp. Med.* 206: 2013-2025.
640. Avery, D. T., J. I. Ellyard, F. Mackay, L. M. Corcoran, P. D. Hodgkin, and S. G. Tangye. 2005. Increased expression of CD27 on activated human memory B cells correlates with their commitment to the plasma cell lineage. *J. Immunol.* 174: 4034-4042.
641. Choi, Y. S. 1997. Differentiation and apoptosis of human germinal center B-lymphocytes. *Immunol. Res.* 16: 161-174.
642. Kopf, M., S. Herren, M. V. Wiles, M. B. Pepys, and M. H. Kosco-Vilbois. 1998. Interleukin 6 influences germinal center development and antibody production via a contribution of C3 complement component. *J. Exp. Med.* 188: 1895-1906.
643. Agematsu, K., S. Hokibara, H. Nagumo, K. Shinozaki, S. Yamada, and A. Komiyama. 1999. Plasma cell generation from B-lymphocytes via CD27/CD70 interaction. *Leuk. Lymphoma* 35: 219-225.
644. Franklin, E. C. 1975. Structure and function of immunoglobulins. *Acta Endocrinol. Suppl (Copenh)* 194: 77-95.
645. Bryant, V. L., C. S. Ma, D. T. Avery, Y. Li, K. L. Good, L. M. Corcoran, M. R. de Waal, and S. G. Tangye. 2007. Cytokine-mediated regulation of human B cell differentiation into Ig-secreting cells: predominant role of IL-21 produced by CXCR5+ T follicular helper cells. *J. Immunol.* 179: 8180-8190.
646. Ettinger, R., G. P. Sims, A. M. Fairhurst, R. Robbins, Y. S. da Silva, R. Spolski, W. J. Leonard, and P. E. Lipsky. 2005. IL-21 induces differentiation of human naive and memory B cells into antibody-secreting plasma cells. *J. Immunol.* 175: 7867-7879.

647. Pene, J., J. F. Gauchat, S. Lecart, E. Drouet, P. Guglielmi, V. Boulay, A. Delwail, D. Foster, J. C. Lecron, and H. Yssel. 2004. Cutting edge: IL-21 is a switch factor for the production of IgG1 and IgG3 by human B cells. *J. Immunol.* 172: 5154-5157.
648. Kuchen, S., R. Robbins, G. P. Sims, C. Sheng, T. M. Phillips, P. E. Lipsky, and R. Ettinger. 2007. Essential role of IL-21 in B cell activation, expansion, and plasma cell generation during CD4+ T cell-B cell collaboration. *J. Immunol.* 179: 5886-5896.
649. Zan, H., A. Cerutti, P. Dramitinos, A. Schaffer, and P. Casali. 1998. CD40 engagement triggers switching to IgA1 and IgA2 in human B cells through induction of endogenous TGF-beta: evidence for TGF-beta but not IL-10-dependent direct S mu-->S alpha and sequential S mu-->S gamma, S gamma-->S alpha DNA recombination. *J. Immunol.* 161: 5217-5225.
650. Cerutti, A., H. Zan, A. Schaffer, L. Bergsagel, N. Harindranath, E. E. Max, and P. Casali. 1998. CD40 ligand and appropriate cytokines induce switching to IgG, IgA, and IgE and coordinated germinal center and plasmacytoid phenotypic differentiation in a human monoclonal IgM+IgD+ B cell line. *J. Immunol.* 160: 2145-2157.
651. Snapper, C. M., and W. E. Paul. 1987. Interferon-gamma and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production. *Science* 236: 944-947.
652. Malisan, F., F. Briere, J. M. Bridon, N. Harindranath, F. C. Mills, E. E. Max, J. Banchereau, and H. Martinez-Valdez. 1996. Interleukin-10 induces immunoglobulin G isotype switch recombination in human CD40-activated naive B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 183: 937-947.
653. Cazac, B. B., and J. Roes. 2000. TGF-beta receptor controls B cell responsiveness and induction of IgA in vivo. *Immunity.* 13: 443-451.
654. Kim, K. M., and M. Reth. 1995. Signaling difference between class IgM and IgD antigen receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 766: 81-88.
655. Geisberger, R., M. Lamers, and G. Achatz. 2006. The riddle of the dual expression of IgM and IgD. *Immunology* 118: 429-437.
656. Boes, M. 2000. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. *Mol. Immunol.* 37: 1141-1149.
657. Chen, K., W. Xu, M. Wilson, B. He, N. W. Miller, E. Bengten, E. S. Edholm, P. A. Santini, P. Rath, A. Chiu, M. Cattalini, J. Litzman, B. Bussel, B. Huang, A. Meini, K. Riesbeck, C. Cunningham-Rundles, A. Plebani, and A. Cerutti. 2009. Immunoglobulin D enhances immune surveillance by activating antimicrobial, proinflammatory and B cell-stimulating programs in basophils. *Nat. Immunol.* 10: 889-898.

658. Neuberger, M. S., M. R. Ehrenstein, C. Rada, J. Sale, F. D. Batista, G. Williams, and C. Milstein. 2000. Memory in the B-cell compartment: antibody affinity maturation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 355: 357-360.
659. Underdown, B. J., and J. M. Schiff. 1986. Immunoglobulin A: strategic defense initiative at the mucosal surface. *Annu. Rev. Immunol.* 4: 389-417.
660. Billian, G., C. Bella, P. Mondiere, and T. Defrance. 1996. Identification of a tonsil IgD+ B cell subset with phenotypical and functional characteristics of germinal center B cells. *Eur. J. Immunol.* 26: 1712-1719.
661. Dullaers, M., D. Li, Y. Xue, L. Ni, I. Gayet, R. Morita, H. Ueno, K. A. Palucka, J. Banchereau, and S. Oh. 2009. A T cell-dependent mechanism for the induction of human mucosal homing immunoglobulin A-secreting plasmablasts. *Immunity.* 30: 120-129.
662. Macpherson, A. J., and T. Uhr. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 303: 1662-1665.
663. Kumararatne, D. S., and I. C. MacLennan. 1982. The origin of marginal-zone cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 149: 83-90.
664. Kumararatne, D. S., I. C. MacLennan, H. Bazin, and D. Gray. 1982. Marginal zones: the largest B cell compartment of the rat spleen. *Adv. Exp. Med. Biol.* 149: 67-73.
665. Dono, M., S. Zupo, N. Leanza, G. Melioli, M. Fogli, A. Melagrana, N. Chiorazzi, and M. Ferrarini. 2000. Heterogeneity of tonsillar subepithelial B lymphocytes, the splenic marginal zone equivalents. *J. Immunol.* 164: 5596-5604.
666. Liu, Y. J., C. Barthelemy, B. O. de, C. Arpin, I. Durand, and J. Banchereau. 1995. Memory B cells from human tonsils colonize mucosal epithelium and directly present antigen to T cells by rapid up-regulation of B7-1 and B7-2. *Immunity.* 2: 239-248.
667. Spencer, J., T. Finn, K. A. Pulford, D. Y. Mason, and P. G. Isaacson. 1985. The human gut contains a novel population of B lymphocytes which resemble marginal zone cells. *Clin. Exp. Immunol.* 62: 607-612.
668. Mebius, R. E., and G. Kraal. 2005. Structure and function of the spleen. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 606-616.
669. Weller, S., M. C. Braun, B. K. Tan, A. Rosenwald, C. Cordier, M. E. Conley, A. Plebani, D. S. Kumararatne, D. Bonnet, O. Tournilhac, G. Tchernia, B. Steiniger, L. M. Staudt, J. L. Casanova, C. A. Reynaud, and J. C. Weill. 2004. Human blood IgM "memory" B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire. *Blood* 104: 3647-3654.

670. Bergtold, A., D. D. Desai, A. Gavhane, and R. Clynes. 2005. Cell surface recycling of internalized antigen permits dendritic cell priming of B cells. *Immunity*. 23: 503-514.
671. Qi, H., J. G. Egen, A. Y. Huang, and R. N. Germain. 2006. Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells. *Science* 312: 1672-1676.
672. Li, Y., H. Li, and M. Weigert. 2002. Autoreactive B cells in the marginal zone that express dual receptors. *J. Exp. Med.* 195: 181-188.
673. Lopes-Carvalho, T., and J. F. Kearney. 2004. Development and selection of marginal zone B cells. *Immunol. Rev.* 197: 192-205.
674. Tsuiji, M., S. Yurasov, K. Velinzon, S. Thomas, M. C. Nussenzweig, and H. Wardemann. 2006. A checkpoint for autoreactivity in human IgM⁺ memory B cell development. *J. Exp. Med.* 203: 393-400.
675. Weill, J. C., S. Weller, and C. A. Reynaud. 2009. Human marginal zone B cells. *Annu. Rev. Immunol.* 27: 267-285.
676. Balazs, M., F. Martin, T. Zhou, and J. Kearney. 2002. Blood dendritic cells interact with splenic marginal zone B cells to initiate T-independent immune responses. *Immunity*. 17: 341-352.
677. Tierens, A., J. Delabie, L. Michiels, P. Vandenberghe, and C. De Wolf-Peeters. 1999. Marginal-zone B cells in the human lymph node and spleen show somatic hypermutations and display clonal expansion. *Blood* 93: 226-234.
678. Tian, C., G. K. Luskin, K. M. Dischert, J. N. Higginbotham, B. E. Shepherd, and J. E. Crowe, Jr. 2007. Evidence for preferential Ig gene usage and differential TdT and exonuclease activities in human naive and memory B cells. *Mol. Immunol.* 44: 2173-2183.
679. Weller, S., A. Faili, C. Garcia, M. C. Braun, F. F. Le Deist, G. G. de Saint Basile, O. Hermine, A. Fischer, C. A. Reynaud, and J. C. Weill. 2001. CD40-CD40L independent Ig gene hypermutation suggests a second B cell diversification pathway in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98: 1166-1170.
680. Ettinger, R., G. P. Sims, R. Robbins, D. Withers, R. T. Fischer, A. C. Grammer, S. Kuchen, and P. E. Lipsky. 2007. IL-21 and BAFF/BLyS synergize in stimulating plasma cell differentiation from a unique population of human splenic memory B cells. *J. Immunol.* 178: 2872-2882.
681. Tangye, S. G., Y. J. Liu, G. Aversa, J. H. Phillips, and J. E. de Vries. 1998. Identification of functional human splenic memory B cells by expression of CD148 and CD27. *J. Exp. Med.* 188: 1691-1703.
682. Kaminski, D. A., and J. Stavnezer. 2006. Enhanced IgA class switching in marginal zone and B1 B cells relative to follicular/B2 B cells. *J. Immunol.* 177: 6025-6029.

683. MacLennan, I. C. 2008. B cells: the follicular dimension of the marginal zone. *Immunol. Cell Biol.* 86: 219-220.
684. Cinamon, G., M. A. Zachariah, O. M. Lam, F. W. Foss, Jr., and J. G. Cyster. 2008. Follicular shuttling of marginal zone B cells facilitates antigen transport. *Nat. Immunol.* 9: 54-62.
685. He, B., W. Xu, P. A. Santini, A. D. Polydorides, A. Chiu, J. Estrella, M. Shan, A. Chadburn, V. Villanacci, A. Plebani, D. M. Knowles, M. Rescigno, and A. Cerutti. 2007. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity.* 26: 812-826.
686. Shlomchik, M. J. 2008. Sites and stages of autoreactive B cell activation and regulation. *Immunity.* 28: 18-28.
687. Cerutti, A., and M. Rescigno. 2008. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity.* 28: 740-750.
688. Fagarasan, S., K. Kinoshita, M. Muramatsu, K. Ikuta, and T. Honjo. 2001. In situ class switching and differentiation to IgA-producing cells in the gut lamina propria. *Nature* 413: 639-643.
689. Fagarasan, S., S. Kawamoto, O. Kanagawa, and K. Suzuki. 2010. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annu. Rev. Immunol.* 28: 243-273.
690. Fagarasan, S. 2008. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Curr. Opin. Immunol.* 20: 170-177.
691. Bergtold, A., D. D. Desai, A. Gavhane, and R. Clynes. 2005. Cell surface recycling of internalized antigen permits dendritic cell priming of B cells. *Immunity.* 23: 503-514.
692. Xu, W., B. He, A. Chiu, A. Chadburn, M. Shan, M. Buldys, A. Ding, D. M. Knowles, P. A. Santini, and A. Cerutti. 2007. Epithelial cells trigger frontline immunoglobulin class switching through a pathway regulated by the inhibitor SLPI. *Nat. Immunol.* 8: 294-303.
693. Poeck, H., M. Wagner, J. Battiany, S. Rothenfusser, D. Wellisch, V. Hornung, B. Jahrsdorfer, T. Giese, S. Endres, and G. Hartmann. 2004. Plasmacytoid dendritic cells, antigen, and CpG-C license human B cells for plasma cell differentiation and immunoglobulin production in the absence of T-cell help. *Blood* 103: 3058-3064.
694. Shaw, J., Y. H. Wang, T. Ito, K. Arima, and Y. J. Liu. 2010. Plasmacytoid dendritic cells regulate B-cell growth and differentiation via CD70. *Blood* 115: 3051-3057.
695. Lesinski, G. B., and M. A. Westerink. 2001. Novel vaccine strategies to T-independent antigens. *J. Microbiol. Methods* 47: 135-149.

696. Groom, J., S. L. Kalled, A. H. Cutler, C. Olson, S. A. Woodcock, P. Schneider, J. Tschopp, T. G. Cachero, M. Batten, J. Wheway, D. Mauri, D. Cavill, T. P. Gordon, C. R. Mackay, and F. Mackay. 2002. Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome. *J. Clin. Invest* 109: 59-68.
697. Varin, M. M., P. L. Le, P. Youinou, D. Saulep, F. Mackay, and J. O. Pers. 2010. B-cell tolerance breakdown in Sjogren's syndrome: focus on BAFF. *Autoimmun. Rev.* 9: 604-608.
698. Kouskoff, V., G. Lacaud, K. Pape, M. Retter, and D. Nemazee. 2000. B cell receptor expression level determines the fate of developing B lymphocytes: receptor editing versus selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 97: 7435-7439.
699. Hippen, K. L., B. R. Schram, L. E. Tze, K. A. Pape, M. K. Jenkins, and T. W. Behrens. 2005. In vivo assessment of the relative contributions of deletion, anergy, and editing to B cell self-tolerance. *J. Immunol.* 175: 909-916.
700. Hartley, S. B., J. Crosbie, R. Brink, A. B. Kantor, A. Basten, and C. C. Goodnow. 1991. Elimination from peripheral lymphoid tissues of self-reactive B lymphocytes recognizing membrane-bound antigens. *Nature* 353: 765-769.
701. Nemazee, D., V. Kouskoff, M. Hertz, J. Lang, D. Melamed, K. Pape, and M. Retter. 2000. B-cell-receptor-dependent positive and negative selection in immature B cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 245: 57-71.
702. Fulcher, D. A., A. B. Lyons, S. L. Korn, M. C. Cook, C. Koleda, C. Parish, G. B. Fazekas de St, and A. Basten. 1996. The fate of self-reactive B cells depends primarily on the degree of antigen receptor engagement and availability of T cell help. *J. Exp. Med.* 183: 2313-2328.
703. Lang, J., and D. Nemazee. 2000. B cell clonal elimination induced by membrane-bound self-antigen may require repeated antigen encounter or cell competition. *Eur. J. Immunol.* 30: 689-696.
704. Cambier, J. C., and A. Getahun. 2010. B cell activation versus anergy; the antigen receptor as a molecular switch. *Immunol. Lett.* 128: 6-7.
705. Goodnow, C. C., J. Crosbie, S. Adelstein, T. B. Lavoie, S. J. Smith-Gill, R. A. Brink, H. Pritchard-Briscoe, J. S. Wotherspoon, R. H. Loblay, K. Raphael, and . 1988. Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice. *Nature* 334: 676-682.
706. Gauld, S. B., K. T. Merrell, and J. C. Cambier. 2006. Silencing of autoreactive B cells by anergy: a fresh perspective. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 292-297.
707. O'Neill, S. K., M. L. Veselits, M. Zhang, C. Labno, Y. Cao, A. Finnegan, M. Uccellini, M. L. Alegre, J. C. Cambier, and M. R. Clark. 2009. Endocytic sequestration of the B

- cell antigen receptor and toll-like receptor 9 in anergic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106: 6262-6267.
708. Getahun, A., S. K. O'Neill, and J. C. Cambier. 2009. Establishing anergy as a bona fide in vivo mechanism of B cell tolerance. *J. Immunol.* 183: 5439-5441.
709. Merrell, K. T., R. J. Benschop, S. B. Gauld, K. Aviszus, D. Decote-Ricardo, L. J. Wysocki, and J. C. Cambier. 2006. Identification of anergic B cells within a wild-type repertoire. *Immunity.* 25: 953-962.
710. Ekland, E. H., R. Forster, M. Lipp, and J. G. Cyster. 2004. Requirements for follicular exclusion and competitive elimination of autoantigen-binding B cells. *J. Immunol.* 172: 4700-4708.
711. Tiller, T., M. Tsuiji, S. Yurasov, K. Velinzon, M. C. Nussenzweig, and H. Wardemann. 2007. Autoreactivity in human IgG⁺ memory B cells. *Immunity.* 26: 205-213.
712. Kouskoff, V., G. Lacaud, and D. Nemazee. 2000. T cell-independent rescue of B lymphocytes from peripheral immune tolerance. *Science* 287: 2501-2503.
713. Gavin, A., D. Ait-Azzouzene, A. Martensson, B. Duong, L. Verkoczy, J. L. Skog, P. Skog, and D. Nemazee. 2004. Peripheral B lymphocyte tolerance. *Keio J. Med.* 53: 151-158.
714. Chan, O. T., M. P. Madaio, and M. J. Shlomchik. 1999. The central and multiple roles of B cells in lupus pathogenesis. *Immunol. Rev.* 169: 107-121.
715. Chan, O. T., L. G. Hannum, A. M. Haberman, M. P. Madaio, and M. J. Shlomchik. 1999. A novel mouse with B cells but lacking serum antibody reveals an antibody-independent role for B cells in murine lupus. *J. Exp. Med.* 189: 1639-1648.
716. Edwards, J. C., L. Szczepanski, J. Szechinski, A. Filipowicz-Sosnowska, P. Emery, D. R. Close, R. M. Stevens, and T. Shaw. 2004. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 350: 2572-2581.
717. Hu, C. Y., D. Rodriguez-Pinto, W. Du, A. Ahuja, O. Henegariu, F. S. Wong, M. J. Shlomchik, and L. Wen. 2007. Treatment with CD20-specific antibody prevents and reverses autoimmune diabetes in mice. *J. Clin. Invest* 117: 3857-3867.
718. Rappocciolo, G., P. Piazza, C. L. Fuller, T. A. Reinhart, S. C. Watkins, D. T. Rowe, M. Jais, P. Gupta, and C. R. Rinaldo. 2006. DC-SIGN on B lymphocytes is required for transmission of HIV-1 to T lymphocytes. *PLoS. Pathog.* 2: e70.
719. Moir, S., A. Malaspina, Y. Li, T. W. Chun, T. Lowe, J. Adelsberger, M. Baseler, L. A. Ehler, S. Liu, R. T. Davey, Jr., J. A. Mican, and A. S. Fauci. 2000. B cells of HIV-1-infected patients bind virions through CD21-complement interactions and transmit infectious virus to activated T cells. *J. Exp. Med.* 192: 637-646.

720. Malaspina, A., S. Moir, D. C. Nickle, E. T. Donoghue, K. M. Ogwaro, L. A. Ehler, S. Liu, J. A. Mican, M. Dybul, T. W. Chun, J. I. Mullins, and A. S. Fauci. 2002. Human immunodeficiency virus type 1 bound to B cells: relationship to virus replicating in CD4+ T cells and circulating in plasma. *J. Virol.* 76: 8855-8863.
721. Moir, S., R. Lapointe, A. Malaspina, M. Ostrowski, C. E. Cole, T. W. Chun, J. Adelsberger, M. Baseler, P. Hwu, and A. S. Fauci. 1999. CD40-Mediated induction of CD4 and CXCR4 on B lymphocytes correlates with restricted susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection: potential role of B lymphocytes as a viral reservoir. *J. Virol.* 73: 7972-7980.
722. Gras, G., C. Legendre, R. Krzysiek, D. Dormont, P. Galanaud, and Y. Richard. 1996. CD40/CD40L interactions and cytokines regulate HIV replication in B cells in vitro. *Virology* 220: 309-319.
723. Martinez-Maza, O., E. Crabb, R. T. Mitsuyasu, J. L. Fahey, and J. V. Giorgi. 1987. Infection with the human immunodeficiency virus (HIV) is associated with an in vivo increase in B lymphocyte activation and immaturity. *J. Immunol.* 138: 3720-3724.
724. Shirai, A., M. Cosentino, S. F. Leitman-Klinman, and D. M. Klinman. 1992. Human immunodeficiency virus infection induces both polyclonal and virus-specific B cell activation. *J. Clin. Invest* 89: 561-566.
725. De, M. A., C. Morch, A. Sonnerborg, and F. Chiodi. 2001. Loss of memory (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection. *AIDS* 15: 957-964.
726. Moir, S., A. Malaspina, K. M. Ogwaro, E. T. Donoghue, C. W. Hallahan, L. A. Ehler, S. Liu, J. Adelsberger, R. Lapointe, P. Hwu, M. Baseler, J. M. Orenstein, T. W. Chun, J. A. Mican, and A. S. Fauci. 2001. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98: 10362-10367.
727. De Milito, A., A. Nilsson, K. Titanji, R. Thorstensson, E. Reizenstein, M. Narita, S. Grutzmeier, A. Sonnerborg, and F. Chiodi. 2004. Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection. *Blood* 103: 2180-2186.
728. Haynes, B. F., J. Fleming, E. W. St Clair, H. Katinger, G. Stiegler, R. Kunert, J. Robinson, R. M. Scarse, K. Plonk, H. F. Staats, T. L. Ortel, H. X. Liao, and S. M. Alam. 2005. Cardiolipin polyspecific autoreactivity in two broadly neutralizing HIV-1 antibodies. *Science* 308: 1906-1908.
729. He, B., X. Qiao, P. J. Klasse, A. Chiu, A. Chadburn, D. M. Knowles, J. P. Moore, and A. Cerutti. 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: 3931-3941.

730. Schnittman, S. M., H. C. Lane, S. E. Higgins, T. Folks, and A. S. Fauci. 1986. Direct polyclonal activation of human B lymphocytes by the acquired immune deficiency syndrome virus. *Science* 233: 1084-1086.
731. Swingler, S., J. Zhou, C. Swingler, A. Dauphin, T. Greenough, P. Jolicoeur, and M. Stevenson. 2008. Evidence for a pathogenic determinant in HIV-1 Nef involved in B cell dysfunction in HIV/AIDS. *Cell Host. Microbe* 4: 63-76.
732. Emilie, D., and P. Galanaud. 1993. [Cytokines and AIDS]. *Rev. Prat.* 43: 565-568.
733. Emilie, D., R. Fior, B. Jarrousse, A. Marfaing-Koka, D. Merrien, O. Devergne, M. C. Crevon, M. C. Maillot, and P. Galanaud. 1994. Cytokines in HIV infection. *Int. J. Immunopharmacol.* 16: 391-396.
734. Emilie, D., W. Zou, R. Fior, L. Llorente, A. Durandy, M. C. Crevon, M. C. Maillot, I. Durand-Gassel, M. Raphael, M. Peuchmaur, and P. Galanaud. 1997. Production and roles of IL-6, IL-10, and IL-13 in B-lymphocyte malignancies and in B-lymphocyte hyperactivity of HIV infection and autoimmunity. *Methods* 11: 133-142.
735. Muller, F., P. Aukrust, I. Nordoy, and S. S. Froland. 1998. Possible role of interleukin-10 (IL-10) and CD40 ligand expression in the pathogenesis of hypergammaglobulinemia in human immunodeficiency virus infection: modulation of IL-10 and Ig production after intravenous Ig infusion. *Blood* 92: 3721-3729.
736. Rieckmann, P., G. Poli, C. H. Fox, J. H. Kehrl, and A. S. Fauci. 1991. Recombinant gp120 specifically enhances tumor necrosis factor-alpha production and Ig secretion in B lymphocytes from HIV-infected individuals but not from seronegative donors. *J. Immunol.* 147: 2922-2927.
737. Rodriguez, B., H. Valdez, W. Freimuth, T. Butler, R. Asaad, and M. M. Lederman. 2003. Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression. *AIDS* 17: 1983-1985.
738. Malaspina, A., S. Moir, A. C. DiPoto, J. Ho, W. Wang, G. Roby, M. A. O'Shea, and A. S. Fauci. 2008. CpG oligonucleotides enhance proliferative and effector responses of B Cells in HIV-infected individuals. *J. Immunol.* 181: 1199-1206.
739. Ruprecht, C. R., and A. Lanzavecchia. 2006. Toll-like receptor stimulation as a third signal required for activation of human naive B cells. *Eur. J. Immunol.* 36: 810-816.
740. Jagannathan, M., H. Hasturk, Y. Liang, H. Shin, J. T. Hetzel, A. Kantarci, D. Rubin, M. E. McDonnell, T. E. Van Dyke, L. M. Ganley-Leal, and B. S. Nikolajczyk. 2009. TLR cross-talk specifically regulates cytokine production by B cells from chronic inflammatory disease patients. *J. Immunol.* 183: 7461-7470.
741. Shin, H., Y. Zhang, M. Jagannathan, H. Hasturk, A. Kantarci, H. Liu, T. E. Van Dyke, L. M. Ganley-Leal, and B. S. Nikolajczyk. 2009. B cells from periodontal disease patients express surface Toll-like receptor 4. *J. Leukoc. Biol.* 85: 648-655.

742. Hwang, I. Y., C. Park, K. Harrison, and J. H. Kehrl. 2009. TLR4 signaling augments B lymphocyte migration and overcomes the restriction that limits access to germinal center dark zones. *J. Exp. Med.* 206: 2641-2657.
743. Titanji, K., M. A. De, A. Cagigi, R. Thorstensson, S. Grutzmeier, A. Atlas, B. Hejdeman, F. P. Kroon, L. Lopalco, A. Nilsson, and F. Chiodi. 2006. Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection. *Blood* 108: 1580-1587.
744. De Milito, A., C. Morch, A. Sonnerborg, and F. Chiodi. 2001. Loss of memory (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection. *AIDS* 15: 957-964.
745. Chong, Y., H. Ikematsu, K. Kikuchi, M. Yamamoto, M. Murata, M. Nishimura, S. Nabeshima, S. Kashiwagi, and J. Hayashi. 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: 219-226.
746. Orenstein, J. M., M. Feinberg, C. Yoder, L. Schrager, J. M. Mican, D. J. Schwartzentruber, R. T. Davey, Jr., R. E. Walker, J. Falloon, J. A. Kovacs, K. D. Miller, C. Fox, J. A. Metcalf, H. Masur, and M. A. Polis. 1999. Lymph node architecture preceding and following 6 months of potent antiviral therapy: follicular hyperplasia persists in parallel with p24 antigen restoration after involution and CD4 cell depletion in an AIDS patient. *AIDS* 13: 2219-2229.
747. Cagigi, A., F. Mowafi, L. V. Phuong Dang, K. Tenner-Racz, A. Atlas, S. Grutzmeier, P. Racz, F. Chiodi, and A. Nilsson. 2008. Altered expression of the receptor-ligand pair CXCR5/CXCL13 in B cells during chronic HIV-1 infection. *Blood* 112: 4401-4410.
748. Malaspina, A., S. Moir, S. Kottlil, C. W. Hallahan, L. A. Ehler, S. Liu, M. A. Planta, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2003. Deleterious effect of HIV-1 plasma viremia on B cell costimulatory function. *J. Immunol.* 170: 5965-5972.
749. Moir, S., K. M. Ogwaro, A. Malaspina, J. Vasquez, E. T. Donoghue, C. W. Hallahan, S. Liu, L. A. Ehler, M. A. Planta, S. Kottlil, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2003. Perturbations in B cell responsiveness to CD4+ T cell help in HIV-infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100: 6057-6062.
750. Moir, S., J. Ho, A. Malaspina, W. Wang, A. C. DiPoto, M. A. O'Shea, G. Roby, S. Kottlil, J. Arthos, M. A. Proschan, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2008. Evidence for HIV-associated B cell exhaustion in a dysfunctional memory B cell compartment in HIV-infected viremic individuals. *J. Exp. Med.* 205: 1797-1805.
751. Bekker, V., H. Scherpbier, D. Pajkrt, S. Jurriaans, H. Zaaijer, and T. W. Kuijpers. 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: e315-e322.

752. Ghosh, S., O. Feyen, A. F. Jebran, K. Huck, M. Jetzek-Zader, M. Bas, and T. Niehues. 2009. Memory B cell function in HIV-infected children-decreased memory B cells despite ART. *Pediatr. Res.* 66: 185-190.
753. Bussmann, B. M., S. Reiche, B. Bieniek, I. Krznaric, F. Ackermann, and C. Jassoy. 2010. Loss of HIV-specific memory B-cells as a potential mechanism for the dysfunction of the humoral immune response against HIV. *Virology* 397: 7-13.
754. Pensiero, S., A. Cagigi, P. Palma, A. Nilsson, C. Capponi, E. Freda, S. Bernardi, R. Thorstensson, F. Chiodi, and P. Rossi. 2009. Timing of HAART defines the integrity of memory B cells and the longevity of humoral responses in HIV-1 vertically-infected children. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106: 7939-7944.
755. Qiao, X., B. He, A. Chiu, D. M. Knowles, A. Chadburn, and A. Cerutti. 2006. Human immunodeficiency virus 1 Nef suppresses CD40-dependent immunoglobulin class switching in bystander B cells. *Nat. Immunol.* 7: 302-310.
756. Xu, W., P. A. Santini, J. S. Sullivan, B. He, M. Shan, S. C. Ball, W. B. Dyer, T. J. Ketas, A. Chadburn, L. Cohen-Gould, D. M. Knowles, A. Chiu, R. W. Sanders, K. Chen, and A. Cerutti. 2009. HIV-1 evades virus-specific IgG2 and IgA responses by targeting systemic and intestinal B cells via long-range intercellular conduits. *Nat. Immunol.* 10: 1008-1017.
757. Scamurra, R. W., D. B. Nelson, X. M. Lin, D. J. Miller, G. J. Silverman, T. Kappel, J. R. Thurn, E. Lorenz, A. Kulkarni-Narla, and E. N. Janoff. 2002. Mucosal plasma cell repertoire during HIV-1 infection. *J. Immunol.* 169: 4008-4016.
758. Mestecky, J., S. Jackson, Z. Moldoveanu, L. R. Nesbit, R. Kulhavy, S. J. Prince, S. Sabbaj, M. J. Mulligan, and P. A. Goepfert. 2004. Paucity of antigen-specific IgA responses in sera and external secretions of HIV-type 1-infected individuals. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20: 972-988.
759. Malaspina, A., S. Moir, S. M. Orsega, J. Vasquez, N. J. Miller, E. T. Donoghue, S. Kottlil, M. Gezmu, D. Follmann, G. M. Vodeiko, R. A. Levandowski, J. M. Mican, and A. S. Fauci. 2005. Compromised B cell responses to influenza vaccination in HIV-infected individuals. *J. Infect. Dis.* 191: 1442-1450.
760. Hart, M., A. Steel, S. A. Clark, G. Moyle, M. Nelson, D. C. Henderson, R. Wilson, F. Gotch, B. Gazzard, and P. Kelleher. 2007. Loss of discrete memory B cell subsets is associated with impaired immunization responses in HIV-1 infection and may be a risk factor for invasive pneumococcal disease. *J. Immunol.* 178: 8212-8220.
761. Malaspina, A., S. Moir, J. Ho, W. Wang, M. L. Howell, M. A. O'Shea, G. A. Roby, C. A. Rehm, J. M. Mican, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2006. Appearance of immature/transitional B cells in HIV-infected individuals with advanced disease: correlation with increased IL-7. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 2262-2267.

762. Malaspina, A., S. Moir, D. G. Chaitt, C. A. Rehm, S. Kottlil, J. Falloon, and A. S. Fauci. 2007. Idiopathic CD4+ T lymphocytopenia is associated with increases in immature/transitional B cells and serum levels of IL-7. *Blood* 109: 2086-2088.
763. Moir, S., and A. S. Fauci. 2009. B cells in HIV infection and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9: 235-245.
764. Hanna, Z., D. G. Kay, N. Rebai, A. Guimond, S. Jothy, and P. Jolicoeur. 1998. Nef harbors a major determinant of pathogenicity for an AIDS-like disease induced by HIV-1 in transgenic mice. *Cell* 95: 163-175.
765. Hanna, Z., D. G. Kay, M. Cool, S. Jothy, N. Rebai, and P. Jolicoeur. 1998. Transgenic mice expressing human immunodeficiency virus type 1 in immune cells develop a severe AIDS-like disease. *J. Virol.* 72: 121-132.
766. Chen, F. A., S. S. Williams, W. C. Fanslow, and R. B. Bankert. 1995. Human antibody response in human peripheral blood leukocyte/severe combined immunodeficient chimeric model is dependent on B and T cell costimulation via CD40/CD40 ligand. *J. Immunol.* 155: 2833-2840.
767. Pihlgren, M., C. Tougne, P. Bozzotti, A. Fulurija, M. A. Duchosal, P. H. Lambert, and C. A. Siegrist. 2003. Unresponsiveness to lymphoid-mediated signals at the neonatal follicular dendritic cell precursor level contributes to delayed germinal center induction and limitations of neonatal antibody responses to T-dependent antigens. *J. Immunol.* 170: 2824-2832.
768. Waldschmidt, T. J., A. Panoskaltis-Mortari, R. T. McElmurry, L. T. Tygrett, P. A. Taylor, and B. R. Blazar. 2002. Abnormal T cell-dependent B-cell responses in SCID mice receiving allogeneic bone marrow in utero. Severe combined immune deficiency. *Blood* 100: 4557-4564.
769. Moir, S., and A. S. Fauci. 2009. B cells in HIV infection and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9: 235-245.
770. Jacobson, M. A., H. Khayam-Bashi, J. N. Martin, D. Black, and V. Ng. 2002. Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B-lymphocyte function. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 31: 472-477.
771. Moir, S., A. Malaspina, J. Ho, W. Wang, A. C. DiPoto, M. A. O'Shea, G. Roby, J. M. Mican, S. Kottlil, T. W. Chun, M. A. Proschan, and A. S. Fauci. 2008. Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease. *J. Infect. Dis.* 197: 572-579.
772. Bekker, V., H. Scherpbier, D. Pajkrt, S. Jurriaans, H. Zaaijer, and T. W. Kuijpers. 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: e315-e322.

773. Calabrese, L. H., E. Kirchner, and R. Shrestha. 2005. 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.* 35: 166-174.
774. Wykes, M., A. Pombo, C. Jenkins, and G. G. MacPherson. 1998. Dendritic cells interact directly with naive B lymphocytes to transfer antigen and initiate class switching in a primary T-dependent response. *J. Immunol.* 161: 1313-1319.
775. Craxton, A., D. Magaletti, E. J. Ryan, and E. A. Clark. 2003. Macrophage- and dendritic cell--dependent regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF. *Blood* 101: 4464-4471.
776. Litinskiy, M. B., B. Nardelli, D. M. Hilbert, B. He, A. Schaffer, P. Casali, and A. Cerutti. 2002. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLYS and APRIL. *Nat. Immunol.* 3: 822-829.
777. Hanna, Z., D. G. Kay, N. Rebai, A. Guimond, S. Jothy, and P. Jolicoeur. 1998. Nef harbors a major determinant of pathogenicity for an AIDS-like disease induced by HIV-1 in transgenic mice. *Cell* 95: 163-175.
778. Poudrier, J., X. Weng, D. G. Kay, Z. Hanna, and P. Jolicoeur. 2003. The AIDS-like disease of CD4C/human immunodeficiency virus transgenic mice is associated with accumulation of immature CD11b^{Hi} dendritic cells. *J. Virol.* 77: 11733-11744.
779. Poudrier, J., X. Weng, D. G. Kay, G. Pare, E. L. Calvo, Z. Hanna, M. H. Kosco-Vilbois, and P. Jolicoeur. 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: 173-185.
780. Mackay, F., S. A. Woodcock, P. Lawton, C. Ambrose, M. Baetscher, P. Schneider, J. Tschopp, and J. L. Browning. 1999. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J. Exp. Med.* 190: 1697-1710.
781. He, B., X. Qiao, P. J. Klasse, A. Chiu, A. Chadburn, D. M. Knowles, J. P. Moore, and A. Cerutti. 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: 3931-3941.
782. Lafeuillade, A., I. Poizot-Martin, R. Quilichini, J. A. Gastaut, S. Kaplanski, C. Farnarier, J. L. Mege, and P. Bongrand. 1991. Increased interleukin-6 production is associated with disease progression in HIV infection. *AIDS* 5: 1139-1140.
783. Rodriguez, B., H. Valdez, W. Freimuth, T. Butler, R. Asaad, and M. M. Lederman. 2003. Plasma levels of B-lymphocyte stimulator increase with HIV disease progression. *AIDS* 17: 1983-1985.

784. Chehimi, J., D. E. Campbell, L. Azzoni, D. Bacheller, E. Papasavvas, G. Jerandi, K. Mounzer, J. Kostman, G. Trinchieri, and L. J. Montaner. 2002. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J. Immunol.* 168: 4796-4801.
785. Donaghy, H., A. Pozniak, B. Gazzard, N. Qazi, J. Gilmour, F. Gotch, and S. Patterson. 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: 2574-2576.
786. Fontaine, J., F. Coutlee, C. Tremblay, J. P. Routy, J. Poudrier, and M. Roger. 2009. HIV infection affects blood myeloid dendritic cells after successful therapy and despite nonprogressing clinical disease. *J. Infect. Dis.* 199: 1007-1018.
787. Macatonia, S. E., R. Lau, S. Patterson, A. J. Pinching, and S. C. Knight. 1990. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology* 71: 38-45.
788. Mercier, F., M. R. Boulassel, B. Yassine-Diab, C. Tremblay, N. F. Bernard, R. P. Sekaly, and J. P. Routy. 2008. Persistent human immunodeficiency virus-1 antigenaemia affects the expression of interleukin-7Ralpha on central and effector memory CD4+ and CD8+ T cell subsets. *Clin. Exp. Immunol.* 152: 72-80.
789. Srivastava, B., W. J. Quinn, III, K. Hazard, J. Erikson, and D. Allman. 2005. Characterization of marginal zone B cell precursors. *J. Exp. Med.* 202: 1225-1234.
790. Weill, J. C., S. Weller, and C. A. Reynaud. 2009. Human marginal zone B cells. *Annu. Rev. Immunol.* 27: 267-285.
791. Stohl, W., G. S. Cheema, W. S. Briggs, D. Xu, S. Sosnovtseva, V. Roschke, D. E. Ferrara, K. Labat, F. R. Sattler, S. S. Pierangeli, and D. M. Hilbert. 2002. B lymphocyte stimulator protein-associated increase in circulating autoantibody levels may require CD4+ T cells: lessons from HIV-infected patients. *Clin. Immunol.* 104: 115-122.
792. Tacke, F., and G. J. Randolph. 2006. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets. *Immunobiology* 211: 609-618.
793. Lavie, F., C. Miceli-Richard, J. Quillard, S. Roux, P. Leclerc, and X. Mariette. 2004. Expression of BAFF (BLyS) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *J. Pathol.* 202: 496-502.
794. De Milito A., A. Nilsson, K. Titanji, R. Thorstenson, E. Reizenstein, M. Narita, S. Grutzmeier, A. Sonnerborg, and F. Chiodi. 2004. Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection. *Blood* 103: 2180-2186.

795. Moir, S., A. Malaspina, K. M. Ogwaro, E. T. Donoghue, C. W. Hallahan, L. A. Ehler, S. Liu, J. Adelsberger, R. Lapointe, P. Hwu, M. Baseler, J. M. Orenstein, T. W. Chun, J. A. Mican, and A. S. Fauci. 2001. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98: 10362-10367.
796. Gras, G., Y. Richard, P. Roques, R. Olivier, and D. Dormont. 1993. Complement and virus-specific antibody-dependent infection of normal B lymphocytes by human immunodeficiency virus type 1. *Blood* 81: 1808-1818.
797. Gras, G., C. Legendre, R. Krzysiek, D. Dormont, P. Galanaud, and Y. Richard. 1996. CD40/CD40L interactions and cytokines regulate HIV replication in B cells in vitro. *Virology* 220: 309-319.
798. Moir, S., R. Lapointe, A. Malaspina, M. Ostrowski, C. E. Cole, T. W. Chun, J. Adelsberger, M. Baseler, P. Hwu, and A. S. Fauci. 1999. CD40-Mediated induction of CD4 and CXCR4 on B lymphocytes correlates with restricted susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection: potential role of B lymphocytes as a viral reservoir. *J. Virol.* 73: 7972-7980.
799. Moir, S., A. Malaspina, Y. Li, T. W. Chun, T. Lowe, J. Adelsberger, M. Baseler, L. A. Ehler, S. Liu, R. T. Davey, Jr., J. A. Mican, and A. S. Fauci. 2000. B cells of HIV-1-infected patients bind virions through CD21-complement interactions and transmit infectious virus to activated T cells. *J. Exp. Med.* 192: 637-646.
800. Rappocciolo, G., P. Piazza, C. L. Fuller, T. A. Reinhart, S. C. Watkins, D. T. Rowe, M. Jais, P. Gupta, and C. R. Rinaldo. 2006. DC-SIGN on B lymphocytes is required for transmission of HIV-1 to T lymphocytes. *PLoS. Pathog.* 2: e70.
801. Brenchley, J. M., D. A. Price, T. W. Schacker, T. E. Asher, G. Silvestri, S. Rao, Z. Kazzaz, E. Bornstein, O. Lambotte, D. Altmann, B. R. Blazar, B. Rodriguez, L. Teixeira-Johnson, A. Landay, J. N. Martin, F. M. Hecht, L. J. Picker, M. M. Lederman, S. G. Deeks, and D. C. Douek. 2006. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* 12: 1365-1371.
802. Marchetti, G., G. M. Bellistri, E. Borghi, C. Tincati, S. Ferramosca, F. M. La, G. Morace, A. Gori, and A. D. Monforte. 2008. Microbial translocation is associated with sustained failure in CD4+ T-cell reconstitution in HIV-infected patients on long-term highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 22: 2035-2038.
803. Malaspina, A., S. Moir, J. Ho, W. Wang, M. L. Howell, M. A. O'Shea, G. A. Roby, C. A. Rehm, J. M. Mican, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2006. Appearance of immature/transitional B cells in HIV-infected individuals with advanced disease: correlation with increased IL-7. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 2262-2267.
804. Suarez, F., O. Lortholary, O. Hermine, and M. Lécuit. 2006. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* 107: 3034-3044.

805. Balazs, M., F. Martin, T. Zhou, and J. Kearney. 2002. Blood dendritic cells interact with splenic marginal zone B cells to initiate T-independent immune responses. *Immunity*. 17: 341-352.
806. Fagarasan, S., S. Kawamoto, O. Kanagawa, and K. Suzuki. 2010. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annu. Rev. Immunol.* 28: 243-273.
807. Tangye, S. G., V. L. Bryant, A. K. Cuss, and K. L. Good. 2006. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin. Immunol.* 18: 305-317.
808. Varin, M. M., P. L. Le, P. Youinou, D. Saulep, F. Mackay, and J. O. Pers. 2010. B-cell tolerance breakdown in Sjogren's syndrome: focus on BAFF. *Autoimmun. Rev.* 9: 604-608.
809. Cinamon, G., M. A. Zachariah, O. M. Lam, F. W. Foss, Jr., and J. G. Cyster. 2008. Follicular shuttling of marginal zone B cells facilitates antigen transport. *Nat. Immunol.* 9: 54-62.
810. Malaspina, A., S. Moir, S. M. Orsega, J. Vasquez, N. J. Miller, E. T. Donoghue, S. Kottlilil, M. Gezmu, D. Follmann, G. M. Vodeiko, R. A. Levandowski, J. M. Mican, and A. S. Fauci. 2005. Compromised B cell responses to influenza vaccination in HIV-infected individuals. *J. Infect. Dis.* 191: 1442-1450.
811. Titanji, K., M. A. De, A. Cagigi, R. Thorstensson, S. Grutzmeier, A. Atlas, B. Hejdeman, F. P. Kroon, L. Lopalco, A. Nilsson, and F. Chiodi. 2006. Loss of memory B cells impairs maintenance of long-term serologic memory during HIV-1 infection. *Blood* 108: 1580-1587.
812. Cerutti, A. 2008. The regulation of IgA class switching. *Nat. Rev. Immunol.* 8: 421-434.
813. Cerutti, A., and M. Rescigno. 2008. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*. 28: 740-750.
814. Shacklett, B. L. 2010. Immune responses to HIV and SIV in mucosal tissues: 'location, location, location'. *Curr. Opin. HIV. AIDS* 5: 128-134.
815. Belec, L., P. D. Ghys, H. Hocini, J. N. Nkengasong, J. Tranchot-Diallo, M. O. Diallo, V. Ettiegne-Traore, C. Maurice, P. Becquart, M. Matta, A. Si-Mohamed, N. Chomont, I. M. Coulibaly, S. Z. Wiktor, and M. D. Kazatchkine. 2001. Cervicovaginal secretory antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that block viral transcytosis through tight epithelial barriers in highly exposed HIV-1-seronegative African women. *J. Infect. Dis.* 184: 1412-1422.
816. Kaul, R., D. Trabattoni, J. J. Bwayo, D. Arienti, A. Zagliani, F. M. Mwangi, C. Kariuki, E. N. Ngugi, K. S. MacDonald, T. B. Ball, M. Clerici, and F. A. Plummer. 1999. HIV-1-specific mucosal IgA in a cohort of HIV-1-resistant Kenyan sex workers. *AIDS* 13: 23-29.

817. Tudor, D., M. Derrien, L. Diomedea, A. S. Drillet, M. Houimel, C. Moog, J. M. Reynes, L. Lopalco, and M. Bomsel. 2009. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(+) cell infection: an IgA gene and functional analysis. *Mucosal Immunol.* 2: 412-426.
818. Cameron, P. U., P. S. Freudenthal, J. M. Barker, S. Gezelter, K. Inaba, and R. M. Steinman. 1992. Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells. *Science* 257: 383-387.
819. Pope, M., M. G. Betjes, N. Romani, H. Hirmand, P. U. Cameron, L. Hoffman, S. Gezelter, G. Schuler, and R. M. Steinman. 1994. Conjugates of dendritic cells and memory T lymphocytes from skin facilitate productive infection with HIV-1. *Cell* 78: 389-398.
820. Macatonia, S. E., R. Lau, S. Patterson, A. J. Pinching, and S. C. Knight. 1990. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology* 71: 38-45.
821. Cimarelli, A., G. Zambruno, A. Marconi, G. Girolomoni, U. Bertazzoni, and A. Giannetti. 1994. Quantitation by competitive PCR of HIV-1 proviral DNA in epidermal Langerhans cells of HIV-infected patients. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 7: 230-235.
822. Rinfret, A., H. Latendresse, R. Lefebvre, G. St-Louis, P. Jolicoeur, and L. Lamarre. 1991. Human immunodeficiency virus-infected multinucleated histiocytes in oropharyngeal lymphoid tissues from two asymptomatic patients. *Am. J. Pathol.* 138: 421-426.
823. Granelli-Piperno, A., E. Delgado, V. Finkel, W. Paxton, and R. M. Steinman. 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: 2733-2737.
824. Sporri, B., O. J. von, C. U. Brand, J. Schmidli, M. L. Sanchez, R. Grunow, and L. R. Braathen. 1994. Reduced number of Langerhans cells in oral mucosal washings from HIV-1 seropositives. *J. Oral Pathol. Med.* 23: 399-402.
825. Piccioli, D., S. Tavarini, E. Borgogni, V. Steri, S. Nuti, C. Sammiceli, M. Bardelli, D. Montagna, F. Locatelli, and A. Wack. 2007. Functional specialization of human circulating CD16 and CD1c myeloid dendritic-cell subsets. *Blood* 109: 5371-5379.
826. Ho, C. S., D. Munster, C. M. Pyke, D. N. Hart, and J. A. Lopez. 2002. Spontaneous generation and survival of blood dendritic cells in mononuclear cell culture without exogenous cytokines. *Blood* 99: 2897-2904.

827. Shi, J., K. Ikeda, Y. Maeda, K. Shinagawa, A. Ohtsuka, H. Yamamura, and M. Tanimoto. 2008. Identification of CD123⁺ myeloid dendritic cells as an early-stage immature subset with strong tumoristatic potential. *Cancer Lett.* 270: 19-29.
828. Nardelli, B., O. Belvedere, V. Roschke, P. A. Moore, H. S. Olsen, T. S. Migone, S. Sosnovtseva, J. A. Carrell, P. Feng, J. G. Giri, and D. M. Hilbert. 2001. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 97: 198-204.
829. Bjorck, P., L. Flores-Romo, and Y. J. Liu. 1997. Human interdigitating dendritic cells directly stimulate CD40-activated naive B cells. *Eur. J. Immunol.* 27: 1266-1274.
830. Dubois, B., B. Vanbervliet, J. Fayette, C. Massacrier, K. C. van, F. Briere, J. Banchereau, and C. Caux. 1997. Dendritic cells enhance growth and differentiation of CD40-activated B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 185: 941-951.
831. Dubois, B., B. Vanbervliet, J. Fayette, C. Massacrier, F. Briere, J. Banchereau, and C. Caux. 1997. Human dendritic/Langerhans cells control growth and differentiation of CD40 activated B cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 417: 329-334.
832. Dubois, B., J. M. Bridon, J. Fayette, C. Barthelemy, J. Banchereau, C. Caux, and F. Briere. 1999. Dendritic cells directly modulate B cell growth and differentiation. *J. Leukoc. Biol.* 66: 224-230.
833. Dubois, B., J. Fayette, B. Vanbervliet, J. Banchereau, F. Briere, and C. Caux. 1995. Human dendritic cells enhance growth and differentiation of CD40 activated B cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 378: 397-399.
834. Emilie, D., R. Fior, M. C. Crevon, M. C. Maillot, F. Boue, and P. Galanaud. 1994. Cytokines from lymphoid organs of HIV-infected patients: production and role in the immune disequilibrium of the disease. *Res. Immunol.* 145: 595-600.
835. Emilie, D., J. Coumbaras, M. Raphael, O. Devergne, H. J. Delecluse, C. Gisselbrecht, J. F. Michiels, D. J. Van, T. Taga, T. Kishimoto, and . 1992. Interleukin-6 production in high-grade B lymphomas: correlation with the presence of malignant immunoblasts in acquired immunodeficiency syndrome and in human immunodeficiency virus-seronegative patients. *Blood* 80: 498-504.
836. Martinez-Maza, O., and E. C. Breen. 2002. B-cell activation and lymphoma in patients with HIV. *Curr. Opin. Oncol.* 14: 528-532.
837. Lafeuillade, A., I. Poizot-Martin, R. Quilichini, J. A. Gastaut, S. Kaplanski, C. Farnarier, J. L. Mege, and P. Bongrand. 1991. Increased interleukin-6 production is associated with disease progression in HIV infection. *AIDS* 5: 1139-1140.
838. Dubois, B., C. Barthelemy, I. Durand, Y. J. Liu, C. Caux, and F. Briere. 1999. Toward a role of dendritic cells in the germinal center reaction: triggering of B cell proliferation and isotype switching. *J. Immunol.* 162: 3428-3436.

839. Ancuta, P., K. Y. Liu, V. Misra, V. S. Wacleche, A. Gosselin, X. Zhou, and D. Gabuzda. 2009. Transcriptional profiling reveals developmental relationship and distinct biological functions of CD16+ and. *BMC. Genomics* 10: 403.
840. Cerutti, A. 2008. The regulation of IgA class switching. *Nat. Rev. Immunol.* 8: 421-434.
841. van Egmond, M., C. A. Damen, A. B. van Spriel, G. Vidarsson, G. E. van, and J. G. van de Winkel. 2001. IgA and the IgA Fc receptor. *Trends Immunol.* 22: 205-211.
842. Lavie, F., C. Miceli-Richard, J. Quillard, S. Roux, P. Leclerc, and X. Mariette. 2004. Expression of BAFF (BLyS) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *J. Pathol.* 202: 496-502.
843. Varol, C., A. Vallon-Eberhard, E. Elinav, T. Aychek, Y. Shapira, H. Luche, H. J. Fehling, W. D. Hardt, G. Shakhar, and S. Jung. 2009. Intestinal lamina propria dendritic cell subsets have different origin and functions. *Immunity.* 31: 502-512.
844. Bogunovic, M., F. Ginhoux, J. Helft, L. Shang, D. Hashimoto, M. Greter, K. Liu, C. Jakubzick, M. A. Ingersoll, M. Leboeuf, E. R. Stanley, M. Nussenzweig, S. A. Lira, G. J. Randolph, and M. Merad. 2009. Origin of the lamina propria dendritic cell network. *Immunity.* 31: 513-525.
845. Fontenot, D., H. He, S. Hanabuchi, P. N. Nehete, M. Zhang, M. Chang, B. Nehete, Y. H. Wang, Y. H. Wang, Z. M. Ma, H. C. Lee, S. F. Ziegler, A. N. Courtney, C. J. Miller, S. C. Sun, Y. J. Liu, and K. J. Sastry. 2009. TSLP production by epithelial cells exposed to immunodeficiency virus triggers DC-mediated mucosal infection of CD4+ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106: 16776-16781.
846. Nguyen, M., P. Pean, L. Lopalco, J. Nouhin, V. Phoung, N. Ly, P. Vermisse, Y. Henin, F. Barre-Sinoussi, S. E. Burastero, J. M. Reynes, G. Carcelain, and G. Pancino. 2006. HIV-specific antibodies but not t-cell responses are associated with protection in seronegative partners of HIV-1-infected individuals in Cambodia. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 42: 412-419.
847. Belec, L., P. D. Ghys, H. Hocini, J. N. Nkengasong, J. Tranchot-Diallo, M. O. Diallo, V. Ettiegne-Traore, C. Maurice, P. Becquart, M. Matta, A. Si-Mohamed, N. Chomont, I. M. Coulibaly, S. Z. Wiktor, and M. D. Kazatchkine. 2001. Cervicovaginal secretory antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that block viral transcytosis through tight epithelial barriers in highly exposed HIV-1-seronegative African women. *J. Infect. Dis.* 184: 1412-1422.
848. Macpherson, A. J., D. Gatto, E. Sainsbury, G. R. Harriman, H. Hengartner, and R. M. Zinkernagel. 2000. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science* 288: 2222-2226.

