



HAL
open science

Etude de la dynamique de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH-I et de sa régulation au cours de l'infection par le VIH/SIV

Lamine Alaoui

► **To cite this version:**

Lamine Alaoui. Etude de la dynamique de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH-I et de sa régulation au cours de l'infection par le VIH/SIV. Maladies infectieuses. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLS374 . tel-01715274

HAL Id: tel-01715274

<https://theses.hal.science/tel-01715274>

Submitted on 22 Feb 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Etude de la dynamique de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH-I et de sa régulation au cours de l'infection par le VIH/SIV

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
Préparée à l'Université Paris-Sud

École doctorale n°569 - Innovation thérapeutique : du fondamental à
l'appliqué (ITFA)



Spécialité de doctorat: Immunologie et Biothérapies

Thèse présentée et soutenue à Fontenay aux Roses, le 5 décembre 2017, par

Monsieur Lamine Alaoui

Composition du Jury :

M. Jean-Daniel Lelièvre Professeur-Praticien hospitalier, CHU Henri Mondor (Inserm U955)	Président
M. Philippe Benaroch Directeur de Recherche, Institut Curie (INSERM U932)	Rapporteur
M. Rémi Cheynier Directeur de Recherche, Institut Cochin (INSERM U1016)	Examineur
Mme. Elodie Segura Chargée de recherche, Institut Curie (INSERM U932)	Examinatrice
Mme. Géraldine Schlecht-Louf Maitre de conférences, Université Paris-Sud (UMR-S 996)	Examinatrice
M. Benoit Favier Chargée de recherche, CEA (UMR 1184)	Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens à remercier particulièrement le Professeur Jean-Daniel Lelièvre et le Docteur Philippe Benaroch qui ont accepté d'être les rapporteurs de mon manuscrit de thèse.

Je remercie également les Docteurs Rémi Cheynier, Elodie Segura et Géraldine Schlecht-Louf d'avoir accepté d'examiner mon manuscrit.

Je remercie le Professeur Olivier Lambotte qui a grandement contribué à la qualité des résultats de cette thèse de par son soutien, ses qualités humaines ainsi que sa grande expertise dans le domaine du VIH. Merci aussi pour nous avoir permis d'avoir accès aux échantillons rares de la Cohorte Codex.

Je remercie le docteur Roger Le Grand pour son accueil au sein du centre ImVA et son soutien durant ces années de thèse.

Je remercie tout particulièrement mon directeur de thèse, Dr Benoit Favier qui a supervisé mon travail tout au long de ces années. Merci pour m'avoir accompagné dans l'aboutissement de ce projet grâce à ta rigueur et tes connaissances scientifiques. Merci pour tes encouragements, ta gentillesse, ton humour et ta disponibilité au quotidien.

Un grand merci au docteur Bruno Vaslin pour ses conseils qui furent toujours enrichissants et constructifs tout au long de mon projet.

Je tiens à remercier l'ANRS pour le financement de la quatrième année qui m'a permis de finaliser mon travail dans les meilleures conditions.

Un grand merci à tous les membres du labo présents et passés qui ont contribué, de différentes manières, à la conduite de ces travaux.

Une mention spéciale pour Sixtine, Melis, Gustavo (les membres éternels de la bandito team), Pierre (notre grand chef à tous), Lucille (la thésarde aux milles volts), Samuel, (M.D. et futur PU-PH), Candie (alors pourquoi un Dr pour pharma ?), Adrien (CyTofiste jusqu'au bout mais surtout ballon d'or de l'équipe), les membres de la team ASW (toujours de supers grandes discussions très approfondies et pointues avec Benoit, Sébastien, Jean-Marie, Nina, Oriane), Sabrina, Fanny, Mario (les grandes urgentistes du LSRFortessa), Nadia (toujours les 20-21), Andre (El chico bogossito), Laëtita (Nancy forever), Mona (globetrotteuse), Marco (la relève est bien assurée), Frederic, Julien, Anne-Sophie, Rafael, Christophe, Marie-Angela, Fahd, Romain, Elisabeth, Pierre R, Antonio, Cyril, Brice, Nicolas, Karine, Hadjer, Jean-Louis, Malvina, Manu, Naïma, Céline G, Juliette, Joseph, Stéphane et tous les autres...

Dedicasse pour la team Bertin, Pascal (Docteur es rigolades), Christine (ah les fameux massages...), Karen, Celine, Cecile, Aurore, Mylinda et biensur, une attention chaleureuse pour Rahimounette pour son affection, son humour, son inestimable aide tout au long de ces quatre années.

Abbréviations

ARN : Acide Ribonucléique

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGM : African Green Monkeys (singes verts africains)

APC : Cellules presentatrices d'antigènes (antigen-presenting cell)

ARV : AntiRétroViraux

CD : Cluster de différenciation

cDC : Cellules dendritiques classiques (conventionnelles)

CCR : C-C chemokine receptor

cGAS : Cyclic GMP-AMP synthase

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CMV : Cytomégalovirus

CpG : C – phosphate - G

CTLA-4 : Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4

CXCR : C-X-C chemokines receptor

DC : Cellules dendritiques

DC-SIGN : Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin

EC : Elite Controllers

GALT : Gut-associated lymphoid tissue (tissu lymphoïde associé au tube digestif)

HLA : Human leukocyte antigen (antigènes des leucocytes humains)

IFN-I : Interféron de type I

IL : Interleukine

ILT : Immunoglobulin-like transcript

ISG : Interferon-stimulated genes

LC : Langerhans cell (Cellule de Langerhans)

LED : Lupus érythémateux disséminé

LILR : Leukocyte immunoglobulin-like receptors

LPS : Lipopolysaccharide

LTR : Long terminal repeat

MDSC : Myeloid-derived suppressor cells (cellules myéloïdes suppressives)

MoDC : Monocyte derived dendritic cells (cellules dendritiques dérivées de monocytes)

NTLP : Non progresseurs à long terme

PAMP : Pathogen-associated molecular pattern (Motif moléculaire associé aux pathogènes)

PD-1 : Programmed cell death 1

PD-L1: Programmed death-ligand 1

PNH : Primates non humains

pDC : Cellules dendritiques plasmacytoïdes

SEP : Sclérose en plaques

SIDA : Syndromed'immunodefiscience acquise

SIRP : Signal-regulatory protein alpha

SIV : Virus de l'immunodefiscience simienne

TCR : T-cell receptor (récepteur des cellules T)

Th1 : T helper 1 cell

Th2 : T helper 2 cell

Th17 : T helper 17 cell

TLR : Toll-like receptor

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha

TRAIL : TNF-related apoptosis-inducing ligand

Treg : Cellule T régulatrice

T_{SCM} : Stem Memory T cells (cellule T memoire souche)

VIH : Virus de l'immunodefiscience humain

Sommaire

Table des figures	7
Avant-propos.....	8
Introduction.....	9
I- Physiopathologie de l'infection par le VIH et le SIV.....	10
A- Organisation génomique et cycle réplcatif du VIH/SIV.....	11
a- Le virus.....	11
b- Le cycle viral	13
B- Les tropismes des virus de l'immunodéficience	15
a- Le récepteur CD4 au VIH.....	15
b- Les co-recepteurs et tropisme cellulaire	16
C- Les phases cliniques de l'infection.....	17
a- La primo-infection.....	17
b- La phase de latence clinique.....	19
c- La phase SIDA	19
d- Les patients « Elite Controllers »	20
D- Mécanismes physiopathologiques de l'infection	21
a- Altérations immunologiques induites par l'infection au VIH.....	22
b- Activation immunitaire et inflammation : moteurs de la pathologie	25
c- Conséquences de l'activation/inflammation du système immunitaire : senescence, exhaustion et apoptose cellulaire.....	26
E- Intérêt du modèle simien dans l'infection VIH	27
a- Les modèles d'infection « non progresseurs » : hôtes naturels.....	28
b- Les modèles d'infection progresseurs	29
c- Intérêts des modèles simiens d'infection.....	31
II- Rôle des cellules dendritiques dans l'immunité	32
A- Ontogenèse des cellules dendritiques	33
B- Les différentes populations de cellules dendritiques (DCs)	36
a- La sous-population cDC1 (CD141+).....	38
b- La sous-population cDC2 (CD1c+).....	39
c- Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC).....	40
C- Les cellules dendritiques au cours de l'infection à VIH/SIV	41
a- Dysfonctions des cDCs en faveur de l'échappement du VIH-1	41
b- Rôle des cDC dans la primo-infection par le VIH-1	43
c- Les cDC dans les réponses immunitaires chez les patients contrôleurs.....	44
d- Les dysfonctions des cellules dendritiques dans le modèle primate non-humain	46

III-La famille multigénique des récepteurs LILR.....	47
A- Une organisation structurale et fonctionnelle qui distingue deux groupes de LILR.....	48
a- Les domaines intracellulaires définissent deux groupes de LILR	49
b- Les ligands des récepteurs LILR	51
c- Les orthologues des récepteurs LILR chez les modèles murins et simiens.	52
B- Rôle immuno-modulateur des récepteurs LILR dans les réponses immunitaires et les pathologies	55
a- Le rôle des récepteurs LILR dans le microenvironnement tumoral.....	55
b- Action des récepteurs LILR dans l'auto-immunité.....	56
c- Les récepteurs LILR dans la tolérance aux greffes d'organes	57
d- Les récepteurs LILR dans les pathologies infectieuses	57
C- Rôle des récepteurs LILR dans l'infection par le VIH-1	59
a- Interactions entre les ligands HLA-I et les récepteurs LILR : déterminants génétiques sur la pathogenèse virale	59
b- Impact des mutations virales d'échappement sur l'interaction entre les molécules HLA classe I et les récepteurs LILR.....	60
c- Rôle des LILRs sur la régulation des réponses immunitaires induites au cours de l'infection par le VIH-1	61
Objectifs	63
Résultats.....	67
Article: Early SIV and HIV infection promotes the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs	68
Résultats non publiés	70
Les transcrits des gènes LILRs et du CMH classe I sont modulés au cours des premiers jours de l'infection par le SIV	70
Le récepteur LILRB2 et les ligands CMH classe I sont faiblement induits chez les singes contrôlant leur virémie.	71
La stimulation des voies TLR7/8 en synergie avec l'action de l'IL-10 potentialise l'expression de LILRB2 sur les cellules dendritiques dérivées de monocytes humaines (MoDC).	71
L'expression de LILRB2 est régulée dans les cDC isolées du sang par les IFN de type I, l'IL-10 et le TNF- α	72
L'expression de LILRB2 diminue à la surface des cDC du sang co-incubées avec le virus chikungunya.	73
Discussion	74
Conclusion et Perspectives	82
Bibliographie	86

Table des figures

Figure 1: Organisation génomique du VIH-1 et du VIH-2.....	12
Figure 2: Représentation de l'organisation structurale de la particule virale du VIH-1.....	12
Figure 3: Les différentes étapes du cycle du VIH-1 dans un lymphocyte T CD4.....	14
Figure 4: Les phases cliniques de la primo-infection du VIH-1.....	18
Figure 5: Schéma de la pathogénèse de l'infection au VIH avec les atteintes cellulaires et les conséquences fonctionnelles conduisant au stade SIDA.....	22
Figure 6: Variations des charges virales et de l'activation immunitaire suite à l'infection par le VIH/SIV.....	28
Figure 7: Distribution géographique des macaques cynomolgus (<i>Macaca fascicularis</i>) et rhesus (<i>Macaca mulatta</i>).....	30
Figure 8: Schéma de l'ontogenèse des cellules dendritiques dans les différents compartiments tissulaires.....	33
Figure 9: Les sous population de DC humaines et souris avec leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles.....	37
Figure 10: Suivi cinétique de l'activation des cDC (ou mDC).....	44
Figure 11: Profil d'expression cellulaire des récepteurs LILR.....	48
Figure 12: Schéma représentant les récepteurs de la famille LILR.....	49
Figure 13: Les mécanismes d'activation et d'inhibitions des LILRs via les motifs ITAM et ITIM.....	50
Figure 14: Site de liaison en trans entre le récepteur LILRB2 des cellules dendritiques avec les ligands HLA classe I des cellules T.....	52
Figure 15: Représentation schématique de la structure des Mm-LILR du macaque rhesus (<i>Macaca mulatta</i>).....	54

Avant-propos

En 2014, 36,9 millions de personnes étaient séropositives pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) avec la transmission hétérosexuelle représentant le mode de contamination majoritaire (plus de 60% des infections). En 2014, 1,2 million de personnes sont décédées de maladies liées au SIDA (UNAIDS, 2014). Cependant, bien que la lutte mondiale contre le VIH/SIDA ait été efficace ces dernières années, avec plus de 15 millions de personnes vivant avec le VIH qui avaient accès aux thérapies antirétrovirales, l'épidémie continue de gagner du terrain. En effet le nombre de personnes nouvellement infectées par le VIH était d'environ 2 millions en 2014.

En conséquence, de nouvelles approches prophylactiques et curatives qui permettront d'enrayer durablement la progression de la pandémie forment un pan important de la recherche anti-VIH. Dans ce contexte, l'utilisation de modèles animaux constitue une étape préclinique cruciale. Ces modèles sont également très pertinents pour l'étude des différents stades de la physiopathologie de l'infection par le VIH. En effet, des réponses immunitaires efficaces dès les premiers temps de l'infection sont importantes dans le contrôle de la maladie puisqu'il a été montré que les déficiences immunitaires initiées au cours de la primo-infection sont des corrélats importants dans la progression de la maladie. Malgré les nombreuses connaissances acquises au cours des dernières années en immunologie virale, il n'existe toujours pas de traitement préventif ou curatif efficace.

L'étude des interactions hôte/virus, notamment en primo-infection, est donc indispensable pour mieux identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires qui jouent un rôle dans la protection contre la pénétration et la dissémination du VIH. Afin de mieux comprendre les désordres des réponses immunitaires innées, nous tirons profit du modèle macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) infecté par le virus de l'immunodéficience simienne (SIV). En effet, ce modèle d'infection mime parfaitement la physiopathologie du VIH chez l'homme. De plus il est inductible, ce qui permet d'étudier les réponses immunitaires dès les premiers jours suivant l'infection. Par ailleurs, ce modèle permet de suivre les événements cellulaires et virologiques dans les tissus d'intérêts immunitaires tout au long de la cinétique infectieuse. Ainsi, la caractérisation des mécanismes moléculaires impliqués dans les dysfonctions des cellules de la réponse immunitaire innée et adaptative pourra aboutir à l'identification de cibles thérapeutiques, et ainsi améliorer les réponses immunitaires dirigées contre le VIH.

Introduction

I- Physiopathologie de l'infection par le VIH et le SIV.

Les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et leurs homologues simiens (SIV) sont des rétrovirus de la famille des lentivirus, responsables du syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA). Les SIV sont un important groupe de virus qui infectent naturellement de nombreuses espèces de primates non-humains (PNH). Les premières souches de SIV furent isolées sur des macaques rhesus dans des centres de primatologie aux Etats-Unis présentant des symptômes d'immunodéficience similaires à ceux observés chez les patients VIH. Par la suite, des résultats sérologiques et moléculaires ont mis en évidence des infections dans au moins une vingtaine d'espèces (*AIDS as a Zoonosis: Scientific and Public Health Implications*). A l'heure actuelle les infections à l'état sauvage par le SIV ont uniquement été décrites chez les PNH africains (*Origins of HIV and the AIDS pandemic*). Des études ont montré que les lentivirus SIV infectent et se répliquent chez les singes mangabeys enfumés et les singes verts africains mais n'induisent qu'exceptionnellement un syndrome d'immunodéficience dans ces hôtes naturels suggérant donc une évolution hôte/virus protectrice (*Natural SIV hosts : showing AIDS the door*). En revanche, les infections par le SIV induites chez les macaques asiatiques se caractérisent par le développement d'un SIDA comparable au tableau clinique qu'on retrouve chez les patients infectés par le VIH.

Chez l'homme, les souches VIH-1 et VIH-2, qui représentent les agents étiologiques du SIDA, sont considérées comme étant des zoonoses (Hahn et al. 2000). Les SIV les plus proches du VIH-1 sont le SIVcpz et le SIVgor qui infectent respectivement les chimpanzés et les gorilles d'Afrique équatoriale de l'Ouest. Les SIVsmm retrouvés chez les mangabeys enfumés d'Afrique de l'Ouest sont les plus proches du VIH-2. De plus, les souches SIVsmm ont passé la barrière d'espèce, passant des singes africains aux macaques asiatiques en captivité qui ont développé un SIDA. Les virus isolés sur ces animaux ont permis de sélectionner les souches pathogènes qui sont utilisées dans les modèles macaques (*macaca fascicularis* et *macaca mulatta*), dits « pathogènes » et qui représentent les modèles d'étude préférentiels de la physiopathologie VIH (Letvin et al. 1985).

A- Organisation génomique et cycle répliatif du VIH/SIV

a- Le virus

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un virus enveloppé à ARN simple brin appartenant à la famille des *Retroviridae* et au genre *Lentiviridae*. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) regroupe actuellement deux types, le VIH-type 1 (VIH-1) identifiée en 1983 (Barré-Sinoussi et al. 1983) et le VIH-type 2 (VIH-2) identifié en 1986 (Clavel et al. 1986). Le VIH-1 est la souche prédominante et endémique au niveau mondial alors que la souche du VIH-2 est plus minoritaire et principalement restreinte à l'Afrique de l'Ouest (Campbell-Yesufu and Gandhi 2011). Des études phylogénétiques ont montré des liens étroits d'un point de vue structurel et pathologique entre les lentivirus chez les primates. En effet, le VIH-1 est étroitement lié au SIV (Virus de l'immunodéficience simienne) isolé chez les Chimpanzés, noté SIVcpz alors que le VIH-2 semble avoir évolué à partir du SIV isolé chez les singes Mangabey et Macaques, respectivement noté SIVsm et SIVmac (Sharp and Hahn 2011). La diversification des souches VIH-1 présente une subdivision en différents groupes. Parmi ceux-ci, le groupe M (pour Majeur) est responsable de la majorité de l'épidémie mondiale (Hemelaar 2012). Les VIH-type 1 et type 2 induisent tous deux une immunodéficience mais avec quelques différences dans la pathogénèse. L'infection par le VIH-2 est en général caractérisée par une plus faible virémie, des taux de transmission plus faibles, une progression plus lente vers le stade SIDA et un nombre de cas de SIDA déclarés moindre par rapport aux infections par le VIH-1 (Azevedo-Pereira and Santos-Costa 2016).

Le génome du VIH est composé de deux copies identiques de molécules ARN positif monocaténaire et se caractérise par la présence de gènes structurels *gag*, *pol* et *env*. Les génomes du VIH-1 et du VIH-2 présentent aussi une combinaison complexe d'autres gènes régulateurs (Figure 1). La structure de la particule virale est similaire entre le VIH-1 et le VIH-2 (Figure 2). Similaire aux autres rétrovirus, le gène *gag* code pour les protéines structurales de la capsid (p24) et de la matrice (p17). Le gène *env* code pour les glycoprotéines de l'enveloppe virale, gp120 et gp41, qui reconnaissent des récepteurs spécifiques à la surface des cellules T CD4 cibles. Le gène *pol* code pour les enzymes de la réplication virale, parmi lesquelles la transcriptase inverse qui convertit l'ARN viral en ADN, l'intégrase qui incorpore l'ADN viral dans l'ADN chromosomique hôte (formant ainsi le provirus) et la protéase qui clive les précurseurs des protéines Gag et Pol.

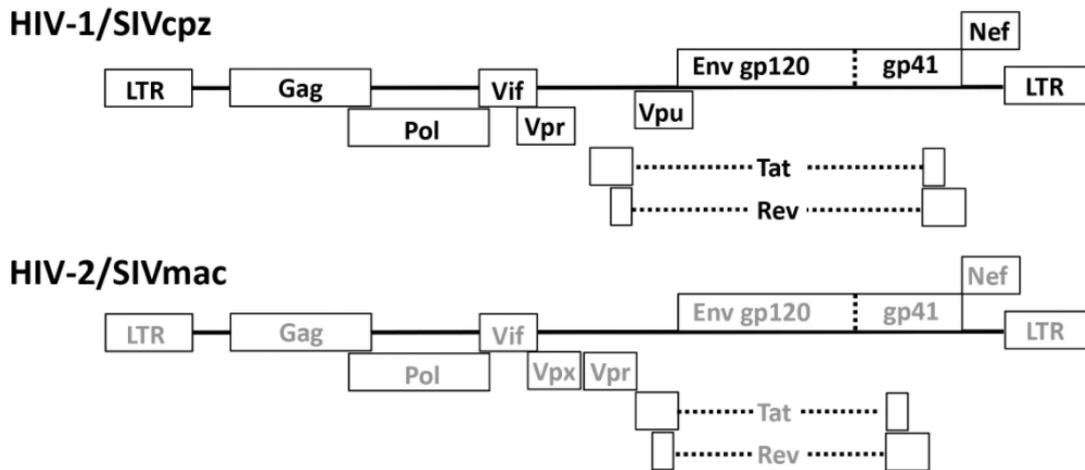


Figure 1: Organisation génomique du (A) VIH-1 et du (B) VIH-2 (Pathogens and Immunity, 2016).

La particule virale du VIH, d'un diamètre de 100 nm, est entourée d'une membrane lipoprotéique. Au niveau membranaire, on retrouve des complexes d'hétérotrimériques formés par les glycoprotéines gp120 et gp41 liées entre elles. Ancrée sous la membrane virale, la protéine matricielle (p17) englobe la capside composée de polymères de l'antigène du noyau (p24). La capside contient deux copies de l'ARN viral combiné avec une nucléoprotéine et les enzymes de la transcriptase inverse, de l'intégrase et de la protéase (Gelderblom, Özel, and Pauli 1989).

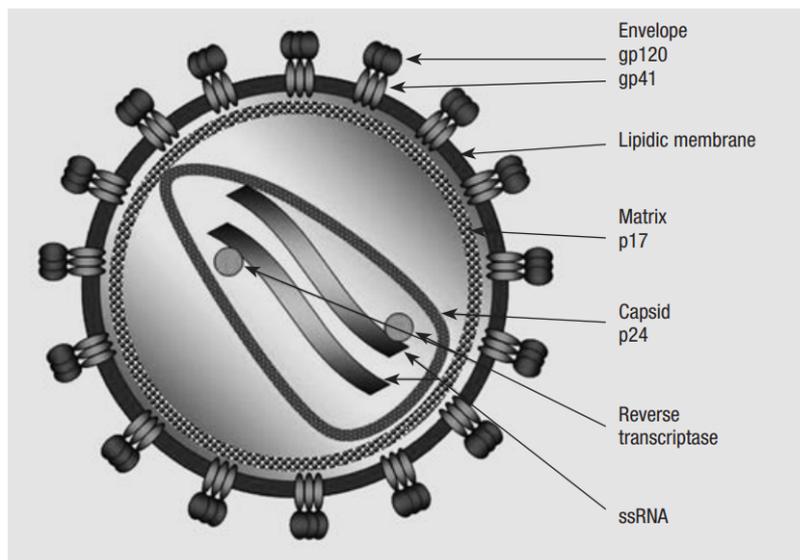


Figure 2: Représentation de l'organisation structurale de la particule virale du VIH-1 (AIDS, 2012).

Introduction

Le génome viral incorpore d'autres gènes régulateurs qui jouent un rôle clé dans la modulation de la réplication du virus. Parmi ceux-ci, le gène *tat* code pour une protéine (Tat) qui s'exprime tôt après l'infection et favorise l'expression des gènes du VIH. La protéine Rev, codée par le gène *rev*, assure l'export de l'ARNm viral du noyau vers le cytoplasme des cellules infectées pour assurer la synthèse des protéines virales. La protéine régulatrice Vpr est impliquée dans l'arrêt du cycle cellulaire. Vpr joue un rôle dans la rétro-transcription virale et l'accès au noyau de l'ADN rétro-transcrit dans les cellules quiescentes (telles que les macrophages ou les cellules dendritiques), fonction qui est réalisée par Vpx pour le VIH-2. Vpu est une protéine nécessaire à la libération des particules virales, tandis que la protéine Vif améliore le pouvoir infectieux des néo-particules virales (Rose et al. 2004). La protéine Nef a plusieurs fonctions : la régulation négative du récepteur membranaire CD4 de la cellule cible pour permettre le bourgeonnement des nouveaux virions à la surface cellulaire ainsi que la régulation négative des CMH-I, améliore le pouvoir infectieux et la réplication virale. Cet effet est médié par la présence de Nef dans les virions du VIH et est dû, au moins en partie, à la capacité de Nef à induire le remodelage de l'actine et à faciliter le mouvement des virions. Enfin, les séquences LTR du génome viral (Long terminal repeat) en 5' et 3' correspondent aux séquences d'initiation de la transcription en 5' et au signal d'arrêt en 3'.

b- Le cycle viral

Le cycle de réplication du VIH peut être résumé en six étapes ; 1) liaison et entrée dans la cellule de l'hôte, 2) "décapsidation", 3) transcription inverse, 4) intégration des provirus, 5) synthèse et assemblage des protéines virales et 6) bourgeonnement (Figure 3).

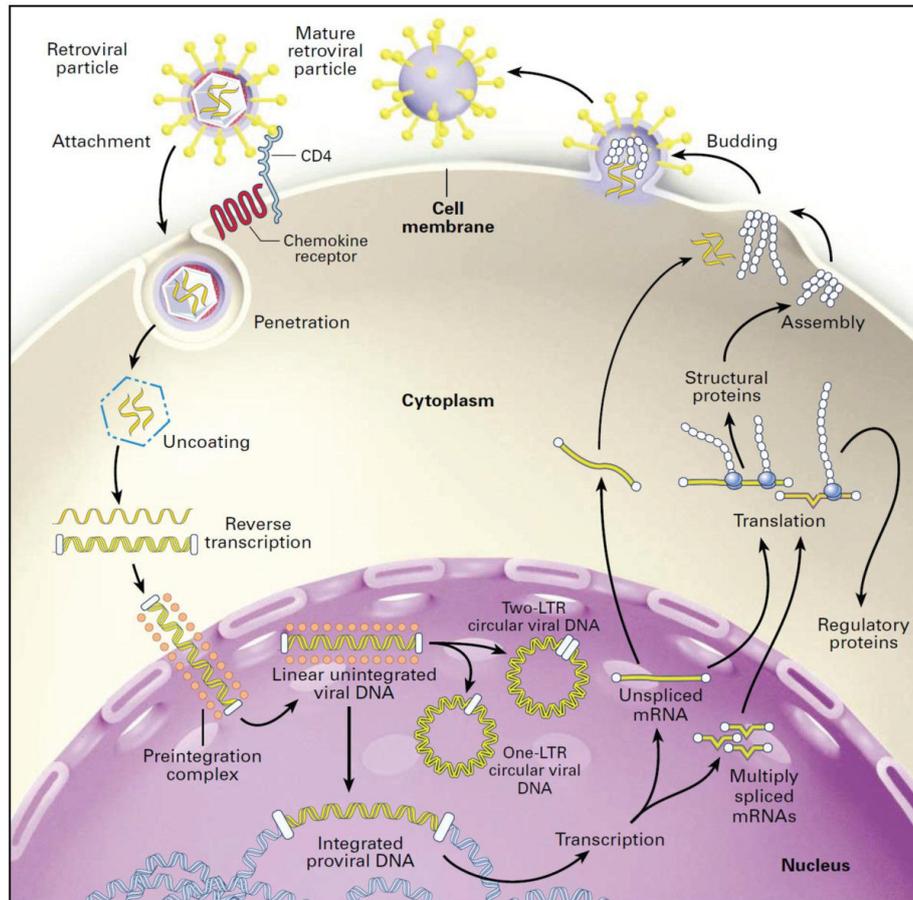


Figure 3: Les différentes étapes du cycle du VIH-1 dans un lymphocyte T CD4 (Pasternak AO et al, Retrovirology, 2013).

Le complexe hétérotrimérique formé par les protéines gp120 et gp41 de l'enveloppe virale est essentiel pour la reconnaissance du virus et l'entrée dans les cellules cibles. En effet, la sous-unité gp41 est essentielle à la fusion des membranes virales aux membranes cellulaires pour permettre l'entrée du virus (Weiss RA 1993). La gp120 du VIH se lie à une glycoprotéine, le CD4, qui est exprimée à la surface cellulaire des lymphocytes T circulants, mais aussi sur d'autres types cellulaires (les précurseurs de cellules T, sur les monocytes / macrophages, les cellules dendritiques et les cellules microgliales du système nerveux central).

Lors de la liaison de la gp120 avec la protéine de surface CD4, le complexe hétérotrimérique de l'enveloppe virale subit un changement conformationnel exposant un domaine spécifique de la protéine gp120 capable de se lier aux co-récepteurs cellulaires, CXCR4 et CCR5. Ce mécanisme permet la fusion des membranes et l'entrée subséquente de la capsid virale.

Introduction

La décapsidation permet la libération de l'ARN et des enzymes virales. La conversion de l'ARN viral en ADN pro-viral s'effectue par l'action de la transcriptase inverse et de l'intégrase qui intègre l'ADN rétro-transcrit dans le génome de la cellule. Lors de l'activation cellulaire, la transcription de l'ADN proviral en ARNm viral est suivie par sa migration dans le cytoplasme, où la traduction des transcrits *gag*, *pol* et *env* synthétisent les précurseurs des protéines structurales. Le clivage de ces molécules précurseuses s'effectue par la protéase du VIH-1. Cet ensemble mécanistique aboutit à la génération de particules virales infectieuses. La formation de nouvelles particules virales est un processus durant lequel les deux brins d'ARN viraux s'associent avec les enzymes de réplication englobés par les protéines de structures qui se rassemblent autour pour former la capsid du virus. Cette particule immature migre vers la surface de la cellule entraînant la formation de nouvelles particules virales infectieuses. Au cours du processus de bourgeonnement, les membranes lipidiques du virus peuvent incorporer diverses protéines de la cellule hôte et s'enrichir de phospholipides et de cholestérol membranaires. Contrairement aux lymphocytes T, où le bourgeonnement se produit à la surface de la cellule et les virions sont libérés dans l'espace extracellulaire, le processus de bourgeonnement dans les monocytes et les macrophages entraîne l'accumulation de virions dans les vacuoles intracellulaires qui sont ensuite relâchées (Freed 2015).

B- Les tropismes des virus de l'immunodéficience

Le tropisme cellulaire et tissulaire du VIH-1 est important car il s'est révélé prédictif de l'effet cytopathogène et de la progression de la maladie (Burger and Hoover 2008; Connor et al. 1997). La compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans ce tropisme constitue une piste thérapeutique pour améliorer les traitements antiviraux. Le récepteur CD4 a été le premier récepteur identifié pour le VIH-1 (Dalglish et al. 1984) puis pour le VIH-2 et le SIV (Sattentau et al. 1988). Par la suite, les récepteurs aux chimiokines, principalement CCR5 et CXCR4, ont été identifiés comme des corécepteurs essentiels pour l'entrée du virus (H. Deng et al. 1996; Doranz et al. 1996).

a- Le récepteur CD4 au VIH

Le récepteur CD4 est une glycoprotéine monomère de 58 kDa qui est exprimée à la surface cellulaire d'environ 60% des lymphocytes T circulants sur les précurseurs des cellules T dans la moelle osseuse et le thymus, sur les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et les cellules microgliales du système nerveux central.

Introduction

La molécule CD4 agit comme un corécepteur de la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II). Il augmente l'avidité du complexe ternaire entre le CMH-II associé à un peptide et le récepteur des cellules T (TCR) au cours de la présentation antigénique. Le récepteur CD4 est le récepteur cible du virus VIH (Klatzmann et al. 1984). L'implication du récepteur CD4 dans l'infection fut montrée par l'action d'anticorps monoclonaux anti-CD4 qui bloquaient l'entrée du virus dans les cellules cibles (Dalglish et al. 1984). Par la suite, le clonage et la transfection du gène CD4 dans des lignées cellulaires humaines les rendirent permissives à l'infection et à la réplication du VIH-1 (Maddon et al. 1986). Aussi, les dynamiques d'interaction entre le CD4 et la protéine virale gp120 induisent des modifications conformationnelles de la protéine gp120 en favorisant son association aux corécepteurs cellulaires, CCR5 et/ou CXCR4 et renforçant ainsi la fusion entre la protéine virale gp120 et le récepteur CD4 (Myszka et al. 2000).

b- Les co-récepteurs et tropisme cellulaire

Des études d'infection *in vitro* ont montré que certaines chimiokines inhibaient l'infection par le VIH-1, laissant penser à un rôle clé de leurs récepteurs (Cocchi et al. 1995). Par la suite, l'identification des récepteurs de chimiokines (récepteurs à sept passages transmembranaires), CCR5 (tropisme macrophagique : nommé virus R5) et CXCR4 (tropisme lymphocytaire : nommé virus X4) furent décrits comme les co-récepteurs du VIH-1 (H. Deng et al. 1996; Doranz et al. 1996). Dans une moindre mesure, l'interaction entre les protéines virales peut aussi passer par d'autres co-récepteurs, parmi lesquels, CCR2b, CCR3, CCR8, STRL33, GPR1, et GPR15 (Clapham and McKnight 2002).

Les souches virales transmises *in vivo* sont dans leurs grandes majorités de type R5 (Zhu et al. 1993) et dans une moindre mesure X4. De plus, les souches R5 semblent être la population virale prédominante présente immédiatement après la séroconversion et pendant la phase asymptomatique, alors que les virus X4 sont rarement retrouvés chez les patients récemment infectés (Biesinger and Kimata 2012).

Au cours de la progression de la maladie, quand des souches X4 émergent, les lymphocytes T CD4 naïfs sont préférentiellement infectés (Saracino et al. 2013). Les cellules lymphocytaires mémoires, notamment les sous-populations de lymphocytes T CD4 souches mémoires (T_{SCM}), forment le réservoir viral avec une dominance tropique X4 (J M Brenchley and Douek 2008). Le récepteur CCR5 joue clairement un rôle important dans les événements initiaux de transmission et diffusion virale systémique.

Introduction

En effet, des études d'infection SIV sur les primates non-humains ont montré que les cellules dendritiques mucoales (à tropisme macrophagique X5) étaient les premières cellules infectées (Spira et al. 1996; Zaitseva et al. 1997). Cela est favorisé par l'expression du récepteur CD4 et des co-récepteur CXCR4 et CCR5 au VIH-1 sur ces cellules dendritiques (Kawamura et al. 2003; B. Lee et al. 1999; Smed-sørensen et al. 2005).

C- Les phases cliniques de l'infection

La physiopathologie du VIH conduit à une immunodéficience sévère, le SIDA. En l'absence de traitement, cette infection évolutive se déroule en 3 phases successives : la primo-infection ou phase aiguë pouvant être asymptomatique, la phase chronique correspondant à la phase de latence clinique, souvent asymptomatique et le stade SIDA, phase terminale pathologique.

a- La primo-infection

Plus de 80% des adultes infectés par le VIH-1 sont infectés par l'exposition des muqueuses vaginales ou rectales au virus. Les 20% restants sont infectés par des inoculations percutanées ou intraveineuses (UNIAIDS 2012). Immédiatement après l'exposition et la transmission, le VIH-1 se réplique activement dans la muqueuse, la sous-muqueuse puis le virus et/ou les cellules infectées rejoignent les tissus lymphoïdes drainants (Xu, Wang, and Veazey 2013). Cette phase dite d'éclipse, durant laquelle le virus n'est pas détectable au niveau plasmatique, peut durer de 7 à 21 jours (Keele et al. 2008). Par la suite, le virus se réplique fortement permettant la détection des ARN viraux au niveau plasmatique avec le pic de répllication entre 14 et 25 jours post-infection (Kløverpris et al. 2016; Little et al. 1999). Les étapes qui définissent l'infection aiguë et précoce du VIH-1 sont caractérisées par l'apparition séquentielle de marqueurs viraux et la mise en place de la réponse anticorps permettant une classification clinique des différentes phases de la primo-infection (Fiebig et al. 2003) (Figure 4).

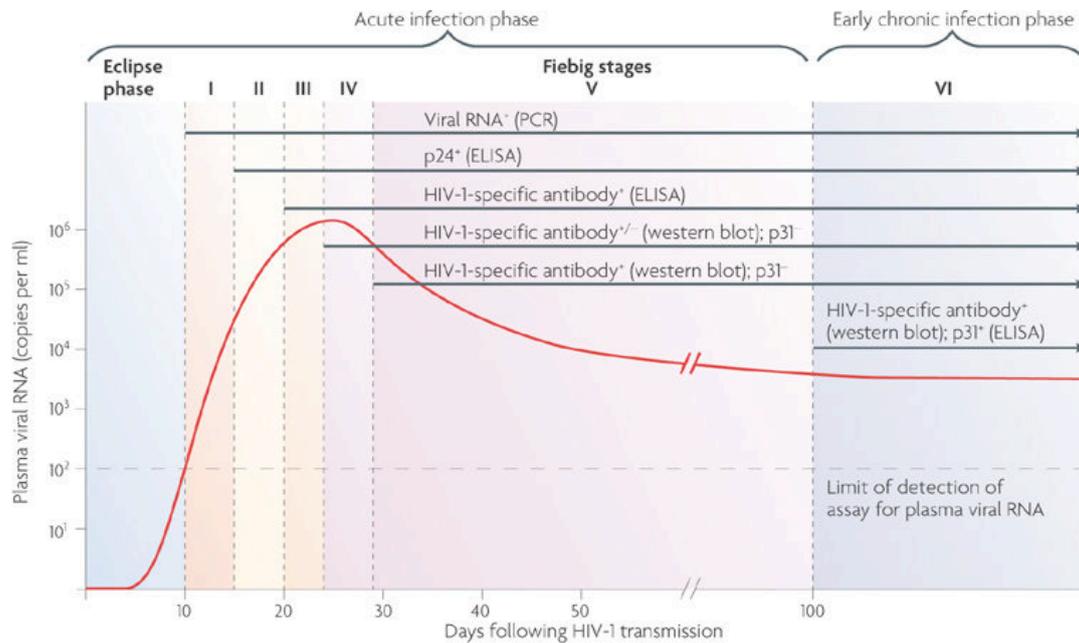


Figure 4: Les phases cliniques de la primo-infection du VIH-1 (Nature Reviews, 2011).

Le virus se réplique rapidement et se propage à travers le corps vers d'autres tissus lymphoïdes, en particulier le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT, gut-associated lymphoid tissue), où les lymphocytes T CD4 mémoires activés sont présents en nombre élevé (Jason M Brenchley et al. 2004). Environ 20% des lymphocytes T CD4 du GALT sont infectés, entraînant une forte apoptose avec 80% des cellules qui sont épuisées (Mattapallil et al. 2005). Ce processus provoque la libération de microparticules apoptotiques qui possèdent des propriétés immunosuppressives et favorisent la propagation virale. Le pic viral coïncide également avec une « tempête de cytokines » inflammatoires (Keating et al. 2016; Roberts et al. 2010) produites par différentes cellules de la réponse innée. Cette « tempête cytokinique » joue un rôle dans la mortalité des cellules T CD4 et contribue à une forte activation cellulaire, nocive pour l'homéostasie immunitaire. Au cours des dernières étapes de la primo-infection, on observe une stabilisation de la virémie plasmatique (viral set point) avec l'initiation de la réponse T CD8 spécifique parallèlement à un nombre de lymphocytes T CD4 qui revient à des niveaux presque normaux dans le sang mais pas dans le GALT (Mattapallil et al. 2005). Parallèlement, on observe la mise en place de la réponse anticorps 3 à 4 semaines après l'infection (Tomaras et al. 2008). A ce stade, la dissémination virale est avancée avec les réservoirs viraux qui se sont déjà formés.

b- La phase de latence clinique

Suivant la période de primo-infection, il existe habituellement une période relativement longue qui se caractérise par aucune, voire, le cas échéant, de rares manifestations cliniques. Les estimations actuelles du temps moyen de l'infection par le VIH-1 amenant au stade SIDA varient de 8 à 12 ans. Cette intervalle de temps entre l'infection et le développement varie considérablement d'un individu à l'autre (Lemp et al. 1990). En absence de traitement antirétroviral (ARV), le virus continue à se répliquer à des niveaux variables selon les individus. Les erreurs non corrigées de la transcriptase inverse contribuent à l'échappement du VIH-1 avec une sélection rapide des virus mutés qui abrogent la reconnaissance des antigènes viraux par la réponse immunitaire adaptative, les anticorps neutralisants et les lymphocytes T cytolytiques (Hunt et al. 2008; Wei et al. 2003). Le taux des lymphocytes T CD4 et CD8 activés (HLA-DR+CD38+) continue d'augmenter, associé à une apoptose cellulaire exacerbée (Hunt et al. 2008). Pendant cette phase, la latence virale se poursuit au niveau des réservoirs viraux dans les cellules T CD4 mémoires (Siliciano et al. 2003). Cette latence permet au virus de survivre et de se réactiver malgré la pression exercée par la réponse immunitaire ou les traitements antirétroviraux (Pace et al. 2011; Wong et al. 1997). On observe également une transition du profil monocytes classiques CD14^{hi}CD16^{low} vers le profil monocytes inflammatoires CD14^{low}CD16^{hi}, témoins d'un environnement inflammatoire fort (Thieblemont et al. 1995).

c- La phase SIDA

Le stade SIDA est défini par un nombre de lymphocytes T CD4 circulants inférieur à 200 cellules par microlitre et par la survenue d'événements cliniques. Il a été montré qu'il existe une forte corrélation entre le délai de temps pour développer un SIDA et la charge virale en fin de phase primaire d'infection (Mellors et al. 1996). En effet, les personnes ayant des charges virales élevées en fin de phase aiguë ont une période de progression trois fois plus rapide que les personnes dont les charges virales se situent dans les niveaux les plus bas. Les mécanismes cellulaires accompagnant le stade SIDA correspondent à une mortalité cellulaire accrue, une activation immunitaire forte, un « switch » du profil de lymphocytes T CD4-Th1 vers un profil cellules T CD4-Th2 libérant des facteurs solubles tolérogènes qui inhibent la réponse immunitaire et induisent une forte reprise de la réplication virale. On observe aussi une diminution de la réponse cellulaire anti-VIH et une forte diminution des fonctions cytolytiques des lymphocytes T CD8 cytotoxiques qui meurent par apoptose (Langford, Ananworanich, and Cooper 2007).

Introduction

L'ensemble de ces dysfonctions marquent la progression finale de la maladie. Ce syndrome d'immunodépression se manifeste par le développement d'infections opportunistes et de cancers (pneumocystose, toxoplasmose, infections virales notamment les virus de la famille des herpès, infections mycobactériennes, sarcome de Kaposi, lymphomes, etc).

d- Les patients « Elite Controllers »

Certains patients peuvent contrôler naturellement la réplication virale à long terme sans traitements antirétroviraux (ARV) et limiter de manière naturelle l'impact de l'infection par le VIH-1 sur le système immunitaire. Environ 5 à 15% des personnes infectées par le VIH-1 sont capables de maintenir stable un nombre de lymphocytes T CD4 supérieur à 500 cellules par microlitre de sang pendant au moins 5 ans en l'absence de traitement antirétroviral. Ces patients sont qualifiés de « non progresseurs à long terme » (NTLP) (Okulicz et al. 2009). Au sein de ce groupe, un nombre plus faible d'individus (moins de 1% des personnes infectées par le VIH-1) sont des patients, dits « Elite Controllers » (EC). Ils correspondent à des patients infectés depuis plus de 5 ans qui ont été capables de maintenir, en l'absence de traitement antirétroviral, une charge virale inférieure à 400 copies/mL au fil des 5 dernières mesures de charges virales (Okulicz and Lambotte 2011). En 2011, l'équipe d'Asier Sáez-Cirión a montré une susceptibilité moindre à l'infection et à la réplication du VIH-1 dans les macrophages et les lymphocytes T CD4+ des patients « EC ». Ces patients présentaient une charge virale faible grâce à différents mécanismes de restrictions (Sáez-cirión et al. 2011). Différents facteurs virologiques, génétiques et immunitaires ont été étudiés pour expliquer ce phénotype particulier. Plusieurs études ont associé des allotypes HLA spécifiques avec des taux différentiels de progression vers la maladie. Les allèles, dits protecteurs HLA-B*27 et HLA-B*57, se sont révélés être associés à une progression retardée de la maladie (Kaslow RA 1996) et se retrouvent surreprésentés chez les patients « EC » (Lambotte et al. 2006; Pereyra et al. 2008). Ces allèles protecteurs sont également associés à une activité cytotoxique des lymphocytes T CD8 + spécifiques au VIH-1 plus forte chez certains patients EC par rapport aux patients « progresseurs » (Owen et al. 2010). Cette fonction cytolytique, contre les cellules infectées, est liée à un phénotype polyfonctionnel de ces cellules T CD8+ VIH-spécifique avec une plus forte sécrétion de cytokines antivirales (Betts et al. 2006a; Owen et al. 2010) et de protéines lytiques (granzyme, perforine) (Hersperger et al. 2010; Stephen A Migueles et al. 2008). Ces cellules T CD8 VIH-spécifiques semblent aussi moins promptes à l'apoptose cellulaire décrite chez les patients « progresseurs » (J. Yan et al. 2013).

Introduction

Chez les patients « EC », l'activité antivirale des cellules T CD8 VIH-spécifiques est aussi particulièrement efficace dans l'élimination des lymphocytes T CD4 infectés par le virus (Saez-Cirion et al. 2007). Une autre caractéristique des patients « EC » est la présence peu fréquente d'anticorps neutralisants malgré une immunité cellulaire accrue (Lambotte et al. 2009; Pereyra et al. 2008). Ce phénomène pourrait s'expliquer par une corrélation négative entre des anticorps neutralisants et des charges virales plus élevées qui ne semblent pas jouer un rôle protecteur dans la progression de la maladie (Euler et al. 2010). La compréhension des différents mécanismes décrits chez les patients « EC » est toujours d'actualité et n'explique pas encore le contrôle naturel de la virémie. Il demeure donc d'autres facteurs physiopathologiques à caractériser, parmi lesquelles les phénomènes d'activation immunitaire chronique qui sont aussi décrits chez ces patients (Hunt et al. 2008; Noel et al. 2014). Cela aboutira à une meilleure compréhension des mécanismes induisant une progression plus ou moins rapide de l'infection par le VIH-1.

D- Mécanismes physiopathologiques de l'infection

La pathogenèse de l'infection par le VIH se caractérise par un épuisement du pool de lymphocytes T CD4 qui va aboutir à une immunodéficience. Cet effet s'accompagne d'une activation chronique qui entraîne une immunosuppression fonctionnelle du système immunitaire et un état d'inflammation qui sous-tendent un risque accru de complications observées chez les patients VIH-1 positifs. Une réponse immunitaire inadéquate est à l'origine de répliquations virales soutenues, qui jouent en faveur d'une activation immunitaire continue. Des nombreux travaux se sont intéressés à disséquer le rôle de l'activation immunitaire et de l'inflammation dans le vaste spectre des complications observées dans la maladie. Ces études sont essentielles pour identifier de potentiels corrélats de protection immunitaire contre le VIH (Figure 5).

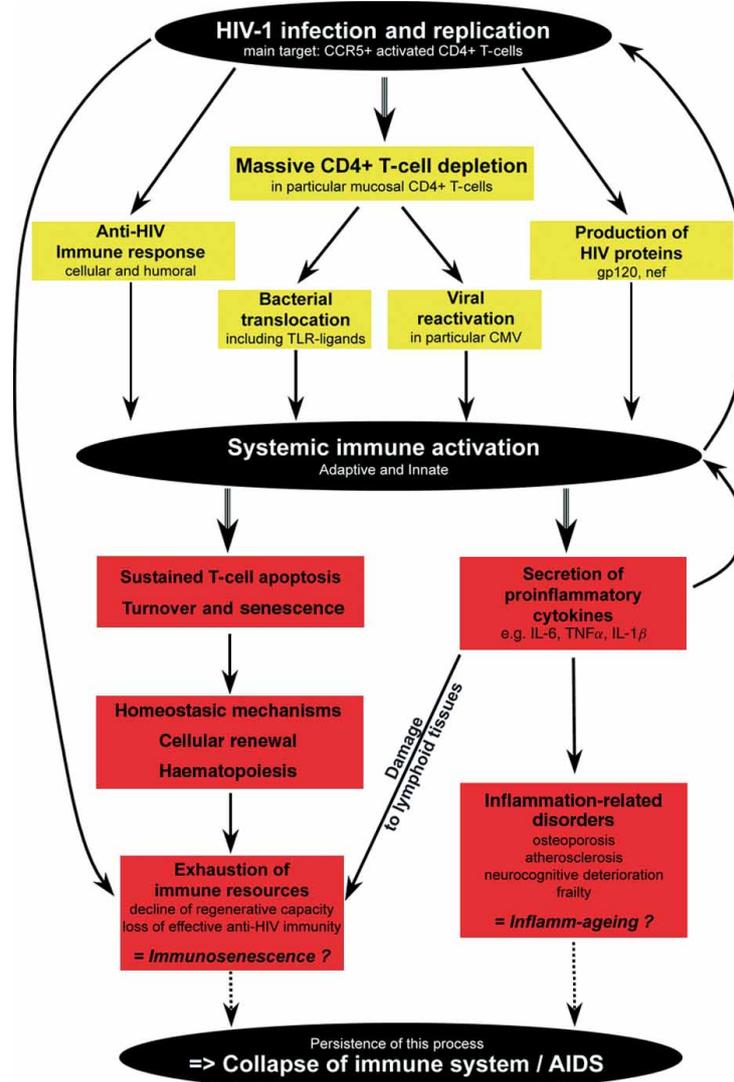


Figure 5: Schéma de la pathogénèse de l’infection au VIH avec les atteintes cellulaires et leurs conséquences fonctionnelles qui conduisent au stade SIDA (D’après Appay et al. 2008).

a- Altérations immunologiques induites par l’infection au VIH

Un effet délétère de l’infection par le VIH/SIV sur l’homéostasie cellulaire s’accompagne d’un niveau élevé de réplication virale dans les tissus lymphoïdes, ainsi que d’un épuisement massif des lymphocytes T CD4 dans le tractus gastro-intestinal et les organes lymphoïdes secondaires (Mattapallil et al. 2005). Par ailleurs, des dysfonctions des cellules de la réponse immunitaire innée contribuent à l’infection primaire puis à la progression de la maladie (Espíndola et al. 2016).

Introduction

a.1- Les médiateurs de la réponse immunitaire innée

Les premiers sites d'infections se situent au niveau des muqueuses rectales ou vaginales qui sont des tissus riches en cellules dendritiques (DCs) et macrophages qui comptent parmi les premières cellules cibles du virus. Ces cellules présentatrices d'antigènes (CPA) sont souvent infectées par le VIH in vivo, grâce à l'expression de récepteurs cibles, CD4 et CCR5 (A Granelli-Piperno et al. 1996). L'effet cytolitique et réplicatif est moindre que dans les cellules lymphocytaires (McIlroy et al. 1995) leur permettant de servir de réservoirs viraux surtout pour les cellules macrophages (D. Brown and Mattapallil 2014). Ces cellules présentent une capacité forte de rétention des particules virales dans des compartiments viraux intracellulaires (VCC, Virus-Containing Compartments) (Gaudin et al. 2013). Ainsi les macrophages infectés peuvent être une source pour la transmission virale, mais sont aussi les cellules sécrétrices de médiateurs solubles tels que des cytokines inflammatoires (TNF α , l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-10), ainsi que de chimiokines chimio-attractantes qui induisent un recrutement des cellules T CD4, cibles du VIH (Koppensteiner and Wu 2012). Des études d'infection in vitro de macrophages par le VIH-1 montrent une inhibition des capacités de phagocytose et de digestion des pathogènes environnants (Baldwin et al. 1990) qui vont conduire à la formation d'un environnement inflammatoire soutenu et à l'apparition d'infections opportunistes.

Les défauts dans la fonction de présentation des antigènes par les cellules dendritiques (DC) contribuent à l'évasion du virus et à la pathogenèse virale. Les DC dérivées du sang périphérique de patients infectés par le VIH-1 montrent une réduction de leur efficacité de stimulation des cellules T allogéniques (Donaghy et al. 2003), un défaut de maturation avec une expression faible des marqueurs d'activation et de co-stimulation (HLA-DR, CD86, CD83) ainsi qu'une altération de la production de cytokines (faible sécrétion d'IL1 β et IL-12p70 et forte induction d'IL-10) (Majumder et al. 2005). Cette suite de phénomènes aboutit à mettre en place un environnement immunosuppresseur favorable au virus (Angela Granelli-Piperno et al. 2004). Ces données suggèrent que l'infection par le VIH-1 nuit à la réponse immunitaire innée qui permettra l'induction d'une immunité adaptative antivirale inefficace.

a.2- Les médiateurs de la réponse immunitaire adaptative

Différentes dysfonctions de la réponse adaptative se mettent en place au début de l'infection. Un défaut de prolifération des lymphocytes T CD4 est lié à une diminution de sécrétion de l'interleukine 2 (IL-2) (Clerici et al. 1989) mais également à une incapacité de réponse à la stimulation par les antigènes viraux (Victor Appay et al. 2001).

Introduction

De plus, on observe un changement dans les sous-populations de cellules T CD4 avec une diminution accrue du nombre de lymphocytes T-helper-17 (Th17) et une augmentation du nombre de lymphocytes T régulateurs (Treg). Ce déséquilibre cellulaire favorise l'atonie immunitaire et corrèle avec une progression plus rapide de la maladie (Falivene et al. 2015). L'appauvrissement des cellules lymphoïdes est associé à une perméabilité accrue du tractus gastro-intestinal qui entraîne une augmentation de la concentration plasmatique de produits microbiens tels que les lipopolysaccharides (LPS) ou les formes solubles des protéines CD14 (sCD14) (Brenchley et al. 2006). Au fil de la progression de l'infection, ces composants bactériens se retrouvent dans la circulation sanguine et vont fortement stimuler les cellules immunitaires en périphérie en créant un environnement pro-inflammatoire (forte concentration IFN de type I, IP-10, IL-15 et TNF α). Cet environnement soutient une activation immunitaire soutenue des cellules T CD4 et CD8 (expression forte des marqueurs d'activation cellulaire HLA-DR et CD38). Cette activation cellulaire, conjointement avec les facteurs pro-inflammatoires, favorise un processus fibrotique au niveau des tissus lymphoïdes périphériques qui va favoriser la migration puis la prolifération des lymphocytes T CD4 dans les tissus lymphoïdes. Cela aboutit à une infection accrue de ces cellules cibles favorisant la progression rapide de la maladie (Brenchley et al. 2006). Conjointement à la déplétion des lymphocytes T CD4, les lymphocytes T CD8 ont tendance à proliférer plus rapidement et se différencient vers un phénotype mémoire effecteur fortement activé et plus prompt à l'apoptose (V Appay et al. 2002). En outre, les cellules T CD8 spécifiques du VIH sont associées à une diminution de leur fonction cytolytique (Betts et al. 2006b) et à une altération de leur fonction de sécrétion des cytokines IFN γ , médiatrices de la réponse antivirale (V Appay et al. 2000). Dans les phases précoces de l'infection, les lymphocytes T CD4 spécifiques du VIH, via la sécrétion d'IL-2, soutiennent l'activation des cellules NK. Ces cellules NK vont jouer un rôle clé dans la mise en place de la réponse antivirale efficace associée à un contrôle de la virémie (Vargas-Inchaustegui et al. 2012). Chez les hôtes simiens naturels du SIV, la sécrétion accrue d'IFN- α et d'IL-15 permettent la survie et la prolifération des cellules NK. Ces cellules présentent alors un profil d'activation (augmentation du marqueur d'activation CD69) et des fonctions de cytotoxicité efficace (forte production d'IFN γ et induction du marqueur de dégranulation CD107a) dans le sang et les ganglions lymphatiques (Jacquelin et al. 2014). A contrario, dans les modèles primates progressifs infectés par le SIV, il est mis en évidence une prolifération cellulaire soutenue des cellules NK mais avec une activité lytique atténuée et une expression élevée des marqueurs inhibiteurs, Tim-3 favorisant un profil d'exhaustion cellulaire (Schafer et al. 2015).

b- Activation immunitaire et inflammation : moteurs de la pathologie

L'activation immunitaire dans l'infection par le VIH recouvre un large éventail d'événements impliquant des processus moléculaires et cellulaires : activation cellulaire, prolifération et mort cellulaires, sécrétion de facteurs solubles. Malgré le fait que l'activation immunitaire reflète généralement un renforcement de l'immunité antivirale, dans le cas d'une infection par le VIH, des études ont rapportées une corrélation directe entre la progression de la maladie et les taux d'activation des lymphocytes T (Deeks SG et al. 2004). L'établissement d'une activation immunitaire et l'état inflammatoire subséquent impliquent plusieurs mécanismes qui sont directement ou indirectement liés à la réplication virale. La cause commune de l'activation des lymphocytes T est la stimulation antigénique soutenue. Au cours de la primo-infection, le VIH-1 induit des réponses lymphocytaires, en particulier de lymphocytes T CD8, qui persistent pendant la phase chronique d'infection en raison d'une réplication/stimulation antigénique continue. Jusqu'à 20% des cellules T CD8 circulantes peuvent être spécifiques au VIH chez les patients chroniquement infectés et non traités (Betts et al. 2001). Les cytokines et chimiokines pro-inflammatoires qui sont sécrétées participent également à cette cascade activatrice. L'action synergique de l'IL-1 β , du TNF α et de l'IL-6 conduisent à une activation des lymphocytes T (Decrion et al. 2005). En outre, l'IL-1 β et le TNF α peuvent également diminuer la résistance épithéliale dans les tissus muqueux (Stockmann et al. 2000), favorisant la translocation microbienne associée à une augmentation significative des taux plasmatiques de LPS. Cette cascade pro-inflammatoire est aussi renforcée par les niveaux de LPS, de CD14 soluble, de flagelline et des motifs CpG de l'ADN viral. Ces ligands des récepteurs Toll-like (TLR) sont connus pour stimuler les macrophages périphériques et les cellules dendritiques favorisant l'établissement d'un état pro-inflammatoire tout au long des phases chroniques de l'infection par le VIH et le SIV (Brenchley et al. 2006), l'ensemble conduisant au maintien d'une activation immunitaire soutenue (Jason M. Brenchley, Price, and Douek 2006). Par ailleurs, l'IFN- α joue, très tôt, un rôle de choix dans l'initiation des processus inflammatoires antiviraux dans l'infection. Les analyses de puces d'ADN (microarrays) ont démontré une forte induction d'un groupe de gènes stimulés par les interférons (les ISG) dans les cellules lymphocytaires isolés de patients virémiques en phase chronique d'infection (Giri et al. 2006). Les études sur les modèles primates ont montré une forte expression des récepteurs Toll-like 7 et 9 (TLR7 et TLR9) par les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC).

Introduction

Durant la phase aiguë de l'infection par le SIV, une forte activation des TLR7 et TLR 9 va aboutir à une forte production d'IFN- α par les pDC chez les macaques infectés induisant une forte activation des gènes stimulés par les interférons (ISG) (Mandl et al. 2008). Néanmoins, les ISG induits en phase aiguë sont rapidement contrôlés et reviennent à des niveaux basaux chez les singes AGM, contrôlant naturellement la virémie, contrairement aux macaques rhésus qui maintiennent une activation élevée des ISG (Jacquelin et al. 2009). Cela témoigne du maintien d'une activation cellulaire et d'une inflammation élevée chez les patients VIH-1+ qui progressent vers la maladie (Angela Meier et al. 2009).

c- Conséquences de l'activation/inflammation du système immunitaire : senescence, exhaustion et apoptose cellulaire

L'activation immunitaire induite par la réplication virale est associée à d'autres dysfonctions cellulaires. Parmi ces mécanismes, on trouve un renouvellement accru des lymphocytes, une augmentation de l'apoptose cellulaire (Gougeon and Piacentini 2009) et une susceptibilité accrue au développement de tumeurs malignes. De plus, le compartiment des lymphocytes B est affecté avec une hyper gammaglobulinémie résultant d'une différenciation des cellules B vers le phénotype plasmocyte, une forte expansion polyclonale et une augmentation de l'expression des marqueurs d'activation : CD70, CD71, CD80 et CD86 (Moir and Fauci 2009). Ces cellules B ont également tendance à présenter des profils de cellules mémoires tissulaires avec une expression des récepteurs associés à la migration vers les tissus lymphoïdes inflammatoires aux niveaux du tractus digestifs (CXCR3, CCR6, CD11c) et une plus forte expression de récepteurs inhibiteurs et d'exhaustion (CD72, LAIR-1, CD85j, CD85k) (Moir et al. 2008). Compte tenu de l'importance des tissus lymphoïdes pour initier et soutenir les réponses immunitaires cellulaires et humorales, ces résultats suggèrent que les dysfonctions dans les organes lymphoïdes secondaires contribuent à une réponse humorale inefficace au cours de l'infection.

L'activation des gènes stimulés par les IFN (ISG) induisent l'activation des voies de mort cellulaire TRAIL/DR-5 et Fas/Fas-L (Herbeuval and Shearer 2007). L'activation immunitaire chronique est aussi associée à l'apparition de cellules T et B spécifiques au VIH qui présentent des signes d'épuisement ou de sénescence. Plusieurs études sur les modèles animaux ont démontré que bloquer l'interaction entre le récepteur programmed cell death 1 (PD-1), l'un des principaux récepteurs inhibiteurs associé aux cellules T, avec son ligand (PDL-1), permet une inversion du profil d'épuisement des cellules T CD8 spécifiques au VIH,

Introduction

ainsi qu'une amélioration de la réponse humorale antivirale (Barber et al. 2006; Velu et al. 2009). En outre, sur les lymphocytes T CD4 spécifiques aux VIH, une forte expression du récepteur inhibiteur cytotoxique T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) est impliquée dans l'épuisement/sénescence de ces cellules (Kaufmann et al. 2007). De plus, Blackburn et al ont montré que l'effet synergique de plusieurs récepteurs inhibiteurs potentialise l'effet d'anergie des lymphocytes T CD8 dans la mise en place des réponses antivirales (Blackburn et al. 2009). Ces résultats suggèrent que ces mécanismes se mettent en place et persistent tout au long du processus infectieux et vont engendrer une activation immunitaire et un environnement inflammatoire favorables à la pathogenèse du VIH-1. L'étude en détail de ces mécanismes nécessite des études à la fois sur des patients infectés par le VIH-1, mais impose aussi l'utilisation de modèles animaux. Ces modèles sont plus adaptés pour disséquer finement les processus cellulaires, virologiques et moléculaires au cours des différents stades de l'infection virale et dans les différents compartiments anatomiques à fort intérêt immunitaire.

E- Intérêt du modèle simien dans l'infection VIH

Les primates non humains (PNH) restent des modèles animaux clés pour la recherche biomédicale, notamment pour les études sur les maladies infectieuses, la compréhension des mécanismes immunologiques, ainsi que le développement et l'évaluation de nouvelles stratégies thérapeutiques. Bien que la complexité des structures d'hébergement et de soins engendre des coûts financiers importants ; malgré aussi la raréfaction des espèces de primates à l'état naturel, et bien que leur proximité à l'homme soulève aussi quelques problèmes éthiques, ces modèles restent nécessaires pour l'étude de la pathogenèse au VIH.

Dans le cadre de l'infection par le VIH, les mécanismes virologiques mis en jeu, la dissémination systémique du virus et les dysfonctions immunitaires mises en place nécessitent un modèle animal qui reproduit au plus près la physiopathologie humaine. Cela est d'autant plus vrai, qu'exception faite des souris humanisées, les modèles murins ne s'infectent pas avec le VIH (Hatzioannou and Evans 2012). Les PNH constituent ainsi l'un des meilleurs modèles animaux, car ils partagent beaucoup de caractéristiques essentielles dans l'étude de l'infection par le VIH-1. Ils possèdent des caractéristiques phylogénétiques, anatomiques, physiopathologiques (avec des agents pathogènes proches de ceux infectant l'Homme) ainsi qu'une grande susceptibilité aux traitements antirétroviraux qui en font un modèle d'étude de grand intérêt (Murray B Gardner and Luciw 2008). En outre, la collecte fréquente de volumes relativement importants d'échantillons est plus facile chez les PNH.

Introduction

Parmi les PNH, beaucoup de singes et grands singes africains sont des hôtes naturels du SIV, et ne développent généralement pas de maladie à la suite d'une infection. Par contre, l'infection par les souches SIV (SIVmac251, SIVmac239) ou d'autres lentivirus assimilés des macaques asiatiques entraîne des dysfonctions immunitaires similaires à celles observées chez l'homme avec une charge virale élevée, une déplétion progressive des lymphocytes T CD4, une progression chronique qui favorisent l'apparition d'infections opportunistes (Figure 6).

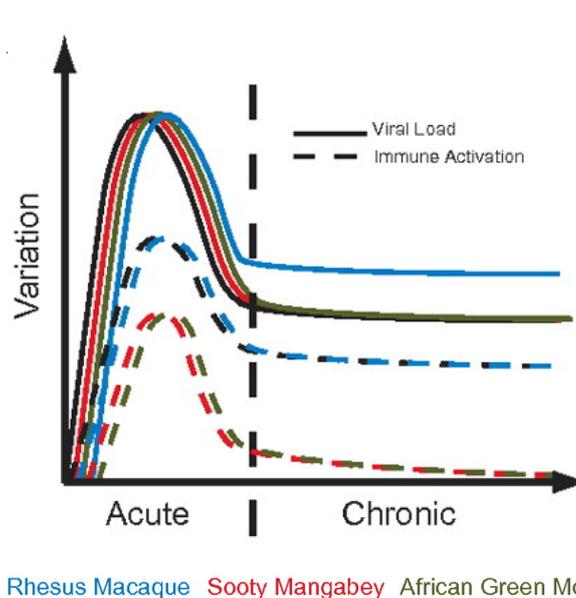


Figure 6: Variations des charges virales et de l'activation immunitaire suite à l'infection par le VIH/SIV. Comparaison des infections pathogènes chez l'Homme (lignes noires) et le macaque rhésus (lignes bleues) et des infections non progressives chez le mangabey couronné (lignes rouges) et le singe vert (lignes vertes) (Brenchley JM, Blood, 2011).

a- Les modèles d'infection « non progresseurs » : hôtes naturels

Les PNH africains (les singes mangabey couronnés, les singes verts, les Mandrill et les Chimpanzees) sont des hôtes naturels du SIV. L'infection est généralement non pathogène en dépit des niveaux élevés d'ARN viraux plasmatiques ; niveaux qui dans l'infection VIH-1 sont associés à une progression accélérée vers le stade SIDA (Jason M. Brenchley and Paiardini 2011). Une particularité, chez ces hôtes naturels, est une charge virale faible dans les ganglions suggérant un contrôle de la virémie dans ces tissus (Beer et al. 1996; Diop et al. 2000). Chez les singes verts africains en phase chronique d'infection, les niveaux de réplication sont rapidement contrôlés pour atteindre un niveau faible dans le sang et les ganglions lymphatiques périphériques (Diop et al. 2000).

Introduction

Au niveau cellulaire, on observe une perte transitoire des lymphocytes T CD4 dans le sang mais une diminution dramatique dans les intestins dès les premiers jours de l'infection (Gordon et al. 2007). Bien que le SIV chez ces hôtes naturels soit donc cytolytique, la réplication virale persistante n'est pas associée à une immunopathologie. Les lymphocytes T CD4 du sang et des ganglions lymphatiques ne manifestent pas ou peu d'augmentation de la mort cellulaire par apoptose. En phase chronique, on observe une quasi-restauration du nombre cellulaire et une intégrité tissulaire faiblement altérée dans les ganglions lymphatiques et les intestins (Cumont et al. 2008; Pandrea et al. 2015). Une différence marquante avec les modèles dits « progressseurs » est la faible activation immunitaire chronique qui est un marqueur clé de la progression dans les modèles macaques. Plusieurs études mettent en évidence une induction modérée suivie d'une régulation forte des mécanismes d'activation immunitaire. Parmi les mécanismes décrits, une prolifération cellulaire normale (Chakrabarti et al. 2000), une faible infiltration cellulaire dans les organes lymphoïdes secondaires maintenant l'architecture fonctionnelle de ces organes (Silvestri et al. 2003), la mise en place d'un équilibre entre un environnement pro- et anti-inflammatoire (Kornfeld et al. 2005) ainsi que l'induction rapide d'une réponse immunosuppressive (prolifération du profil cellulaire Treg et induction des marqueurs inhibiteurs lymphocytaires PD-1) vont contribuer à freiner l'activation cellulaire chronique (Pereira et al. 2007; Estes et al. 2011; Sumpter et al. 2007). Ces mécanismes interdépendants les uns des autres forment un équilibre entre une réplication virale élevée et une réponse immunitaire fonctionnelle chez ces hôtes naturels du SIV qui permettent une réponse antivirale efficace.

b- Les modèles d'infection progressseurs

L'administration du SIV à différentes espèces de macaques asiatiques entraîne une infection pathogène persistante dans laquelle la progression vers le SIDA se produit de manière similaire à celle observée chez les individus infectés par le VIH-1 (Fauci AS, Desrosiers RC 1997). Parmi la grande variété d'espèces de macaques asiatiques, la recherche sur le VIH-1 s'est concentrée sur les macaques rhésus (*Macaca mulatta*), d'origine indienne et chinoise, les macaques à queue de cochon (*Macaca nemestrina*) et les macaques cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (Figure 7). Les macaques à queue de cochon ont été décrits avec des profils de progression très rapides (Nichole R. Klatt et al, J Virol. 2012). De leurs côtés, les macaques rhésus indiens possèdent une évolution rapide avec développement d'un SIDA en moins d'un an.

Introduction

Les macaques rhesus d'origine chinoise et les macaques cynomolgus ont quant à eux des profils de progression moins rapide bien que développant une pathogénèse à terme (Reimann KA et al, J Virol, 2005).

Ces différentes espèces de macaques sont susceptibles à diverses souches de SIV avec des variabilités dans la progression ou le contrôle de la maladie en fonction des souches virales inoculées et du fond génétique de chaque singe (Evans and Silvestri 2013).

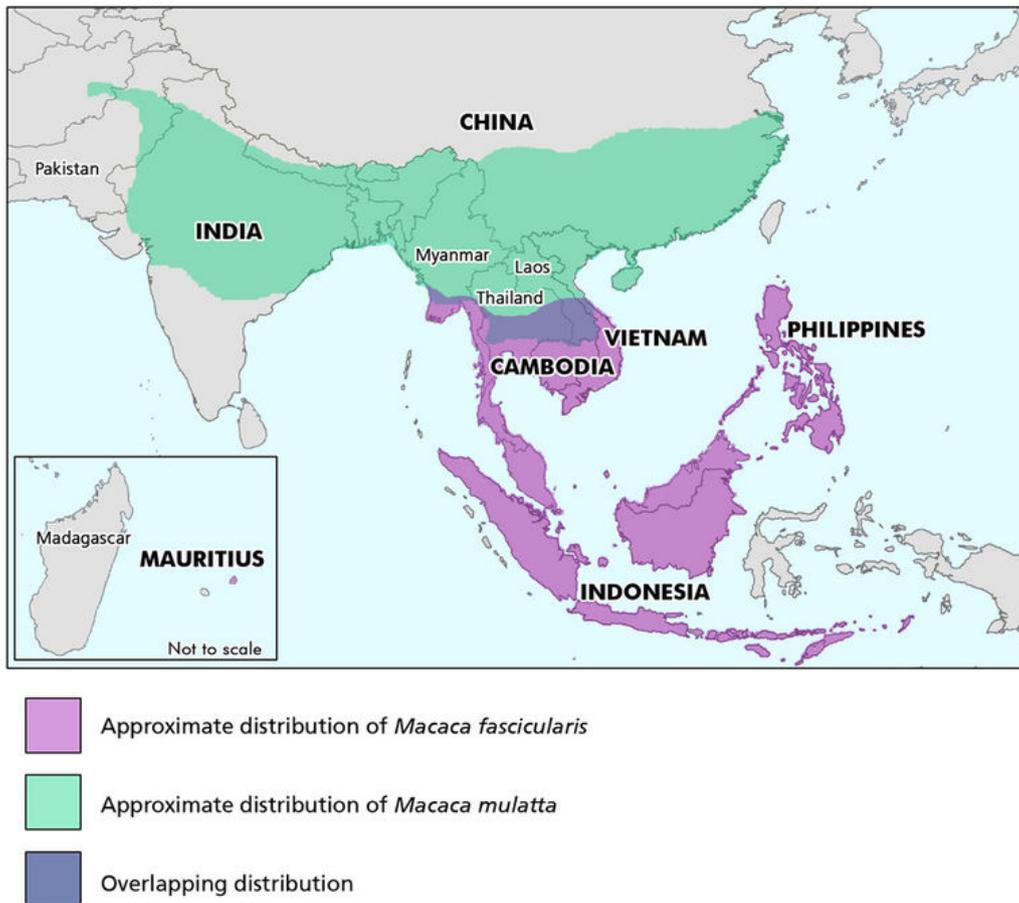


Figure 7: Distribution géographique des macaques cynomolgus (*Macaca fascicularis*) et rhesus (*Macaca mulatta*) (Street SL et al. 2007).

Le macaque cynomolgus

De nombreuses observations ont montré que les facteurs génétiques de l'hôte jouent un rôle important dans l'infection et la progression de la maladie. Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ainsi que les polymorphismes alléliques qui lui sont associés jouent un rôle primordial dans l'infection, la réplication virale et la progression de la maladie dans ces modèles animaux (de Sorrentino et al. 2000).

Dans notre étude, nous avons choisi des macaques cynomolgus importés de l'île Maurice. Ces animaux constituent un intérêt du point de vue physiopathologique avec une charge virale proche des patients VIH positifs, une déplétion de lymphocytes T CD4 et une progression vers une phase chronique plus ou moins lente. De plus, leur génome est séquencé (Higashino et al. 2012) et les haplotypes du CMH classe I et classe II sont caractérisés. Des données sur le polymorphisme de ces animaux montrent que les macaques cynomolgus importés de l'île Maurice possèdent une diversité génétique dans les CMH classe I et II limitée (Blancher et al. 2006; Mee et al. 2015). De plus, les animaux possédant l'haplotype H6 du CMH classe I sont décrits comme contrôlant naturellement la virémie induisant un phénotype non-progressif (Aarnink et al. 2011; Mee et al. 2009), ce qui renforce leur intérêt pour l'étude des mécanismes immunitaires responsables du contrôle à long terme de l'infection. En outre, la faible diversité génétique des macaques cynomolgus de l'île Maurice permet l'utilisation d'un nombre moindre d'animaux pour obtenir des résultats significatifs.

c- Intérêts des modèles simiens d'infection

Un avantage majeur de ces modèles est la possibilité de « mimer » les voies d'infection naturelle, via le sang ou les muqueuses rectales ou vaginales, qui sont décrites dans l'infection humaine. De plus, la mise en place de protocoles d'études avec un échantillonnage à des temps définis et un suivi clinique très précis permettent de décrire et comprendre les mécanismes physiopathologiques qui se mettent en place dans les tissus à fort intérêt immunologique ou virologique dès les premiers jours de l'infection. Cela est très difficile à transposer chez les patients VIH positif du fait d'un diagnostic plus tardif, très souvent en phase chronique voire au stade SIDA avec apparition des symptômes. De plus, l'initiation rapide des traitements ARV et la difficulté à accéder aux tissus lymphoïdes pour des raisons éthiques chez les patients humains renforcent l'utilité de ces modèles primates non-humains. Ces modèles d'études restent incontournables du fait de l'importance des progrès effectués dans la compréhension, le

Introduction

déroulement et la mise en place des événements précoces de l'infection. Ainsi, ces modèles d'infection permettent de mesurer l'importance des doses infectieuses et des voies d'infections. Chez les modèles PNH, l'infection SIV étant le plus souvent induite, la précision incontestable de la date d'infection permet de caractériser la cinétique des événements précoces puis la dissémination virale systémique. Cela a permis de mettre en évidence un impact et un rôle important des cellules de la réponse innée au cours de l'infection (Laforge et al. 2011). La caractérisation de la cinétique de la charge virale, de la déplétion des lymphocytes T CD4 dans les organes lymphoïdes secondaires, ainsi que des marqueurs inflammatoires ont permis de mieux comprendre les mécanismes prédictifs d'une progression plus ou moins rapide vers la maladie (Jacquelin et al. 2014; Lavreys et al. 2006; Mattapallil et al. 2005). Les lymphocytes T CD8 cytotoxiques constituent des médiateurs clé de l'immunité antivirale. Grâce à des protocoles de déplétion in vivo des lymphocytes T CD8 à l'aide d'anticorps dirigés contre la molécule CD8, les mécanismes antiviraux des cellules T CD8 ont montré le rôle important de ces cellules pour limiter la réplication et la propagation virale (Chowdhury et al. 2015; Jin et al. 1999). Finalement, dans le cadre de stratégies thérapeutiques, les modèles de PNH sont également utilisés afin d'évaluer l'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité de nombreuses approches vaccinales (Sui et al. 2013). En effet, ces modèles PNH permettent l'optimisation des voies d'administration des vaccins et des adjuvants pour tester la sécurité des candidats vaccins et valider les corrélats de protection qui peuvent favoriser la thérapie vaccinale.

II- Rôle des cellules dendritiques dans l'immunité

Les cellules dendritiques (DC) ont été décrites pour la première fois par Ralph Steinman (Prix Nobel de Physiologie ou de Médecine en 2011) et Zanvil Cohn (Steinman RM and Cohn ZA 1973). Les DC jouent un rôle unique dans le système immunitaire. Elles forment un réseau cellulaire fonctionnellement distinct et spécialisé dans la détection et la présentation antigénique pour initier et orchestrer la réponse immunitaire. Les cellules dendritiques possèdent les récepteurs spécifiques pour reconnaître les agents pathogènes, les vaccins et les auto-antigènes. Les DC permettent d'initier et contrôler simultanément le type, l'ampleur et la spécificité des réponses immunitaires face aux antigènes étrangers. Elles ont aussi pour rôle l'induction de la tolérance aux auto-antigènes immunitaires. Par conséquent, les avantages thérapeutiques potentiels de la modulation des DC via des vaccins et des thérapies suppressives contre les agents pathogènes, les tumeurs et / ou les maladies auto-immunes forment un champ de recherche très actif.

Introduction

Les avancées dans l'étude de l'ontogénie des DC montrent que ces cellules proviennent d'une lignée hématopoïétique distincte des autres leucocytes, établissant le système DC comme une branche hématopoïétique unique (Figure 8).

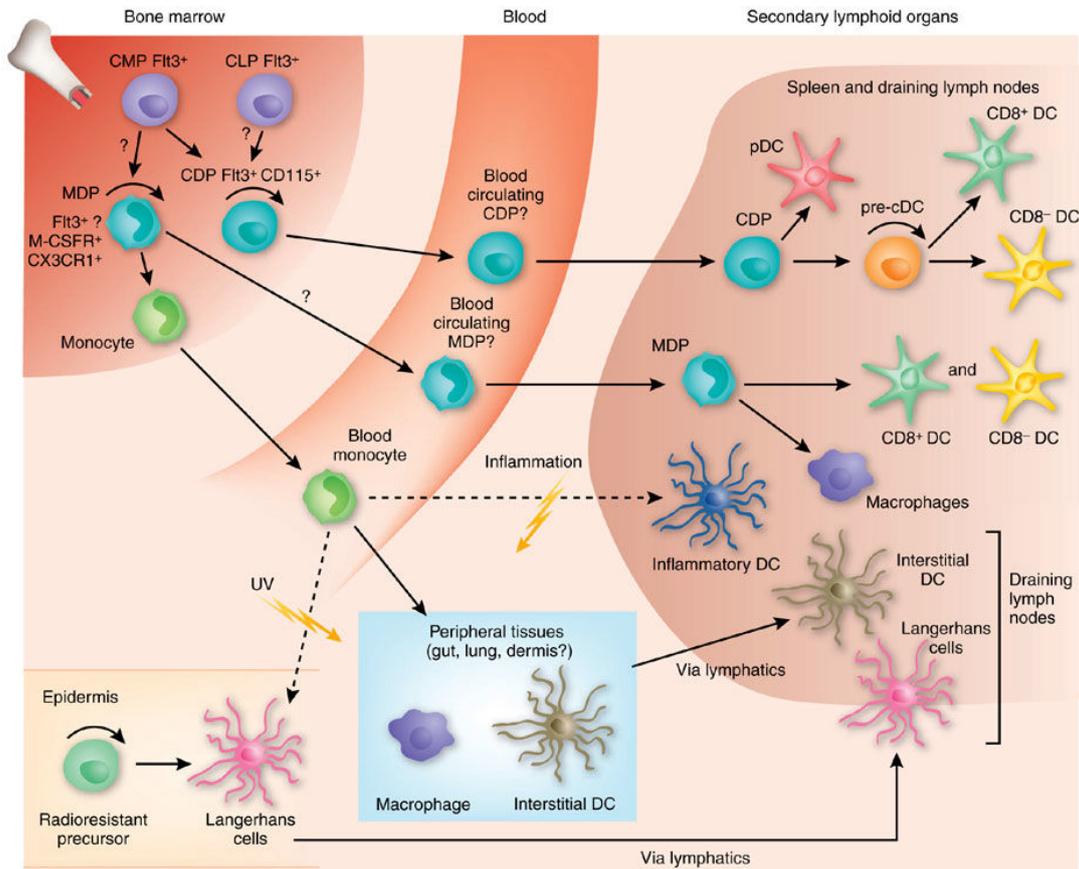


Figure 8: Schéma de l'ontogénèse des cellules dendritiques dans les différents compartiments tissulaires (CD8⁺ et CD8⁻ DCs chez la souris correspondent respectivement aux DC CD141⁺ et CD1c⁺ chez l'homme) (D'après M. Merad & F. Ginhoux, 2007).

A- Ontogénèse des cellules dendritiques

La grande majorité des travaux portant sur l'origine et les voies de différenciation des DC ont été réalisés sur des modèles murins. Ces études ont montré que la plupart des sous populations de cellules dendritiques sont d'origine hématopoïétique et de courte durée de vie. Elles sont en constant renouvellement à partir de précurseurs sanguins issus de la moelle osseuse et sous l'influence de facteurs du microenvironnement du tissu où elles résident (Heidkamp et al. 2016).

Introduction

Les précurseurs précoces

Les cellules souches hématopoïétiques multipotentes CD34+ (HSC) dans la moelle osseuse représentent les cellules précurseurs des différentes lignées hématopoïétiques, parmi lesquelles les cellules des lignées progéniteur commun lymphoïde (CLP) et progéniteur commun myéloïdes (CMP). Ces CLP et CMP ont le potentiel de générer différents sous-types de DC, comme l'ont montré les résultats d'expériences de transplantation cellulaire de ces progéniteurs dans des souris irradiées. Cela témoigne d'une grande plasticité de différenciation des DC (Markus G. Manz et al. 2001; Shortman and Naik 2007). Les cellules CMP génèrent efficacement les DC de la rate et des ganglions lymphatiques, alors que les cellules CLP contribuent fortement à la génération des DC du thymus et dans une moindre mesure à la formation des DC spléniques (M G Manz et al. 2001; Markus G. Manz et al. 2001). Cependant, la capacité des cellules progénitrices CLP ou CMP à se différencier en DC est confinée uniquement aux populations exprimant le récepteur Flt3 (fms-related tyrosine kinase 3, ou CD135). L'interaction de Flt3 avec son ligand Flt3L (protéine cytokinique) induit la génération des progéniteurs intermédiaires (Karsunky et al. 2003; Waskow et al. 2008). Ces progéniteurs intermédiaires migrent ensuite vers les tissus lymphoïdes et autres tissus non lymphoïdes pour les étapes de différenciation ultérieures.

Les précurseurs intermédiaires

A partir des cellules CMP, l'engagement vers les sous-populations de DC spécifiques est médié par des précurseurs intermédiaires dans la moelle osseuse. Ces cellules précurseurs sont dépourvues de marqueurs spécifiques des lignées DC mais expriment des marqueurs de surface des cellules souches hématopoïétiques CD34+ tel que le facteur de transcription c-kit (ou CD117). Ils agissent comme les cellules précurseurs communes des DC et des macrophages (Fogg DK et al. 2006). La nature de ces précurseurs myéloïdes permet de définir un stade de cellules précurseurs communes pour les DC et les macrophages (Macrophages/DC precursors, MDP) qui possèdent un phénotype c-kit+ CX3CR1+ (Fogg DK et al. 2006). Les MDP peuvent générer des macrophages mais aussi des DC de tissus lymphoïdes et non lymphoïdes. Elles donnent naissance aux progéniteurs dendritiques communs (CDP) qui possèdent un phénotype Flt3+ c-kit (int) CSF-1R+.

Introduction

Les CDP ont été identifiées comme donnant lieu aux différents sous-types de DC spléniques et ganglionnaires, mais pas aux macrophages (Naik et al. 2007; Onai et al. 2007). Ces cellules précurseuses localisées dans la moelle osseuse peuvent migrer via la circulation sanguine vers la rate et les ganglions lymphatiques pour poursuivre leur différenciation. Ainsi, les cellules CDP représentent le stade de différenciation sous-jacent au stade MDP dans la lignée de différenciation myéloïde.

Les précurseurs terminaux

En se basant sur l'expression persistante du récepteur Flt3+, ces pré-cDC découlent des cellules CDP. Ces pré-DC donnent naissance aux sous-populations de DC classiques (ou conventionnelles ou myéloïdes) mais pas à la sous population de DC plasmacytoïdes (pDC) (Jongbloed et al. 2010; Naik et al. 2006). La différenciation finale des pré-cDC vers un profil de cDC immature se produit dans les tissus résidents, sites de migration finale (Liu et al. 2009; Merad et al. 2013).

En revanche, les pDC se développent et se différencient à partir des progéniteurs dendritiques communs (CDP) au niveau des tissus lymphoïdes ou non-lymphoïdes. Ces cellules CDP nécessitent l'expression d'un facteur de transcription spécifiques des pDC, E2-2, qui induit la transcription de différents gènes obligatoires dans la différenciation des pré-pDC (BDCA2, LILRA4, IRF7, IRF8, SPIB) (Galicia and Gommerman 2014).

Les DC résidentes dans le sang, les organes périphériques non lymphoïdes ou les organes lymphoïdes possèdent un phénotype immature nécessaire au maintien de l'homéostasie immunitaire jusqu'à ce qu'elles rencontrent un antigène induisant leur différenciation en DC matures à fonctions immunogènes. La plasticité fonctionnelle des DC est ensuite déterminée en fonction de la nature de l'antigène et des facteurs du microenvironnement.

Bien que les monocytes contribuent habituellement à la formation de DC uniquement pendant les conditions inflammatoires, quelques rapports récents ont mis en évidence leur implication dans la différenciation de DC (CD103- CD11b+) dans l'intestin, de DC (FcγRI+) dans les tissus lymphoïdes et de DC (CD11b+ Esam(lo)) dans la rate en dehors des conditions inflammatoires (Lewis et al. 2011; Merad et al. 2013). Néanmoins ces résultats sont issus de populations cellulaires triées et manipulées pour induire une différenciation linéaire spécifique.

Introduction

Ainsi, avec les techniques de séquençages unicellulaires et d'analyses multiparamétriques, il sera plus facile d'identifier d'autres précurseurs intermédiaires dans la moelle osseuse qui pourraient suggérer un engagement plus précoce des voies de différenciation des DC.

B- Les différentes populations de cellules dendritiques (DCs)

Dans le sang humain, les DC font partie des cellules leucocytaires qui n'ont pas d'expression des marqueurs de lignées leucocytaires (CD3, CD19, CD20, CD56, CD14 et CD16) mais qui expriment le récepteur HLA-DR. Trois populations de DC ont été identifiées à partir du sang humain qu'on retrouve aussi dans la plupart des tissus adultes lymphoïdes et non lymphoïdes (Collin, Mcgovern, and Haniffa 2013; Haniffa et al. 2012) : les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) et les cellules dendritiques classiques ou myéloïdes (appelées aussi conventionnelles), les cDCs englobant à la fois les sous-populations CD1c+ et CD141+ (Segura 2016; Ziegler-Heitbrock et al. 2010) (Figure 9). De plus, les facteurs de transcription E2-2, BATF3 et IRF4 ont respectivement été décrits comme essentiels dans la différenciation des pDC (Cisse et al. 2008), des cDC CD141+ (Poulin et al. 2012) et des cDC CD1c+ (Watchmaker et al. 2014). Par ailleurs, il existe un sous-ensemble de DC qui apparaît pendant les processus inflammatoires, les DC inflammatoires (InfDC). Des études sur des modèles murins n'exprimant pas le ligand Flt3 (Flt3L) ont montré que ces InfDC dérivent de cellules monocytaires qui se différencient in situ dans les tissus inflammatoires. Ces InfDC peuvent migrer vers les ganglions lymphatiques drainants et stimuler les cellules T effectrices ou mémoires. Ces InfDC ont été identifiés dans plusieurs maladies inflammatoires comme l'arthrite rhumatoïde ou les ascites d'origine tumorale (Segura and Amigorena 2013).

Dans la peau, en plus des cDC CD1c+ et CD141+, il existe deux sous-ensembles de DC supplémentaires, à savoir les DC CD14+ du derme et les cellules de Langerhans (LC). Les DC CD14+ du derme ont été associées à un profil de cellules macrophages, mais des études ont montré qu'elles s'en distinguaient grâce à l'expression faible du marqueur CD141 et une capacité de sécrétion de la cytokine tolérogène IL-10 (Haniffa et al. 2012; Matthews et al. 2012). Les LC, qui sont principalement situées dans l'épiderme (Cunningham et al. 2010), sont caractérisées par l'expression des marqueurs de surface CD1a+ CD1c+ CD11c(lo) EpCAM+ E-cadhérine+ et sont identifiables par leur expression spécifique de la Langerine (CD207, une lectine de type-C).

Introduction

En outre, il est difficile d'attribuer une spécialisation fonctionnelle spécifique à chaque sous-population de DC, car le rôle des DC humaines semble dépendre des tissus et de l'environnement immunologique dans lequel elles se trouvent.

Les différences fonctionnelles entre les populations de DC s'expliquent par les différents types de stimuli, la nature des antigènes (peptides, protéines, cellules), par les tissus anatomiques de résidence (tissus lymphoïdes versus non lymphoïdes) et le site de migration (cellules résidentes par rapport aux cellules en voie de migration). Par conséquent, une nomenclature basée sur l'ontogenèse et les propriétés fonctionnelles a été décrite récemment pour classer les DC humaines. La sous-population cDC1 correspond aux cDC (CD141+) et la sous-population cDC2 aux cDC (CD1c+) (Guilliams et al. 2014).

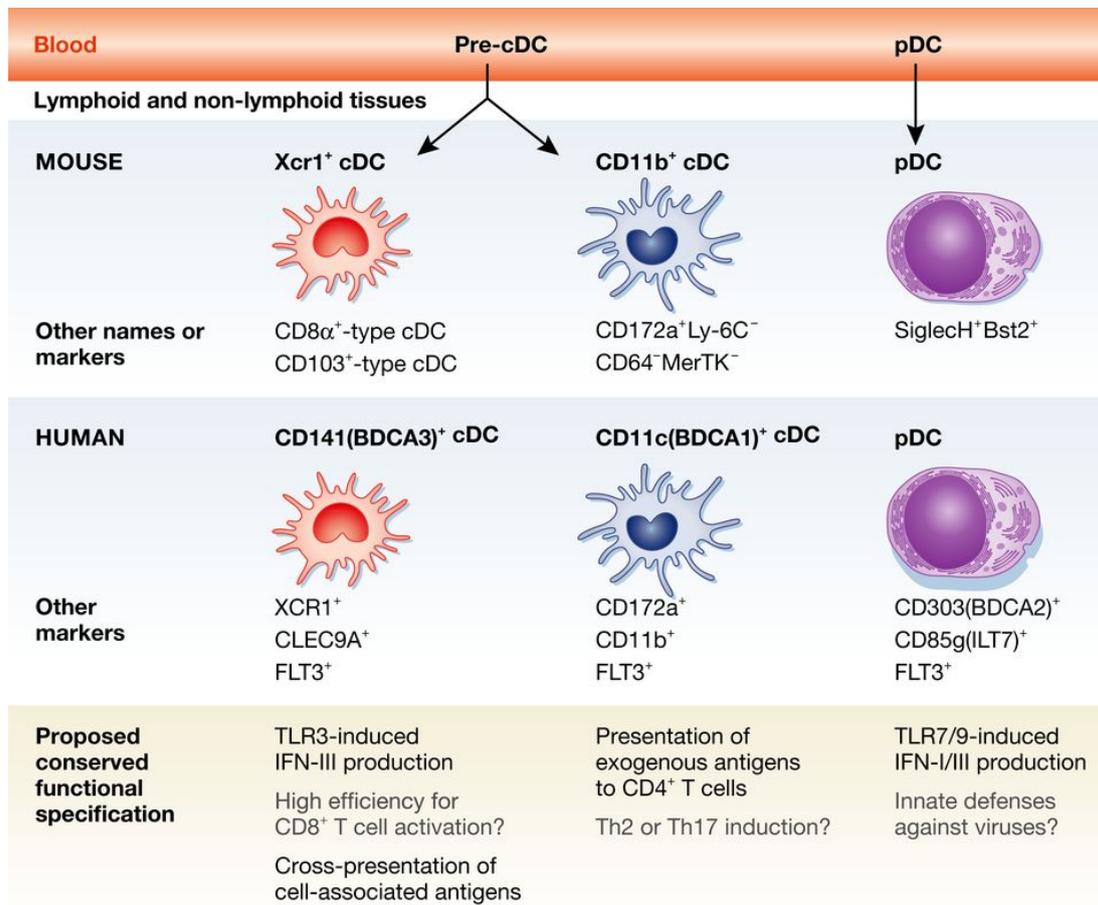


Figure 9: Les sous population de DC humaines et souris avec leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles (D'après Dalod M et al. 2014).

a- La sous-population cDC1 (CD141+)

Les cDC1 se caractérisent par un phénotype d'expression des marqueurs de surface CD1c-CD11c(lo) SIRP1 α - Clec9A+ CXCR3+ CADM1+ (également appelé Necl2) (Dutertre et al. 2014; Heidkamp et al. 2016; Schütz and Hackstein 2014). Il est important de noter que ces cellules expriment spécifiquement le récepteur XCR1, un marqueur qui permet d'identifier les homologues des cDC1 chez différentes espèces (Dutertre et al. 2014; Guilliams et al. 2016). Ces cellules en nombre très faible, 0,1% des cellules mononucléaires du sang périphérique, (Meixlsperger et al. 2013) sont aussi présentes dans les amygdales, les ganglions lymphatiques et les tissus non lymphoïdes comprenant le poumon, le foie et la peau (Haniffa et al. 2012; Mittag et al. 2011). Récemment, elles ont été décrites dans la lamina propria intestinale (Watchmaker et al. 2014). Dans les tissus, cette sous-population exprime les marqueurs d'activation/maturation et de co-stimulation, comprenant CD40, CD80 et CD86, HLA-DR et HLA-I et augmente l'expression des récepteurs CCR7 et CXCR3, lors des signaux de migration vers les ganglions lymphatiques (Watchmaker et al. 2014). Les cDC1 possèdent aussi la capacité de détecter les antigènes viraux via l'expression des motifs de reconnaissance des pathogènes (PAMP) (Dutertre et al. 2014; Jongbloed et al. 2010).

Les cDC1 (CD141+) sont les cellules spécialisées dans la cross-présentation (présentation des antigènes exogènes via le CMH classe I aux cellules T CD8) d'un certain nombre d'antigènes viraux comprenant les antigènes de surface de l'hépatite B (Haniffa et al. 2012), du cytomégalovirus humain (Bachem et al. 2010) et du VIH-1 (Crozat et al. 2010). Il a été montré que ce mécanisme est facilité par l'expression du récepteur Clec9A qui favorise la dégradation et la présentation des antigènes viraux de cellules nécrotiques infectées (Jongbloed et al. 2010; Sancho et al. 2009).

Outre leur fonction cross-présentatrice, les cDC1 produisent également de grandes quantités d'IFN- λ à la suite de stimulation antigénique (exposition au virus de l'hépatite C) (Yoshio et al. 2013) via l'activation du TLR3 (Lauterbach et al. 2010). En outre, elles semblent être des inducteurs puissants d'une polarisation de la réponse T vers une réponse lymphocytaire helper 1 (Th1) (Jongbloed et al. 2010).

Par conséquent, la sous-population cDC1 (CD141+) est spécialisée dans la mise en place d'une réponse immunitaire contre les agents pathogènes intracellulaires.

b- La sous-population cDC2 (CD1c+)

Les cDC2 représentent environ 1% des cellules leucocytaires (Meixlsperger et al. 2013) et se caractérisent chez l'homme par l'expression des marqueurs de surface CD11c+ CD141-SIRP1 α + (appelé également CD172 α) (Macdonald et al. 2002; See et al. 2017).

Les cDC2 des tissus expriment des niveaux élevés des marqueurs d'activation/maturation et de co-stimulation incluant CD80, CD83, CD86, CD40, HLA-DR et HLA-I (McLellan et al. 1998) ainsi que le récepteur de migration vers les ganglions lymphatiques CCR7 (Angel et al. 2006). En exprimant les TLR 1 à 8, les récepteurs Clec7A (dectin-1) et Clec6A (dectin-2), ces cellules sont également aptes pour la détection d'une large gamme de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) (Hemont et al. 2013). Selon la voie d'activation (qui est fonction de la nature des agonistes de TLR), ces cellules peuvent sécréter une large gamme de cytokines pro et anti-inflammatoires (IL-1 α , IL-1 β , IL-12p40, IL-12p70, IL-6, IL-7, TNF- α , IL-8, IL-10 et l'IFN- β sous certaines conditions) (Hemont et al. 2013; Nizzoli et al. 2013). Par conséquent, les cDC2 possèdent une grande plasticité fonctionnelle qui est fonction de leur capacité de détection des antigènes (via leur diversité de récepteurs), de leur signature cytokinique et du profil de la réponse immunitaire adaptative qu'elles vont induire (Yu et al. 2013).

Ce degré de plasticité fonctionnelle est variable selon le contexte immunologique. Les cDC2 pulmonaires induisent une polarisation de la réponse lymphocytaire vers une réponse cellule T helper 17 (Th17) en réponse à *Aspergillus fumigatus* en libérant une quantité élevée d'IL-23, cytokine clé pour induire une réponse Th17 (Schlitzer et al. 2013). Dans un contexte d'infection par le virus de la grippe, les cDC2 localisées au niveau des muqueuses pulmonaires expriment le facteur de croissance transformant (TGF β) membranaire induisant une migration vers les lymphocytes T CD8 intraépithéliaux (Yu et al. 2013). En revanche, les cDC2 intestinaux se sont révélés être de puissants inducteurs de cellules T régulatrices (Treg), en corrélation avec l'activité enzymatique de la rétinaldéhyde déshydrogénase, qui a été montrée comme un médiateur dans l'induction des cellules Treg (Coombes et al. 2007; Guillems et al. 2010). Il est intéressant de noter que les cDC2 peuvent également être de puissants inducteurs d'une réponse lymphocytaire helper 2 (Th2) à la suite de stimulations avec des allergènes tels que le pollen (Rydnert et al. 2014), impliquant un rôle important dans les réponses allergiques.

Les cDC2 (CD1c+) semblent être les cellules spécialisées dans la détection et la présentation des antigènes dérivés des pathogènes extracellulaires (O'Keefe, Mok, and Radford 2015).

c- Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC)

Les pDC dans le sang représentent 0,5% des leucocytes (Nieminen et al. 2013). Dans le sang et les tissus lymphoïdes ou non lymphoïdes, ils sont identifiés avec un phénotype HLA-DR(mid) CD11c- CD123+ CD304+ avec une expression spécifique des récepteurs CD303 (BDCA-2) et LILRA4 (ILT7, CD85g) (Cao et al. 2006; Dzionek et al. 2000).

Les pDC sont connues pour leur rôle dans l'initiation d'une réponse immunitaire antivirale puissante avec une forte sécrétion des IFN de type I (IFN-I). Cette réponse IFN-I se met en place via l'activation des TLR endosomaux 7 et 9 qui détectent les acides nucléiques viraux, tels que les ARN simple brin (ssRNA) et les motifs d'ADN-CpG d'origine virale ou bactérienne (Kadowaki et al. 2001). L'activation des pDC se caractérise par l'augmentation d'expression des marqueurs de co-stimulation (CD80, CD86, CD40) (Galicía and Gommerman 2014) et la production de cytokines (TNF- α , IP-10, IL-6, IL-10). Néanmoins, le spectre exact des cytokines produites par les pDC n'est pas clair à ce jour, mais il a été montré une absence ou très faible sécrétion d'IL-12, qui est plus produite par les cDC (Gilliet, Cao, and Liu 2008). Du point de vue de la fonction antivirale, les pDC ont différentes cibles cellulaires. Les IFN de type I promeuvent l'activité cytolytique des cellules NK (Gerosa et al. 2005) et favorisent la génération des réponses lymphocyte T helper 1 (Th1) (Kadowaki et al. 2000). En association avec l'IL-6, les IFN de type I participent à la mise en place de la réponse B avec la différenciation des cellules B en plasmocytes, favorisant ainsi la réponse humorale antivirale (Jego et al. 2003). Outre leur rôle dans l'immunité antivirale, il a été montré que les pDC jouent également un rôle dans la tolérance. En effet, à la suite d'une stimulation in vitro des TLR9 par les agonistes CpG, se met en place une réponse lymphocytaire T à profil régulateur (Treg) avec sécrétion des cytokines immunosuppressives IL-10 et TGF- β (Moseman et al. 2004). En outre, in vivo, les pDC jouent un rôle tolérogène en induisant la différenciation de cellules Treg dans le thymus grâce à l'activation de l'axe CD40-CD40L (CD40 ligand) via la sécrétion d'interleukine 3 (Martín-Gayo et al. 2010)

Par conséquent, ces cellules ont le potentiel d'initier des réponses antivirales puissantes, mais peuvent également jouer un rôle important dans la promotion des mécanismes tolérogènes pour réguler les réponses immunitaires.

C- Les cellules dendritiques au cours de l'infection à VIH/SIV

L'infection par le VIH-1 se caractérise par la perte des lymphocytes T CD4 et l'incapacité à contrôler l'infection. Des dysfonctions des cellules dendritiques et la perturbation de leur homéostasie pourraient contribuer à l'incapacité de mettre en place des réponses immunitaires efficaces spécifiques au VIH-1 et conduire à l'immunodéficience. Les cellules dendritiques expriment les récepteurs cibles au VIH-1 (CD4, CCR5 et CXCR4) et sont en effet sensibles à l'infection par le virus (Cameron et al. 1994; Yonezawa et al. 2003). Bien que permissives à l'infection par le VIH-1, elles sont néanmoins plus restrictives à la réplication virale que les cellules T CD4+ cibles (Smed-sørensen et al. 2005). Lors d'une transmission sexuelle du VIH-1, les cellules dendritiques (cellules de Langerhans et les cDC mucoales) sont parmi les premières cibles du virus (Hladik et al. 2007). Les cellules dendritiques jouent un rôle crucial dans les premiers événements de la transmission et dissémination du VIH-1 en transportant le virus des sites périphériques vers les compartiments lymphoïdes. L'interaction entre cellules dendritiques et lymphocytes T dans les tissus lymphoïdes est essentielle dans la génération des réponses immunitaires. Or, dans l'infection par le VIH-1, cette interaction favorise un microenvironnement contribuant à la réplication virale et à la transmission inter-cellulaire du VIH-1 au niveau des synapses virologiques impliquant les récepteurs DC-SIGN des cDC (Paul U Cameron et al. 1992; Geijtenbeek et al. 2000; Pope et al. 1995). Les effets de l'infection sur les fonctions des cellules dendritiques sont donc essentiels dans la mise en place de la pathogenèse virale.

a- Dysfonctions des cDC en faveur de l'échappement du VIH-1

Les cDC isolées du sang et des tissus lymphoïdes affichent un niveau d'activation et un phénotype de maturation partiels (Krathwohl, Schacker, and Anderson 2006a; Pope et al. 1995; Sabado et al. 2013). Outre le virus lui-même, le microenvironnement pro-inflammatoire et immuno-modulateur in vivo contribue à ces défauts fonctionnels via l'action coordonnée de facteurs solubles (IFN-I et TNF- α) sécrétés par les pDC sous l'impulsion du virus (Fonteneau et al. 2004). L'induction d'une réponse Treg dans les tissus lymphoïdes de patients VIH-1 médiée par les cDC semi-matures favorise un environnement tolérogène inadapté à la réponse antivirale (Krathwohl, Schacker, and Anderson 2006a). En outre, les cellules NK (Natural Killers) sont incapables d'éliminer les cDC semi-matures chez les patients VIH-1 positifs (Tasca et al. 2003).

Introduction

La production accrue de la cytokine immuno-suppressive IL-10 par les cDC semi-matures confère une résistance à la lyse médiée par les cellules NK, ce qui entraîne l'accumulation de ces cDC non-immunogènes qui sont incapable de stimuler la réponse T dans les ganglions lymphatiques des individus infectés (Alter et al. 2010). L'origine des défauts de maturation et d'activation des cDC reste mal connue. Différentes études ont montré qu'une synergie de mécanismes viraux et cellulaires comprenant l'absorption virale, le trafic intracellulaire et la restriction de réplication pouvaient être mis en jeu. Outre l'interaction avec les récepteurs CD4 et CXCR5, le virus est aussi susceptible d'être endocyté par interaction avec le récepteur DC-SIGN (Piguet and Steinman 2007). La détection du virus est limitée dans les compartiments d'endocytose à cause du faible niveau d'activation et de maturation des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) (récepteurs Toll-Like (TLR) ou les récepteurs lectines de type C (CLR)) (Blanchet et al. 2010). Un moyen bien établi par lequel le VIH-1 échapperait à la reconnaissance immunitaire est l'absence de la protéine virale Vpx. Vpx, qui est présente dans le VIH-2 et certaines souches du virus de l'immunodéficience simienne (SIV), dégrade le facteur de restriction SAMHD1. En l'absence de Vpx, la protéine SAMHD1 limite la réplication virale au niveau de la transcription inverse en éliminant du cytoplasme le « pool » des désoxynucléosides triphosphates (Goldstone et al. 2011; Lahouassa et al. 2013) mais limite aussi la sécrétion des interférons de type I (IFN-I) et ainsi la réponse antivirale (Manel et al. 2010; Sunseri et al. 2011). D'autres facteurs contribuent aussi à la faible détection du VIH-1 dans les cDC. TREX1, une exonucléase qui dégrade l'ADN viral retro-transcrit dans le cytoplasme, va empêcher sa prise en charge par les PRR (N. Yan et al. 2010). Le facteur de restriction TRIM5 humain est moins efficace que son équivalent simien pour reconnaître les protéines de la capsid virale (Stremlau et al. 2004). Des facteurs de restriction supplémentaires pouvant limiter l'infection in vivo, tels que APOBEC3G (A3G), dont l'expression est normalement modulée à la hausse dans les cDC en réponse à l'IFN de type I, ne peuvent exercer leur fonction du fait de leur dégradation (Goncalves and Santa-Marta 2004) et du défaut de maturation de ces cellules (Trapp et al. 2009). Des études complémentaires examinant le niveau d'expression et les fonctions de ces facteurs de restriction pendant les premiers stades de l'infection, chez les individus résistants à l'infection, (les patients VIH-1 « Elite Controllers » ou les modèles simiens hôtes naturels du SIV), pourraient être d'un grand intérêt dans la compréhension des défauts d'activation et de maturation des cDC.

b- Rôle des cDC dans la primo-infection par le VIH-1

Pendant les premiers jours de l'infection, juste après la phase d'éclipse virale, il y a une augmentation transitoire des cytokines IL-15, IFN de type I et de la protéine IP-10, suivie d'une seconde onde d'IL-6, IL-8, IL-18, IL-10, puis des sécrétions ultérieures d'IL-12p70, IL-4, IL-5 et IL-22 (Stacey et al. 2009). Malgré cette cascade de cytokines qui contribue à l'activation immunitaire innée, les réponses adaptatives sont retardées et sont de moindre intensité (Jinghe Huang et al. 2011; Turnbull et al. 2009). Les fonctions des cDC sont donc altérées dès les premiers stades de l'infection. Les travaux de Frleta D et al. (Frleta et al. 2012) montrent que les cDC isolées chez des patients VIH positifs durant les étapes Fiebig I-II et stimulées par les agonistes des TLR7/8 avaient un défaut de production des cytokines IL-12 et TNF- α . De plus, pendant ces stades Fiebig I et II, il a été montré une forte suppression de la capacité de production d'IL-12p70, de TNF- α et d'IL-6 par les cDC en réponse à la stimulation des voies TLR2, 3, 4, 7/8 (Frleta et al. 2012). Les plasma de patients VIH-1 positifs récolté lors de premiers stades de l'infection inhibe la capacité des cDC à activer les cellules NK et les réponses lymphocytaires Th1 (Frleta et al. 2012). En outre, aucune inhibition des fonctions de sécrétion des cytokines par les cDC n'a eu lieu lors de l'exposition de ces cellules aux plasma de patients décrivant des infections aiguës par les hépatites B ou C, ce qui signifie que les dysfonctions des cDC sont relativement spécifiques à l'infection par le VIH-1 (Frleta et al. 2012). Cette inhibition de production de cytokines n'est pas directement médiée par le virus. Les composants non-viraux solubles dans le milieu extracellulaire contribuent à l'altération des fonctions des cDC, très tôt au cours de l'infection, et entravent la mise en place des réponses immunitaires innées et adaptatives nécessaires pour contrôler l'infection à des stades précoces (Frleta et al. 2012).

Il est important de souligner que ces résultats divergent par rapports à d'autres études montrant une dysfonction plus modérée. La description de ces altérations immunitaires est le reflet de différences dans la conception des expériences in vitro, en particulier la présence ou l'absence des facteurs solubles immuno-modulateurs. De plus, certaines études ne définissent pas clairement les stades durant lesquelles ont été échantillonnés les patients pendant la primo-infection. Enfin, il est relativement rare d'accéder à des échantillons de patients pendant la phase aiguë, soulignant les effectifs souvent faibles qui sont pris lors des études humaines et la faible puissance statistique.

Introduction

Néanmoins, les données obtenues suggèrent qu'il existe une forte inhibition de la fonction des cDC très tôt au cours de l'infection par le VIH-1, qui modifie, voire altère la mise en place de réponses adaptatives robustes à ce moment critique de l'infection (Figure 10).

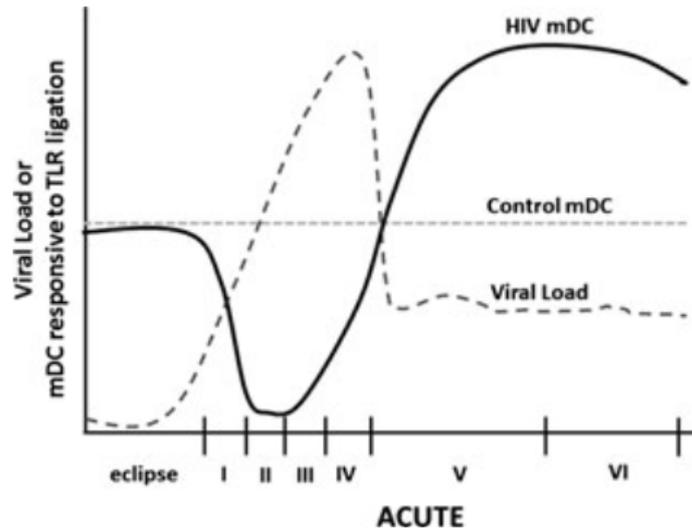


Figure 10: Suivi cinétique de l'activation des cDC (ou mDC). Profil de la réponse cDC suite aux stimulations des voies TLR durant les différents stades de la primo-infection VIH-1 (D'après Miller E et al. 2013).

c- Les cDC dans les réponses immunitaires chez les patients contrôleurs.

Une réponse immunitaire efficace permettant de contrôler l'infection par le VIH-1 est présente chez les personnes infectées qui sont capables de restreindre la réplication du virus. Alors que les lymphocytes T spécifiques au VIH-1 sont un des médiateurs caractéristiques du profil de contrôle le plus étudié (Saez-Cirion et al. 2007), le rôle précis des cDC dans le développement d'une réponse antivirale efficace conduisant au contrôle viral à long terme représente un champ d'investigation peu élucidé.

Des études récentes ont montré que les cDC des patients contrôleurs ont des capacités améliorées pour induire des réponses IFN de type I lors de l'exposition au VIH-1. Cela est associé à une induction réduite du facteur de restriction SAMHD1 ainsi qu'une plus grande accumulation des ADN viraux retro-transcrits, dont l'ensemble est médié par le capteur cytosolique cGAS (Cyclic GMP-AMP synthase) (Martin-Gayo & Yu, 2017).

Introduction

Cela aboutit à un meilleur niveau d'activation des cDC chez ces patients contrôleurs avec une capacité accrue de maturation conduisant à une stimulation efficace des lymphocytes T CD4 et CD8 spécifiques au VIH-1 (Martin-Gayo et al. 2015; Potter et al. 2007; Vingert et al. 2012). Enfin, les cDC ont un impact critique sur l'activation et les fonctions cytotoxiques des cellules NK (Natural Killers). La communication croisée entre les cDC et les cellules NK des patients contrôleurs permet une réponse innée antivirale plus robuste avec une activité cytolytique des cellules NK renforcée (Marras et al. 2013).

Des travaux par Huang et al. ont montré un profil singulier des cDC chez les patients contrôleurs. Malgré une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL12p70, IL-6 et TNF α) plus faible, les cDC induisent une plus forte présentation antigénique (J Huang et al. 2011). De plus, une étude menée par Hamimi et al. démontre une capacité plus forte des cDC issus des patients contrôleurs à capturer les antigènes viraux (Hamimi et al. 2016). Cela pourrait conférer une aptitude supérieure à la présentation antigénique, et donc une meilleure induction des réponses immunitaires adaptatives pouvant contribuer au contrôle du virus (Dinter et al. 2015).

Le phénotype des patients « Elite Controllers » est aussi associé à des facteurs immunogénétiques. En effet, ce phénotype est associé à une fréquence accrue des allèles HLA-B*57 et HLA-B*27, dits protecteurs, qui gouvernent l'immunité cellulaire antivirale. Sur le plan mécanistique, les allèles HLA-B*57 et HLA-B*27 sont associés à des fonctions lytiques améliorées des lymphocytes T CD8 spécifiques au VIH-1 (Ndhlovu et al. 2013). Des études récentes suggèrent que l'association entre le phénotype contrôleur et le polymorphisme spécifique des molécules HLA classe I serait également liée aux affinités d'interactions entre les allèles HLA classe I et les récepteurs LILR (leukocyte immunoglobulin-like receptors), exprimés sur des cellules dendritiques. Ces récepteurs participent à la régulation des fonctions des cDC au cours de l'infection par le VIH-1 (Lichterfeld and Yu 2012). Il a été montré qu'une interaction faible entre le récepteur inhibiteur LILRB2 et l'allèle HLA-B*27 corrélait avec un phénotype de contrôle de la maladie (Bashirova et al. 2014). La modulation de l'expression des récepteurs de la famille LILR et leurs modes d'interactions avec les molécules HLA classe I pourraient également impacter la régulation des fonctions des cDC.

Introduction

d- Les dysfonctions des cellules dendritiques dans le modèle primate non-humain.

Afin d'élucider les mécanismes cellulaires de la pathogenèse du VIH-1, l'utilisation du modèle d'infection par le SIV des primates non humains mimant la physiopathologie de la maladie humaine a apporté de nombreuses avancées. Il a été montré que les sous-populations des DC (cDC1, cDC2 et cellules de Langerhans) chez les primates non-humains sont phénotypiquement et fonctionnellement comparables aux DC humaines (K. N. Brown and Barratt-Boyes 2009; Coates et al. 2003; Malleret et al. 2008). L'intérêt majeur de ce modèle est de pouvoir suivre, dès les premières heures post-infection, l'évolution de l'infection virale et les réponses immunitaires qui y sont associées. Il a été montré que le virus pénètre la muqueuse vaginale dans les 60 minutes suivant l'exposition au SIV, infectant principalement les cDC intra-épithéliales, notamment les cellules de Langerhans. Les cellules infectées par le SIV sont détectées dans les ganglions lymphatiques drainants dans les dix-huit heures suivant une exposition intravaginale au SIV (Hu, Gardner, and Miller 2000). Le nombre de cDC circulantes chute rapidement dans le sang (Malleret et al. 2008). Cette perte significative des cDC du sang, très tôt dans l'infection, est un marqueur de progression rapide vers le stade SIDA. Chez les animaux qui maintiennent une charge virale forte, la diminution des cDC est irréversible au cours d'un suivi de 12 semaines. A contrario, les animaux stabilisant leur charge virale à un niveau plus faible voient une augmentation significative du nombre de cDC dans le sang au cours de la même période (Barratt-Boyes and Wijewardana 2011). Outre la perturbation des dynamiques cellulaires des cDC, leurs fonctions sont aussi altérées dans l'infection par le SIV. Au cours de l'infection aiguë, les cDC semi-matures s'accumulent dans les ganglions lymphatiques. Elles présentent une faible expression des marqueurs HLA-DR et CD40, une plus forte apoptose cellulaire et un défaut de sécrétion des cytokines IL-12p70. Ces dysfonctions sont à l'origine d'une faible induction de la réponse lymphocytaire antivirale (Vijewardana et al. 2010; Viskam Wijewardana et al. 2014; Wonderlich et al. 2015b). De plus, cette dérégulation fonctionnelle des cDC aboutit à l'induction de cellules T régulatrices (Treg) à fonctions immunosuppressives dans les tissus lymphoïdes des macaques infectés par le SIV (Presicce et al. 2012). Elle contribue aussi à une augmentation de la proportion de Treg CD8+ dans les muqueuses colorectales associée à des réponses antivirales altérées et à une progression de la virémie (Nigam et al. 2010).

Introduction

Ces dysfonctions semblent se mettre en place très tôt dans l'infection par le VIH-1/SIV et favoriseraient l'échappement du virus à la mise en place d'une réponse immunitaire efficace. Néanmoins, les mécanismes moléculaires qui sont à la base de cette réponse cellulaire inefficace restent largement inconnus. Il est donc important d'identifier la nature et les fonctions des médiateurs immuno-régulateurs qui pourraient contribuer à la mise en place des dysfonctions des cellules dendritiques au cours de la primo-infection par le VIH-1.

III- La famille multigénique des récepteurs LILR

Les fonctions des cellules du système immunitaire sont finement contrôlées par un réseau complexe de signaux activateurs et inhibiteurs. Ces signaux constituent la base de l'homéostasie immunitaire grâce à une combinaison de signaux provenant de l'interaction de récepteurs de surface avec leurs ligands. La transduction, via les intermédiaires intracellulaires, va aboutir à la transcription des gènes cibles spécifiques (Daëron et al. 2008). Historiquement, les études sur le système immunitaire ont été largement concentrées sur les voies activatrices en réponse aux antigènes pathogènes. Cependant, il est devenu de plus en plus évident que les cellules immunitaires mettent en place des mécanismes d'inhibition formant des points de contrôle (Immune checkpoints) dans les fonctions de différenciation, maturation, adhésion, migration et libération des médiateurs solubles (Cooper MD. 2008; Dyck and Mills 2017). Une grande partie des études sur les récepteurs inhibiteurs se sont focalisées sur les cellules NK, les lymphocytes B et T (Moretta et al. 1996; Ravetch and Lanier 2000). Cependant, au cours des dernières années, différentes études ont montré que les cellules myéloïdes (macrophages/monocytes, cellules dendritiques), les neutrophiles, les éosinophiles et les mastocytes, expriment des récepteurs d'une famille multigénique appelés LILR (leukocyte immunoglobulin-like receptors) (Hudson and Allen 2016). Celle-ci comprend des membres activateurs et inhibiteurs (Figure 11). L'accent sera mis sur les descriptions structurales et fonctionnelles des récepteurs LILR inhibiteurs dans les phénomènes de pathogenèse au cours de l'infection par le VIH-1.

Introduction

Expression Profiles	Activatroy Receptors						Inhibitory Receptors				
	LILRA1	LILRA2	LILRA3	LILRA4	LILRA5	LILRA6	LILRB1	LILRB2	LILRB3	LILRB4	LILRB5
Macrophages			Secreted								
Monocytes			Secreted								
cDC											
pDC											
moDC											
Basophils											
Eosinophils											
Neutrophils											
T cells											
B cells											
NK cells											
Mast Cells											
Hematopoietic stem cells											

Figure 11: Profil d'expression cellulaire des LILR. Expression des différents récepteurs LILR (présentée en bleue) sur les cellules du système immunitaire ainsi que sur les cellules souches hématopoïétiques (cDC : cellules dendritiques classiques ; pDC : cellules dendritiques plasmacytoïdes ; moDC : cellules dendritiques dérivées de monocytes) (D'après Hudson and Allen 2016).

A- Une organisation structurale et fonctionnelle qui distingue deux groupes de LILR

La famille des récepteurs LILR, également connus sous le nom de LIR (leukocyte immunoglobulin-like receptor) ou ILT (Ig-like transcripts) ou CD85, regroupe 11 récepteurs, dont LILRA3 qui existe uniquement sous forme soluble (Torkar et al. 2000). Les gènes codant pour les LILR sont localisés dans le complexe des récepteur des leucocytes (LCR) dans la région q13.4 du chromosome 19 à proximité des gènes *KIR* (Barrow and Trowsdale 2008). La famille des récepteurs LILR peut se diviser en trois groupes sur la base de leur structure : les LILRA (LILRA1-A2, et A4-A6), les LILRB (LILRB1-5) et le récepteur soluble, LILRA3 (Figure 12).

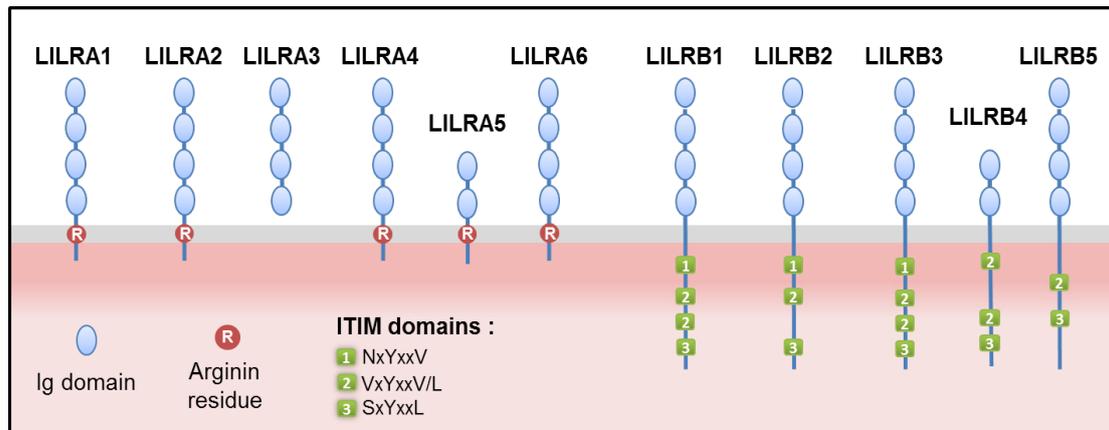


Figure 12: Schéma représentant les récepteurs de la famille LILR. Les domaines Ig domain extracellulaires correspondent aux domaines de liaison avec les ligands HLA classe I. Le résidu arginine permet l'association des LILRA avec la molécule adaptatrice $Fc\epsilon R1\gamma$ qui contient des motifs ITAM (montrer). Les LILRB contiennent des domaines intracellulaires longs avec des motifs ITIM (D'après Brown et al. 2004).

a- Les domaines intracellulaires définissent deux groupes de LILR

Les LILRA possèdent 2 à 4 domaines extracellulaires pour la liaison avec leurs ligands suivis d'un domaine transmembranaire contenant un résidu d'arginine chargé positivement et enfin d'un domaine intracytoplasmique court. En s'associant avec des protéines adaptatrices telles que $Fc\epsilon R1\gamma$ au niveau intracytoplasmique, les LILRA peuvent induire une cascade de signaux intracellulaires d'activation suite à l'interaction avec leur ligand. Les protéines $Fc\epsilon R1\gamma$ comportent dans leur partie intracellulaire des motifs dits ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif), qui possèdent une séquence peptidique conservée de la forme : $YxxI/Lx_{6-12}YxxI/L$.

La liaison du récepteur avec son ligand induit la dimérisation du récepteur puis la phosphorylation par la kinase Src du résidu Tyrosine situé dans les motifs ITAM suivi du recrutement et de l'activation des tyrosines kinase Syk (spleen tyrosine kinase). Cela déclenche une cascade de signaux activateurs aboutissant à la mobilisation calcique et l'activation des voies $NF-\kappa B$ (Ivashkiv 2009), médiateurs de l'activation fonctionnelle des cellules (Figure 11).

Les LILRB quant à eux possèdent 2 à 4 domaines extracellulaires. Au niveau de cette partie extracellulaire va s'effectuer la liaison avec les ligands respectifs. Les LILRB se différencient des LILRA au niveau de leurs domaines intracellulaires.

Introduction

La partie cytoplasmique est formée par 2 à 4 motifs ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) avec une séquence d'acides aminés conservée S/I/V/LxYxxI/V/L (Daéron et al. 1995). Les changements de conformation induits par la liaison du ligand avec le récepteur provoquent la dimérisation du récepteur et la phosphorylation du résidu Tyrosine des motifs ITIM par la kinase Src. Cela permet le recrutement des phosphatases SHP-1 et SHP-2 qui se lient aux motifs ITIM phosphorylés via leur domaine SH2 (Katz 2006). Les voies de signalisation inhibitrices en aval demeurent mal connues, bien que les substrats caractérisés de SHP-1 incluent la tyrosine kinase Syk, les kinases Src, ZAP70, Lyn, PI3K et la PLC- γ qui jouent un rôle important dans les voies d'activation cellulaires (Kang et al. 2015). Cette régulation négative permet de parer aux risques oncogènes que présente l'activation systémique des voies NF- κ B et module négativement la prolifération cellulaire et la production des cytokines (TNF- α et IFN- γ) au cours des réponses immunitaires (Saverino et al. 2000) (Figure 13).

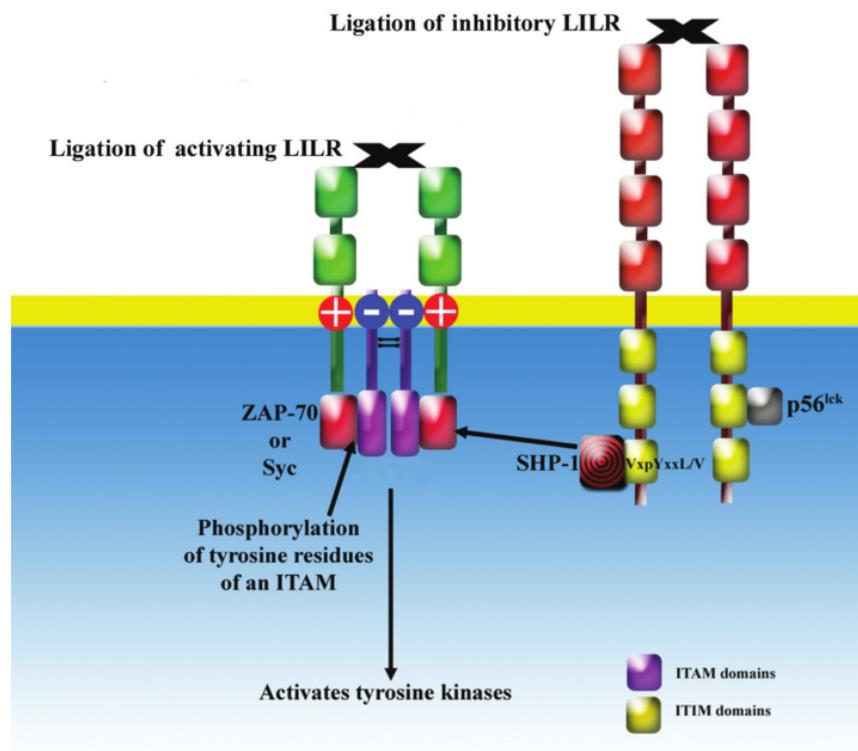


Figure 13: Les mécanismes d'activation et d'inhibitions des LILRs via les motifs ITAM et ITIM (Brown et al. 2004).

b- Les ligands des récepteurs LILR

Les récepteurs de la famille de LILR possèdent de multiples ligands. Les premières études ont montré la liaison aux molécules du complexe majeur de l'histocompatibilité humaine I (HLA classe I ou HLA-I). Les premiers LILR étudiés, LILRB1 et LILRB2 ont été initialement décrits comment étant capables de se lier aux molécules HLA classe I classiques (HLA-A, HLA-B, HLA-C) et non classiques (HLA-G pour LILRB1/2 et HLA-E pour LILRB1 uniquement) (Colonna et al. 1998; Jones et al. 2011; Navarro et al. 1999). La liaison de LILRB1 et/ou LILRB2 avec ses ligands HLA-I peut se faire par des interactions en *trans* mais aussi en *cis* (Held and Mariuzza 2008; Masuda et al. 2007). LILRB1 se lie exclusivement aux molécules HLA-I associées à la sous-unité β 2m. En revanche, LILRB2 se lie aux formes associées ou non à la β 2m (Shiroishi et al. 2003). La liaison de LILRB2 avec les molécules HLA classe I se produit principalement à travers les domaines D1 et D2 du récepteur qui se lient respectivement avec les sous-unités α 3 et β 2m des molécules HLA classe I (Willcox, Thomas, and Bjorkman 2003).

Selon les variations alléliques des molécules HLA classe I, celles-ci peuvent impacter la liaison HLA-I/peptide viral qui vont induire à des affinités de liaisons différentes pour le récepteur LILRB2. Il a été suggéré que les sites de liaisons secondaires au niveau des domaines D3 et D4 de LILRB2 peuvent contribuer à des variations dans la force de liaison avec certains allèles HLA-I. Cela conduit à une amplification des signaux inhibiteurs qui aboutit à une altération des capacités de présentation antigénique des cellules dendritiques (Lichterfeld et al. 2007a) (Figure 14).

Des études ultérieures ont montré que les récepteurs LILRB pouvaient se lier à d'autres ligands tels que les molécules de la famille des angiopoïétine-like (ANGPTL) (M. Deng et al. 2014). LILRB2 peut aussi se lier aux protéines β -amyloïde oligomères, aux protéines de myéline Nogo, aux glycoprotéines associées à la myéline (MAG) et à la glycoprotéine oligodendrocytaire de la myéline (OMgp) (Kim et al. 2013). LILRB1 reconnaît la protéine UL-18 produite par le cytomegalovirus humain (HCMV). Celle-ci a des similarités de structure avec les molécules HLA classe I mais se lie avec une avidité très élevée à LILRB1 (Chapman, Heikeman, and Bjorkman 1999; Z. Yang and Bjorkman 2008). Les récepteurs LILRA1 et LILRA3 quant à eux se lient aux molécules HLA-I classiques avec une affinité réduite et montrent une liaison préférentielle pour le ligand HLA-C (Ryu et al. 2011).

Introduction

En outre, Hirayasu et al. ont montré que le récepteur LILRA2, exprimé par les neutrophiles et les monocytes, se lie aux immunoglobulines clivées par les protéases de différentes souches bactériennes en favorisant une réponse cellulaire antibactérienne (Hirayasu et al. 2016). D'autre part, le récepteur LILRA4 qui est spécifiquement exprimé par les pDC reconnaît la molécule CD317 (BST2, Tetherin). Cette interaction joue un rôle important dans la maturation cellulaire et la régulation des fonctions des pDC (Cao 2006; Cao et al. 2009; Tavano et al. 2013). A ce jour, aucun ligand n'a pu être caractérisé pour certains LILR, notamment LILRB4, LILRA5 et LILRA6 (van der Touw et al. 2017).

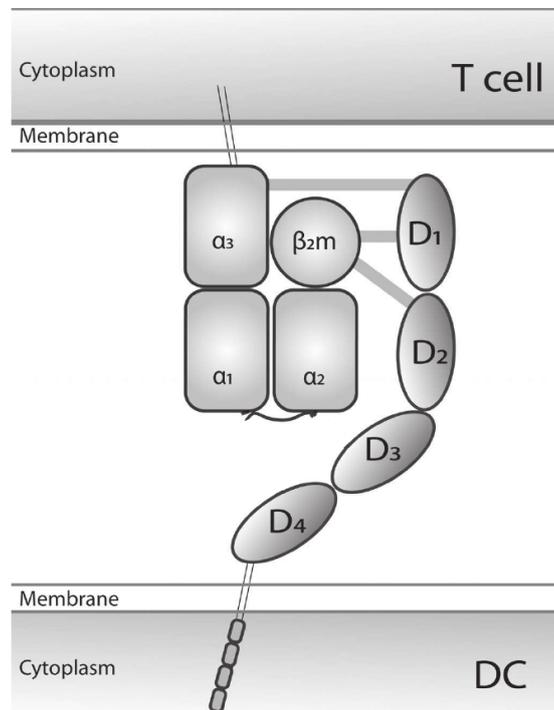


Figure 14: Site de liaison en trans entre le récepteur LILRB2 des cellules dendritiques avec les ligands HLA classe I des cellules T (Lichterfeld and Yu 2012).

c- Les orthologues des récepteurs LILR chez les modèles murins et simiens.

En 1997, une étude chez la souris a permis d'isoler plusieurs clones d'ADNc codant pour une nouvelle famille de gènes de récepteurs murins, les gènes paired immunoglobulin (Ig)-like receptors, PIR-A et PIR-B exprimés par les monocytes/macrophages, granulocytes, les cellules dendritiques, les mastocytes mais aussi par les cellules B (H Kubagawa, Burrows, and Cooper 1997; Hiromi Kubagawa et al. 1999).

Introduction

PIR-A et PIR-B ont été proposés comme parents proches des récepteurs LILR humains en raison de leur homologie de séquences, mais ils en restent toutefois éloignés en terme de structure et de distribution tissulaire (Takai 2005). Selon les études, le récepteur PIR-B a été attribué comme corolaire de LILRB2 ou LILRB3 (Kim et al. 2013; Ma, Pan, and Eisenstein 2011). Or on peut relever des différences notables. En effet, LILRB2 et LILRB3 ne sont pas exprimés sur les cellule B chez l'homme (van der Touw et al. 2017). En outre, PIR-B est une glycoprotéine transmembranaire avec six domaines Ig-like extracellulaires, un segment transmembranaire, et une partie intracellulaire contenant quatre domaines ITIM. La présence de 5 gènes LILRB chez l'homme et un seul équivalent chez la souris suggère une évolution phylogénétique plus complexe, signe d'une régulation plus fine des réponses immunitaires par les LILR chez les primates.

Une étude menée par Slukvin et al. a identifié différents gènes LILR chez les macaques rhésus présentant de fortes homologies avec leurs orthologues humains. Du point de vue structural, on retrouve des récepteurs LILRB et des LILRA qui possèdent comme chez l'homme 2 à 4 domaines immunoglobulines dans la partie extracellulaire. Dans la partie intracellulaire, les LILRB contiennent des motifs ITIM alors que les LILRA possèdent des résidus Arginine au niveau transmembranaire. Un récepteur soluble orthologue de LILRA3 humain a également été caractérisé (Slukvin et al. 2006) (Figure 15).

L'identification d'une famille de récepteurs LILR chez le macaque, présentant de très fortes homologies avec les molécules retrouvées chez l'homme, permet d'en faire un modèle de choix pour étudier les fonctions immuno-régulatrices des récepteurs LILR au cours de la mise en place des réponses immunitaires.

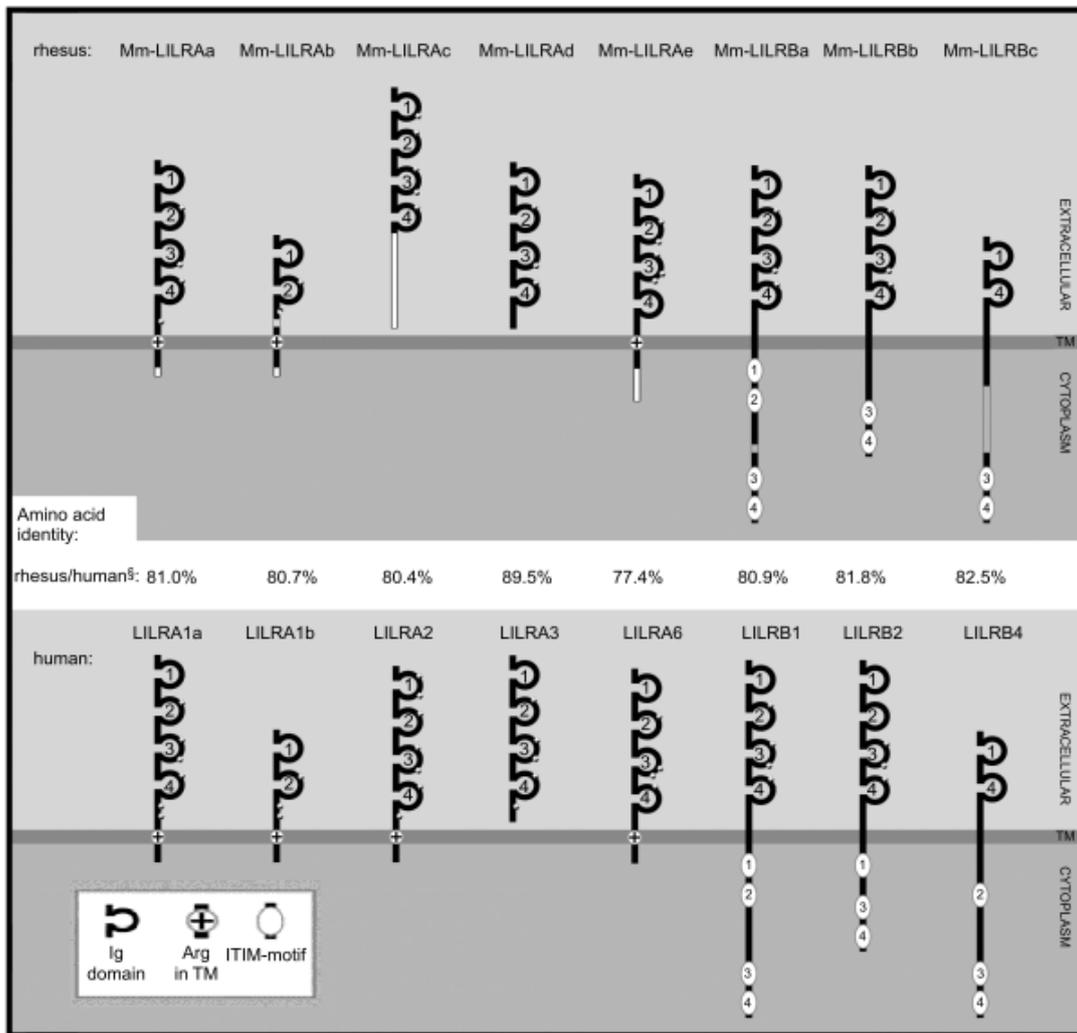


Figure 15: Représentation schématique de la structure des Mm-LILR du macaque rhésus (*Macaca mulatta*) et de leurs orthologues humains les plus proches. L'homologie des séquences entre LILR simien et humain a été calculée en comparant la séquence d'acide aminé complète pour chaque molécule LILR (D'après Slukvin II et al. 2006).

B- Rôle immuno-modulateur des récepteurs LILR dans les réponses immunitaires et les pathologies

Compte tenu de leur large distribution cellulaire et de leurs fonctions immuno-régulatrices, les récepteurs LILR sont impliqués dans différentes pathologies humaines.

a- Le rôle des récepteurs LILR dans le microenvironnement tumoral

Les interactions entre les cellules cancéreuses malignes et les cellules myéloïdes dans le microenvironnement tumoral sont essentielles pour comprendre le développement de nouvelles immunothérapies anti-cancéreuses. Parmi les mécanismes impliqués dans la régulation des réponses immunitaires anti-cancéreuses, le rôle des récepteurs LILR a été démontré dans de nombreux cas de cancers (Zhang et al. 2015). Pour les cancers colorectaux, l'échappement tumoral a été associé à une diminution du nombre des cellules dendritiques qui présentent une expression exacerbée du récepteur inhibiteur LILRB4 (Orsini et al. 2014). Par ailleurs, les patients atteints de cancers bronchiques présentent des sous-populations de cellules myéloïdes suppressives LILRB4(hi) en expansion qui corrélerent avec un taux de survie plus court. A contrario, les patients, dont les sous-populations de cellules myéloïdes suppressives LILRB4(hi) sont stables ou en rétraction, présentent un meilleur diagnostic pour ces cancers bronchiques (de Goeje et al. 2015). Dans les carcinomes colorectaux, les macrophages avec une expression élevée de LILRB4 sont plus fortement présents dans les ganglions lymphatiques infiltrés par des cellules tumorales. D'un point de vue fonctionnel, cette forte expression altère l'activation immunitaire induisant une anergie des lymphocytes T. La différenciation de cellules T CD8 suppressives dans le microenvironnement tumoral et dans les ganglions sentinelles favorise la tumorigenèse (Kim-Schulze et al. 2006).

L'interaction entre les ligands et les récepteurs LILRB des cellules myéloïdes impliquées dans la présentation antigénique peut être utilisée par les cellules tumorales pour échapper à la surveillance immunitaire (Kang et al. 2016). L'engagement du ligand ANGPTL2 avec LILRB2 joue un rôle clé dans la transition mésenchymateuse épithéliale au cours de la carcinogenèse pancréatique (Carbone et al. 2015). Ainsi, les co-expressions élevées des ligands ANGPTL2 ou ANGPTL5 et de LILRB2 révèlent un niveau élevé de métastase dans les ganglions lymphatiques et un taux de survie global plus court chez les patients atteints de cancers du poumon. Parmi les mécanismes mis en jeu, les ligands naturels ANGPTL exprimés ou sécrétés par les cellules tumorales peuvent se lier à certains récepteurs LILRB ce qui va aboutir à une tolérance immunitaire avec induction de cellules T régulatrices.

Introduction

Par conséquent, se met en place une suppression de l'activation des lymphocytes T et des fonctions cytolytiques des lymphocytes T CD8. L'ensemble favorise la progression tumorale (Wang et al. 2015).

b- Action des récepteurs LILR dans l'auto-immunité

Différents LILR se sont révélés être associés à des maladies auto-immunes humaines telles que le Lupus érythémateux disséminé (LED), la Polyarthrite rhumatoïde (PR) et la Sclérose en plaques (SEP). Une plus faible activité inhibitrice de LILRB1 sur les lymphocytes T et une expression diminuée sur les cellules B a été observée chez les patients atteints de LED par rapport à des donneurs sains (Monsiváis-Urendá et al. 2007). Cela abolit les mécanismes de tolérance et aboutit à une forte réponse inflammatoire (Figuerola-Vega et al. 2006). Outre LILRB1, le récepteur LILRB4 exprimé à la surface d'une sous-population de plasmocytes associée à une production d'auto-anticorps est aussi décrit chez les patients atteints de LED (Inui et al. 2016). Par ailleurs, dans la polyarthrite rhumatoïde les cellules inflammatoires infiltrant le tissu synovial sont significativement diminuées chez les patients qui répondent favorablement au traitement anti-rhumatoïde, via l'inhibition partielle de la production de TNF- α médiée par LILRA2 (Huynh et al. 2007).

L'allèle HLA-B*27, associé à différentes pathologies inflammatoires, est décrit comme favorisant les interactions avec le récepteur LILRB2 (mais pas LILRB1) dans les spondylarthrites rhumatoïdes (Kollnberger et al. 2002). L'hypothèse serait que l'interaction exacerbée de LILRB2 avec HLA-B*27 pourrait conduire à un défaut de réponse des cellules présentatrices d'antigènes (Anderson and Allen 2009). Autre trouble inflammatoire du cerveau et de la moelle épinière, la SEP se caractérise par une infiltration lymphocytaire entraînant des lésions de la myéline et des axones. Or LILRA3, seul récepteur exprimé uniquement sous forme soluble, présente des délétions de séquences qui sont associées à un développement de SEP plus précoce (Koch et al. 2005). Ce même récepteur LILRA3 dans sa forme complète a été décrit comme un facteur de susceptibilité génétique dans le Syndrome de Sjögren associé à des concentrations d'auto-anticorps plus élevées et un plus grand risque de leucopénie (Du et al. 2015). Ainsi, outre les défauts d'expression des récepteurs LILR dans les pathologies inflammatoires, les polymorphismes des gènes LILR peuvent être des marqueurs de sévérité dans les pathologies auto-immunes.

c- Les récepteurs LILR dans la tolérance aux greffes d'organes

Dans les transplantations d'organes, la modulation des réponses immunitaires par les récepteurs LILR est associée à une meilleure acceptation des greffons. En effet, chez certains patients transplantés on retrouve une expression plus forte de LILRB2 et LILRB4 sur les monocytes et les cellules dendritiques conférant un phénotype tolérogène à ces cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (Benito et al. 2008). L'augmentation de LILRB2 et LILRB4 sur les CPA est associée à une réduction de l'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86 ainsi qu'à une capacité accrue à induire et conduire l'expansion des cellules T régulatrices favorable à la mise en place d'un environnement tolérogène (C. C. Chang et al. 2002). Cela est notamment décrit chez des patients ayant subi des transplantations cardiaques, rénales et hépatiques (Ciubotariu et al. 2001; Colovai et al. 2003). LILRB1 et LILRB2 sont également décrits comme favorisant la tolérance aux greffes d'organes en se liant aux molécules du HLA classe I non-classiques, HLA-G. En effet, des niveaux élevés de HLA-G sont corrélés positivement avec une meilleure acceptation du greffon chez les patients ayant subi une greffe rénale (Qiu et al. 2006). L'engagement de LILRB1 et LILRB2 avec les molécules HLA-G membranaires ou solubles est associé à une diminution de la prolifération lymphocytaire et une augmentation des populations régulatrices Treg (Naji et al. 2007; Ristich et al. 2007). La liaison de LILRB1/2 avec HLA-G régule aussi la sécrétion des cytokines IL-6 (diminuée), IL-4 et IL-13 (augmentées) entraînant l'inhibition de la réponse des lymphocytes T alloréactifs pour prolonger la tolérance des greffes cutanées (W. Zhang et al. 2008). Une étude récente menée par Köstlin et al a mis en évidence que l'activation de LILRB2 suite à sa liaison avec la molécule HLA-G soluble entraînent une accumulation et une activation des cellules myéloïdes suppressives (MDSC) qui possèdent un rôle bénéfique dans la tolérance materno-foetale (Köstlin et al. 2017).

d- Les récepteurs LILR dans les pathologies infectieuses

En raison de leurs propriétés immuno-modulatrices, les récepteurs LILR peuvent agir comme médiateurs entre les réponses immunitaires innées et adaptatives lors des infections bactériennes ou virales. L'analyse génétique de biopsies cutanées chez les patients atteints de Lèpre lépromateuse a montré que de multiples membres de la famille LILR, en particulier LILRA2, sont fortement exprimés dans ce contexte infectieux.

Introduction

Au lieu d'une cascade pro-inflammatoire médiée par la production d'IL-12, l'induction d'expression de LILRA2 dans les tissus lépromateux altère l'équilibre cytokinique aboutissant à une forte sécrétion d'IL-10 qui inhibe l'activation des voies TLR dans les monocytes. Ce relais cytokinique en faveur d'IL-10 aboutit à une réponse innée antimicrobienne inefficace (Bleharski et al. 2003).

L'infection parasitaire par *Plasmodium falciparum* peut entraîner une malaria dont les formes graves sont associées à un défaut des réponses immunitaires médiées par la production élevée de cytokines pro-inflammatoires (Clark et al. 2006). Chez des patients atteints d'un paludisme sévère, la forte expression du récepteur LILRB1 à la surface des cellules B et T corrèle avec une apoptose plus forte de ces cellules qui aboutit à une réponse pro-inflammatoire anarchique (Kalmbach et al. 2006). Par ailleurs, dans des modèles in vitro d'infections bactériennes par *Salmonella typhimurium*, LILRB2 et LILRB4 sont induits à la surface des cellules dendritiques. Ces cellules présentatrices d'antigènes présentent un profil anergique avec un défaut de leur fonction de stimulation de la réponse lymphocytaire, et une plus forte production de cytokines immunosuppressives, notamment d'IL-10, limitant la réponse inflammatoire antibactérienne (Brown et al. 2009).

Parmi les infections virales, le rôle de LILRB1 dans l'infection par le Cytomégalovirus (CMV) a été très étudié. En effet le CMV produit une glycoprotéine de surface appelée UL-18, homologue aux molécules HLA classe I, mais qui se lie avec une avidité mille fois plus forte au récepteur LILRB1 (Saverino et al. 2004). De plus, l'infection par le CMV corrèle avec un niveau élevé d'expression de LILRB1 dans les transplantations pulmonaires. A ce titre, LILRB1 a été proposé comme biomarqueur pronostic dans le cadre des infections CMV chez les patients ayant subi une transplantation pulmonaire (Berg et al. 2003).

D'autre part, LILRB1 est également impliqué dans la pathogenèse du virus de la dengue. Le virus de la dengue faiblement opsonisé par les anticorps anti-DENV se lie aux récepteurs LILRB1, ce qui entraîne une inhibition de la signalisation des récepteurs activateurs FcγR aboutissant à une régulation négative des gènes stimulés par les IFN de type I (ISG). Le virus de la dengue peut ainsi se répliquer et disséminer vers les cellules cibles voisines (Chan et al. 2014; Nimmerjahn and Lux 2014). Cependant, le ligand spécifique du virus de la Dengue interagissant avec LILRB1 n'est toujours pas identifié.

Introduction

Au cours de l'infection chronique par le VIH-1, les sous-populations de lymphocytes T CD8 qui expriment LILRB1 possèdent un profil cytotoxique immature, sont plus prompts à l'apoptose cellulaire et présentent une inhibition de production de l'IFN- γ (Ince et al. 2004). Sur le versant de la réponse immunitaire innée, l'infection par le VIH-1 permet des interactions fortes entre les ligands HLA classe I et le récepteur LILRB2 qui va induire la transduction de signaux inhibiteurs dans les cellules dendritiques. Cela conduit à un défaut de maturation cellulaire et à une capacité de présentation antigénique plus faible par les cDC (Huang et al. 2009; Lichterfeld et al. 2007). Ces mécanismes et dysfonctions seront décrits plus en détail dans le paragraphe qui suit.

C- Rôle des récepteurs LILR dans l'infection par le VIH-1

Chez la grande majorité des individus, l'infection par le VIH-1 entraîne une déficience immunitaire progressive, qui, lorsqu'elle n'est pas traitée, progresse vers le stade SIDA. Cependant, la rapidité avec laquelle la maladie progresse dépend d'une interaction étroite entre différents mécanismes immuno-modulateurs et des caractéristiques immunogénétiques spécifiques aux différents patients (Keiter et al. 2010). Des études multiples sur le lien entre les récepteurs LILR et leurs ligands HLA classe I démontrent une implications étroites dans les dysfonctions immunitaires associées au VIH pouvant influencer de manière critique la progression de la maladie.

a- Interactions entre les ligands HLA-I et les récepteurs LILR : déterminants génétiques sur la pathogenèse virale

L'influence des allèles HLA classe I dans la progression virale a été démontrée pour les allèles HLA-B*57 (Migueles SA et al. 2000) et HLA-B*27 (den Uyl, van der Horst-Bruinsma, and van Agtmael 2010), qui représentent certains des marqueurs fort d'une progression faible de la maladie. De plus, ces allèles sont statistiquement enrichis chez les patients « Elite Controllers » (Zaunders and Van Bockel 2013). Des études récentes ont montré une grande variabilité dans les forces de liaison entre les molécules HLA-I et LILRB2. Une liaison de faible affinité entre LILRB2 et les allèles dits protecteurs HLA-B*57 et HLA-B*27 a été démontrée (Jones et al. 2011). Du point de vue fonctionnel, une interaction faible entre ces allèles protecteurs HLA-I et LILRB2 est corrélée avec un meilleur contrôle de la charge virale et une meilleure capacité de présentation antigénique par les cDC (Bashirova et al. 2014). En revanche, les allèles HLA-B*35 sont associés à une progression accélérée de la maladie du VIH-1 (Gao et al. 2001).

Introduction

Un tel effet des polymorphismes des allèles HLA classe I sur la reconnaissance par les récepteurs LILR a été démontré.

Des études antérieures ont montré que, selon la mutation d'un acide aminé dans la poche de reconnaissance peptidique, les isotypes Px et Py des allèles HLA-B*35 peuvent avoir des influences opposées sur la progression de la maladie. L'isotype HLA-B*35-Px représente l'un des facteurs de prédiction les plus forts d'une progression accélérée de la maladie, alors que l'isotype HLA-B*35-Py semble n'avoir aucune influence sur la progression de la maladie (Gao et al. 2001, 2005). Néanmoins Huang et al. ont montré que, contrairement aux isotypes HLA-B*35-Py, les molécules HLA-B*35-Px se lient plus fortement au récepteur LILRB2 exprimé sur les cellules dendritiques (Huang J et al. 2009). La reconnaissance préférentielle des isotypes HLA-B*35-Px par le récepteur LILRB2 se traduit par une fonction de présentation antigénique et une capacité de sécrétion cytokinique par les cDC plus faibles. Ces données suggèrent que les sous-types HLA-B*35-Px induisent une progression de la maladie en augmentant l'inhibition fonctionnelle des cDC, médiée par le récepteur LILRB2. Par ailleurs, un polymorphisme génétique identifié 35 kb en amont du gène HLA-C synthétise un variant de cette molécule (-35C) qui est fortement exprimé à la surface des lymphocytes T et aussi associé à une progression retardée de l'infection par le VIH-1 (Thomas et al. 2009). Cette expression plus élevée des molécules HLA-C (-35C) corrèle avec un meilleur contrôle de la charge virale, une moindre déplétion des lymphocytes T CD4 et une plus faible progression vers le stade SIDA. Outre les variations alléliques, les modifications de conformation de la molécule HLA-C régissent son interaction avec les récepteurs LILR. Les formes libres, sans sous-unité $\beta 2m$ du ligand HLA-C, présentent des affinités de liaison accrues aux récepteurs LILRB2, LILRA1 et LILRA3 (Jones et al. 2011). Il est donc possible que les modulations des interactions entre les ligands HLA-C et les récepteurs LILR soient fonction non seulement de variations alléliques mais aussi de modifications conformationnelles de la molécule HLA-C. Cela pourrait donc constituer de nouveaux mécanismes déterminants dans l'immuno-modulation des réponses antivirales.

b- Impact des mutations virales d'échappement sur l'interaction entre les molécules HLA classe I et les récepteurs LILR

Dans les phases précoces de l'infection, la capacité du VIH-1 à échapper avec succès aux mécanismes de défense immunitaire est en grande partie liée à l'induction de mutations d'échappement malgré la pression élevée exercée par les lymphocytes T CD8 sur la

Introduction

reconnaissance des peptides viraux mutants (Fischer et al. 2010). Lichterfeld et al. ont apporté des preuves suggérant un impact des mutations des séquences virales sur l'interaction entre les ligands HLA classe I et les récepteurs de la famille LILR.

Une mutation du peptide viral KK10 (gène gag) reconnu par l'épitope HLA-B*2705 des lymphocytes T CD8 cytotoxiques abroge la réponse cytotoxique spécifique, très tôt dans l'infection, aboutissant à des charges virales plus élevées et à une progression plus rapide de la maladie (Lichterfeld et al. 2007a). En effet, le complexe HLA-B*2705/peptide viral mutant aboutit à une plus grande affinité de liaison avec le récepteur LILRB2 exprimé à la surface des cDC. Ces cDC présentent alors un phénotype tolérogène avec un défaut de maturation et des fonctions de co-stimulation affaiblies. Des études ultérieures ont démontré que les interactions entre les molécules LILRB2 et HLA classe I, médiées par des peptides viraux mutants, se produisent également pour divers isotypes des molécules HLA classe I. Des mutations aux niveaux des épitopes HLA-A*11, HLA-B*08 ou HLA-B*07, portés par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques spécifiques, entraînent une plus forte affinité de ces ligands avec le récepteur LILRB2 exprimé sur les cellule myéloïdes (Yang et al. 2010). Ces données suggèrent que la diversification mutationnelle du virus dans les premières phases de l'infection joue un rôle dans les défauts d'interaction des complexes HLA classe I avec les TCR des cellules T CD8 et dans le même temps augmente leur affinité avec les récepteurs LILRB2 favorisant ainsi l'échappement du virus.

c- Rôle des LILRs sur la régulation des réponses immunitaires induites au cours de l'infection par le VIH-1

Des preuves croissantes suggèrent que les récepteurs LILR jouent un rôle important dans la régulation de l'activité des cellules dendritiques au cours de l'infection par le VIH-1. Les patients infectés, montrant une progression rapide de la maladie, présentent un phénotype de cDC immature associé à une forte expression du récepteur LILRB2 et une expression faible de LILRA1 (Huang et al. 2010). Cette augmentation d'expression du récepteur LILRB2 semble être induite par l'augmentation des concentrations plasmatiques de la cytokine immunosuppressive IL-10 (Vlad et al. 2003). De plus, l'expression élevée de LILRB2 observée sur les cDC pendant l'infection par le VIH est associée à une augmentation des concentrations plasmatiques des molécules HLA classe I solubles. Ces formes solubles des ligands HLA-I sont capables de se lier à LILRB2 et induire des signaux inhibiteurs dans les cDC.

Introduction

De faibles taux de molécules HLA-I solubles sont retrouvés dans les plasma des patients « Elites Controllers » tandis que des concentrations plus fortes corréleraient avec une progression de la maladie chez les patients virémiques (Huang et al. 2010; Puppo et al. 1994).

L'utilisation d'ARN d'interférence inhibant l'activation du récepteur LILRB2 dans les cDC chez des patients infectés par le VIH-1, a permis de mettre en évidence son rôle lors de l'interaction avec les ligands HLA classe I membranaires ou solubles. La liaison LILRB2/HLA-I est responsable d'une inhibition de la maturation fonctionnelle, d'une incapacité de présentation antigénique et d'un défaut de production de cytokines (IL12p70 ; IL6 ; TNF- α) en réponse à des stimulations des voies TLR7/8 (Huang et al. 2010; Huang et al. 2012).

Contrairement aux patients qui progressent dans l'infection par le VIH-1, Huang et al. ont décrit une expression plus forte des récepteurs LILRB1 et LILRB3, mais pas de LILRB2 chez les patients dits « Elite Controllers ». Une inhibition, par ARN interférent, de l'activation de LILRB1 et LILRB3 a entraîné une diminution des propriétés de présentation antigéniques et une faible stimulation de la réponse lymphocytaire T par les cDC (J Huang et al. 2010). Bien que LILRB1, LILRB3 et LILRB2 soient tous les 3 associés à des motifs ITIM inhibiteurs, ces résultats suggèrent que les fonctions des récepteurs LILRB pourraient jouer des rôles opposés dans la régulation des réponses immunitaires contre le VIH. (Barrow and Trowsdale 2006).

Au cours des dernières années, des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes complexes qui régulent les défenses immunitaires contre le VIH-1 et déterminent la vitesse de progression de la maladie ou son contrôle naturel. La plupart de ces études ont porté sur l'activité immunitaire médiée par les lymphocytes T et B. Cependant, il est maintenant de plus en plus clair que les caractéristiques fonctionnelles des cellules dendritiques classiques sont étroitement liées à l'échappement du virus. Les récepteurs LILR jouent un rôle essentiel dans la régulation des cellules dendritiques selon leur niveau d'expression ainsi que leurs interactions spécifiques avec les ligands HLA classe I. L'identification de nouveaux ligands, des cinétiques d'expressions cellulaires des LILR, mais aussi la diversité génétique régissant l'interaction LILR/HLA-I ainsi que les mécanismes de transduction des signaux cellulaires pourraient permettre une compréhension plus complète des fonctions immunomodulatrices des LILR dans la mise en place des dysfonctions des cDC au cours de l'infection par le VIH-1.

Objectifs

Objectifs

Les cellules dendritiques classiques (cDC) sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles (CPA) qui jouent un rôle crucial dans l'induction et l'organisation des réponses immunitaires adaptatives dirigées contre les agents infectieux (Banchereau et al. 2000).

Dès la primo-infection par le VIH-1, il existe une diminution des cDC circulantes mais aussi une dysfonction de leur capacité de présentation antigénique qui est inhibée (Donaghy et al. 2003 ; Huang et al. 2011). Leur production de cytokines (IL12p70 ; IL-6 ; TNF- α) est également altérée et perdue au cours de l'infection (Frleta et al. 2012). Cette inhibition des propriétés de présentation antigénique ainsi que de production de cytokines dès le début de l'infection par le VIH-1 pourrait conduire à un défaut d'induction de la réponse immunitaire adaptative à un moment critique. Bien que les données de ces études suggèrent que les dysfonctions des cDC induites au cours de l'infection par le VIH-1 et le SIV (Wijewardana et al. 2014) participeraient à la progression de la maladie, les mécanismes moléculaires qui gouvernent ces dysfonctions restent mal compris.

A ce titre, la molécule LILRB2 joue un rôle important dans la régulation des cDC suite à son interaction avec ses ligands HLA classe I. Des études *in vitro* réalisées à partir de cohortes de patients VIH-1 positifs, en phase chronique d'infection, montrent que les niveaux d'expression de certains membres de la famille LILR à la surface des cDC sont modifiés en contexte infectieux (Benlahrech et al. 2012 ; Huang et al. 2012). Néanmoins, LILRB2 est le seul récepteur de cette famille dont le rôle dans l'induction des dysfonctions des cDC a pu être mis en évidence lors de l'infection par le VIH-1 (Lichterfeld et al. 2007 ; Huang et al. 2010 ; Huang et al. 2009).

L'ensemble des résultats démontrant le rôle de LILRB2 sur la dysfonction des cDC au cours de l'infection par le VIH-1 sont issus d'études réalisées *in vitro* à partir d'échantillons de patients prélevés en phase chronique de l'infection. Chez l'homme, il est très difficile de caractériser les événements de la réponse immunitaire lors de la phase aiguë de l'infection en raison du diagnostic relativement tardif des patients infectés. De plus, il est très rare d'obtenir des échantillons de ces patients avant infection. En outre, à l'exception du sang, des échantillons de tissus lymphoïdes de patients infectés ne sont presque jamais accessibles dans des protocoles de recherche clinique, en particulier dans la phase aiguë de l'infection. Or la mise en place des dysfonctions des cDC et leur dynamique de migration vers les organes lymphoïdes secondaires semblent se mettre en place relativement tôt dans la cinétique d'infection par le VIH-1.

Objectifs

Il est donc nécessaire d'utiliser des modèles animaux d'infection pour mettre en évidence la modulation et les conséquences de l'expression de LILRB2 sur la fonction des cDC au cours des phases précoces de l'infection.

Dans ce contexte, le modèle d'infection de macaques cynomolgus par le SIV est un modèle de choix pour réaliser des études longitudinales et suivre la fonction et / ou les dysfonctionnements des cellules immunitaires avec un accès au sang et aux organes lymphoïdes secondaires qui sont les principaux réservoirs du virus. Le macaque cynomolgus et l'homme sont phylogénétiquement proches et présentent des réponses immunitaires similaires (Gardner et al. 2008). En outre, le modèle d'infection du macaque cynomolgus par le SIV offre une situation unique qui permet, dans un système inductible, de suivre l'expression de marqueurs spécifiques à l'inflammation et/ou à la réponse immunitaire antivirale dès les premiers jours de l'infection. De plus, des études génétiques menées sur les récepteurs de la famille LILR chez l'Homme et le macaque rhésus ont permis de montrer des homologies de séquences et de structure entre ces deux espèces (Slukvin II et al. 2006).

L'utilisation des modèles macaques cynomolgus d'infection par le SIV permettra d'évaluer l'impact du récepteur inhibiteur LILRB2 dans les dysfonctions des réponses immunitaires innées qui se mettent en place très tôt dans l'infection et qui sont prédictives d'une progression de la maladie (Wijewardana et al. 2010).

Nous faisons l'hypothèse, qu'*in vivo*, l'interaction de LILRB2 avec les ligands HLA classe I joue un rôle essentiel dans la dysfonction des cDC induite lors de la phase aigüe de l'infection VIH-1/SIV aboutissant ainsi à la mise en place de réponses immunitaires antivirales inefficaces.

L'objectif de notre projet de recherche vise à caractériser la dynamique de l'expression de LILRB2 et de ses ligands HLA classe I au cours de l'infection précoce par le VIH-1 et le SIV, ainsi qu'à caractériser les facteurs qui pourraient être impliqués dans la régulation d'expression de LILRB2 et des HLA classe I. Afin d'atteindre notre objectif, nous avons structuré notre étude en 4 étapes :

- 1) Evaluer le niveau d'expression de LILRB2 et des HLA classe I sur les cDC issues du sang de patients VIH-1 positifs en primo-infection avant et après un suivi d'un an post-ARV en comparaison avec des patients « Elite Controllers » et des sujets contrôles non infectés par le VIH-1.

Objectifs

- 2) Caractériser la cinétique d'expression de LILRB2 et du CMH classe I chez le macaque cynomolgus infecté par le SIVmac251 sur les cDC du sang et des ganglions lymphatiques périphériques avant et durant les premiers jours après infection par le SIV.
- 3) Etudier les facteurs virologiques et immunitaires qui pourraient être impliqués dans la régulation de l'expression de LILRB2 lors de l'infection par le VIH-1.
- 4) Comparer la dynamique, *in vivo*, de l'expression de LILRB2 et des CMH classe I sur les cDC entre le modèle d'infection progressive par le SIV et un modèle d'infection par le virus chikungunya qui aboutit à des réponses adaptatives efficaces et un contrôle de la virémie.

Résultats

Article: Early SIV and HIV infection promotes the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs

Article soumis et en cours de révision dans la revue *Cellular and Molecular Life Sciences*

L'infection par le VIH induit des dysfonctions des réponses immunitaires qui participent à l'échappement du virus. A ce titre, LILRB2, un récepteur inhibiteur exprimé à la surface des cDC, régule leurs fonctions suite à son interaction avec les molécules HLA classe I membranaires ou solubles. Des études in vitro montrent que LILRB2 joue un rôle clé dans les dysfonctions des cDC du sang de patients en phase chronique. Bien que cette activité exacerbée de LILRB2 soit associée à une progression accélérée de la maladie, l'expression et l'impact fonctionnel de LILRB2, dans les phases précoces de l'infection dans le sang et les organes lymphoïdes secondaires, ne sont toujours pas caractérisés. Dans cette étude, nous posons l'hypothèse que l'amplification de l'activité de LILRB2 se met en place très tôt dans l'infection par le VIH en affectant les fonctions des cDC et donc l'efficacité des réponses immunitaires adaptatives. Cette amplification de l'activité de LILRB2 résulterait d'une augmentation de son niveau d'expression sur les cDC et de ses ligands HLA-I au cours des étapes précoces de l'infection.

Afin de tester notre hypothèse de travail nous avons tout d'abord caractérisé l'expression de LILRB2 et des HLA classe I chez un groupe de patients VIH-1 positifs en phase de primo-infection avant et après un an de traitement anti-rétroviral, ainsi que chez des patients « Elite Controllers ». Afin de caractériser plus précisément la dynamique d'expression de LILRB2 sur les cDC au cours des étapes précoces de l'infection, nous utilisons un modèle de macaque cynomolgus infecté par le SIVmac251. Ce modèle d'infection inductible nous permet de suivre la modulation du récepteur LILRB2 et des ligands du CMH classe I dès les premiers jours de l'infection sur les cDC du sang et des ganglions lymphatiques. Nos données montrent une induction de LILRB2 et du CMH-I en phase précoce d'infection par le VIH et le SIV dans le modèle macaque d'infection.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la régulation de l'expression de LILRB2, nous avons utilisé des modèles de cellules dendritiques différenciées à partir de monocytes (MoDC) que nous avons mis en présence soit de VIH-1_{BAL}, soit d'agoniste des voies TLR7/8 et enfin des cytokines IFN de type I, IL-10 et TNF α .

Résultats

Enfin, nous avons caractérisé la cinétique de l'expression de LILRB2 sur les cDC dans un modèle d'infection par le virus chikungunya chez le macaque cynomolgus qui, contrairement au modèle d'infection par le SIV, conduit à la mise en place d'une réponse immunitaire efficace aboutissant à un contrôle de la réplication virale.

Nos données obtenues par cytométrie de flux montrent une forte induction de l'expression de LILRB2 et de son ligand, HLA classe I, à la surface des cDC chez les patients en primo-infection. Après un an de traitement anti-rétroviral de ces patients, les fortes expressions induites de LILRB2 et de ses ligands diminuent pour atteindre des niveaux d'expressions proches de ceux observés chez les patients « Elite Controllers ». Les résultats obtenus à partir du modèle macaque cynomolgus d'infection par le SIV montrent que l'augmentation de l'expression de LILRB2 et des CMH classe I sont précoces, avec un pic situé au neuvième et dixième jour post-infection sur les cDC du sang et des ganglions périphériques. Les facteurs viraux et cytokiniques jouent un rôle dans la régulation de l'expression de LILRB2. En effet, les MoDC infectés *in vitro* par le VIH-1 montrent une augmentation d'expression du récepteur LILRB2 beaucoup plus forte sur les sous-populations présentant une réplication virale active, alors que les HLA classe I ne subissent aucune modulation d'expression. D'autre part, la stimulation des MoDC par les agonistes des TLR7/8, ainsi que par les cytokines IFN de type I et IL-10, montre une forte induction de l'expression de LILRB2 alors que la stimulation par le TNF- α ne semble avoir aucun effet inducteur. Finalement, afin d'appréhender la spécificité de cette modulation, nous avons évalué l'expression de LILRB2 et des CMH classe I à la surface des cDC dans un modèle d'infection par le virus chikungunya. Nos résultats montrent que malgré une forte induction des molécules du CMH classe I sur les cDC et monocytes, aucune modulation du récepteur LILRB2 n'a été observée sur ces cellules au cours du suivi longitudinal.

Nos données révèlent une forte induction, spécifique à l'infection SIV/VIH-1, du récepteur LILRB2 et des ligands HLA classe I pendant la phase précoce d'infection. Cette forte expression semble être induite par le virus, mais aussi par le microenvironnement cytokinique et pourrait donc favoriser la mise en place de dysfonctions des réponses innées à un stade critique de la réponse immunitaire antivirale.



Early SIV and HIV infection promotes the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs

Lamine Alaoui¹ · Gustavo Palomino¹ · Sandy Zurawski³ · Gerard Zurawski³ · Sixtine Coindre¹ · Nathalie Dereuddre-Bosquet¹ · Camille Lecuroux¹ · Cecile Goujard² · Bruno Vaslin¹ · Christine Bourgeois¹ · Pierre Roques¹ · Roger Le Grand¹ · Olivier Lambotte^{1,2} · Benoit Favier¹

Received: 22 August 2017 / Revised: 23 October 2017 / Accepted: 6 November 2017
© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2017

Abstract

Classical dendritic cells (cDCs) play a pivotal role in the early events that tip the immune response toward persistence or viral control. *In vitro* studies indicate that HIV infection induces the dysregulation of cDCs through binding of the LILRB2 inhibitory receptor to its MHC-I ligands and the strength of this interaction was proposed to drive disease progression. However, the dynamics of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs during early immune responses against HIV are yet unknown. Here, we show that early HIV-1 infection induces a strong and simultaneous increase of LILRB2 and MHC-I expression on the surface of blood cDCs. We further characterized the early dynamics of LILRB2 and MHC-I expression by showing that SIVmac251 infection of macaques promotes coordinated up-regulation of LILRB2 and MHC-I on cDCs and monocytes/macrophages, from blood and lymph nodes. Orientation towards the LILRB2/MHC-I inhibitory axis starts from the first days of infection and is transiently induced in the entire cDC population in acute phase. Analysis of the factors involved indicates that HIV-1 replication, TLR7/8 triggering, and treatment by IL-10 or type I IFNs increase LILRB2 expression. Finally, enhancement of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis is specific to HIV-1 and SIVmac251 infections, as expression of LILRB2 on cDCs decreased in naturally controlled chikungunya virus infection of macaques. Altogether, our data reveal a unique up-regulation of LILRB2 and its MHC-I ligands on cDCs in the early phase of SIV/HIV infection, which may account for immune dysregulation at a critical stage of the anti-viral response.

Keywords ILT4 · HLA class I · Immune checkpoint · ITIM · Innate immunity · LILR · SIRPa

Introduction

Classical dendritic cells (cDCs) include all dendritic cells other than plasmacytoid dendritic cells (pDCs) [1]. The

regulation of cDC functions in the early phase of viral infection plays a critical role in the immune balance toward control or persistence of the virus. Indeed, cDCs are crucial components of the processes that bridge innate and adaptive immunity, due to their unique capacity to sense viruses and prime T cell responses [2]. Hence, dysregulation of cDCs represents an attractive way for viruses to subvert immune defenses at the onset of infection. cDCs from HIV-infected patients exhibit altered functions, including poor maturation capacity and inefficient antigen presentation to CD4⁺ T cells [3]. Furthermore, SIV infection of rhesus macaques induces dysregulation of early cDC immune responses that correlates with disease progression [4, 5]. However, the molecular basis of these dysfunctions is still poorly understood.

LILRB2 (also known as ILT4) is an inhibitory receptor specifically expressed on myeloid cells that plays an important role in the regulation of cDC functions and was proposed as an immune checkpoint molecule [6–9]. The main ligands of LILRB2 are MHC-I molecules that bind

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2712-9>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Benoit Favier
benoit.favier@cea.fr

¹ CEA-Université Paris Sud 11-INSERM U1184, Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases (IMVA), IDMIT Department, IBJF, DRF, Fontenay-aux-Roses, France

² Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Groupe Hospitalier Universitaire Paris Sud, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

³ Baylor Institute for Immunology Research, Dallas, TX, USA

to LILRB2 through trans and cis interactions, resulting in the recruitment of SHP1/2 phosphatases which leads to the inhibition of on-going signaling pathways [10–13]. In vitro studies indicate that in HIV infection, strengthened interaction of LILRB2 with its MHC-I ligands induces the dysregulation of cDCs which is characterized by an altered capacity to stimulate CD4⁺ T cells and produce cytokines [14]. It was also reported that the strength of the LILRB2/MHC-I interaction is correlated with the level of cDC dysregulation and consequently the rate of disease progression in HIV-infected patients [15, 16]. The potency of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis can be modulated by genetic polymorphisms of MHC-I haplotypes [15–17], as well as variations in the sequence of the HIV-Gag antigenic peptides presented by MHC-I [7]. The simultaneous enhancement of LILRB2 and MHC-I surface expression could also be a potent way for HIV to dysregulate cDC functions in early infection that is a critical stage for the installation of efficient immune responses against viruses. However, the characterization of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs from blood and secondary lymphoid tissues at the onset of HIV infection is very difficult in humans. Indeed, longitudinal studies aiming to study immune responses in the first days of HIV infection are hampered by the late diagnosis of the disease and the difficulty of accessing lymphoid tissues in patients. In this context, the infection of macaques by SIV represents a unique model to longitudinally assess the dynamics of immune responses in vivo [18]. Moreover, macaques possess a LILRB2-like inhibitory receptor that is highly homologous with human LILRB2, making this model suitable for characterizing the modulation of LILRB2 expression during viral infections [19].

In this study we have investigated the dynamic of expression of LILRB2 and MHC-I on cDCs during the early immune response against HIV and SIV. For this purpose we first analyzed cDCs from primary HIV-1-infected patients and then used the SIV-infected macaque model to decipher the early dynamics of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs in vivo. Our data reveal that the simultaneous expression of LILRB2 and its MHC-I ligands transiently increases at the surface of cDCs from blood and lymph nodes during the first days of infection. In contrast to SIV infection, LILRB2 levels decreased rapidly on cDCs after CHIKV infection in macaques which is characterized by efficient immune responses leading to rapid control of viral replication [20, 21], supporting our hypothesis that early dysregulation of cDC functions hinders the initiation of an efficient host immune response to control viral infection. Overall, these findings show coordinated enhancement of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs during the acute phase of SIV/HIV infection. They suggest a major role of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in the early dysregulation of cDCs that

could considerably attenuate the efficiency of immune responses and result in viral persistence.

Materials and methods

Ethics statement

All enrolled patients gave written informed consent to participate in the study. The C021 CODEX cohort and this substudy protocol were approved by the ethics review committee of Ile de France VII. The C06 ANRS PRIMO cohort and this substudy were approved by the Paris-Cochin ethics review committee.

For animal experimentation adult cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) imported from Mauritius were housed in the facilities of the Infectious Disease Models and Innovative Therapies (IDMIT) Center, part of the “Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives” (CEA, Fontenay-aux-Roses, France). Non-human primates (NHP) were used in accordance with French national regulations, under the supervision of national veterinary inspectors (CEA Permit Number A 92-032-02). The CEA complies with the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals, of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, USA) under OLAW Assurance number #A5826-01. The use of NHP at the CEA is in conformity with the recommendations of European Directive (2010/63, recommendation No. 9). The animals were used under the supervision of the veterinarians in charge of the animal facility. These studies were approved and accredited under statement numbers A 13-028, A14-067, A-16-035 by the ethics committee “Comité d’Ethique en Expérimentation Animale du CEA” registered under the number 44 by the French Ministry of Research. Animals were housed under controlled conditions of humidity, temperature, and light (12-h light/12-h dark cycles). Water was available ad libitum. Animals were monitored and fed commercial monkey chow and fruit 1–2 times daily by trained personnel. The macaques were provided with environmental enrichment, including toys, novel foodstuffs, and music, under the supervision of the CEA Animal Welfare Body.

Patient samples

Patients with primary HIV infection (PHI) were recruited from the multicenter ANRS CO6 PRIMO cohort. PHI was defined by a negative or indeterminate HIV ELISA associated with positive plasma HIV-RNA or p24 antigenaemia, an evolving western blot profile (no anti-Pol antibodies), or HIV seropositivity after a negative antibody test < 6 months before. All patients were antiretroviral-naïve at enrolment in the cohort. HIV-controllers (HIC) patients were defined

as patients infected by HIV-1 for ≥ 5 years who never received antiretroviral treatment and whose last five consecutive plasma HIV RNA values were < 400 copies/mL. They were recruited in the ANRS CO21 Codex cohort. All enrolled patients gave written informed consent to participate in this study. All recovered samples from HIV-infected patients were received as cryopreserved peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and stored at -180 °C. Biological samples from six HIV-1 seronegative donors (HIV⁻) were obtained from the Etablissement Français du Sang (EFS). PBMCs were isolated from fresh whole blood by density gradient in lymphocyte separation medium (Eurobio, Abcys). Red blood cells were lysed by hypotonic shock and cell counts performed using a Vi-CELL (Beckman-coulter). Cells were frozen in SVF/10% DMSO and stored at -180 °C for further analysis.

Animals, infections, and sample collection

Among the cynomolgus macaques included in our studies, males weighed ≥ 5 kg and females weighed ≥ 3.5 kg. Animals were intravenously administered 1000 animal infectious dose 50% (1000 AID₅₀) of the isolate SIVmac251. NHPs enrolled in the CHIKV infection longitudinal study were infected with 10^3 PFU (100 AID₅₀) of CHIKV isolate LR2006-OPY1 by inoculation into the saphenous vein. Blood and lymph node sampling was performed at various time points before and after infections and collected under general anesthesia by intra-muscular injection of 10 mg/kg ketamine (Rhône-Mérieux). Experimental procedures (animal handling, virus inoculations, and tissues sampling) were conducted after sedating the animals with ketamine chlorhydrate (Rhône-Mérieux, Lyon, France, 10 mg/kg). Macaques were killed at defined time points by sedation with ketamine chlorhydrate (10 mg/kg) followed by intravenous injection of 180 mg/kg sodium pentobarbital (CEVA santé animale S.A., La ballastière). Tissues not needed for this project were shared. Samples of spleen and peripheral and mesenteric lymph nodes, as well as blood, were harvested. Plasma was isolated from EDTA blood samples by centrifugation for 10 min at $950\times g$, and cryopreserved at -80 °C. Animal plasma was processed for viral RNA extraction using a Viral RNA and DNA isolation kit (Macherey–Nagel), followed by titration of viral RNA copy numbers by quantitative real-time RT-PCR. Tissue samples were collected in RPMI 1640 GlutaMAX™ Medium (Thermo Fischer) for further cell preparation.

SIV vRNA quantification in plasma

Blood plasma was isolated from EDTA-treated blood samples by centrifugation for 10 min at $1500\times g$, and stored

frozen at -80 °C. Viral RNA was prepared from 200 μ L cell-free plasma using the High Pure viral RNA kit (Roche Diagnostics, Meylan), according to the manufacturer's instructions. Absolute concentrations of plasma viral RNA (vRNA) were determined by RT-qPCR assay with the SuperScript III Platinum one-step quantitative RT-PCR system (Invitrogen), using the following SIV gag primers and probe: Forward GCAGAGGAGGAAATTACCCAGTAC/Reverse: CAATTTTACCCAGGCATTTAATGTT/Probe: TGTCCTCA CCTGCCATTAAGCCCGA. The quantification limit (QL) was estimated to be 111 copies/mL and the detection limit (DL) 37 copies/ml.

Cell preparations, antibodies, and FACS analysis

For longitudinal follow-up studies of SIV- and CHIKV-infected animals, 500 μ L whole blood was stained with monoclonal antibodies (Table S1) for 15 min at room temperature. RBCs were lysed by hypotonic shock using diluted Lysing Solution 10X Concentrate (BD biosciences) for 15 min at room temperature, followed by washing in PBS and fixation using CellFIX (BD biosciences). Peripheral and mesenteric lymph node and spleen cells were obtained by mechanical dissociation using a GentleMACS dissociator (Miltenyi Biotec). Suspensions were passed through a 70- μ m-pore size cell strainer, followed by a second mechanical disruption with a 3-mL needle-free syringe and passage through a second 70- μ m-pore cell strainer, before washing with PBS. For spleen cells, we performed density gradient isolation using lymphocyte separation medium (Eurobio, Abcys) followed by the lysis of red blood cells by hypotonic shock. Cell counts were determined with a Vi-CELL (Beckman-coulter) and surface staining was performed on 1×10^7 isolated cells from tissues. Except for blood cells, staining of cells extracted from tissues was performed after saturation of Fc receptors with 5% healthy macaque serum at 4 °C for 20 min. To discriminate live from dead cells in our analysis, samples were incubated with the amine-reactive dye LIVE/DEAD® Fixable Blue Dead Cell Stain Kit and exposed to UV (Life technologies) for 15 min at room temperature. Cells were then labeled with monoclonal antibodies (Table S1) for 15 min at room temperature, washed in PBS, and fixed in CellFIX (BD biosciences). Monoclonal antibody 17E5.3E9 was generated by the Baylor Research Institute, using the amino acid sequence shown in Figure S1A which corresponds to the extracellular part of human LILRB2 protein, following the procedure reported in Banchereau et al. [22]. Screening by ELISA assays indicated no cross-reactivity of the antibody with LILRB1 and reactivity with soluble human LILRB4. The reactivity of the 17E5.3E9 antibody for LILRB2 was first evaluated by comparing the expression profile of blood immune cell subsets by flow cytometry in humans and cynomolgus

macaque (Figure S1B). The specificity of the 17E5.3E9 antibody against LILRB2 in cynomolgus macaque was further confirmed by staining blood neutrophils before or after up-regulation of LILRB2 induced by granules exocytosis as previously reported [23]. As shown in Figure S1C, after stimulation for 30 min of cynomolgus macaque or human neutrophils with TNF- α (100 ng/ml), staining with 17E5.3E9 antibody revealed an up-regulation of LILRB2 expression on neutrophils of both species.

For the study of HIV-1-infected patients, including non-infected donors, cryopreserved PBMCs were rapidly thawed and washed with RPMI 1640 GlutaMAXTM Medium, (Thermo Fischer). For each sample, 5 million PBMCs were stained using the LIVE/DEAD[®] kit, to select live cells, followed by surface antibody staining (Table S1) for 15 min. Cells were washed and fixed using CellFIX (BD biosciences). Data for all samples were acquired on an LSR Fortessa (BD biosciences) equipped with five lasers (355, 405, 488, 561 and 640 nm) and analyzed using FlowJo v9.9 (FlowJo LLC, USA). For longitudinal follow-up studies, data acquisition was performed after calibration (using BD cytometer setup and tracking beads), using automated application settings. Isotype-specific antibodies for LILRB2, MHC-I, and CD86 were used as intra-assay controls. Absolute cell counts were calculated from leukocyte counts obtained by automated cell counting (Beckman Coulter) combined with flow cytometry data. Absolute cDC, lymphocyte, and monocyte counts were determined as the product of total leukocyte counts and the percentage of cells in the CD45⁺ gate.

Generation of monocyte-derived dendritic cells (MoDC)

PBMCs were isolated from fresh whole blood of healthy donors by density gradient in lymphocyte separation medium (Eurobio, Abcys). Red blood cells were lysed by hypotonic shock. Monocytes (CD14⁺) were purified from PBMCs by positive selection with anti-CD14 magnetic beads (Miltenyi Biotec). Sorted monocytes were differentiated into immature MoDCs by culture in RPMI 1640 Medium, GlutaMAXTM (Thermo Fischer) supplemented with 10% SVF and 1% antibiotic cocktail, along with GM-CSF (10 ng/ml) and IL-4 (25 ng/ml) (PeproTech) for 6 days.

HIV-1 strain

Infections were performed with HIV-1BaL (R5-monocytotropic). The HIV-1BaL viral strain was amplified for 10 days in IL-2/PHA-stimulated PBMCs, from three blood donors. Cell supernatants were collected 7 and 10 days post-infection and stored at -20°C . Viral replication was measured by quantifying reverse transcriptase (RT) activity in the

cell-culture supernatants, using the Lenti RT Activity Kit (Cavidi), and TCID₅₀ was calculated using Kärber's formula. Virus was concentrated by centrifugation on Vivaspin 100,000 kDa columns (Sartorius) at 1500 \times g for 30 min.

Infection and stimulation of MoDCs

Immature MoDCs (5×10^6 cells) were pulsed with HIV-1 BaL (10-1MOI) by spinoculation at 1200 \times g for 60 min followed by incubation at 37 $^{\circ}\text{C}$, in the presence of 5% CO₂, for another hour. Pulsed cells were then washed three times and cultured for up to 8 days. Culture supernatants were discarded and replenished with fresh medium every 3 days. For in vitro stimulation of immature MoDC, cells were cultured in media alone or supplemented with various concentrations of the TLR7/8 Agonist, R848 (Invivogen) for 24 h or with the cytokines IFN- α , IL-10, or TNF- α (Miltenyi) individually for 48 h.

Analysis of LILRB2 and MHC-I expression in HIV-1 BaL-infected MoDCs

MoDCs were harvested and stained for surface expression analysis of LILRB2 and MHC-I by flow cytometry 5 and 8 days after pulsing with HIV-1 BaL. To discriminate dead from live cells during analysis, MoDCs were incubated with LIVE/DEAD[®] Fixable Blue Dead Cell Stain Kit (Life technologies) for 15 min, followed by incubation with anti-LILRB2 (PE, clone 42D1, eBioscience) and anti-MHC-I (APC/Cy7, clone W6/32, Biolegend) antibodies. MoDCs were then fixed, permeabilized (Cytofix/Cytoperm Buffer, BD), and stained with anti-HIV p24 (FITC, clone KC57, Beckman Coulter) antibody. Cells were washed and fixed using CellFIX (BD biosciences) and data for each sample were acquired on an LSR Fortessa (BD Biosciences).

Statistical analysis

To assess surface expression of LILRB2, MHC-Class I and CD86-specific isotype control antibodies for each marker were used to calculate the Mean Fluorescent Intensity as previously described [24]. The nonparametric Mann–Whitney U test was used to compare data between healthy donors and HIV-infected patients and the paired nonparametric Wilcoxon signed-rank test was used to compare data of PHI individuals before and after cART. We performed the Wilcoxon matched-pairs signed rank test to statically analyze LILRB2 and MHC-I levels at various time points during the longitudinal study of NHP infected by SIV. The non-parametric Mann–Whitney *U* test was used to analyze data between noninfected and HIV-infected MoDC for the in vitro MoDC assays, and the paired nonparametric Wilcoxon signed-rank test was used to compare data from the same cells at various times after HIV infection or various

TLR7/8 agonist or cytokine concentrations. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software).

Results

The expression of LILRB2 and MHC-I are simultaneously increased on the surface of cDCs during early HIV infection

Since cDCs play a key role in the installation of the host's anti-viral immune response and that their functions are tightly regulated by LILRB2-MHC-I interactions, we first assessed the expression level of both LILRB2 and its MHC-I ligands in cDCs during primary HIV infection. To this end, we analyzed blood samples from HIV-1-infected patients collected less than 30 days after infection (primary HIV⁺) and after 1 year of combined antiretroviral treatment (cART). Primary infected HIV⁺ patients exhibited high viral loads at inclusion, whereas viral loads were almost undetectable in these patients after 1 year of cART (Table 1). We also included HIV-infected elite controllers samples collected 5 years following infection at least and who naturally control HIV replication, and samples from non HIV-infected healthy donors.

We established and applied a flow cytometry gating strategy to discriminate cDCs (CD1c⁺) among the PBMC samples (Figure S2). Both LILRB2 and MHC-I levels were highly elevated on cDCs from HIV⁺ patients in acute phase of viral infection (Fig. 1). In contrast, the cDCs from these patients exhibited much lower levels of LILRB2 and MHC-I after 1 year of cART (Fig. 1a, b). Similarly, LILRB2 and MHC-I levels were lower on cDCs from elite controllers than those from primary HIV-infected patients. LILRB2 levels were slightly higher on cDCs from elite controllers than those from healthy donors, in agreement with a previous study [25]. We also evaluated the expression of the CD86 co-stimulatory molecule and the level of HLA-DR

maturation marker. Prior to cART initiation, untreated HIV primary-infected patients show an increased expression of CD86 (Fig. 1c), whereas HLA-DR expression is decreased on cDCs (Figure S3). These expression profiles highlight the partial activation/maturation of cDCs during HIV-1 infection, as previously reported [26]. Finally, since cDCs interact with CD4⁺ T cells during early infection to shape adaptive immune responses, we also compared MHC-I levels on CD4⁺ T cells in samples from primary HIV-infected patients before and after 1 year of cART. MHC-I expression on CD4⁺ T cells was higher during primary HIV infection, before treatment, than after 1 year of cART, but the difference was not statistically significant (Fig. 1d).

These results demonstrate that HIV infection promotes the simultaneous increase of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs from blood during the early immune response against HIV in humans.

LILRB2 is similarly distributed among human and cynomolgus macaque immune cell subsets

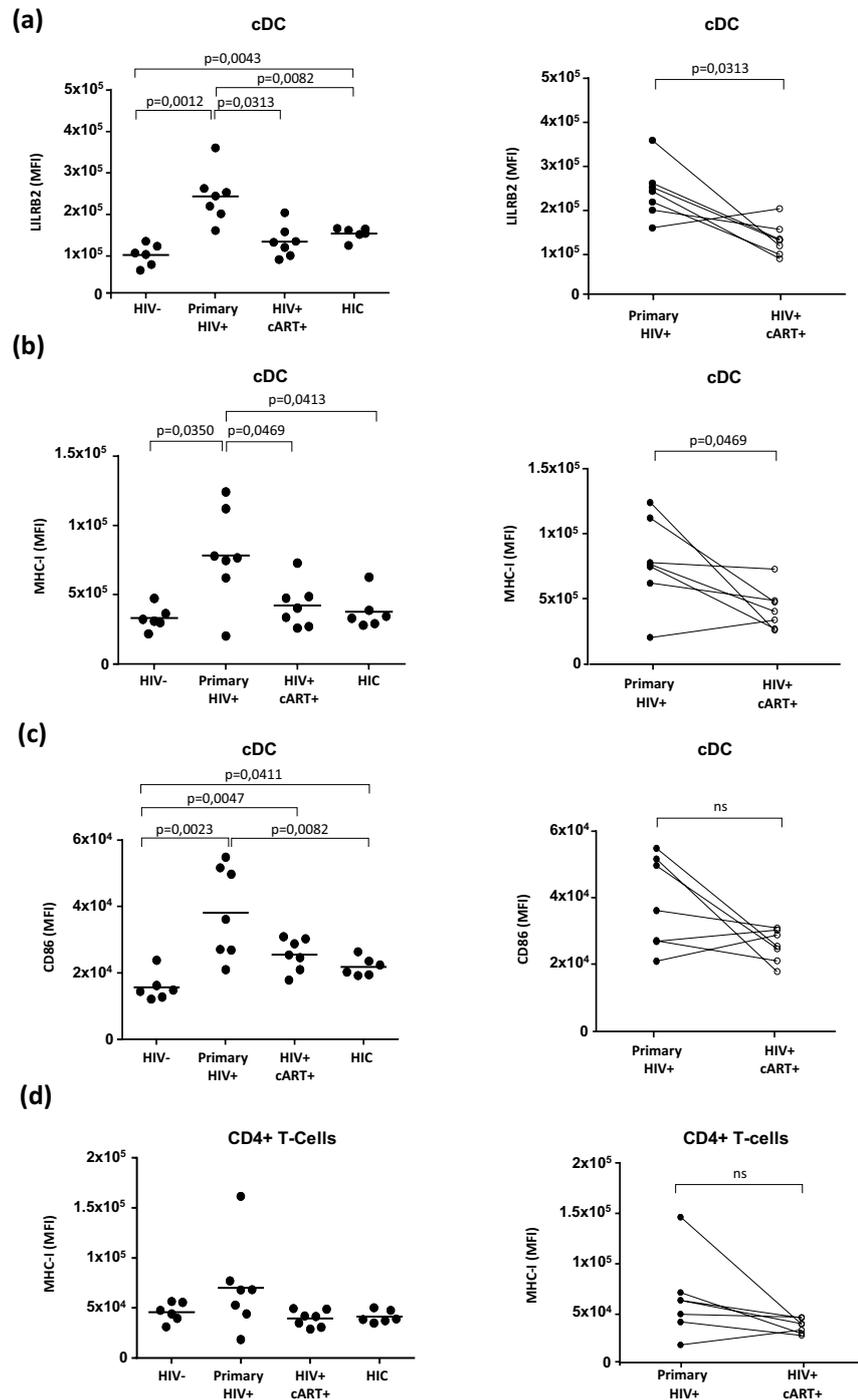
We further characterized the dynamics of LILRB2 expression on cDCs during HIV infection using the model of experimental infection of cynomolgus macaques with pathogenic SIVmac251. We first confirmed that LILRB2 is similarly distributed among immune cell subsets of humans and macaques as the expression profile of LILRB2 on immune cell subsets from non-human primates was still unknown. Flow cytometry analyses showed that the proportion of blood inflammatory monocytes (CD14^{mid}CD16^{high}) was higher in cynomolgus macaques than in humans (Fig. 2), in agreement with a previous study [27]. We used both CD11c and CD1c markers since CD11c alone is not sufficient to accurately distinguish cDCs in macaques [27, 28]. LILRB2 was expressed on all cDCs, pDCs, and monocyte subsets in both humans and cynomolgus macaques, but at different levels, depending on the cell population (Fig. 2b and d). Similarly to humans, the level of LILRB2 was significantly higher on cDCs than other myeloid cell subsets in

Table 1 Clinical and demographic characteristics of HIV-1-infected patients and control subjects

Study groups	Treatment history	Gender	Age (median, range)	CD4 T-cell count, cell/ μ L (median, range)	Plasma viral load (log RNA copies/mL) (median, range)	Time since HIV-1 infection
Primary infected HIV-1+ patients ($n = 7$)	Naive	M	37 (24–46)	470 (258–669)	8.9×10^6 (0.3–18.2)	< 30 Days
Primary treated HIV-1+ patients ($n = 7$)	cART	M		843 (570–1247)	Undetectable < 50	> 12 Months
HIV-1+ Controllers ($n = 6$)	Naive	M	38 (25–49)	827 (652–1180)	Undetectable < 50	> 5 Years
HIV-1 negative ($n = 6$)	Naive	M	35 (25–45)	856 (634–1412)	N/A	N/A

cART combination anti-retroviral therapy, M male, N/A not applicable

Fig. 1 Characterization of LILRB2 and MHC-I expression level on cDCs from patients during the early phase of HIV-1 infection a–c Analysis of LILRB2, MHC-I, and CD86 surface expression on cDCs from blood samples of early HIV-1 infected patients before (primary HIV⁺) or after 1 year of cART (HIV⁺ cART⁺), HIV-1 infected elite controller patients (HIC), and HIV-1 non-infected controls (HIV⁻). **d** Analysis of CD4⁺ T cells in these samples to evaluate surface expression of MHC-I. Data are represented as mean fluorescence intensity with statistical analysis performed using the Mann–Whitney *U* test between HIV⁻ (*n* = 6), HIC (*n* = 6), and primary HIV⁺ patients (*n* = 7) and the Wilcoxon signed-rank test for HIV⁺ primary patients before and after cART (*p* < 0.05 is considered significant)



cynomolgus macaques (Fig. 2e). In contrast, we detected no surface expression of LILRB2 on lymphoid cell subsets, including T cells and B cells of either species. Expression

levels of immunoregulatory receptors may vary according to tissue localization. Thus, we also investigated the expression level of LILRB2 on immune cell subsets from secondary

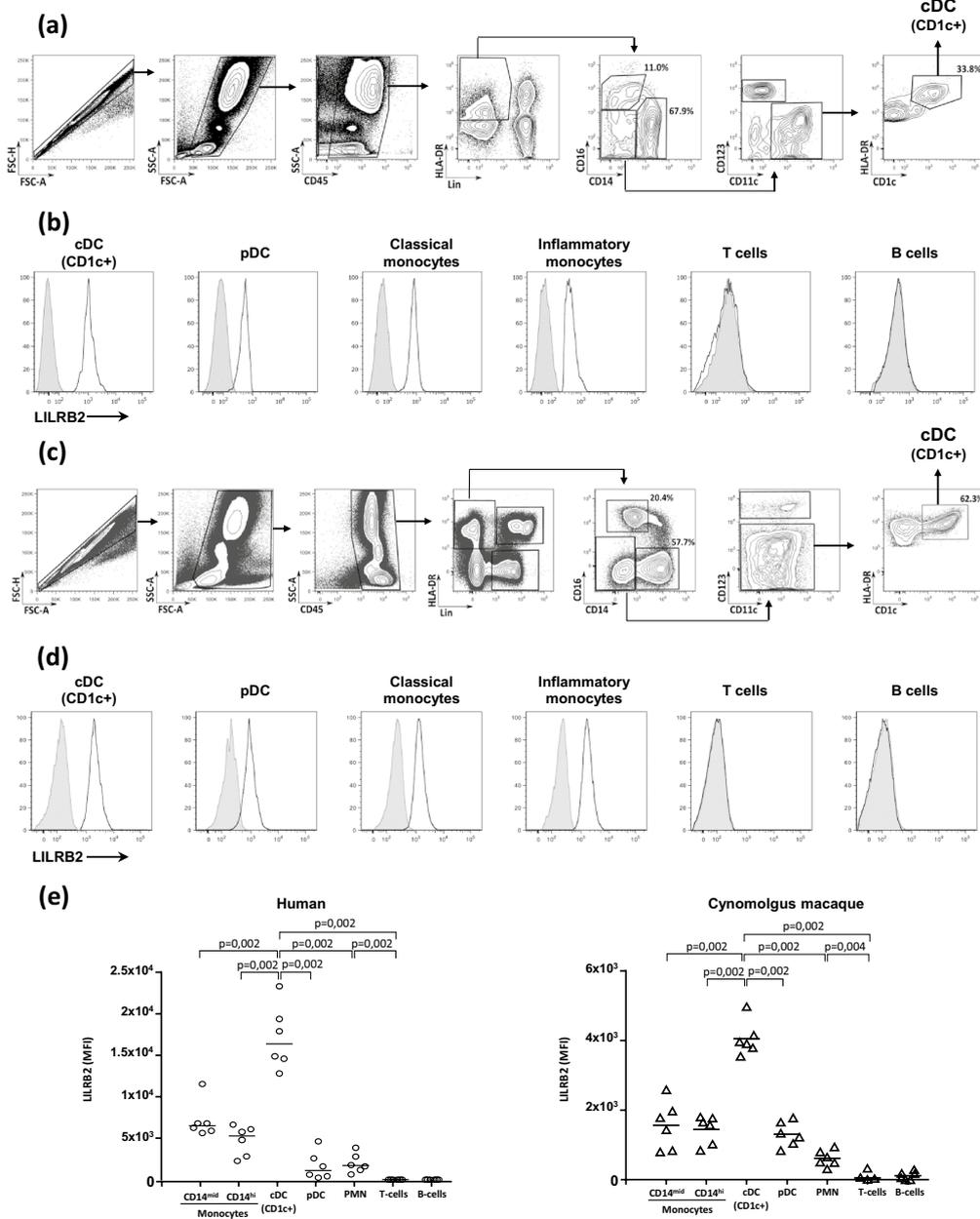


Fig. 2 Comparison of the LILRB2 expression pattern between human and cynomolgus macaque immune cell subsets. Flow cytometry gating strategy to characterize blood immune cell subsets in humans (a) and cynomolgus macaques (c). Surface expression of LILRB2 was assessed using monoclonal antibodies against human (clone 42D1) or cynomolgus macaque (clone 17E5.3E9) LILRB2. The distribution of LILRB2 expression is shown for various immune cell subsets, including cDCs, pDCs, classical (CD14^{high} CD16^{low}) and inflammatory

(CD14^{mid} CD16^{high}) monocytes, T and B cells in healthy (b) human donors and (d) cynomolgus macaques. e Comparison of LILRB2 surface expression on whole blood immune cell subsets of healthy human donors ($n = 6$) and cynomolgus macaques ($n = 6$). Results shown are representative of at least three independent experiments. Statistical analyses were carried-out using the Mann-Whitney U test for both human and cynomolgus macaque samples ($p < 0.05$ is considered significant)

lymphoid organs where cDCs shape adaptive immune responses against viruses. As shown in Figure S4, cDCs isolated from peripheral and mesenteric lymph nodes or spleen of cynomolgus macaques showed higher levels of LILRB2 than cDCs from peripheral blood. Moreover, analysis of T and B cells did not reveal expression of LILRB2 on these cell populations in secondary lymphoid organs.

Overall, these results show that LILRB2 is similarly distributed among immune cell subsets in humans and cynomolgus macaques. Our data also show that LILRB2 levels are higher in cDCs from lymph nodes and spleen than those from peripheral blood, suggesting tight regulation of cDCs by LILRB2 in secondary lymphoid tissues.

Expression of LILRB2 and MHC-I are coordinately increased on cDCs during early SIV infection of cynomolgus macaques

We next investigated the dynamics of LILRB2 expression in blood and secondary lymphoid tissues during early SIV infection *in vivo*. Indeed, this model does not only allow the study of the dynamics of immune events before and during the first days following viral infection, but also permits access to secondary lymphoid organs where immune responses are shaped. Hence, we first infected three female cynomolgus macaques with the SIVmac251 strain and followed the surface expression of LILRB2 on cDCs from blood and lymph nodes over time by flow cytometry. Viral load was already detectable in peripheral blood 2 days after SIVmac251 infection and reached a peak 10 days following infection (mean = $6.2 \pm \text{SD} = 0.15$ log viral RNA copies) (Fig. 3a). As previously reported, a transient decrease of cDC counts in peripheral blood is induced between 9 and 10 days post-infection by SIVmac251 [29, 30], concomitant with the typical transient reduction of CD4⁺ T cell counts during acute infection.

LILRB2 expression strongly increased on cDCs during the initial phase of SIVmac251 infection (Fig. 3b). Indeed, LILRB2 levels were already higher 4 days following SIVmac251 infection and reached a peak between 9 and 10 days post-infection, before returning to initial levels 14 days post-infection. MHC-I levels also increased on cDCs during the early phase of SIV infection with kinetics close to those of LILRB2 (Fig. 3b). We also assessed the level of MHC-I ligands on CD4⁺ T cells. MHC-I levels on CD4⁺ T cells rapidly decreased and then returned to normal between 2 and 7 days post-infection (Fig. 3b). Moreover, MHC-I levels on CD4⁺ T cells 9–10 days post-infection were higher than those measured before SIV infection.

We also assessed the expression of LILRB2 and MHC-I ligands on cDCs from peripheral lymph nodes of these animals. As shown in Fig. 3c, expression of LILRB2 and

MHC-I is increased on cDCs from peripheral lymph nodes at day 10 post-infection but decreased during the later phase of SIV infection (Fig. 3c). Moreover, we investigated the dynamics of LILRB2 expression on monocytes and macrophages, as the function of these myeloid cell subsets is also altered after SIV or HIV infection. There was a transient decrease of monocyte counts at day 10 post-infection (Figure S5). Both expression of LILRB2 and MHC-I were transiently up-regulated on blood monocytes during the early phase of SIVmac251 infection between days 4 and 14 (Figure S5B and D) as observed for cDCs. In contrast to LILRB2, the expression of MHC-I also showed an increase between days 22 and 42 post-infection on blood cDCs and monocytes (Figs. 3b and S5B). This enhancement of MHC-I expression could result from the activation of CD8 T cell response and IFN- γ production that are induced in this window of time as previously reported [31, 32]. Moreover, analysis of macrophages from peripheral lymph nodes revealed a large increase of LILRB2 and MHC-I levels, at day 10 post-infection that decreased during the later phase (Figure S5C).

The modulation of innate immune responses against HIV can differ according to sex [33]. Thus, we analyzed the dynamics of LILRB2 expression on cDCs in a group of male cynomolgus macaques infected by the same stock of SIVmac251. LILRB2 and MHC-I levels also increased on cDCs and monocytes from peripheral blood (Figure S6B and C), as well as cDCs and macrophages from peripheral lymph nodes (Figure S6D) during the early phase of SIV infection. These data show that the increase of LILRB2 expression on cDCs is independent of sex and confirm that the LILRB2/MHC-I inhibitory axis is enhanced during the early immune response against SIV.

Having shown that expression of LILRB2 is strongly enhanced on cDCs in early phase of SIV infection we next studied modulation of the SIRPa inhibitory receptor (also known as CD172a), which shares structural similarities with LILRB2 and regulates cDC functions [34]. SIRPa levels on cDCs from blood or lymph nodes remained stable during SIV infection, suggesting that the expression of LILRB2 specifically increases during early immune responses against SIV (Figure S7).

Finally, we extended our study to additional cynomolgus macaques ($n = 7$) to achieve statistical significance and thus demonstrate that both LILRB2 and MHC-I levels significantly increase on cDCs and monocytes in blood during the early phase of SIV infection (Figs. 3d and S5D). Further analysis showed that LILRB2 levels on cDCs strongly correlated with those of its MHC-I ligands found on cDCs or CD4⁺ T cells during SIV infection (Fig. 3e).

These data demonstrate that SIVmac251 infection promotes a large and specific increase in the expression of LILRB2 and its MHC-I ligands on cDCs, as well as other

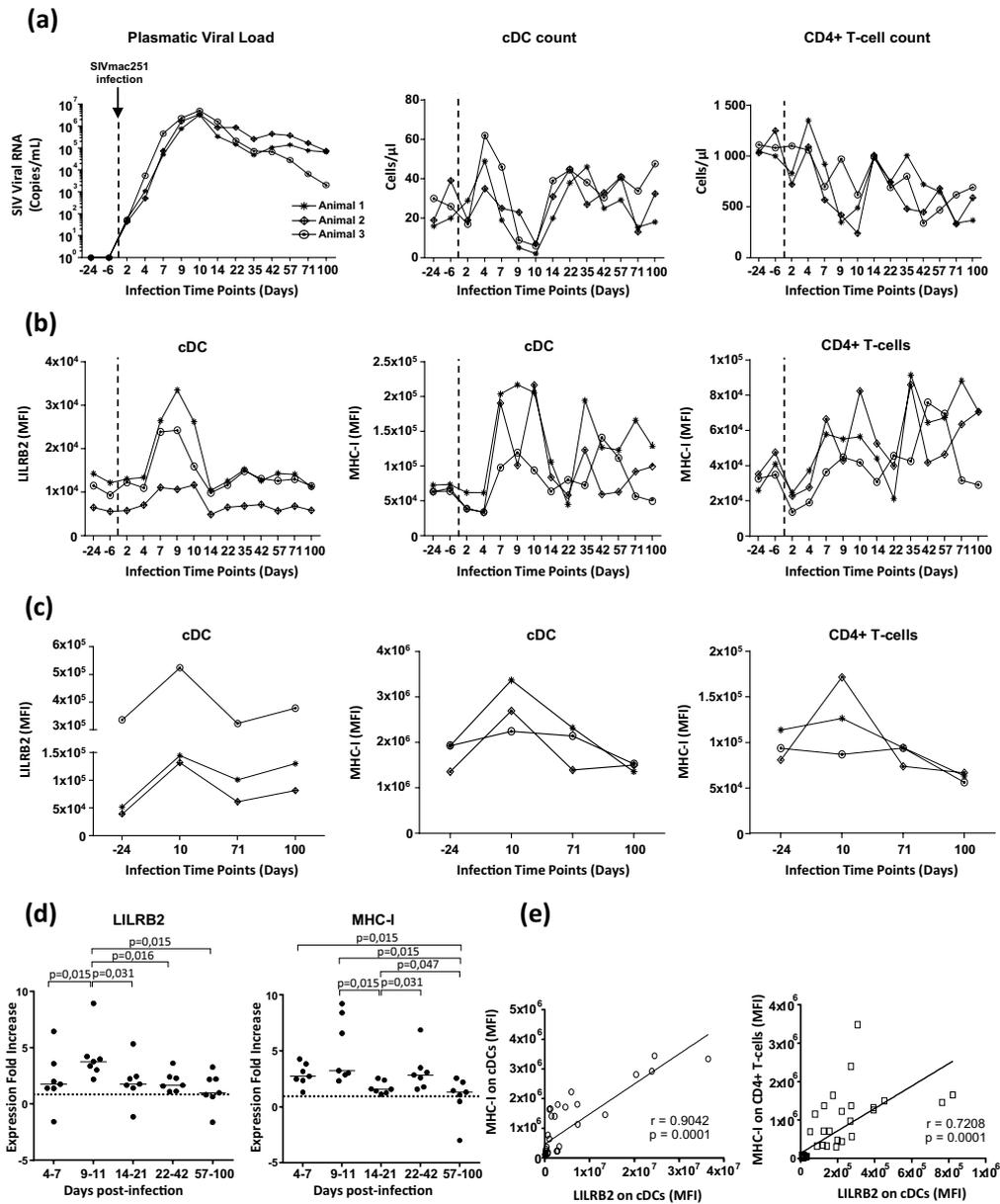


Fig. 3 Analysis of the dynamics of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs during infection of cynomolgus macaques by SIV **a** Evolution of the viral load in the plasma of three female cynomolgus macaques infected by SIVmac251 at 1000 AID50/ml. The cell counts of both cDCs (CD1c⁺) and CD4⁺ T cells in blood measured by flow cytometry during SIV infection is also represented. **b** Flow cytometry analysis of LILRB2 and MHC-I expression on blood cDCs and MHC-I expression on blood CD4⁺ T cells during SIV infection. **c** Longitudinal follow-up of LILRB2 and MHC-I surface expression on cDCs from peripheral lymph nodes of cynomolgus macaques during SIV infection. The characterization of MHC-I surface expression on CD4⁺ T cells is also shown. **d** Modulation of LILRB2 and MHC-I

levels on blood cDCs from seven cynomolgus macaques followed at various time points during early (days 4–7, days 9–11, days 14–21, days 22–44) and advanced (days 57–100) phases of SIV infection. Data are shown as the fold change of surface expression relative to baseline (represented with dashed line). Statistical analyses were carried-out using the Wilcoxon matched-pairs signed rank test ($p < 0.05$ is considered significant). **e** Positive correlation between LILRB2 levels on cDCs and MHC-I levels on cDCs (left) or CD4⁺ T cells (right). Symbols (circles or squares) represent data from ten cynomolgus macaques sampled at various time points after SIVmac251 infection. The Pearson R correlation coefficient and p values are shown on each plot ($p < 0.05$ is considered significant)

myeloid cells, in blood and lymph nodes during early immune responses. These results also show that these mechanisms occur independently of the sex of the animals.

HIV infection and TLR7/8 stimulation enhance the expression of LILRB2 on human monocyte-derived dendritic cells (MoDCs)

We next investigated the factors that could account for increased expression of LILRB2 on cDCs during the early immune responses against HIV and SIV. Indeed, although it is well established that LILRB2 plays an important role in the regulation of cDC functions, the events involved in the regulation of LILRB2 expression are still poorly characterized. Hence, we first assessed the direct impact of HIV infection on LILRB2 expression by co-incubating monocyte-derived dendritic cells (MoDCs) with HIV-1. A time-course analysis of MoDC infection by HIV-1 (R5 strain) showed that nearly 30% of MoDCs were productively infected after 8 days of co-incubation (Fig. 4a, b).

Further analysis showed that LILRB2 expression was up-regulated on MoDCs exposed to HIV (Fig. 4c, d). Remarkably, LILRB2 expression was significantly higher in MoDCs showing intracellular p24 staining confirming productive HIV replication. However, HIV infection had no significant impact on the modulation of MHC-I expression in MoDCs.

TLR7/8 could also be involved in the regulation of LILRB2 expression, as they are expressed by cDCs and recognize viral RNA. Therefore, we next stimulated MoDCs with various doses of the TLR7/8 agonist R848. Stimulation of TLR7/8 with R848 induced a large increase in LILRB2 levels on MoDCs in a dose dependent manner (Fig. 4e). MHC-I levels were modulated to a much lower extent by R848 stimulation than LILRB2 levels, in agreement with data of MoDC infected by HIV. Finally, HLA-DR expression, used as positive control, was also enhanced on MoDCs but to a lower extent than LILRB2.

Altogether, these data show that HIV-1 can directly promote the expression of LILRB2 in MoDCs, through infection associated with viral replication, and suggest that HIV sensing by TLR7/8 could also enhance LILRB2 expression.

Regulation of LILRB2 expression in MoDCs is differentially affected by type-I IFN, IL-10, and TNF- α

A cytokine cascade is rapidly induced by HIV-1 infection and cytokines are important regulators of cDC functions. Moreover, previous studies indicate that type-I IFNs, TNF- α , and IL-10 are among the first cytokines highly induced during early HIV infection [32]. Thus, we also investigated the impact of these cytokines on the modulation of LILRB2 expression by flow cytometry. Stimulation of MoDCs with

type-I IFNs significantly enhanced the surface expression of LILRB2 in a dose dependent manner (Fig. 5a). The surface expression of MHC-I and HLA-DR was also significantly enhanced under these experimental conditions. In contrast, stimulation of MoDCs with type-I IFNs did not alter the surface expression of SIRPa. In addition, treatment of MoDCs with IL-10 significantly increased LILRB2 and MHC-I expression in a dose dependent manner and, to a lesser extent, the expression of HLA-DR or SIRPa (Fig. 5b). Finally, stimulation of MoDCs with TNF- α revealed no increase of LILRB2 expression, but increased that of MHC-I, HLA-DR, and SIRPa (Fig. 5c).

These data show that cytokines produced during the early phase of HIV-1 infection have a variable impact on the regulation of LILRB2 surface expression and suggest that the modulation of LILRB2 expression can occur through various mechanisms in cDCs.

LILRB2 expression on cDCs is down-modulated during early immune responses of cynomolgus macaques infected by chikungunya virus

Finally, we characterized LILRB2 surface expression in the context of a naturally controlled primary infection, such as chikungunya virus (CHIKV) in cynomolgus macaques [20], to determine whether the increase of LILRB2 levels on cDCs induced during early immune responses is specific to SIV infection. CHIKV infection of cynomolgus macaques induced a high viral load, peaking 2 days after virus inoculation (mean = $9.1 \pm \text{SD} = 0.4$ log viral RNA copies) (Fig. 6a). CD14 surface expression on monocytes rapidly decreased 4 days post-infection (Fig. 6b), probably through a shedding mechanism [35]. CHIKV infection was also accompanied by a modification of blood leukocyte counts, characterized by a transient decrease of circulating cDCs and lymphocytes 2 days post-infection (Figure S8A and B). Moreover, the number of granulocytes transiently peaked 2 days post-infection, whereas the number of monocytes in the blood peaked 7 days post-infection (Figure S8B).

The analysis of the dynamics of LILRB2 surface expression during CHIKV infection showed that LILRB2 levels on cDCs decreased between baseline and 7 days post-infection, whereas they remained stable on monocytes (Fig. 6c). However, MHC-I levels on cDCs and monocytes increased during early immune responses against CHIKV (Fig. 6d).

These results show that, in contrast to SIV infection, LILRB2 expression is down-modulated on cDCs during the installation of an efficient immune response against CHIKV and suggest that up-regulation of LILRB2 on cDCs is associated with the dysregulation of innate responses and viral persistence mechanisms.

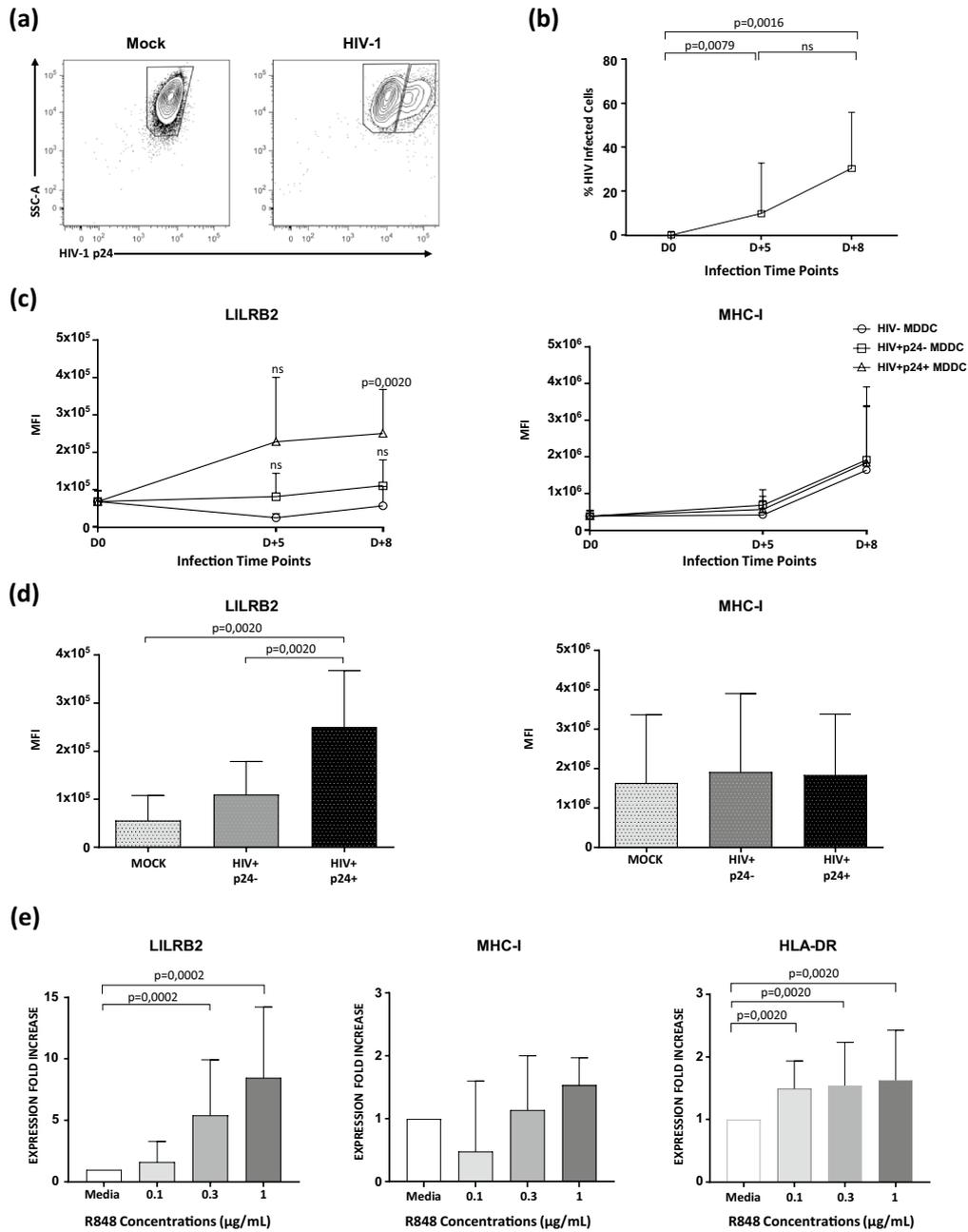


Fig. 4 Analysis of LILRB2 and MHC-I expression on MoDCs after infection with HIV-1_{BAL} or stimulation of TLR7/8 with R848 **a** Representative flow cytometry dot-plots from non-infected (Mock) and HIV-1 infected (HIV-1_{BAL}) MoDCs. Intracellular staining of MoDCs for p24 was carried-out 8 days post-infection. **b** Kinetics of HIV-1_{BAL} replication in MoDCs either five (D + 5) or eight (D + 8) days post-infection. The percentage of HIV-infected cells was calculated by measuring the proportion of MoDCs positive for p24 antigen expression ($n = 10 \pm SD = 18.2$, Mann–Whitney *U* test for *p* value, with $p < 0.05$ considered significant). **c** LILRB2 and MHC-I expression on either MoDCs alone, MoDCs incubated with HIV-1, but not expressing p24, or MoDCs incubated with HIV-1 and expressing p24 ($n = 10 \pm SD = 1.3 \times 10^5$, Wilcoxon

Paired test for *p* value, with $p < 0.05$ considered significant). **d** Quantification of LILRB2 and MHC-I expression on non-infected and HIV-1 infected MoDCs with or without productive p24 Ag 8 days after HIV-1 infection ($n = 10 \pm SD = 2.7 \times 10^5$, Wilcoxon Paired test for *p* value, with $p < 0.05$ considered significant). Data are representative of seven independent experiments. **e** Modulation of LILRB2, MHC-I, and HLA-DR expression on unstimulated (media alone) MoDCs or MoDCs stimulated with various doses of R848. Values represent the fold change of mean fluorescence intensity relative to that of unstimulated cells ($n = 16 \pm SD = 3.6$, Wilcoxon Paired test for *p* value, with $p < 0.05$ considered significant)

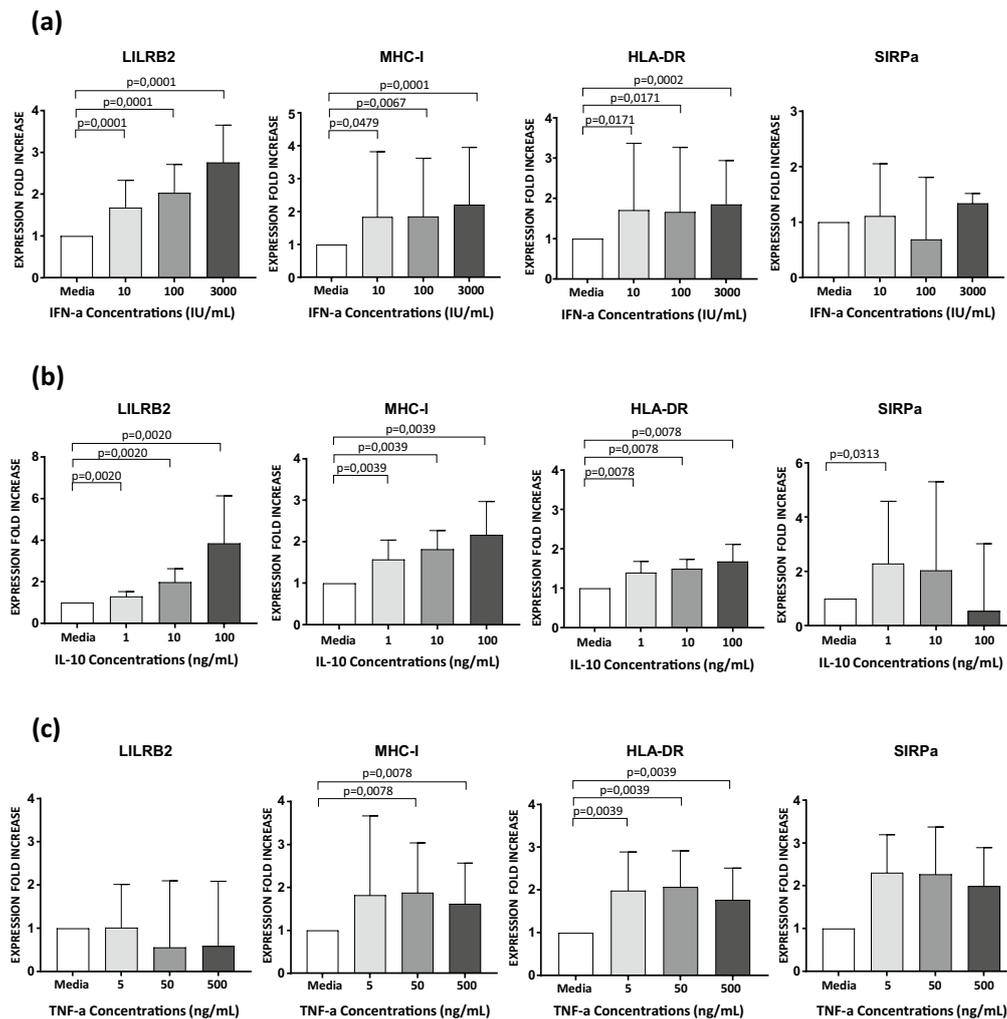


Fig. 5 Impact of cytokine stimulation on the modulation of LILRB2 and MHC-I expression on MoDCs **a** Characterization of LILRB2, MHC-I, HLA-DR, and SIRPa surface expression on unstimulated (media alone) or stimulated MoDCs with various doses of type-I IFNs for 48 h ($n = 16 \pm SD = 3.3$, Wilcoxon Paired test for p value, with $p < 0.05$ considered significant). **b** Analysis of MoDCs after stimulation with IL-10 for 48 h and quantification of the surface expression of LILRB2, MHC-I, HLA-DR, and SIRPa

($n = 16 \pm SD = 5.1$, Wilcoxon Paired test for p value, with $p < 0.05$ considered significant). **c** Unstimulated MoDCs and MoDCs stimulated for 48 h with various doses of TNF- α were cultured to assess the modulation of LILRB2, MHC-I, HLA-DR and SIRPa surface expression ($n = 16 \pm SD = 1.8$, Wilcoxon Paired test for p value, with $p < 0.05$ considered significant). Values represent the fold change of mean fluorescence intensity relative to that of unstimulated. Results shown are representative of 6 independent experiments

Discussion

In vitro studies have suggested that the strength of the interaction between LILRB2 and MHC-I plays a critical role in the dysregulation of cDCs induced by HIV [16, 36]. This was proposed to drive disease progression [15]. However, the dynamics of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis

that tip the balance during cDC-mediated early immune responses towards viral persistence or control remains unknown.

In this study we first investigated the modulation of LILRB2 and MHC-I expression on cDCs during the acute phase of HIV-1 infection. Our data show that cDCs express significantly higher levels of LILRB2 and MHC-I before cART initiation. These results are concordant with

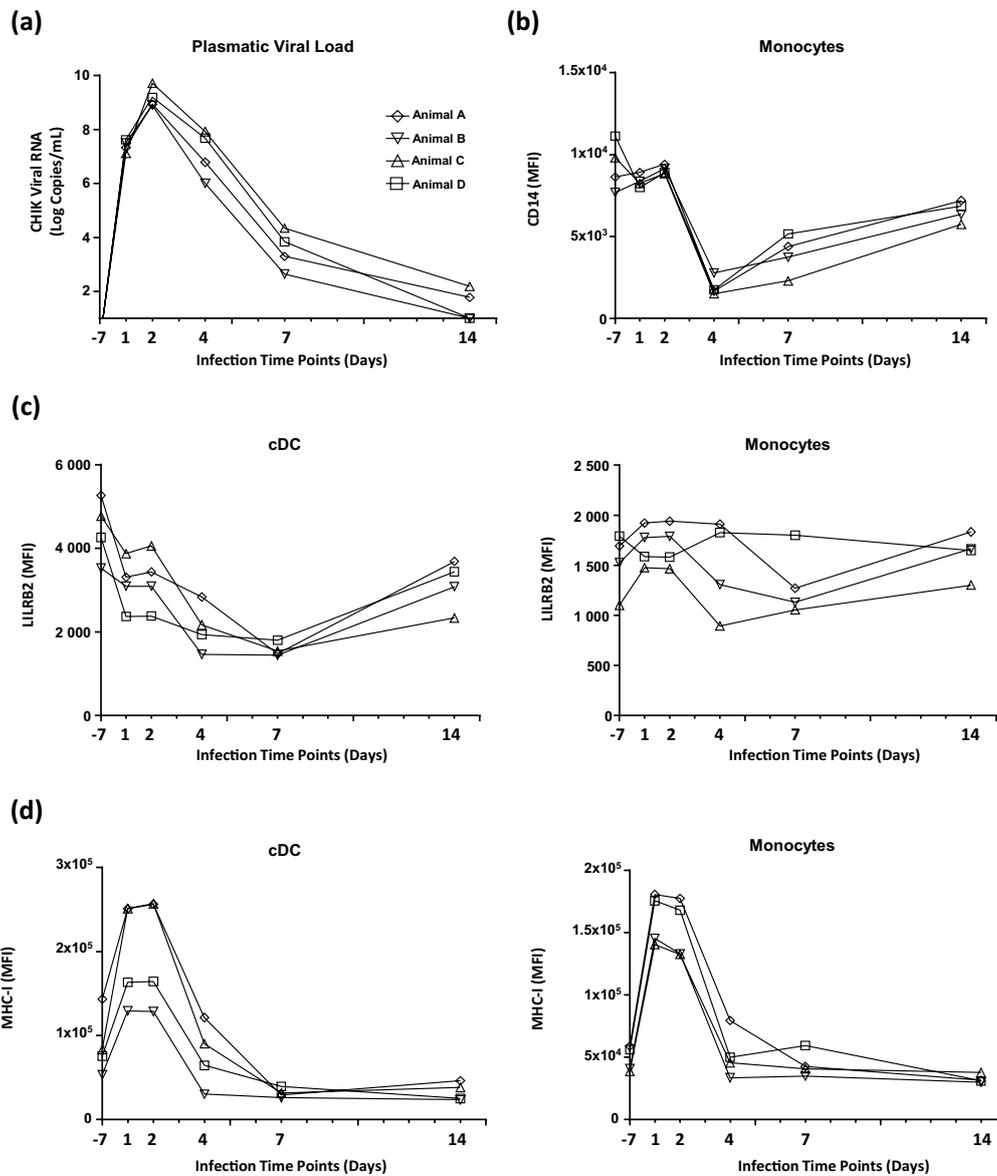


Fig. 6 Longitudinal analysis of LILRB2 expression on cDCs during infection of cynomolgus macaques by CHIKV **a** Evolution of plasma viral load during infection of four cynomolgus macaques infected with the CHIKV-LR2006-OPY1 strain at 100 AID50/mL. **b** Flow cytometry analysis of cell surface CD14 expression on monocytes

during the acute phase of CHIKV infection. **c** Time-course analysis of LILRB2 expression level on cDCs and monocytes from peripheral blood during the infection of cynomolgus macaques by CHIKV. **d** Analysis of MHC-I expression level on blood cDCs and monocytes during the infection of cynomolgus macaques by CHIKV

previous transversal studies carried-out on blood mDCs (CD11c⁺) of HIV-1 infected patients aiming to measure the expression of either LILRB2 or MHC-I, separately [36–38]. However, the simultaneous expression of LILRB2 and its MHC-I ligands during early HIV-1 infection has not been assessed. Studies on primary HIV-infected

patients are limited to one blood sample, due to immediate cART administration. We therefore used the cynomolgus macaque model to track the dynamics of LILRB2 and MHC-I expression during infection with SIVmac251.

The analysis of LILRB2 distribution revealed very similar expression patterns in human and macaque immune cell

subsets. These results indicate that cynomolgus macaques are more suitable for the study of the LILR family *in vivo* than mice in which PIR-B, the proposed counterpart of LILRB2, is highly expressed on B cells and contains six extracellular Ig-like domains, instead of the four contained in LILRB2 of humans and macaques [39, 40]. In this experimental species we demonstrate that pathogenic SIVmac251 infection induces transient, high expression of LILRB2 and its MHC-I ligands on cDCs from blood and peripheral lymph nodes during the early immune response (Fig. 3 and S6). Altogether, our results strongly suggest that the coordinated increase of LILRB2 and MHC-I expression on the same cell could enhance *cis* interactions, providing inhibitory signals and leading to the dysregulation of cDCs. In this regard, it was previously reported that the *cis* interaction of LILRB2 with MHC-I on the surface of the same cell is a potent way to generate inhibitory signals that impair the production of cytokines by mastocytes [12, 13]. We also showed increased MHC-I expression on CD4⁺ T cells during early SIV infection, which may favor the dysregulation of cDCs through binding to LILRB2. Indeed, after virus up-take, cDCs mainly interact with CD4⁺ T cells to shape the adaptive immune response during the early phase of the infection.

We could also observe that a pool of peripheral cDCs was rapidly depleted from blood following SIV infection, concomitant with the enhancement of LILRB2 expression (Fig. 3). Such a reduction of cDC levels has already been reported during the acute phase of SIV and HIV infection and is partially explained by the migration of cDCs to lymph nodes [29]. The increase of LILRB2 surface expression and the migration of blood cDCs toward lymph nodes occur in parallel. We thus speculate that cDCs arriving to lymph nodes are highly prone to dysregulation through the LILRB2/MHC-I inhibitory axis. In support of our hypothesis, several studies have shown that cDCs that have migrated to peripheral lymph nodes during the acute phase of SIV infection have an immature phenotype and dysfunctional characteristics [4, 5, 41].

The induced increase of LILRB2 expression during SIV infection peaked at day 9 and return to basal level, around 14 days post infection. LILRB2 expression remained significantly higher in primary HIV-infected patients that had been infected for more than 2 weeks. These discrepancies could result from differences between natural HIV infection and the standardized experimental procedure used in SIV model. Indeed, cynomolgus macaques are infected intravenously by high dose (1000 AID50/mL) from the same bulk of viral strain (SIVmac251). Moreover, the average of the viral load levels detected in primary HIV-infected patients ($8.9E + 06$ log HIV RNA copies/mL) is higher than that of the viral load peak of SIV-infected cynomolgus macaques ($3.93E + 06$ log SIV RNA copies/

mL). Therefore, it is also possible that increase of LILRB2 expression is still detected in patients because of elevated viral load and cytokines environment resulting from high HIV production.

We also sought to determine whether the increase of LILRB2 expression on cDCs induced during the acute phase of SIV infection was specific to LILRB2. For this purpose we tested antibodies directed against human LILRB1 or LILRB4 on cynomolgus macaque blood samples. However, these antibodies did not reveal any staining on the immune cell subsets of macaque cynomolgus. Therefore, we could not compare the dynamics of LILRB2 surface expression to that of other inhibitory receptors belonging to the LILR family in cynomolgus macaques. However, we could follow the dynamics of the SIRPa inhibitory receptor. SIRPa shares structural similarities with LILRB2, including extracellular Ig-like and intracellular ITIM domains, and regulates cDC functions through the recruitment of SHP1/2 phosphatases [42]. Moreover, SIRPa is a critical marker for the identification of cDCs across tissues and species, including humans, macaques, and mice [43]. Our data show that SIV infection has no impact on the expression of SIRPa in cDCs from blood and lymph nodes during early immune responses and strongly suggest that the up-regulation of LILRB2 on cDCs is specifically targeted by SIV (Figure S7).

Our study shows that SIV infection also enhances the expression of LILRB2 on monocytes and macrophages *in vivo* during early immune responses (Figure S5 and S6). The increase of LILRB2 activity on monocytes could negatively affect their function, in particular, their differentiation into cDCs, contributing to the loss of cDCs induced by apoptosis following SIV and HIV infection [44]. The induced up-regulation of LILRB2 on macrophages is in accordance with recent studies demonstrating the early dysregulation of macrophages from peripheral lymph nodes in SIV-infected rhesus macaques [5]. The early dysfunctions of macrophages caused by LILRB2 could also disturb immune responses in secondary lymphoid tissues, since macrophages play an important role in the innate immune responses against viruses through the production of soluble factors and antigen-presentation.

In this study we also investigated the dynamics of LILRB2 expression on cDCs during CHIKV infection *in vivo*. Surface expression of LILRB2 on cDCs decreased during the early immune response and CHIKV replication was rapidly controlled (Fig. 6). Moreover, peripheral cDC levels decreased during the acute phase of CHIKV infection, suggesting the migration of cDCs with less LILRB2 on their surface toward peripheral lymph nodes (Figure S8). Expression of MHC-I on cDCs and monocytes rapidly and transiently increased between 2 and 4 days after CHIKV infection. In the presence of low amounts of LILRB2, the increased MHC-I expression could favor the availability of

MHC-I ligands for CD8⁺ T-cell receptors. Indeed, previous reports indicate that CD8⁺ T cells are rapidly activated during the early phase of CHIKV infection in macaques and humans [45, 46].

Early HIV and SIV infection are characterized by the production of a high viral load, associated with concomitant induction of inflammatory and immuno-regulatory processes, including the production of cytokines. Given the complexity of the mechanisms induced in the early phase of the immune response against HIV and SIV, we set up an in vitro assay to characterize the factors that could be involved in the enhancement of LILRB2 expression. Our data show that the increase in LILRB2 expression requires productive infection of MoDCs, suggesting that sustained intracellular replication of HIV-1 is involved in this mechanism (Fig. 4). The potential direct role of HIV-1 in the regulation of LILRB2 expression is strengthened by the fact that stimulation of TLR7/8 induces the up-regulation of LILRB2, suggesting a relationship between these signaling pathways. CHIKV contains a single stranded RNA and might be expected to enhance LILRB2 expression in cDCs. However, Schilte et al. have reported that CHIKV is unable to trigger TLR7/8 pathways in cDCs and other hematopoietic cells [47]. Moreover, CHIKV is not able to infect cDCs or MoDCs, in contrast to HIV [20]. Since TLR3 could also sense HIV RNA, future investigations will be helpful to determine the impact of this pathway on LILRB2 expression.

Our in vitro data also indicate that the immunomodulatory cytokines IL-10 and type-I IFNs, which are produced during the early immune response against HIV, enhance the surface expression of LILRB2 (Fig. 5). In contrast, TNF- α had no effect on the regulation of LILRB2. Further studies will be required to determine whether type-I IFNs act on LILRB2 expression through a canonical pathway to initiate the resolution of inflammatory processes, which is necessary for control of the virus, and whether the simultaneous presence of HIV and cytokines act synergistically on the expression of LILRB2 on cDCs.

Previous in vitro studies have reported that the strength of the interaction between LILRB2 and MHC-I drives the dysregulation of cDCs of HIV-infected patients. These studies indicate that the strength of the LILRB2/MHC-I interaction is regulated by HIV-derived peptides or genetic variation of MHC-I haplotypes [7, 15, 16]. However, we have previously demonstrated that a slight increase of LILRB2 expression on neutrophils, resulting from granule exocytosis, directly affects neutrophil functions [23]. Indeed, neutrophils with higher levels of LILRB2 on their surface are more prone to inhibition by MHC-I ligands, resulting in the attenuation of phagocytosis and the production of reactive oxygen species [23, 39]. The upregulation of LILRB2 expression on cDCs during HIV/SIV infection that we report here is

much higher than that on neutrophils, as it results from sustained protein production. Moreover, it is accompanied by increased MHC-I ligand expression. We propose that the simultaneous increase of LILRB2 expression and that of its MHC-I ligands, induced during the early phase of the immune response against HIV, considerably alter cDC functions. This hypothesis is strengthened by previous studies demonstrating that high expression of LILRB2 on cDCs drives potent immune-regulatory mechanisms, leading to the attenuation of CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses [6, 22].

In summary, our data show specific enhancement of the LILRB2/MHC-I inhibitory axis in cDCs during the early immune response that may strongly influence mechanisms that tip the balance toward SIV or HIV persistence (Figure S9). However, further investigations will be necessary to determine the impact of LILRB2/MHC-I interaction on the efficiency of immune responses against SIV and HIV.

Acknowledgements We thank the IDMIT infrastructure staff and Florian Meurisse for technical assistance. We also thank the ANRS cohorts CO6 PRIMO and CO21 CODEX for helpful collaboration and Anne Sophie Beignon for critical reading of the manuscript and helpful discussions. These works were supported by grants from the “Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales” under statement numbers 14-067, 16-035, University of Paris-Sud (Attractivité), European Union FP7 project (grant agreement no. 261202 (ICRES)), French government “Programme d’Investissements d’Avenir” (PIA) under Grant ANR-11-INBS-0008 funding the Infectious Disease Models and Innovative Therapies (IDMIT, Fontenay-aux-Roses, France) infrastructure and PIA grant ANR-10-EQPX-02-01 funding the FlowCyTech facility. G. Palomino was supported by a post-doctoral fellowship from Brazil government (Programa Ciência sem Fronteiras).

References

1. Merad M, Sathe P, Helft J, Miller J, Mortha A (2013) The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol* 31:563–604
2. Steinman RM (2012) Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol* 30:1–22
3. Miller E, Bhardwaj N (2013) Dendritic cell dysregulation during HIV-1 infection. *Immunol Rev* 254:170–189
4. Wijewardana V, Soloff AC, Liu X, Brown KN, Barratt-Boyes SM (2010) Early myeloid dendritic cell dysregulation is predictive of disease progression in simian immunodeficiency virus infection. *PLoS Pathog* 6:e1001235
5. Wonderlich ER, Wu WC, Normolle DP, Barratt-Boyes SM (2015) Macrophages and myeloid dendritic cells lose T cell-stimulating function in simian immunodeficiency virus infection associated with diminished IL-12 and IFN- α production. *J Immunol* 195:3284–3292
6. Chang CC, Ciubotariu R, Manavalan JS, Yuan J, Colovai AI, Piazza F, Lederman S, Colonna M, Cortesini R, Dalla-Favera R, Suci-Foca N (2002) Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol* 3:237–243

7. Lichterfeld M, Kavanagh DG, Williams KL, Moza B, Mui SK, Miura T, Sivamurthy R, Allgaier R, Pereyra F, Trocha A, Feeney M, Gandhi RT, Rosenberg ES, Altfeld M, Allen TM, Allen R, Walker BD, Sundberg EJ, Yu XG (2007) A viral CTL escape mutation leading to immunoglobulin-like transcript 4-mediated functional inhibition of myelomonocytic cells. *J Exp Med* 204:2813–2824
8. Ristich V, Liang S, Zhang W, Wu J, Horuzsko A (2005) Tolerization of dendritic cells by HLA-G. *Eur J Immunol* 35:1133–1142
9. Kang X, Kim J, Deng M, John S, Chen H, Wu G, Phan H, Zhang CC (2016) Inhibitory leukocyte immunoglobulin-like receptors: immune checkpoint proteins and tumor sustaining factors. *Cell Cycle* 15:25–40
10. Colonna M, Samaridis J, Cella M, Angman L, Allen RL, O'Callaghan CA, Dunbar R, Ogg GS, Cerundolo V, Rolink A (1998) Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *J Immunol* 160:3096–3100
11. Fanger NA, Cosman D, Peterson L, Braddy SC, Maliszewski CR, Borges L (1998) The MHC class I binding proteins LIR-1 and LIR-2 inhibit Fc receptor-mediated signaling in monocytes. *Eur J Immunol* 28:3423–3434
12. Masuda A, Nakamura A, Maeda T, Sakamoto Y, Takai T (2007) Cis binding between inhibitory receptors and MHC class I can regulate mast cell activation. *J Exp Med* 204:907–920
13. Mori Y, Tsuji S, Inui M, Sakamoto Y, Endo S, Ito Y, Fujimura S, Koga T, Nakamura A, Takayanagi H, Itoi E, Takai T (2008) Inhibitory immunoglobulin-like receptors LILRB and PIR-B negatively regulate osteoclast development. *J Immunol* 181:4742–4751
14. Lichterfeld M, Yu XG (2012) The emerging role of leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) in HIV-1 infection. *J Leukoc Biol* 91:27–33
15. Bashirova AA, Martin-Gayo E, Jones DC, Qi Y, Apps R, Gao X, Burke PS, Taylor CJ, Rogich J, Wolinsky S, Bream JH, Duggal P, Hussain S, Martinson J, Weintrob A, Kirk GD, Fellay J, Buchbinder SP, Goedert JJ, Deeks SG, Pereyra F, Trowsdale J, Lichterfeld M, Telenti A, Walker BD, Allen RL, Carrington M, Yu XG (2014) LILRB2 interaction with HLA class I correlates with control of HIV-1 infection. *PLoS Genet* 10:e1004196
16. Huang J, Goedert JJ, Sundberg EJ, Cung TD, Burke PS, Martin MP, Preiss L, Lifson J, Lichterfeld M, Carrington M, Yu XG (2009) HLA-B*35-Px-mediated acceleration of HIV-1 infection by increased inhibitory immunoregulatory impulses. *J Exp Med* 206:2959–2966
17. Jones DC, Kosmoliaptis V, Apps R, Lapaque N, Smith I, Kono A, Chang C, Boyle LH, Taylor CJ, Trowsdale J, Allen RL (2011) HLA class I allelic sequence and conformation regulate leukocyte Ig-like receptor binding. *J Immunol* 186:2990–2997
18. Sadora DL, Allan JS, Apetrei C, Brechley JM, Douek DC, Else JG, Estes JD, Hahn BH, Hirsch VM, Kaur A, Kirchhoff F, Muller-Trutwin M, Pandrea I, Schmitz JE, Silvestri G (2009) Toward an AIDS vaccine: lessons from natural simian immunodeficiency virus infections of African nonhuman primate hosts. *Nat Med* 15:861–865
19. Slukvin RL II, Grendell DS, Rao AL, Hughes, Golos TG (2006) “Cloning of rhesus monkey LILRs”. *Tissue Antigens* 67:331–337
20. Labadie K, Larcher T, Joubert C, Mannioui A, Delache B, Brochard P, Guigand L, Dubreil L, Lebon P, Verrier B, de Lamballerie X, Suhrbier A, Chérel Y, Le Grand R, Roques P (2010) Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *J Clin Invest* 120:894–906
21. Rougeron V, Sam IC, Caron M, Nkoghe D, Leroy E, Roques P (2015) Chikungunya, a paradigm of neglected tropical disease that emerged to be a new health global risk. *J Clin Virol* 64:144–152
22. Banchereau J, Zurawski S, Thompson-Snipes L, Blanck JP, Clayton S, Munk A, Cao Y, Wang Z, Khandelwal S, Hu J, McCoy WH, Palucka KA, Reiter Y, Fremont DH, Zurawski G, Colonna M, Shaw AS, Klechevsky E (2012) “Immunoglobulin-like transcript receptors on human dermal CD14⁺ dendritic cells act as a CD8-antagonist to control cytotoxic T cell priming”. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:18885–18890
23. Baudhuin J, Migraine J, Faivre V, Loumagne L, Lukaszewicz AC, Payen D, Favier B (2013) Exocytosis acts as a modulator of the ILT4-mediated inhibition of neutrophil functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:17957–17962
24. Maecker HT, Frey T, Nomura LE, Trotter J (2004) Selecting fluorochrome conjugates for maximum sensitivity. *Cytometry A* 62:169–173
25. Huang J, Burke PS, Cung TD, Pereyra F, Toth I, Walker BD, Borges L, Lichterfeld M, Yu XG (2010) Leukocyte immunoglobulin-like receptors maintain unique antigen-presenting properties of circulating myeloid dendritic cells in HIV-1-infected elite controllers. *J Virol* 84:9463–9471
26. Dillon SM, Robertson KB, Pan SC, Mawhinney S, Meditz AL, Folkvord JM, Connick E, McCarter MD, Wilson CC (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
27. Sugimoto C, Hasegawa A, Saito Y, Fukuyo Y, Chiu KB, Cai Y, Breed MW, Mori K, Roy CJ, Lackner AA, Kim WK, Didier ES, Kuroda MJ (2015) Differentiation kinetics of blood monocytes and dendritic cells in macaques: insights to understanding human myeloid cell development. *J Immunol* 195:1774–1781
28. Dutertre CA, Jourdain JP, Rancez M, Amroui S, Fossum E, Bogen B, Sanchez C, Couedel-Courteille A, Richard Y, Dalod M, Feuillet V, Cheynier R, Hosmalin A (2014) TLR3-responsive, XCR1⁺, CD141(BDCA-3)+/CD8alpha+-equivalent dendritic cells uncovered in healthy and simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *J Immunol* 192:4697–4708
29. Malleret B, Karlsson I, Maneglier B, Brochard P, Delache B, Andrieu T, Muller-Trutwin M, Beaumont T, McCune JM, Banchereau J, Le Grand R, Vaslin B (2008) Effect of SIVmac infection on plasmacytoid and CD1c⁺ myeloid dendritic cells in cynomolgus macaques. *Immunology* 124:223–233
30. Wijewardana V, Kristoff J, Xu C, Ma D, Haret-Richter G, Stock JL, Policicchio BB, Mobley AD, Nusbaum R, Aamer H, Trichel A, Ribeiro RM, Apetrei C, Pandrea I (2013) Kinetics of myeloid dendritic cell trafficking and activation: impact on progressive, nonprogressive and controlled SIV infections. *PLoS Pathog* 9:e1003600
31. Karlsson I, Malleret B, Brochard P, Delache B, Calvo J, Le Grand R, Vaslin B (2007) Dynamics of T-cell responses and memory T cells during primary simian immunodeficiency virus infection in cynomolgus macaques. *J Virol* 81:13456–13468
32. Stacey AR, Norris PJ, Qin L, Haygreen EA, Taylor E, Heitman J, Lebedeva M, DeCamp A, Li D, Grove D, Self SG, Borrow P (2009) Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *J Virol* 83:3719–3733
33. Addo MM, Altfeld M (2014) Sex-based differences in HIV type 1 pathogenesis. *J Infect Dis* 209(Suppl 3):S86–S92
34. Saito Y, Iwamura H, Kaneko T, Ohnishi H, Murata Y, Okazawa H, Kanazawa Y, Sato-Hashimoto M, Kobayashi H, Oldenburg PA, Naito M, Kaneko Y, Nojima Y, Matozaki T (2010) Regulation by SIRPalpha of dendritic cell homeostasis in lymphoid tissues. *Blood* 116:3517–3525
35. Le-Barillec K, Si-Tahar M, Balloy V, Chignard M (1999) Proteolysis of monocyte CD14 by human leukocyte elastase inhibits lipopolysaccharide-mediated cell activation. *J Clin Invest* 103:1039–1046

36. Huang J, Al-Mozaini M, Rogich J, Carrington MF, Seiss K, Pereyra F, Lichterfeld M, Yu XG (2012) Systemic inhibition of myeloid dendritic cells by circulating HLA class I molecules in HIV-1 infection. *Retrovirology* 9:11
37. Benlahrech A, Yasmin A, Westrop SJ, Coleman A, Herasimtschuk A, Page E, Kelleher P, Gotch F, Imami N, Patterson S (2012) Dysregulated immunophenotypic attributes of plasmacytoid but not myeloid dendritic cells in HIV-1 infected individuals in the absence of highly active anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol* 170:212–221
38. Huang J, Yang Y, Al-Mozaini M, Burke PS, Beamon J, Carrington MF, Seiss K, Rychert J, Rosenberg ES, Lichterfeld M, Yu XG (2011) Dendritic cell dysfunction during primary HIV-1 infection. *J Infect Dis* 204:1557–1562
39. Favier B (2016) Regulation of neutrophil functions through inhibitory receptors: an emerging paradigm in health and disease. *Immunol Rev* 273:140–155
40. Takai T (2005) A novel recognition system for MHC class I molecules constituted by PIR. *Adv Immunol* 88:161–192
41. Wijewardana V, Bouwer AL, Brown KN, Liu X, Barratt-Boyes SM (2014) Accumulation of functionally immature myeloid dendritic cells in lymph nodes of rhesus macaques with acute pathogenic simian immunodeficiency virus infection. *Immunology* 143:146–154
42. Barclay AN, Van den Berg TK (2014) The interaction between signal regulatory protein alpha (SIRPalpha) and CD47: structure, function, and therapeutic target. *Annu Rev Immunol* 32:25–50
43. Guilliams M, Dutertre CA, Scott CL, McGovern N, Sichien D, Chakarov S, Van Gassen S, Chen J, Poidinger M, De Prijck S, Tavernier SJ, Low I, Irac SE, Mattar CN, Sumatoh HR, Low GH, Chung TJ, Chan DK, Tan KK, Hon TL, Fossum E, Bogen B, Choolani M, Chan JK, Larbi A, Luche H, Henri S, Saeys Y, Newell EW, Lambrecht BN, Malissen B, Ginhoux F (2016) Unsupervised high-dimensional analysis aligns dendritic cells across tissues and species. *Immunity* 45:669–684
44. Laforge M, Campillo-Gimenez L, Monceaux V, Cumont MC, Hurtrel B, Corbeil J, Zaunders J, Elbim C, Estaquier J (2011) HIV/SIV infection primes monocytes and dendritic cells for apoptosis. *PLoS Pathog* 7:e1002087
45. Roques P, Ljungberg K, Kummerer BM, Gosse L, Dereuddre-Bosquet N, Tchitchek N, Hallengard D, Garcia-Arriaza J, Meinke A, Esteban M, Merits A, Le Grand R, Liljestrom P (2017) Attenuated and vectored vaccines protect nonhuman primates against Chikungunya virus. *JCI Insight* 2:e83527
46. Wauquier N, Becquart P, Nkoghe D, Padilla C, Ndjoi-Mbiguino A, Leroy EM (2011) The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *J Infect Dis* 204:115–123
47. Schilte C, Couderc T, Chretien F, Sourisseau M, Gangneux N, Guivel-Benhassine F, Kraxner A, Tschopp J, Higgs S, Michault A, Arenzana-Seisdedos F, Colonna M, Peduto L, Schwartz O, Lecuit M, Albert ML (2010) Type I IFN controls chikungunya virus via its action on nonhematopoietic cells. *J Exp Med* 207:429–442

Supplementary Figures

Figure S1. Generation and reactivity of anti-LILRB2 antibody (clone 17E5.3E9). (A) Amino acid sequence of human LILRB2 extracellular domain used to generate antibody 17E5.3E9. (B) Analysis of anti-LILRB2 antibody (clone 17E5.3E9) staining on cDCs, monocytes, neutrophils, eosinophils, CD4 + and CD8 + T cells, B cells and NK cells of healthy human and cynomolgus macaque blood samples. (C) Upregulation of LILRB2 is detected by 17E5.3E9 antibody on healthy human and cynomolgus macaque neutrophils stimulated with TNF- α . Flow cytometry analysis of LILRB2 at the surface of unstimulated (full line) or stimulated (dotted line) neutrophils for 30 min with TNF- α (100 ng/mL). Gray filled curve shows cells stained with isotype-matched control mAb. Data are representative of three independent experiments.

Figure S2. Characterization of HLA-DR expression level on cDCs during the early phase of HIV-1 infection. Analysis of HLA-DR surface expression on cDCs from blood samples of early HIV-1-infected patients before (primary HIV+) or after 1 year of cART (HIV+ cART+), HIV-1-infected elite controller patients (HIC), and HIV-1-non-infected controls (HIV-). Data are represented as mean fluorescence intensity with statistical analysis performed using the Mann-Whitney U test between HIC (n = 6), and primary HIV+ patients (n = 7) ($p < 0,05$ is considered significant).

Figure S3. Flow cytometry gating strategy used to identify cell subsets of PBMCs from HIV-1+ patients. cDCs (CD1c+) were identified as Lin-/HLA-DR+/CD16-/CD14-/CD123-/CD11c+/CD1c+. Results shown are representative between individuals.

Figure S4. Characterization of LILRB2 expression on immune cell subsets from secondary lymphoid organs of cynomolgus macaques. (A) Flow cytometry gating strategy used to identify cDCs and T and B cells of peripheral lymph nodes and spleen of cynomolgus macaques. cDCs were identified as CD45+/Lin-(CD3/CD8/CD20)/HLA-DR+/CD163-/CD123-/CD1c+. (B) Flow cytometry analysis of LILRB2 expression on cDCs and on T and B cells from both peripheral and mesenteric lymph nodes, spleen, and peripheral blood (n = 4).

Figure S5. Follow-up of LILRB2 and MHC-I expression on monocytes and macrophages during infection of cynomolgus macaques by SIVmac251. (A) Monocyte cell counts during SIVmac251 infection, at 1000 AID50/mL, of 3 three female cynomolgus macaques. LILRB2 and MHC-I surface expression profiles of (B) blood monocytes and (C) lymph node macrophages. (D) Modulation of LILRB2 and MHC-I surface expression on blood monocytes from seven cynomolgus macaques followed at various time points during early (days 4 to 7, days 9 to 11, days 14 to 21, days 22 to 42) and advanced (days 57 to 100) phases of SIVmac251 infection. Data are shown as the fold change of surface expression relative to baseline (represented with dashed line). Statistical analyses were carried-out using the Wilcoxon matched-pairs signed rank test ($p < 0.05$ is considered significant).

Figure S6. Analysis of LILRB2 and MHC-I expression during SIV infection of three male cynomolgus macaques. (A) Plasma viral load of SIVmac251 infection at 1000 AID50/mL. (B) Modulation of LILRB2 (left panel) and MHC-I (right panel) expression on blood cDCs and (C) monocytes (CD14+/CD16). (D) Follow-up of LILRB2 surface expression on cDCs and macrophages isolated from peripheral lymph nodes of cynomolgus macaques during early (D+14) and late (D+85) phases of SIVmac251 infection. The surface expression of LILRB2 and MHC-I was determined by the mean fluorescence Intensity of each marker by flow cytometry.

Figure S7. Follow-up of SIRPa inhibitory receptor expression on cDCs during SIV infection of cynomolgus macaques. (A) Modulation of SIRPa expression on blood cDCs of three female cynomolgus macaques infected with 1000 AID50/mL of SIVmac251. (B) SIRPa expression on cDCs from secondary lymphoid tissue was evaluated from sampled peripheral lymph nodes at various time points after SIV infection. Data are represented as the mean Fluorescence Intensity.

Figure S8. Evolution of blood leucocyte counts during CHIKV infection of cynomolgus macaques. The evolution of cell counts of four cynomolgus macaques infected with the CHIKV-LR2006-OPY1 strain at a dose of 100 AID50/mL. (A) Follow-up of cDC counts analyzed by flow cytometry using Trucount tubes (BD biosciences). (B) Analysis of absolute blood cell numbers to follow the evolution of lymphocyte, monocyte, and granulocyte numbers using automated cell counts (HmX AL System, Beckman Coulter).

Figure S9. Schematic of LILRB2/MHC-I inhibitory axis regulation in cDCs of lymph nodes during HIV/SIV infection. (1) IL-10 and IFN-I stimulation along with HIV-1 sensing by TLR7/8 induce (2) the upregulation of LILRB2 expression allowing higher (3) Cis or Trans interactions with MHC-I ligands leading to (4) cDC dysfunctions.

Table S1. Monoclonal antibodies used for flow cytometry analysis of human and cynomolgus macaque samples.

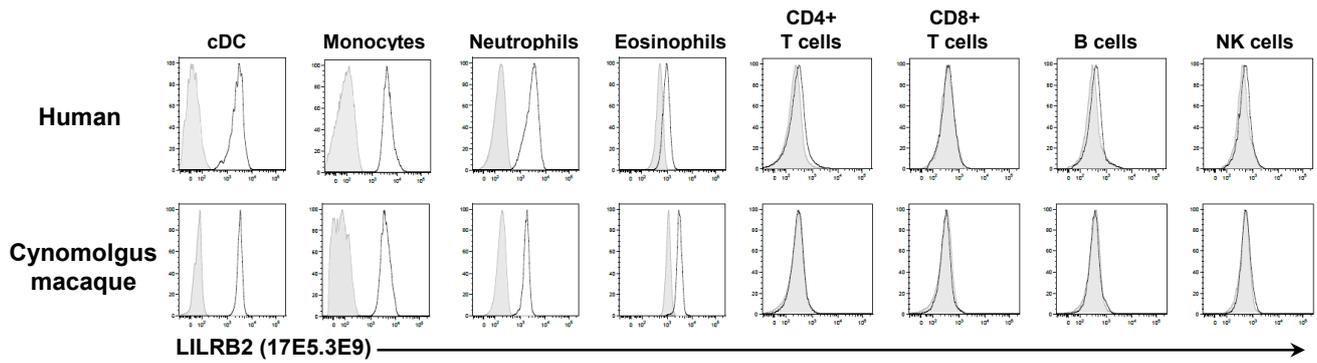
Figure S1

A)

```

1      10     20     30     40     50
GTIPKPTLWAE PDSVITQ GSPVTLSC QGSLEAQ EYRLYRE KKSASWIT RIRPELVK
60     70     80     90     100    110
NGQFHIPSIT WEHTGRYGC QYYSRARW SELDPLV LVMTGAY PKPTLSAQ PPSV
120    130    140    150    160
VTSGGRVTLQ CESQVAFGG FILCKE GEDHPQ CLNSQP HARGSSRA IFSVGPVS
170    180    190    200    210
PNRRWSHRCYGY DLNSPYV WSSPSDL LLELLVPG VSKKPSL SVQPGPV VAPGESL
220    230    240    250    260    270
TLQCVSDVGYDR FVLYKEGER DLRQLPGR QPQAGLSQ ANFTLGPV SRSYGGQY
280    290    300    310    320
RCYGAYNLSSEW SAPSDPLD ILITGQI HGTPFIS VQPGPTV ASGENVT LLCQSWR
340    350    360    370    380    390
QFHFTLLTKAG AADAPLRL RSIHEYPKY QAEFPMSP VSAHAGTY RCGSLNSD
400    410    420    430    440
PYLLSHPSEPLE LVSGPSMG SPPPTGP ISTPAGPE DQPLTPTG SDPQSG LGRH
    
```

B)



C)

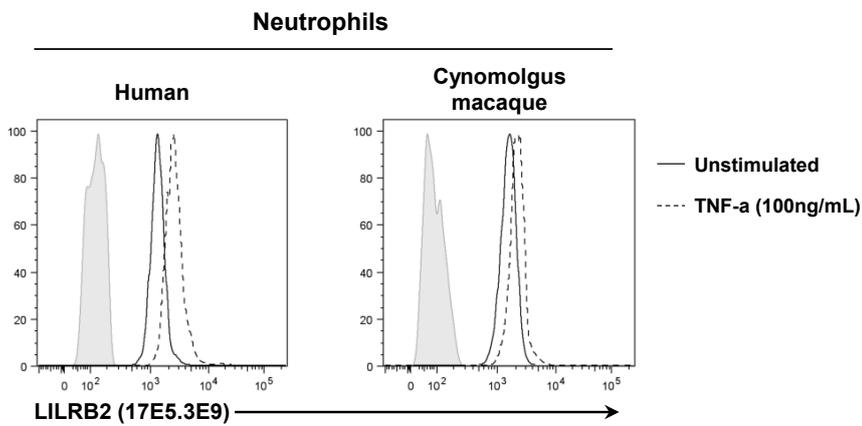


Figure S2

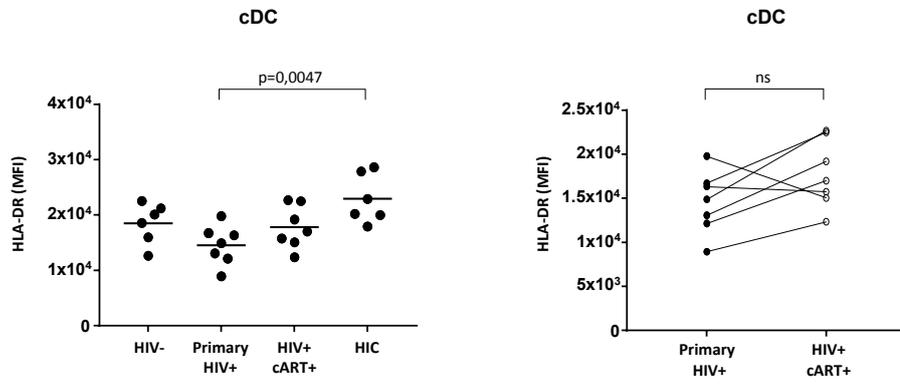


Figure S3

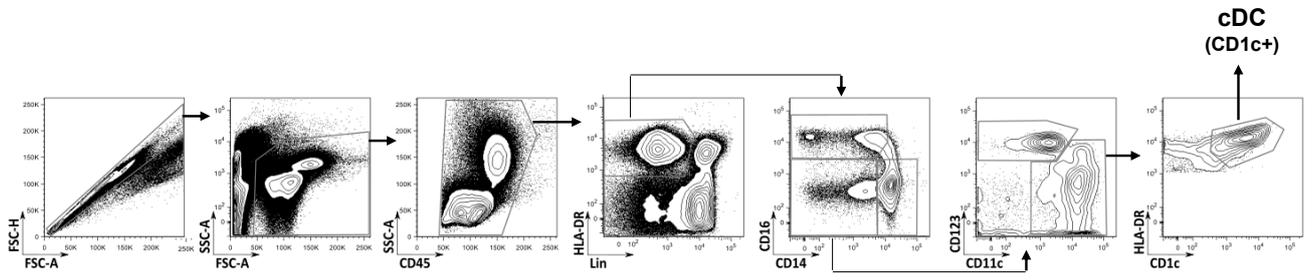


Figure S4

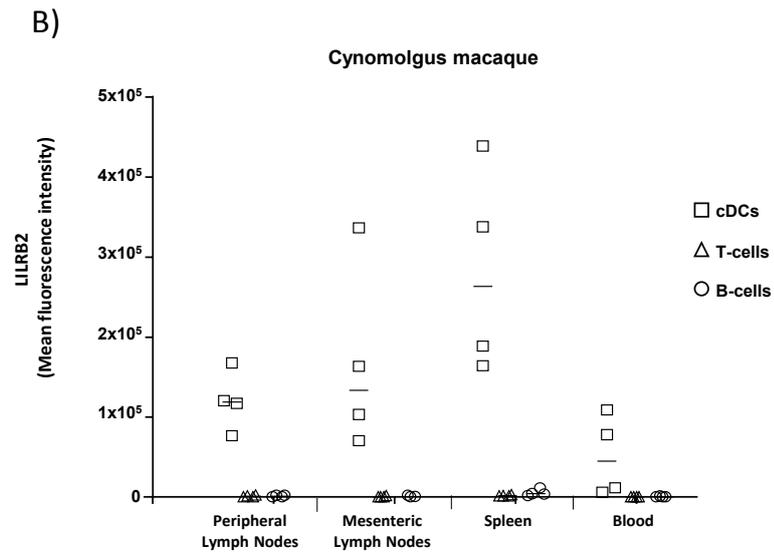
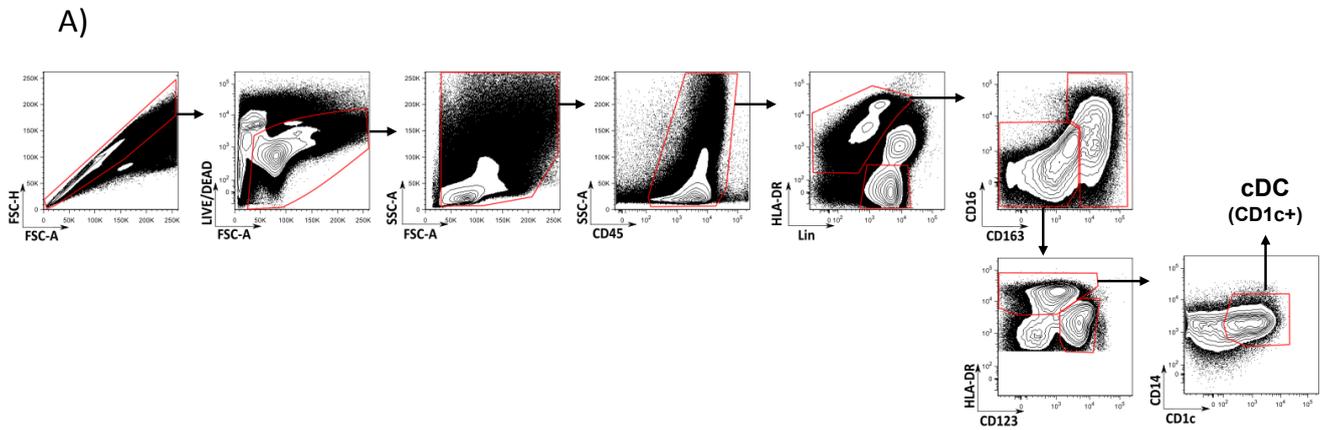


Figure S5

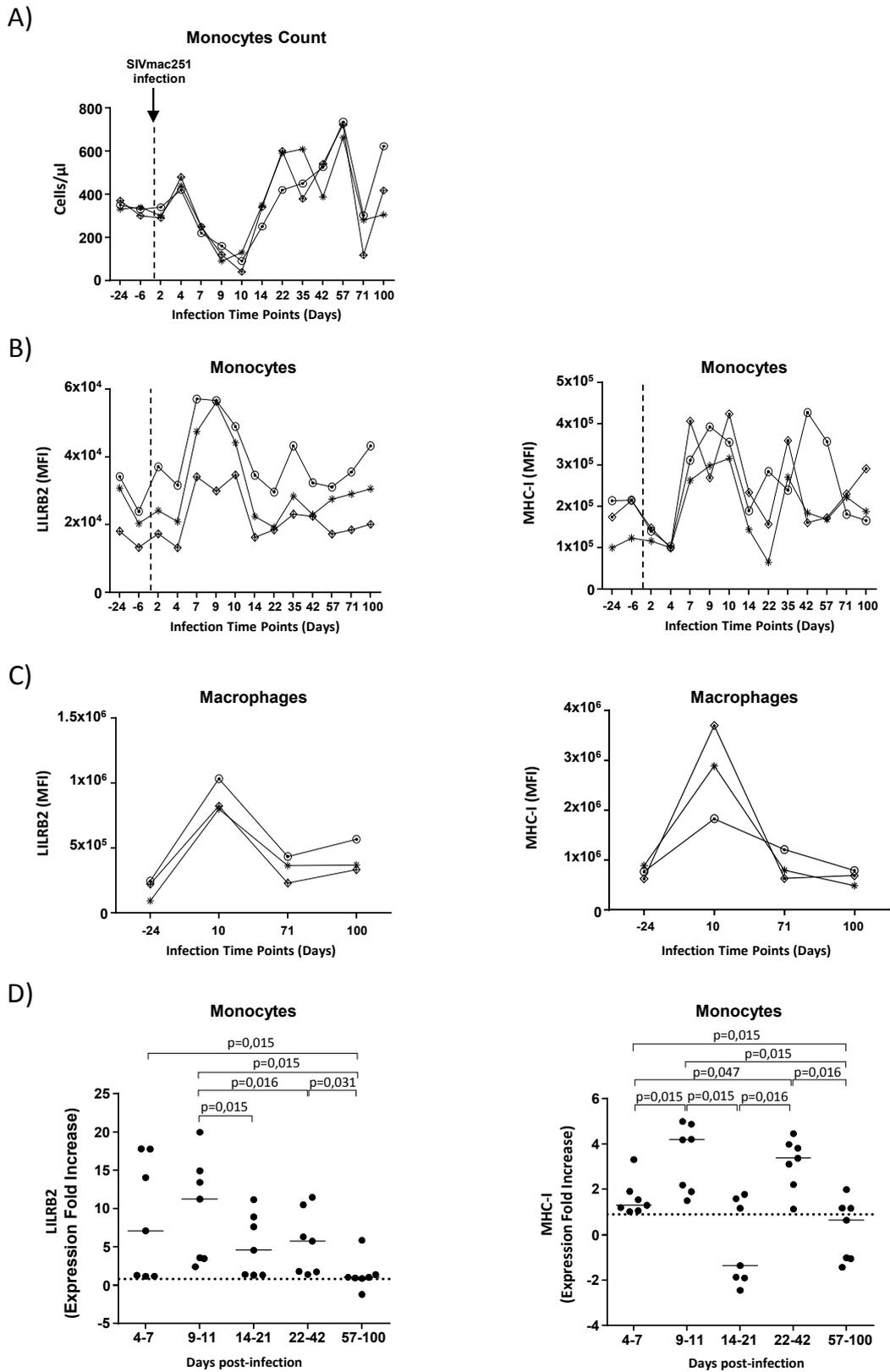


Figure S6

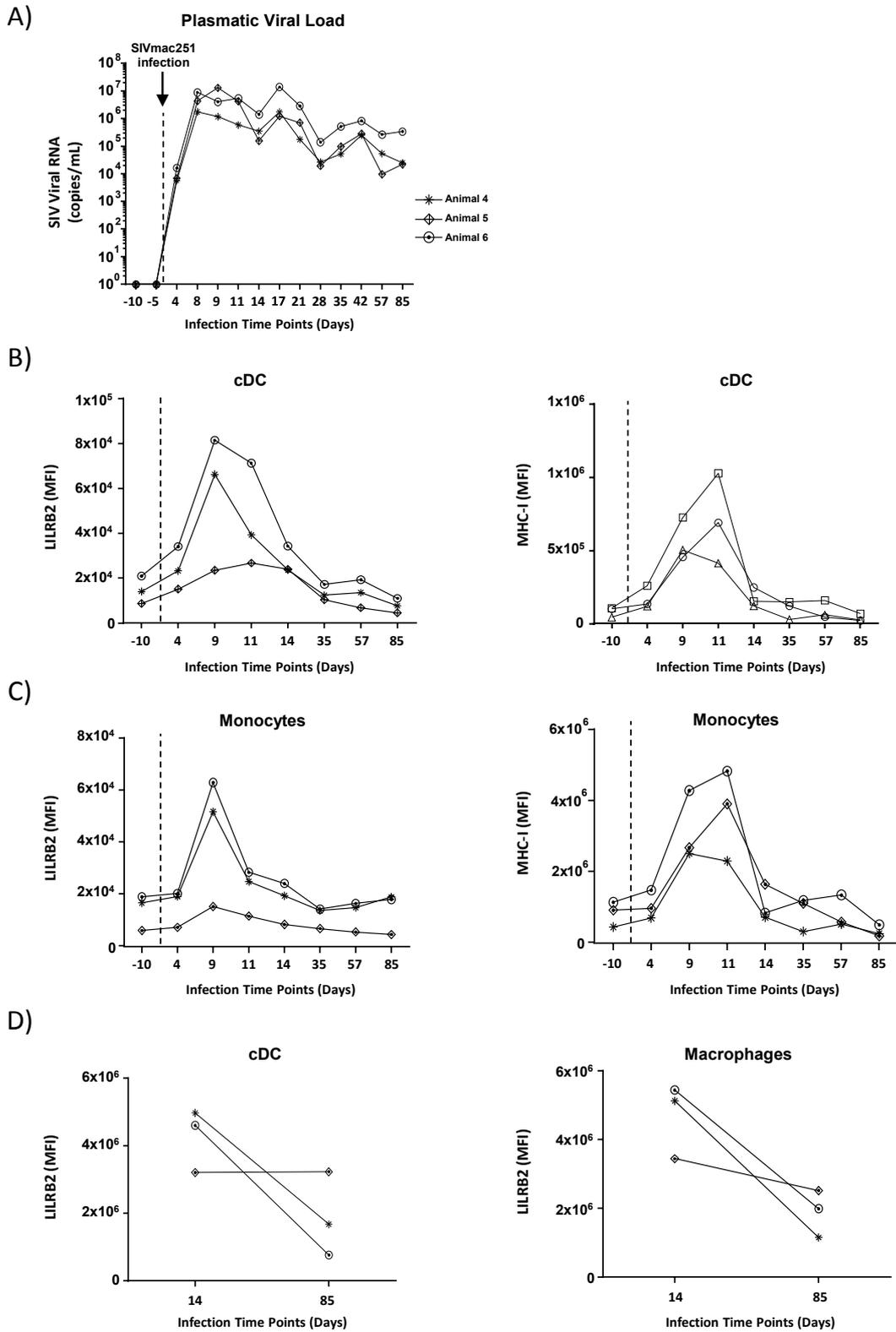
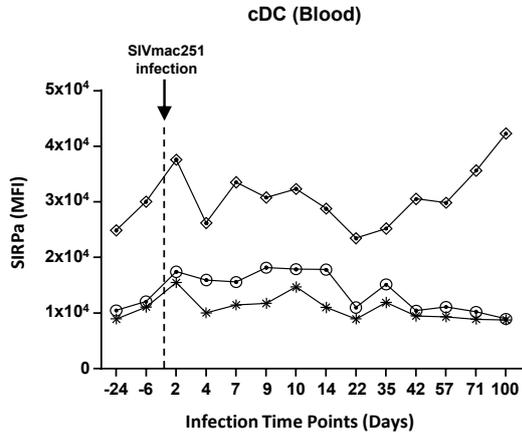


Figure S7

A)



B)

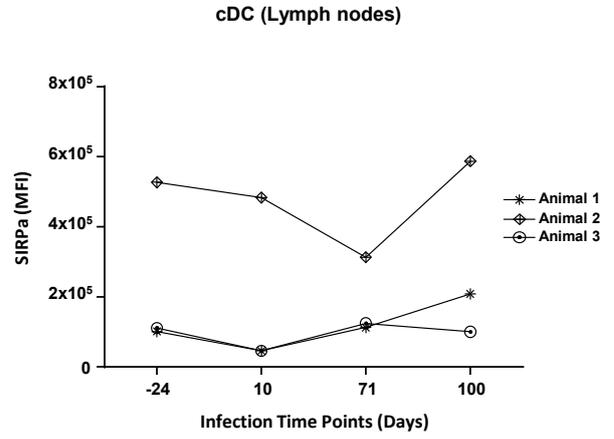
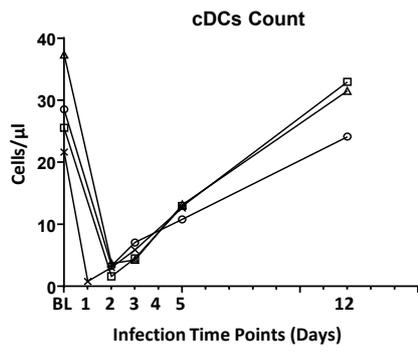


Figure S8

A)



B)

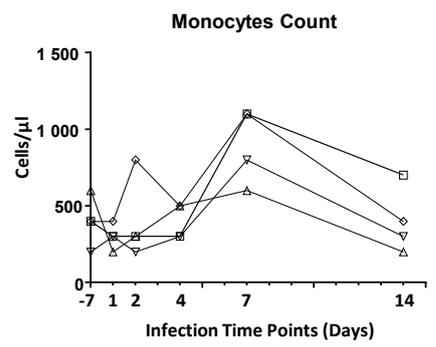
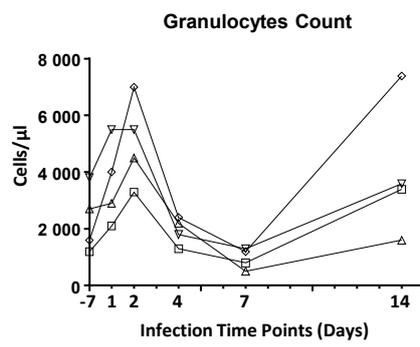
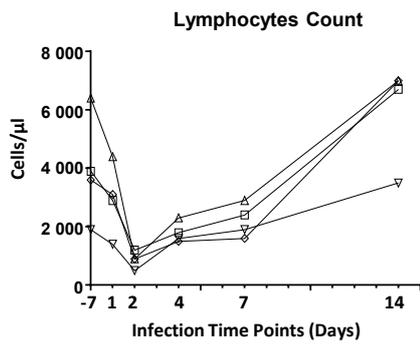


Figure S9

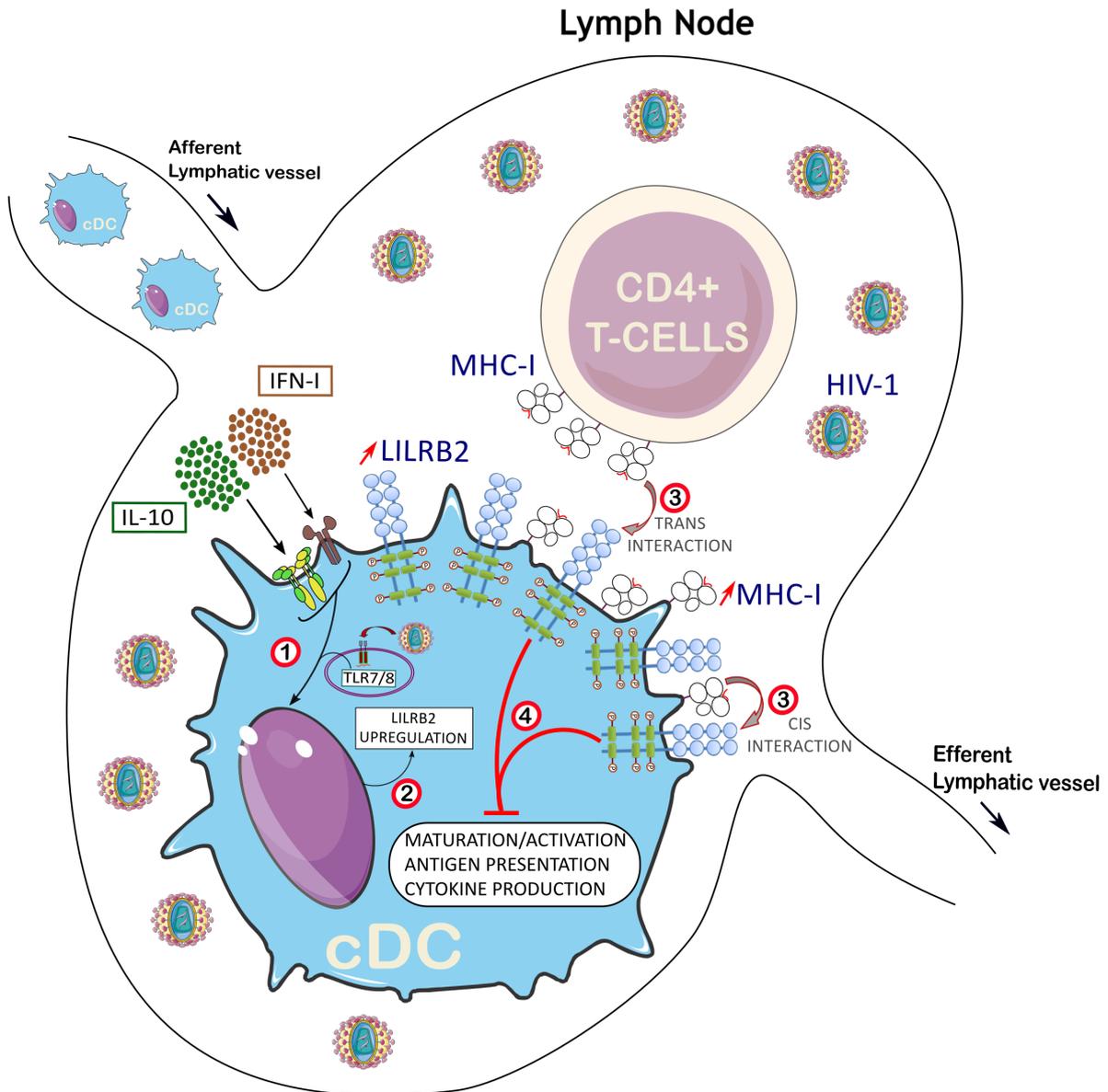


Table S1

Antibodies	Clone	Fluorochrome	Manufacturer
CD1c (BDCA-1)	L161	APC-Cy7	Biolegend
CD1c (BDCA-1)	AD5-8E7	PE	Miltenyi Biotec
CD3	SP34-2	V450	BD Biosciences
CD4	L200	BV650	BD Biosciences
CD4	OKT4	FITC	Sony
CD8	RPA-T8	V450	BD Biosciences
CD8	RPA-T8	V500	BD Biosciences
CD11c	3.9	PE-Cy7	Biolegend
CD11c	SHCL-3	APC	Biolegend
CD14	M5E2	V500	BD Biosciences
CD14	M5E2	AF700	Sony
CD14	M5E2	PE-Cy7	BD Biosciences
CD16	3G8	APC	BD Biosciences
CD16	3G8	PE-CF594	BD Biosciences
CD20	L27	V450	BD Biosciences
CD45	D058-1283	BV605	BD Biosciences
CD86	2331 (FUN-1)	BV650	BD Biosciences
CD123	7G3	PrcP-Cy 5.5	BD Biosciences
CD163	GHI/161	PrcP-Cy 5.5	BD Biosciences
CD172a (SIRPa)	REA144	APC	Miltenyi Biotec
HLA-DR	L243	BV510	Sony
HLA-DR	L243	AF700	Biolegend
MHC-class I	W6/32	APC-H7	Biolegend
MHC-class I	W6/32	PE-Cy7	Sony
LILRB2	17E5.3E9	FITC	Baylor Research Institute
LILRB2	42D1	PE	eBioscience
p24	KC57	FITC	Beckman Coulter

Résultats non publiés

Les transcrits des gènes LILR et du CMH classe I sont modulés au cours des premiers jours de l'infection par le SIV.

Au cours de nos travaux, nous avons également évalué les niveaux d'expression des transcrits LILR et de ses ligands du CMH classe I dans les cellules du sang et des ganglions périphériques des macaques cynomolgus au cours de l'infection primaire par le SIV. En effet, il n'existe pas d'anticorps disponibles permettant d'étudier l'expression d'autres membres de la famille LILR par cytométrie chez le macaque. Suite à l'infection par voie intraveineuse de quatre macaques cynomolgus avec la souche SIVmac251, on observe une augmentation de la charge virale qui atteint un pic maximal à neuf jours post-infection, puis redescend et se stabilise. De façon intéressante le macaque 30742 se distingue par son profil atypique. En effet, sa charge virale continue de diminuer au fil du temps, passant sous le seuil des 400 copies d'ARN viral/mL de sang, témoignant d'un profil de contrôle de la virémie. A l'opposé, le macaque 21362R présente un phénotype de progression rapide et a évolué précocement vers un stade SIDA (Annexe 1A). L'analyse transcriptomique par puces à ADNc à neuf jours puis trois mois post-infection nous a permis de suivre l'expression des transcrits de LILRB2, LILRB1, LILRA2 et des CMH classe I au niveau des cellules immunitaires du sang, mais aussi dans les ganglions périphériques. Nos données montrent une forte induction des transcrits de ces LILRs et du CMH classe I à neuf jours post-infection, aussi bien dans le sang que dans les ganglions périphériques (Annexe 1B). Le macaque 21362R évoluant vers un stade SIDA semble maintenir une expression forte des récepteurs LILR analysés dans le sang contrairement aux autres animaux. A l'opposé, le macaque 30742, qui contrôle sa charge virale, est le seul qui module une expression à la baisse du récepteur LILRB2 dans les deux compartiments tissulaires.

Ces résultats suggèrent que l'infection par le SIVmac251 favorise une augmentation de l'induction des transcrits LILRs et des ligands CMH classe I durant les premiers temps de l'infection. Cette forte induction semble systémique puisqu'elle est retrouvée aussi bien dans le sang que les ganglions périphériques. De plus, une expression élevée des transcrits LILR semble associée à une charge virale élevée. Néanmoins des études par PCR quantitative sur des populations de cellules purifiées et sur un plus grand nombre d'animaux seront nécessaires pour caractériser plus finement la dynamique d'expression des récepteurs LILR et de leurs ligands du CMH-I au cours de l'infection par le SIV.

Le récepteur LILRB2 et les ligands CMH classe I sont faiblement induits chez les singes contrôlant leur virémie.

L'haplotype H6 du CMH classe I est associé à un contrôle naturel de la virémie chez les macaques cynomolgus (Aarnink et al. 2011). L'infection par voie rectale avec une dose de 50AID₅₀ du SIVmac251 sur deux groupes de macaques cynomolgus, l'un regroupant des macaques possédant l'haplotype H6 et l'autre avec des animaux non-H6, révèle que le pic de virémie se situe entre neuf à dix jours post-infection. Néanmoins, contrairement aux macaques non-H6 qui maintiennent une virémie entre 10⁴ et 10⁵ log de copie d'ARN viral/mL, les macaques possédant l'haplotype H6 voient leur virémie diminuer progressivement au fil du temps, jusqu'à descendre en-dessous des 400 copies d'ARN viral/ml à J+225 post-infection, signe d'un profil de contrôle (Annexe 2A). La caractérisation à J+225 post-infection de l'expression de surface du récepteur LILRB2 et des ligands du CMH classe I sur les cDC2 (CD1c+), monocytes et pDC révèle une expression significativement plus importante sur les cellules des macaques ayant une virémie forte, par comparaison aux macaques H6 contrôleurs (Annexe 2B). Cette forte expression de LILRB2 sur les cDC2 au cours de la phase chronique chez les macaques « progresseurs » infectés par le SIV est dans la continuité des données publiées par Huang et al. qui décrivent une expression élevée de LILRB2 sur les cellules myéloïdes des patients « progresseurs » dans la phase chronique de l'infection par le VIH-1 (J Huang et al. 2010).

La stimulation des voies TLR7/8 en synergie avec l'action de l'IL-10 potentialise l'expression de LILRB2 sur les cellules dendritiques dérivées de monocytes humains (MoDC).

Parmi les mécanismes qui pourraient favoriser l'expression accrue de LILRB2 sur les cellules dendritiques pendant les réponses immunitaires contre le VIH-1 et le SIV, nous avons montré que la stimulation des TLR7/8 (par l'agoniste R848) mais aussi l'action de la cytokine immunosuppressive IL-10 augmentent fortement l'expression du récepteur LILRB2. Par conséquent, nous avons évalué l'impact d'une action synergique de ces deux voies. L'activation des voies TLR7/8 simultanément avec la stimulation par l'IL-10 sur les MoDC induit une expression en moyenne 4 fois plus forte de LILRB2 sur les MoDCs (Annexe 3). De plus, malgré une induction des expressions des molécules HLA classe I et II, celles-ci sont moins élevées que celle observées pour LILRB2.

Résultats

Par ailleurs, la stimulation combinée par l'agoniste des TLR7/8 et par l'IL-10 ne semble pas avoir d'effet synergique sur l'expression du récepteur inhibiteur SIRPα que nous avons décrit précédemment dans le modèle d'infection de macaque par le SIV (cf publication Alaoui et al.).

Ces résultats suggèrent que la mise en place d'un environnement immuno-suppresseur conjointement avec l'activation des TLR7/8 potentialise spécifiquement l'induction de l'expression de LILRB2 sur les MoDC.

L'expression de LILRB2 est régulée dans les cDC isolées du sang par les IFN de type I, l'IL-10 et le TNF-α.

Du fait du faible nombre de cDC circulantes et de leur faible taux de viabilité, les MoDC représentent un modèle utile pour l'étude des DCs ex vivo. Néanmoins, les MoDC peuvent parfois donner des résultats divergents par rapport aux cDC directement purifiées du sang périphérique. Nous avons isolé par tri magnétique les cellules cDC2 (CD1c+) du sang périphérique humain avec un taux d'enrichissement supérieur à 90% (Annexe 4A). Nous avons ensuite reproduit les stimulations avec l'agoniste des TLR7/8 (R848) ainsi qu'avec les cytokines, IFN de type I, IL-10 et TNF-α. La stimulation des cDC2 avec le R848, l'IFN de type I ou l'IL-10 induit une forte expression du récepteur LILRB2 (Annexe 4B). Les expressions de surface des molécules du HLA classe I et II semblent aussi augmentées avec l'agoniste R848, mais dans une moindre mesure avec les IFN de type I et l'IL-10. Enfin, la stimulation des cDC avec le TNF-α n'a pas d'effet sur la modulation d'expression de LILRB2, mais induit une augmentation d'expression des HLA classe I et II (Annexe 4B).

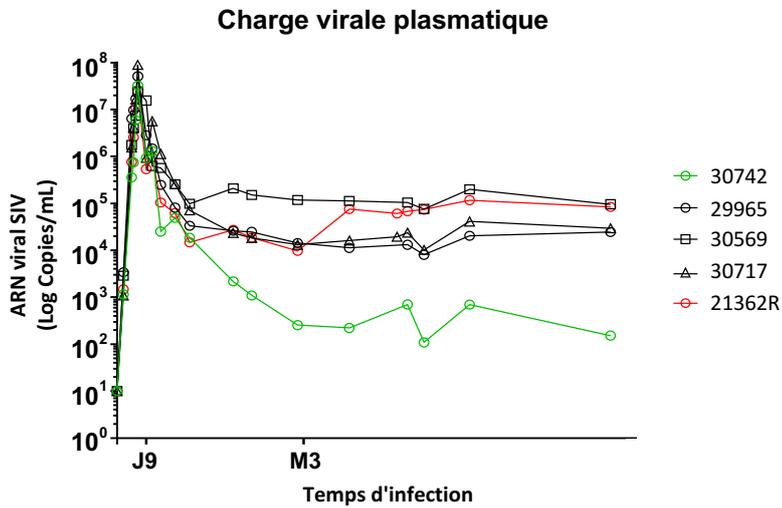
Ces résultats confirment l'augmentation de l'expression de LILRB2 induite par l'activation des TLR7/8 et les cytokines IFN de type I et IL-10 que nous avons observée sur les MoDC. Des études sont actuellement en cours pour déterminer l'impact de ces facteurs sur l'expression de LILRB2 dans les cDC1 et les pDC. De même, nos résultats ont montré une induction de LILRB2 sur les macrophages de macaques au cours de l'infection par le SIV. Il sera donc important de déterminer si les facteurs induisant l'expression de LILRB2 sont les mêmes dans les macrophages, ainsi que l'impact de l'augmentation de cette expression sur la fonction des macrophages retrouvés dans les ganglions lymphatiques périphériques.

L'expression de LILRB2 diminue à la surface des cDC du sang co-incubées avec le virus chikungunya.

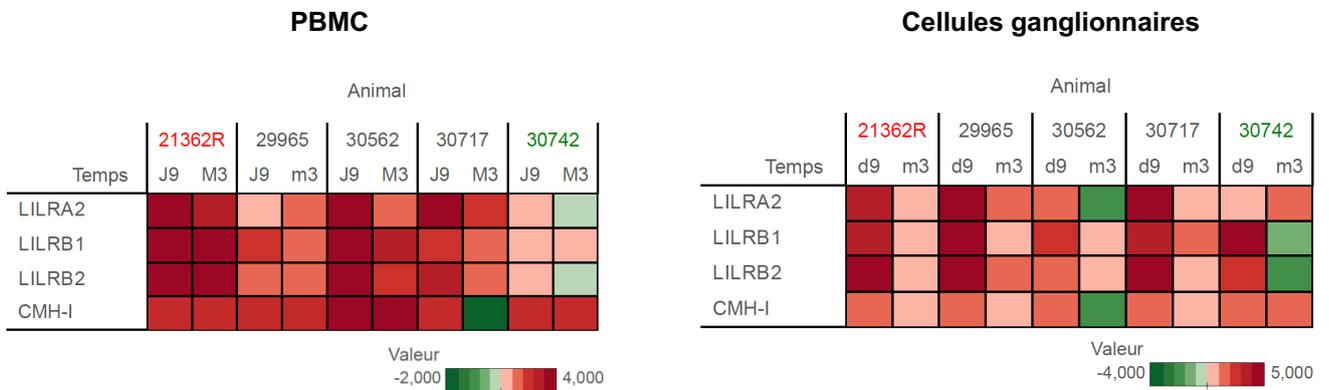
Nous avons observé que l'infection in vivo par le virus chikungunya (CHIKV) montre une modulation à la baisse de l'expression de LILRB2 à la surface des cDC et des monocytes de macaque cynomolgus. Néanmoins, les facteurs régulant négativement l'expression de LILRB2 au cours de l'infection par le CHIKV restent inconnus. Afin de déterminer l'impact direct du chikungunya, nous avons incubé du CHIKV in vitro avec du sang total humain suivant le protocole d'une étude publiée précédemment (Her et al. 2010). Nos résultats in vitro confirment les données obtenues sur le modèle d'infection par le CHIKV in vivo. L'expression de LILRB2 est faiblement modulée sur les monocytes et sur les cellules dendritiques alors que l'expression des ligands HLA classe I est fortement augmentée au cours de la période d'incubation virale (Annexe 5). Il serait intéressant d'étudier si l'environnement inflammatoire (via les cytokines secrétées) en synergie ou pas avec l'activation de voies cellulaires endogènes détectant les motifs ARN ou protéiques du virus chikungunya participeraient à une absence d'induction de l'expression du récepteur LILRB2 à la surface des cDC et des monocytes.

Annexe 1

A)



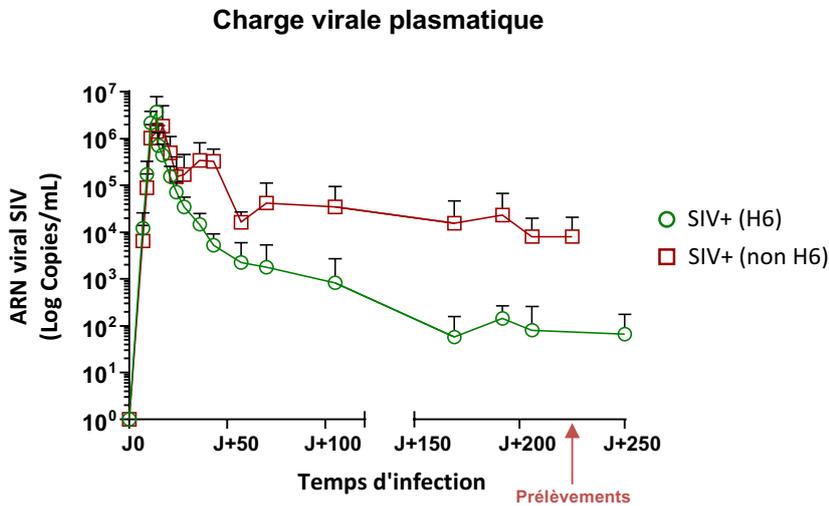
B)



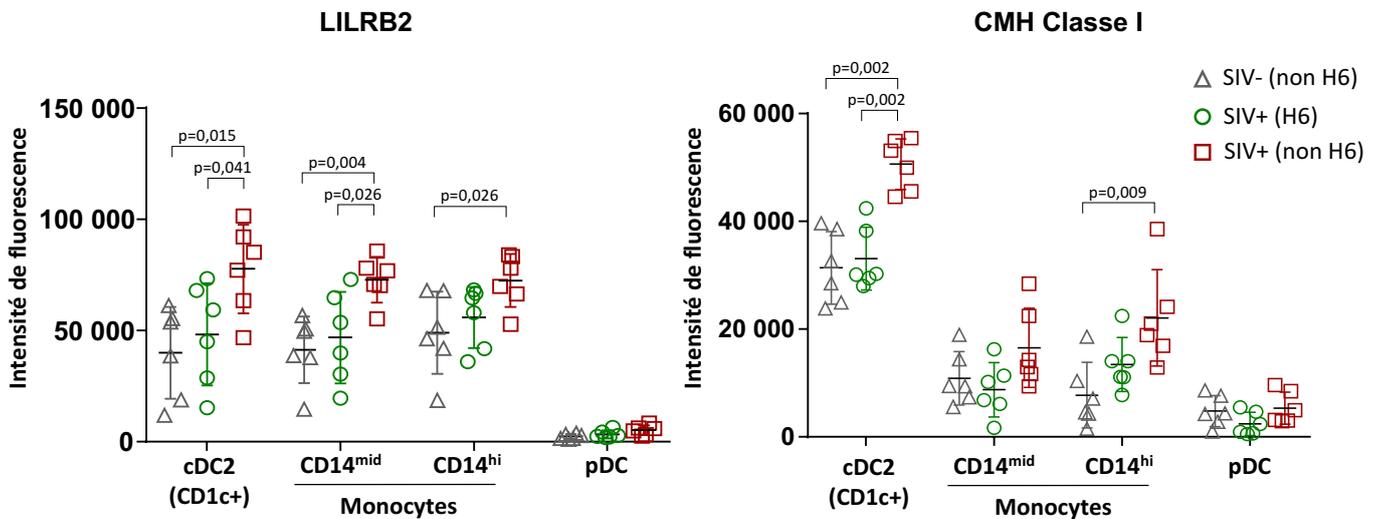
Expression des transcrits des gènes LILR et CMH-I sur les leucocytes du sang et des cellules ganglionnaires de macaques cynomolgus infectés par le SIV. [A] Cinétique d'évolution de la charge virale plasmatique de macaques infectés avec une dose de 5000AID₅₀ par le SIVmac251 par voie IV. [B] Analyse transcriptomique des gènes LILRA2, LILRB1 et LILRB2 et des ligands CMH-I à 9 jours (J9) et 3 mois (m3) post-infection SIV. Les valeurs représentent le niveau d'expression à chaque point de temps rapporté à l'expression basale avant infection.

Annexe 2

A)

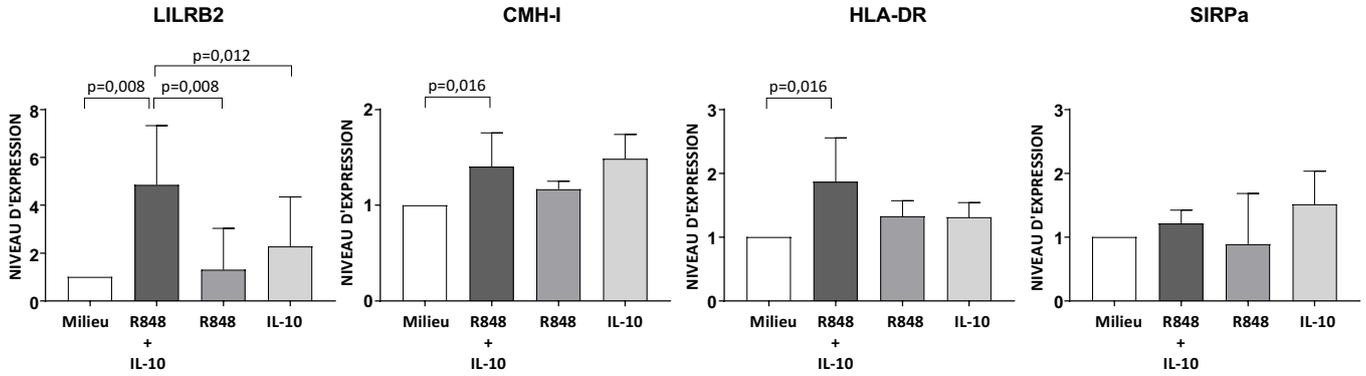


B)



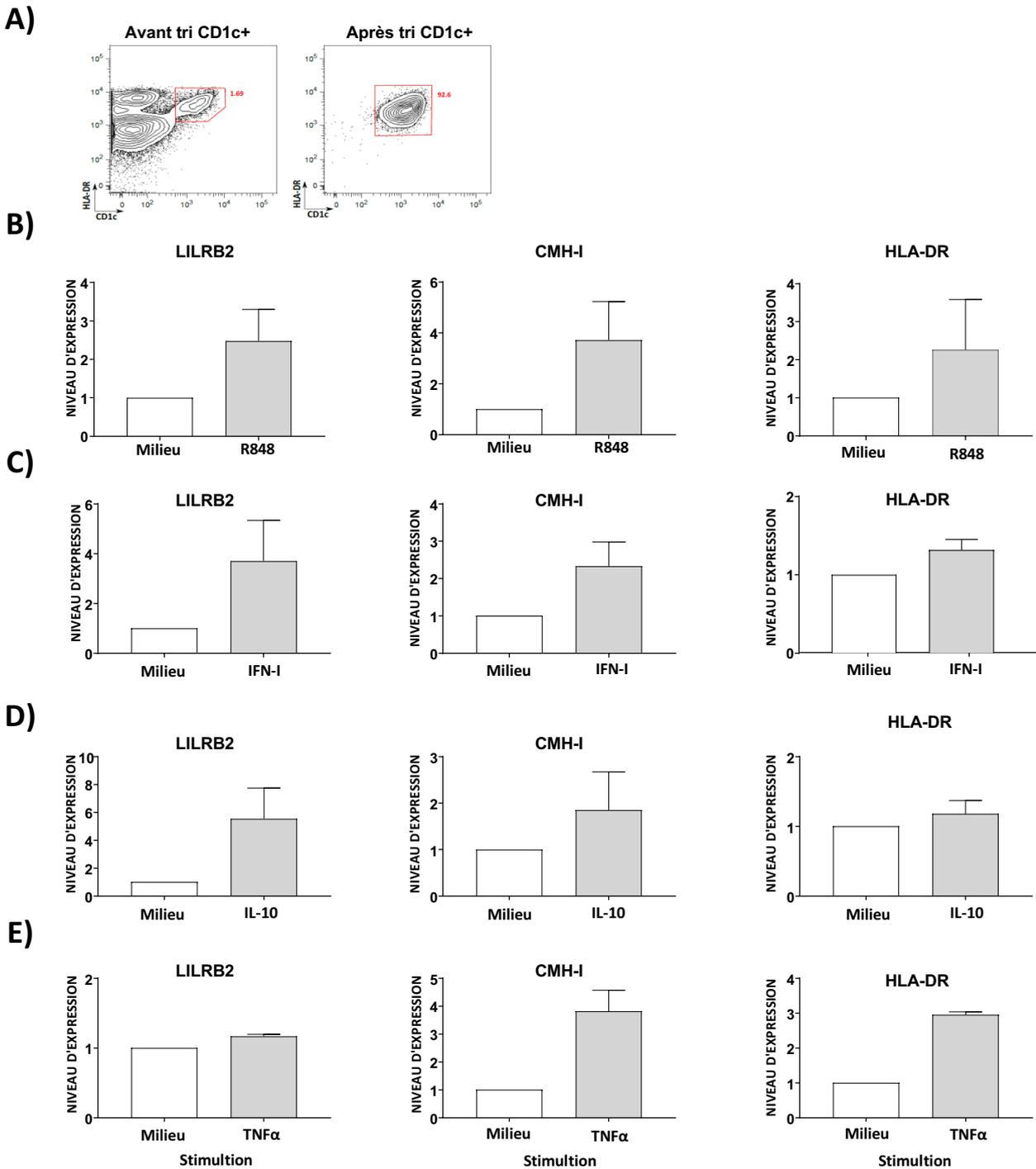
Modulation de l'expression de LILRB2 et CMH-I chez des macaques cynomolgus "contrôleurs" et progresseurs à l'infection par le SIV. [A] Cinétique d'évolution de la charge virale plasmatique chez un groupe de macaques "contrôleurs" (haplotype H6) (n=6) et un groupe de macaques "progresseurs" (non H6) (n=6) infectés avec une dose de 50AID₅₀ de SIVmac251 par voie intrarectale. [B] Comparaison des niveaux d'expression de LILRB2 et des CMH-I à la surface des cDC2, monocytes et pDC à J+225 post-infection SIV (valeur p calculée par le test statistique Mann et Whitney, avec $p \leq 0,05$ considérée comme significative).

Annexe 3



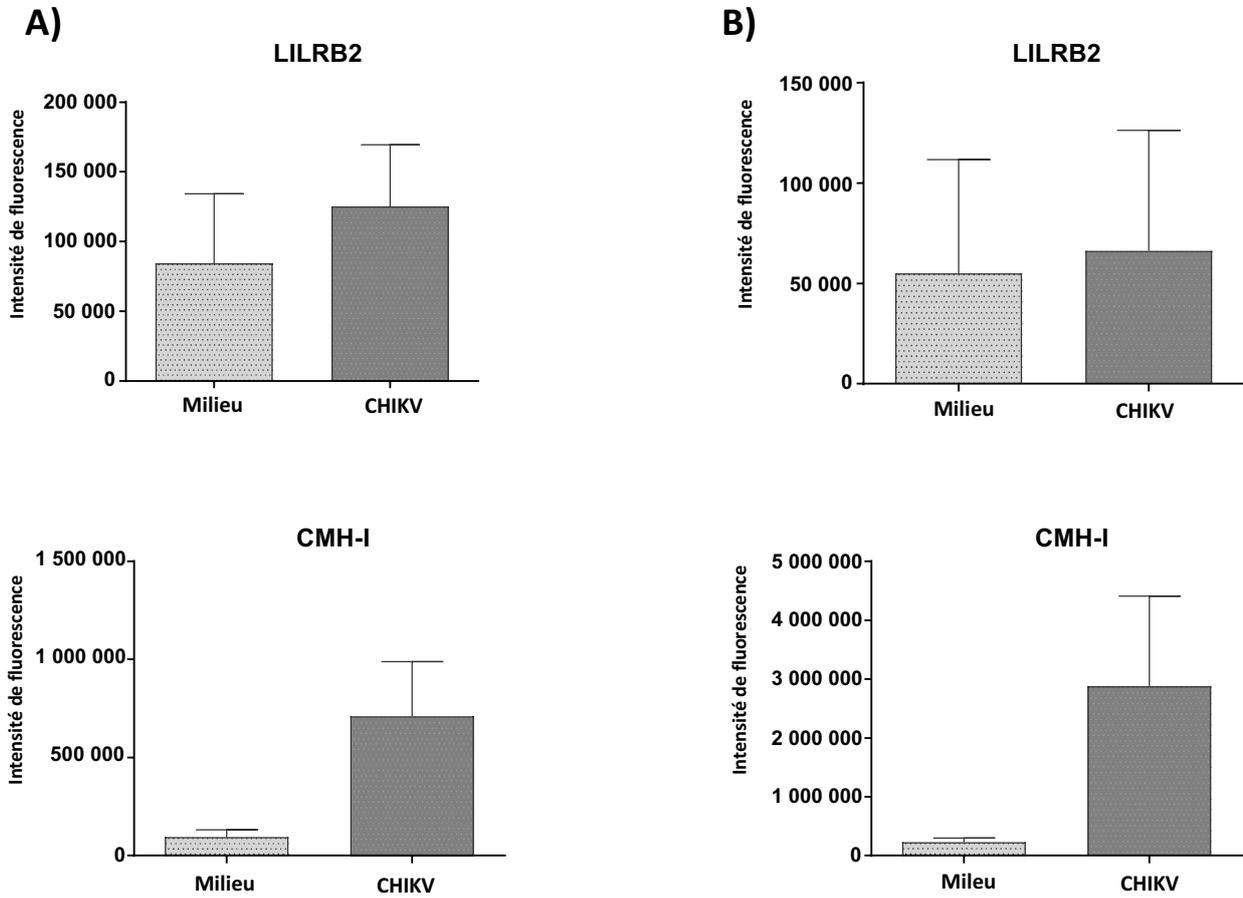
Impact des stimulations par l'agoniste des TLR7/8 et par la cytokine IL-10 sur la modulation de l'expression de LILRB2 et des CMH-I sur les MoDC. Caractérisation de l'expression de surface de LILRB2, CMH-I, HLA-DR et SIRPa sur des MoDC non stimulées (milieu) ou stimulées avec R848 (1 μ g/mL) et IL-10 (100ng/mL) séparément ou combinés pendant 24 heures. Les valeurs représentent le niveau d'expression de l'intensité de fluorescence rapportée à la condition non stimulée (n = 7, valeur p calculée par le test statistique Wilcoxon non-apparié, avec $p \leq 0,05$ considérée comme significative).

Annexe 4



Niveau d'expression de LILRB2 et des CMH-I sur les cDC2 (CD1c+) après stimulation des voies TLR7/8 et après stimulation par les IFN de type I, l'IL-10 et le TNF- α . [A] Taux d'enrichissement de la population cellulaire de cDC2 (CD1c+) par tri magnétique. [B à E] Caractérisation de l'expression de surface de LILRB2, CMH-I, et HLA-DR sur les cDC2 triées et non stimulées (milieu) (n = 4) ou stimulées pendant 24 heures avec R848 (1 μ g/mL) (n = 4) ou pendant 48 heures avec IFN de type I (3000 UI/mL) (n = 4) ou IL-10 (100ng/mL) (n = 4) ou TNF- α (500ng/mL) (n = 4). Les valeurs représentent le niveau d'expression de l'intensité de fluorescence rapportée à la condition non stimulée.

Annexe 5



Modulation d'expression de LILRB2 et des CMH-I sur sang total humain traité avec le CHIKV. [A] Niveau d'expression de LILRB2 et des CMH-I sur les cDC2 et [B] sur les monocytes du sang total non traité (milieu) ou en co-incubation avec le CHIKV pendant 40 heures (n = 5).

Discussion

Discussion

Différentes études mettent en exergue l'implication des récepteurs LILR dans un défaut des réponses immunitaires médiées par les cellules dendritiques classiques (cDC) au cours de l'infection par le VIH-1. Cependant, la dynamique d'expression ainsi que le rôle de ces récepteurs LILR sur la régulation précoce des cellules dendritiques orientant les réponses immunitaires vers la persistance ou le contrôle viral restent inconnues.

Une expression élevée du récepteur LILRB2 a été montrée au cours d'études transversales sur différents groupes de patients en phase chronique d'infection par le VIH-1 (Benlahrech et al. 2012). A ce jour, seule l'étude de Huang et al a suivi l'expression de certains récepteurs LILR, dont LILRB2, au cours de la phase aiguë de l'infection mais sans caractériser la modulation des ligands HLA classe I chez ces individus (Huang et al. 2011). Au cours de nos travaux, nous avons commencé par évaluer les niveaux d'expression de LILRB2 et des molécules HLA classe I sur les cDC2 (CD1c+) du sang issues de patients infectés par le VIH-1. Notre étude sur un groupe de patients VIH-1+ en primo-infection montre des expressions significativement plus élevées du récepteur LILRB2 et des ligands HLA classe I. Un suivi de ces patients après un an de traitement antirétroviral montre une diminution d'expression de LILRB2 et des ligands HLA-I à des niveaux proches de ceux observés chez les patients « Elite Controllers ». Or il a été montré que des interactions fortes entre LILRB2 et certains allèles ou conformations spécifiques des ligands HLA classe I, médiée par l'infection VIH, étaient des inducteurs de dysfonctions dans les cellules dendritiques (Bashirova et al. 2014; Huang et al. 2009; Lichterfeld et al. 2007). Cette forte induction d'expression de LILRB2 et des ligands HLA classe I pourrait soutenir ces fortes interactions récepteurs/ligands dès la phase précoce d'infection par le VIH-1. Ainsi, une expression élevée de LILRB2 sur les cDC pourrait conduire à l'induction de processus tolérogènes dans les cDC. La mise en place d'un phénotype tolérogène aboutirait à une diminution des fonctions de maturation et de stimulation de la réponse lymphocytaire T contre les antigènes viraux dès les premiers stades de l'infection (Chang et al. 2002; Lichterfeld et al. 2007; Manavalan et al., 2003).

Les études sur les échantillons sanguins de patients infectés par le VIH-1 ne permettent pas de caractériser la cinétique complète d'expression de LILRB2 et des ligands HLA classe I dès les premiers jours de l'infection. Par ailleurs, il est difficile d'accéder aux compartiments anatomiques à fort intérêt immunitaire chez les patients VIH-1+. Dans ce contexte, le modèle d'infection inductible par le SIV des macaques cynomolgus présente plusieurs avantages.

Discussion

D'une part, c'est un modèle de choix dans l'étude de la physiopathologie au VIH-1 permettant de suivre les phases précoces et tardives de l'infection, mais aussi de pouvoir accéder aux différents tissus lymphoïdes secondaires (Gardner & Luciw 2008). D'autre part, la caractérisation des gènes LILR chez le modèle macaque a permis d'identifier les orthologues LILR simiens qui sont très proches des récepteurs humains (Slukvin et al. 2006). De plus, nos résultats montrent une distribution d'expression cellulaire de LILRB2 sur les cellules des lignées myéloïdes des macaques cynomolgus similaire à celle des sous-ensembles des cellules immunitaires humaines. Ainsi, nous avons pu étudier la cinétique d'expression de LILRB2 et des ligands CMH classe I à la surface des cellules myéloïdes sanguines et tissulaires au cours d'infections induites par la souche SIVmac251 chez les macaques cynomolgus.

Le phénotype de contrôle naturel de la virémie chez les macaques cynomolgus est associé à la présence de l'haplotype H6 du CMH classe I (Mee et al. 2009). La phase chronique d'infection par le SIV montre une expression significativement plus faible de LILRB2 et des ligands CMH classe I à la surface des cDC et des monocytes du sang, mais aussi des ganglions lymphatiques chez un groupe de macaques porteurs de l'haplotype H6. Par contre, le groupe de singes non-H6, qui présentent une virémie plus forte, montre une forte expression de LILRB2 et des ligands CMH classe I. Or il a été montré que les profils « Elite Controllers » humains qui contrôlent naturellement la virémie présentaient un phénotype de cDC matures et activés plus prompt à la mise en place d'une réponse adaptative antivirale efficace et robuste (Martin-Gayo & Yu, 2017). Ainsi, une faible induction de LILRB2 pourrait conduire à une induction soutenue des voies de signalisation activatrices des cDC et aboutir à une stimulation des réponses lymphocytaire T antivirale plus efficace dans les organes lymphoïdes secondaires (Martin-Gayo et al. 2015).

Notre analyse transcriptomique de cellules du sang et des ganglions lymphatiques chez des macaques infectés par le SIV confirment l'augmentation des niveaux de transcrits des gènes du CMH classe I et LILRB2 dans les premiers jours de l'infection. Nos résultats de l'infection longitudinale des macaques cynomolgus par le SIVmac251 révèlent une induction forte et transitoire de l'expression de LILRB2 et de ses ligands, les CMH classe I, à la surface des cDC du sang et des ganglions périphériques pendant la réponse immunitaire précoce. Nos résultats suggèrent que l'augmentation coordonnée de l'expression de LILRB2 et du CMH de classe I à la surface d'une même cellule pourrait renforcer les interactions en *cis* et fournir ainsi des

Discussion

signaux inhibiteurs capables d'atténuer l'activation des cDC. À cet égard, il a déjà été rapporté que l'interaction en *cis* de LILRB2 avec le CMH classe I à la surface d'une même cellule est un puissant mécanisme abolissant la production de cytokines par les mastocytes (Masuda et al. 2007). Au cours de notre étude nous avons également mis en évidence une augmentation de l'expression du CMH classe I à la surface des lymphocytes T CD4 lors des phases précoces de l'infection par le SIV. Cette augmentation pourrait favoriser les interactions en *trans* des ligands CMH classe I des lymphocytes T avec LILRB2 contribuant ainsi à l'induction de signaux inhibiteurs dans les cDC. De plus, la migration soutenue des lymphocytes T CD4 vers les ganglions périphériques, très rapidement après l'infection par le VIH-1, pourrait constituer une source importante des ligands CMH classe I pour les récepteurs LILRB2 présents sur les cDC (Chen et al. 2002).

Outre les cDC, la réponse immunitaire innée anti-VIH passe aussi par le rôle de phagocyte des macrophages qui sont décrits comme d'importants réservoirs viraux lors des phases de latence virale et cela même sous traitement ARV (Alexaki et al 2008; Brown and Mattapallil 2014; Kedzierska and Crowe 2002). Par ailleurs, au cours de l'infection par le VIH-1, ces cellules présentent une incapacité de phagocytter les débris bactériens et viraux dans les tissus lymphoïdes secondaires (Swan et al. 2017; Wonderlich and Barratt-Boyes 2013). Notre étude d'infection révèle aussi une forte augmentation transitoire de l'expression de LILRB2 à la surface des macrophages dans les ganglions périphériques. Il a été montré que les macrophages des ganglions lymphatiques de macaques rhésus en phase précoce d'infection par le SIV étaient moins prompts à stimuler la réponse lymphocytaire antivirale via un défaut de maturation cellulaire, de présentation antigénique et de sécrétion cytokines (Wonderlich et al. 2015). Cette augmentation d'expression du récepteur inhibiteur LILRB2 pourrait donc être une des causes de l'atonie fonctionnelle de ces cellules dans les premiers jours de l'infection au sein des tissus lymphoïdes. De plus, les dysfonctions des macrophages induites par le VIH-1 sont décrites corollaires avec celles des cDC (Wonderlich et al. 2013).

Une induction transitoire de l'expression du récepteur LILRB2 et des ligands HLA classe I dès les premiers jours de l'infection pourrait constituer un mécanisme par lequel le virus dérégule les fonctions des cellules myéloïdes impliquées dans les réponses immunitaires innées pour favoriser ainsi sa dissémination. Suite à la détection du virus et sa prise en charge par les cDC, ces cellules, qui vont induire fortement l'expression de LILRB2, seraient associées à un

Discussion

phénotype semi-mature. Elles migrent rapidement vers les ganglions lymphatiques drainants et sont résistantes à la lyse médiée par les cellules NK (Alter et al. 2010 ; Malleret et al. 2008; Wijewardana et al. 2014). Dans les ganglions lymphatiques périphériques, les cDC jouent un rôle clé dans l'initiation d'une réponse adaptative et humorale contre l'infection. Or l'augmentation d'expression de LILRB2 et des ligands HLA classe I permettrait des interactions en *cis* et/ou en *trans* plus fortes, soutenant un axe inhibiteur dans les cDC des ganglions périphériques (Lichterfeld et al. 2007; Yang et al. 2010). Cette induction de signaux inhibiteurs pourrait ainsi favoriser une altération de l'activation et maturation des cDC aboutissant à un phénotype tolérogène de ces cellules, défavorable à la stimulation et présentation antigénique vers les cellules T (Chang et al. 2002; Krathwohl et al. 2006; Lichterfeld et al. 2007). Cela aboutirait à une atonie des réponses antivirales dans les ganglions lymphatiques à un moment clé dans l'initiation des mécanismes de contrôle. Suite au pic d'expression de LILRB2, la diminution d'expression rapide qu'on observe sur les cDC jouerait en faveur d'une forte activation cellulaire via l'activation des voies TLR (conduites par les stimulations antigéniques persistantes) en parallèle d'une production importante de cytokines pro-inflammatoires (Chang et al. 2012; Wijewardana et al. 2013). Cette cascade favoriserait l'instauration d'une forte activation cellulaire alimentant un environnement inflammatoire, caractéristique de la progression chronique de la maladie (Sabado et al. 2010). Dans la phase chronique de l'infection SIV, nos résultats, sur les singes infectés (non H6) qui ne contrôlent pas la maladie, montrent une expression forte du récepteur LILRB2. En outre, une expression exacerbée de LILRB2 fut aussi décrite chez les patients humains « progresseurs » infectés par le VIH-1 (Huang et al., 2010). Ainsi, dans le cas d'une infection chronique progressive, l'expression de LILRB2 augmenterait de nouveau durant le stade chronique de l'infection par le VIH-1. Cela aboutira à une anergie fonctionnelle des cDC avec des défauts de maturation et de sécrétion de cytokines (IL12p70 nécessaires à l'initiation d'une réponse T) mais aussi des défauts de stimulations des cellules T et NK dans les phases de latence clinique (Buisson et al. 2009; Huang et al. 2010; Miller et al. 2012; Yonkers et al. 2009; Yonkers et al. 2011).

Les premières phases de l'infection par le VIH-1 et le SIV se caractérisent par une réplication virale soutenue associée à une induction concomitante de processus inflammatoires et immuno-régulateurs. Nous avons donc poursuivi notre étude en se focalisant sur les facteurs viraux et cellulaires qui pourraient impacter la modulation du récepteur LILRB2.

Discussion

Les cellules dendritiques comptent parmi les premières cellules infectées lors de la transmission sexuelle du virus dans le tractus génitale (Hu et al. 1998). Ces cellules sont plus permissives à l'infection par les souches VIH-1 à tropisme CCR5 que les souches à tropisme CXCR4 (Smed-Sörensen et al. 2005). Nos données d'infections in vitro de cellules dendritiques dérivées de monocytes (MoDC) montrent une augmentation significative de l'expression du récepteur LILRB2 dans la fraction cellulaire où une réplication virale productive est détectée. Néanmoins, le nombre de cDC infectées in vivo est très faible, inférieur à 5%, ce qui suggère d'autres mécanismes qui participeraient aussi à la modulation d'expression de LILRB2 (Brown et al. 2009). Une étude par Li et al. a montré que la phase de primo-infection par le VIH-1 dans les tissus lymphoïdes est caractérisée par une signature transcriptomique en faveur d'une induction des gènes régulant l'activation immunitaire (Li et al. 2009). Parmi les gènes fortement induits, les gènes des récepteurs Toll-Like 7/8 (TLR7/8), exprimés par la population cDC2 (CD1c+) (Dutertre et al. 2014), sont décrits comme des senseurs des ARN viraux simple brins (ssRNA) notamment ceux du VIH-1 (Gringhuis et al. 2010; A Meier et al. 2007). La forte expression du récepteur LILRB2 que nous décrivons suite à l'activation des voies TLR7/8 pourrait être soutenue in vivo par la stimulation de cette voie par les motifs ARN du virus répliatif et participer ainsi à la forte perturbation des compartiments lymphoïdes (Baenziger et al. 2009). Une étude par Wonderlich et al. a d'ailleurs apporté la preuve que les cDC détectent fortement les ligands SIV agonistes des voies TLR7/8 (Wonderlich et al. 2013). Outre l'activation des voies TLR, l'infection par le VIH-1 provoque un environnement inflammatoire caractéristique de la primo-infection. Parmi la cascade de cytokines, les IFN de type I, l'IL-10 et le TNF- α sont sécrétées tôt dans la cinétique infectieuse (Stacey et al. 2009). Nos résultats de stimulation ex vivo sur les cDC2 et MoDC montrent que les IFN de type I et l'IL-10 induisent une forte expression de LILRB2 contrairement au TNF- α . De plus, la stimulation des MoDC par l'agoniste des voies TLR7/8 en synergie avec la cytokine IL-10 potentialise l'induction de l'expression de LILRB2. La modulation d'une expression forte de LILRB2 semble médiée par plusieurs facteurs à effet synergique. Dès les premiers jours de l'infection par le VIH-1, une production massive d'IFN de type I est suivie par une « vague » d'IL-10 (Stacey et al. 2009). Ainsi, il est probable que certains membres de la famille IFN de type I induisent une augmentation de l'expression de LILRB2 pour réguler et freiner une trop forte activation des cDC. Mais, dans la primo-infection par le VIH-1, la « vague » subséquente d'IL-10, cytokine qui est décrite comme étant inductrice de l'expression de LILRB2 (Vlad et al. 2003), pourrait soutenir et renforcer cette augmentation d'expression du récepteur inhibiteur, orientant ainsi un

Discussion

profil tolérogène des cDC incapables de compléter leur maturation et activation cellulaire (Chang et al. 2002; Gregori et al. 2010). De plus, la protéine Vpr, produite au cours du cycle réplicatif, est décrite comme favorisant la mise en place d'un environnement immunosuppresseur via une production massive d'IL-10 par les cDC (Majumder et al. 2005; Muthumani et al. 2005). Cette mécanique assez complexe, qui certainement fait intervenir d'autres facteurs que nous n'avons pas encore identifiés, pourrait ainsi contribuer par effet synergique à l'activation de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH-I dans les cDC. Cette cascade inhibitrice pourrait constituer un mécanisme de suppression fonctionnelle des cDC médié par une expression exacerbée de LILRB2.

Outre l'expression augmentée de LILRB2, nos résultats d'infection des macaques cynomolgus par le SIV ont aussi révélé des niveaux élevés des transcrits d'autres récepteurs LILR, tels que LILRB1 et LILRA2 dans le sang et les ganglions périphériques. Le récepteur inhibiteur LILRB1, fortement exprimé à la surface des cellules T CD8 spécifiques du VIH-1, altère la réponse cytotoxique de ces cellules (Ince et al. 2004). Par ailleurs, LILRA2, malgré une association à des adaptateurs intracellulaire à motifs activateurs ITAM, est décrit comme pouvant inhiber la maturation cellulaire et la fonction de présentation antigénique par les cellules dendritiques (Lee et al. 2007). Ces résultats indiquent que l'activation de différents récepteurs LILR pourrait donc contribuer à des signaux inhibiteurs au niveau des réponses immunitaires innées mais également adaptatives.

Dans cette étude, nous avons également étudié la dynamique d'expression de LILRB2 sur les cDC pendant l'infection *in vivo* au virus chikungunya (CHIKV) sur des macaques cynomolgus. Au cours de la réponse immunitaire antivirale précoce, la charge virale est rapidement contrôlée et l'expression du récepteur LILRB2 sur les cDC du sang diminue alors que l'expression des ligands CMH classe I augmente rapidement. Nous avons également observé une rétraction du pool de cDC périphériques pendant la phase aiguë de l'infection suggérant une migration des cDC vers les ganglions périphériques. L'infection par le CHIKV n'est pas TLR7/8 dépendante (Schilte et al. 2010; Sanchez David et al. 2016). Par ailleurs, la primo-infection par le CHIKV induit une cascade de cytokines pro-inflammatoire (IFN de type I et II, IL-1RA, IL-6, IL-15, MCP-1 et TNF α) mais pas d'induction d'IL-10 (Pierre Roques et al. 2017). L'absence d'IL-10 en parallèle de la formation d'un environnement pro-inflammatoire antiviral favoriserait donc une modulation de LILRB2 sur les cellules dendritiques en faveur d'un phénotype d'activation et de maturation cellulaire dans les phases précoces de l'infection par le CHIKV.

Discussion

La migration des cDC activées vers les ganglions périphériques favoriserait une meilleure présentation des antigènes viraux de par la forte expression des molécules du CMH classe I. Ainsi, cela permettra une activation soutenue des lymphocytes effecteurs T CD8 cytotoxiques spécifiques du CHIKV (Miner et al. 2015; Wauquier et al. 2011).

En conclusion, il semblerait que dès la phase de primo-infection, la réplication virale, associée à une stimulation continue des voies TLR7/8 par les antigènes viraux associée à un environnement cytokinique immunosuppresseur vont agir en synergie pour corrompre l'équilibre d'activation des cDC. L'ensemble aboutit à une induction forte et spécifique de l'axe inhibiteur LILRB2/HLA classe I coordonnant une immunité antivirale inefficace favorable à la progression de la maladie.

Conclusion
&
Perspectives

Conclusion & Perspectives

Au cours des dernières années, des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension des interactions hôte-pathogènes qui régulent les défenses immunitaires anti-VIH et déterminent le degré de contrôle ou de progression spontanée de la maladie. Cependant, il est maintenant de plus en plus clair que les caractéristiques fonctionnelles des cellules dendritiques classiques (cDC) sont étroitement liées à la progression de la maladie. En tant que sentinelle du système immunitaire, les cDC sont parmi les premières cellules cibles de l'infection par le VIH-1. Très tôt dans la cinétique d'infection, les dysfonctions des cellules dendritiques permettent au virus de passer outre les différents mécanismes de restrictions et favorisent ainsi son échappement et sa dissémination systémique. Il est donc nécessaire d'identifier et comprendre les mécanismes immuno-régulateurs qui sous-tendent ces dysfonctions cellulaires dès la primo-infection par le VIH-1. Le récepteur LILRB2 appartient à la famille multigénique LILR et joue un rôle important dans la régulation des cellules dendritiques. La forte induction de ce récepteur, médiée par l'interaction avec les ligands HLA classe I, corrèle avec une réponse immunitaire antivirale inefficace.

Au cours de ce travail, nous avons identifié une expression variable de LILRB2 sur les cDC selon le phénotype de contrôle ou de progression des patients infectés. En effet, avant initiation des traitements anti-rétroviraux, les patients VIH-1 positifs « non contrôleurs » en primo-infection présentent une forte expression du récepteur LILRB2 et des ligands HLA classe I. Le modèle d'infection des macaques cynomolgus par le SIV reproduit étroitement la physiopathologie de l'infection par le VIH-1 chez l'homme. Celui-ci fut un atout essentiel pour étudier *in vivo* et de façon inédite la dynamique d'expression du récepteur LILRB2 et des ligands CMH-I à la surface des cellules dendritiques classiques dans le sang et les ganglions lymphatiques périphériques. Nos résultats ont mis en lumière une induction forte de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH classe I dans les premiers jours de l'infection par le SIV. De plus, nous avons montré que la réplication virale soutenue, l'activation des voies de signalisation induites par les TLR7/8, ainsi que le micro-environnement cytokinique (incluant les cytokines IFN de type I et IL-10) conduisaient à une augmentation de l'expression du récepteur LILRB2 et de ses ligands HLA classe I. En outre, dans un modèle d'infection de macaque cynomolgus par le virus chikungunya, qui est décrit comme induisant une réponse immunitaire efficace dans le contrôle viral, l'expression du récepteur inhibiteur LILRB2 est diminuée. Ces résultats soutiennent notre hypothèse d'une induction précoce et spécifique des signaux inhibiteurs médiée par LILRB2 qui seraient impliquées dans la dérégulation des fonctions des cellules dendritiques conduisant à des réponses adaptatives inadéquates.

Conclusion & Perspectives

Néanmoins, les cibles moléculaires qui seraient inhibées par LILRB2 et qui aboutiront à un défaut de régulation des cellules dendritiques restent à caractériser. Des études antérieures *in vitro* ont montré que la force d'interaction LILRB2/HLA-I est augmentée par les variations génétiques des haplotypes du HLA-I et corrèle avec un phénotype de progression rapide ou contrôlé de la pathologie (Bashirova et al. 2014 ; Huang et al. 2009 ; Lichterfeld et al. 2007). Or les récepteurs LILR ont été décrits comme possédant un fort polymorphisme génétique (Hirayasu and Arase 2015). Il serait donc intéressant d'étudier et identifier si certains polymorphismes du récepteur LILRB2 ou d'autres LILR pourraient être associés à un phénotype favorable ou délétère dans le contrôle de l'infection par le VIH-1. Par ailleurs, l'utilisation *in vivo* d'anticorps anti-LILRB2 bloquant l'interaction avec les ligands HLA classe I au cours de la phase précoce de l'infection permettra de mieux caractériser le rôle de cette interaction sur l'efficacité des réponses immunitaires dirigées contre le VIH. A cet égard, des études *in vitro* montrent qu'un anticorps bloquant dirigé contre LILRB2 augmente les réponses T CD8 polyfonctionnelles en libérant les molécules HLA classe I interagissant avec LILRB2. Lors de ce mécanisme, les molécules HLA classe I des CPA deviennent disponibles et vont pouvoir interagir avec les récepteurs à l'antigène (TCR) des lymphocytes T CD8 (Banchereau et al. 2012). Il serait donc également intéressant de bloquer l'interaction de LILRB2 avec les CMH classe I chez les macaques infectés par le SIV et sous traitement ARV afin d'améliorer les réponses T CD8 dans les sites de latence virale et mesurer l'impact sur la taille du réservoir viral. Par ailleurs, la relation entre les récepteurs LILR et l'infection au VIH ne semble pas restreinte à LILRB2. En effet, une forte expression des récepteurs inhibiteurs LILRB1 et LILRB3 sur les cellules dendritiques a été associée au phénotype des patients «Elite Controllers» (Huang et al. 2010).

Parmi les récepteurs associés aux motifs ITAM, LILRA4 est exprimé spécifiquement sur les pDC. Néanmoins l'interaction de LILRA4 avec le facteur de restriction BST2 inhibe la production des IFN de type I par les pDC qui est induite par le VIH (Bego et al. 2015; Cao et al. 2009). Par ailleurs, le récepteur soluble LILRA3 est décrit comme pouvant fortement se lier avec les ligands HLA-C (DC Jones et al. 2011). Ces ligands peuvent présenter une mutation 35kb en amont du gène HLA-C qui est à l'origine d'un variant allélique HLA-C (-35C) fortement exprimé et qui corrèle avec un contrôle de la charge virale, une faible déplétion des lymphocytes T CD4 et une moindre progression vers le stade SIDA (Thomas et al. 2009). Ainsi, il serait intéressant d'étudier le rôle de LILRA3, via son interaction avec HLA-C, qui pourrait constituer un mécanisme favorable au contrôle de l'infection par le VIH- 1.

Conclusion & Perspectives

Les fonctions immuno-modulatrices des récepteurs LILR sont donc plus complexes que leur association à des motifs activateurs ou inhibiteurs. Des études en cours dans le laboratoire visent à explorer la cinétique, la modulation et l'identification des mécanismes mis en jeu par les autres récepteurs de cette famille multigénique dans différents tissus anatomiques d'intérêts immuno-virologiques. In-fine, cibler ces récepteurs et/ou leurs voies d'inductions pourraient constituer une approche thérapeutique ou prophylactique potentielle contre l'infection par le VIH-1.

Bibliographie

Bibliographie

- Aarnink, Alice et al. 2011. "Influence of the MHC Genotype on the Progression of Experimental SIV Infection in the Mauritian Cynomolgus Macaque." *Immunogenetics* 63(5): 267–74.
- Alexaki, Aikaterini, Yujie Liu, and Brian Wigdahl. 2008. "Cellular Reservoirs of HIV-1 and Their Role in Viral Persistence." *Current HIV research* 6(5): 388–400.
- Allen, R L, and J Trowsdale. 2004. "Recognition of Classical and Heavy Chain Forms of HLA-B27 by Leukocyte Receptors." *Curr Mol Med* 4(1): 59–65.
- Alter, Galit et al. 2010. "IL-10 Induces Aberrant Deletion of Dendritic Cells by Natural Killer Cells in the Context of HIV Infection." *The Journal of clinical investigation* 120(6):
- Anderson, K J, and R L Allen. 2009. "Regulation of T-Cell Immunity by Leucocyte Immunoglobulin-like Receptors: Innate Immune Receptors for Self on Antigen-Presenting Cells." *Immunology* 127(1): 8–17.
- Angel, Catherine E et al. 2006. "Cutting Edge: CD1a+ Antigen-Presenting Cells in Human Dermis Respond Rapidly to CCR7 Ligands." *J Immunol* 176(10): 5730–34.
- Appay, V et al. 2000. "HIV-Specific CD8(+) T Cells Produce Antiviral Cytokines but Are Impaired in Cytolytic Function." *Journal of Experimental Medicine* 192(1): 63–75.
- Appay, V et al. 2002. "Dynamics of T Cell Responses in HIV Infection." *J Immunol* 168(7): 3660–6.
- Appay, Victor et al. 2001. "Differential Expression of Interleukin-2 and Gamma Interferon in Human Immunodeficiency Virus Disease Differential Expression of Interleukin-2 and Gamma Interferon in Human Immunodeficiency Virus Disease." *The Journal of Immunology* 75(20): 2–5.
- Azevedo-Pereira, Jose Miguel, and Quirina Santos-Costa. 2016. "HIV Interaction with Human Host: HIV-2 As a Model of a Less Virulent Infection." *AIDS Reviews* 18(1): 44–53.

Bibliographie

- Bachem, Annabell et al. 2010. "Superior Antigen Cross-Presentation and XCR1 Expression Define Human CD11c+ CD141+ Cells as Homologues of Mouse CD8+ Dendritic Cells." *The Journal of Experimental Medicine* 207(6): 1273–81.
- Baenziger, Stefan et al. 2009. "Triggering TLR7 in Mice Induces Immune Activation and Lymphoid System Disruption, Resembling HIV-Mediated Pathology." *Blood* 113(2): 377–88.
- Baldwin, G C et al. 1990. "Human Immunodeficiency Virus Causes Mononuclear Phagocyte Dysfunction." *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(10): 3933–37.
- Banchereau, Jacques et al. 2012. "Immunoglobulin-like Transcript Receptors on Human Dermal CD14+ Dendritic Cells Act as a CD8-Antagonist to Control Cytotoxic T Cell Priming." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(46): 18885–90.
- Barber, Daniel L et al. 2006. "Restoring Function in Exhausted CD8 T Cells during Chronic Viral Infection." *Nature* 439(7077): 682–87.
- Barratt-Boyes, S M, and V. Wijewardana. 2011. "A Divergent Myeloid Dendritic Cell Response at Virus Set-Point Predicts Disease Outcome in SIV-Infected Rhesus Macaques." *Journal of medical primatology* 40(4): 206–13.
- Barré-Sinoussi, F et al. 1983. "Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)." *Science* 220(4599): Copyright © 1983 American Asso.
- Barrow, Alexander David, and John Trowsdale. 2006. "You Say ITAM and I Say ITIM, Let's Call the Whole Thing off: The Ambiguity of Immunoreceptor Signalling." *European Journal of Immunology* 36(7): 1646–53.
- Barrow, A et al. 2008. "The Extended Human Leukocyte Receptor Complex: Diverse Ways of Modulating Immune Responses." *Immunological Reviews* 224(1): 98–123.
- Bashirova, A A et al. 2014. "LILRB2 Interaction with HLA Class I Correlates with Control of HIV-1 Infection." *PLoS Genet* 10(3): e1004196.

Bibliographie

- Beer, B et al. 1996. "Lack of Dichotomy between Virus Load of Peripheral Blood and Lymph Nodes during Long-Term Simian Immunodeficiency Virus Infection of African Green Monkeys." *Virology* 219(2): 367–75.
- Bego, Mariana G. et al. 2015. "Vpu Exploits the Cross-Talk between BST2 and the ILT7 Receptor to Suppress Anti-HIV-1 Responses by Plasmacytoid Dendritic Cells." *PLoS Pathogens* 11(7).
- Benito, M. J. et al. 2008. "Changes in the Expression of the Immunoglobulin-like Transcript 3 (ILT3) and ILT4 Receptors in Renal Allograft Recipients: Effect of Donor and Recipient Aging." *Transplantation Proceedings* 40(9): 2894–96.
- Benlahrech, A et al. 2012. "Dysregulated Immunophenotypic Attributes of Plasmacytoid but Not Myeloid Dendritic Cells in HIV-1 Infected Individuals in the Absence of Highly Active Anti-Retroviral Therapy." *Clinical & Experimental Immunology* 170(2): 212–21.
- Berg, Louise et al. 2003. "LIR-1 Expression on Lymphocytes, and Cytomegalovirus Disease in Lung-Transplant Recipients." *Lancet* 361(9363): 1099–1101.
- Betts, Michael R et al. 2001. "Analysis of Total Human Immunodeficiency Responses : Relationship to Viral Load in Untreated HIV Infection Analysis of Total Human Immunodeficiency Virus (HIV) -Specific CD4+ and CD8+ T-Cell Responses : Relationship to Viral Load in Untreated HIV Infect." *Journal of Virology* 75(24): 11983–91.
- Betts, Michael R et al. 2006. "HIV Nonprogressors Preferentially Maintain Highly Functional HIV-Specific CD8+ T Cells." *Blood* 107(12): 4781–89.
- Betts, Michael R. et al. 2006b. "HIV Nonprogressors Preferentially Maintain Highly Functional HIV-Specific CD8+ T Cells." *Blood* 107(12): 4781–89.
- Biesinger, T, and JT Kimata. 2012. "HIV-1 Transmission, Replication Fitness and Disease Progression." 76(October 2009): 211–20.
- Blackburn, Shawn D et al. 2009. "Coregulation of CD8+ T Cell Exhaustion by Multiple Inhibitory Receptors during Chronic Viral Infection." *Nature immunology* 10(1): 29–37.

Bibliographie

- Blancher, Antoine et al. 2006. "Study of Cynomolgus Monkey (*Macaca Fascicularis*) MhcDRB (Mafa-DRB) Polymorphism in Two Populations." *Immunogenetics* 58(4): 269–82.
- Blanchet, Fabien P et al. 2010. "Human Immunodeficiency Virus-1 Inhibition of Immunoamphisomes in Dendritic Cells Impairs Early Innate and Adaptive Immune Responses." *Immunity* 32(5): 654–69.
- Bleharski, Joshua R. et al. 2003. "Use of Genetic Profiling in Leprosy to Discriminate Clinical Forms of the Disease." *Science* 301(5639): 1527–30.
- Brenchley et al. 2006. "Microbial Translocation Is a Cause of Systemic Immune Activation in Chronic HIV Infection." *Nature medicine* 12(12): 1365–71.
- Brenchley, J M, and D C Douek. 2008. "HIV Infection and the Gastrointestinal Immune System." *Mucosal Immunology* 1(1): 23–30.
- Brenchley, Jason M et al. 2004. "CD4+ T Cell Depletion during All Stages of HIV Disease Occurs Predominantly in the Gastrointestinal Tract." *The Journal of experimental medicine* 200(6): 749–59.
- Brenchley, Jason M., and Mirko Paiardini. 2011. "Immunodeficiency Lentiviral Infections in Natural and Non-Natural Hosts." *Blood* 118(4): 847–54.
- Brenchley, Jason M., David A. Price, and Daniel C. Douek. 2006. "HIV Disease: Fallout from a Mucosal Catastrophe?" *Nat Immunol* 7(3): 235–39.
- Brown, Dallas, and Joseph J. Mattapallil. 2014. "Gastrointestinal Tract and the Mucosal Macrophage Reservoir in HIV Infection." *Clinical and Vaccine Immunology* 21(11): 1469–73.
- Brown, Damien P et al. 2009. "The Inhibitory Receptor LILRB4 (ILT3) Modulates Antigen Presenting Cell Phenotype And, along with LILRB2 (ILT4), Is Upregulated in Response to Salmonella Infection." *BMC immunology* 10(1): 56.

Bibliographie

- Brown, Kevin N., and Simon M. Barratt-Boyes. 2009. "Surface Phenotype and Rapid Quantification of Blood Dendritic Cell Subsets in the Rhesus Macaque." *Journal of Medical Primatology* 38(4): 272–78.
- Brown, Kevin N., Viskam Wijewardana, Xiangdong Liu, and Simon M. Barratt-Boyes. 2009. "Rapid Influx and Death of Plasmacytoid Dendritic Cells in Lymph Nodes Mediate Depletion in Acute Simian Immunodeficiency Virus Infection." *PLoS Pathogens* 5(5).
- Buisson, Sandrine et al. 2009. "Monocyte-Derived Dendritic Cells from HIV Type 1-Infected Individuals Show Reduced Ability to Stimulate T Cells and Have Altered Production of Interleukin (IL)-12 and IL-10." *The Journal of infectious diseases* 199(11): 1862–71.
- Burger, Harold, and Donald Hoover. 2008. "HIV-1 Tropism, Disease Progression, and Clinical Management." *The Journal of Infectious Diseases* 198(8): 1095–97.
- Cameron, P U et al. 1994. "Susceptibility of Dendritic Cells to HIV-1 Infection in Vitro." *Journal of leukocyte biology* 56(3): 257–65.
- Cameron, Paul U et al. 1992. "Dendritic Cells Exposed to Human Immunodeficiency Virus Type-1 Transmit a Vigorous Cytopathic Infection to CD4+ T Cells." *Science (New York, N.Y.)* 257(July): 383–87.
- Campbell-Yesufu, Omobolaji T., and Rajesh T. Gandhi. 2011. "Update on Human Immunodeficiency Virus (HIV)-2 Infection." *Clinical Infectious Diseases* 52(6): 780–87.
- Cao, W et al. 2006. "Plasmacytoid Dendritic Cell-Specific Receptor ILT7-Fc epsilonRI Gamma Inhibits Toll-like Receptor-Induced Interferon Production." *J Exp Med* 203(6): 1399–1405.
- Cao, W et al. 2009. "Regulation of TLR7/9 Responses in Plasmacytoid Dendritic Cells by BST2 and ILT7 Receptor Interaction." *J Exp Med* 206(7): 1603–14.
- Cao, W. 2006. "Plasmacytoid Dendritic Cell-Specific Receptor ILT7-Fc RI Inhibits Toll-like Receptor-Induced Interferon Production." *Journal of Experimental Medicine* 203(6):
- Carbone, Carmine et al. 2015. "An Angiopoietin-like Protein 2 Autocrine Signaling Promotes EMT during Pancreatic Ductal Carcinogenesis." *Oncotarget* 6(15): 13822–34.

Bibliographie

- Chakrabarti, Lisa A et al. 2000. "Normal T-Cell Turnover in Sooty Mangabeys Harboring Active Simian Immunodeficiency Virus Infection Normal T-Cell Turnover in Sooty Mangabeys Harboring Active Simian Immunodeficiency Virus Infection." *Journal of virology* 74(3): 1209–23.
- Chan, Kuan Rong et al. 2014. "Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor B1 Is Critical for Antibody-Dependent Dengue." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(7): 2722–27.
- Chang, C C et al. 2002. "Tolerization of Dendritic Cells by T(S) Cells: The Crucial Role of Inhibitory Receptors ILT3 and ILT4." *Nat Immunol* 3(3): 237–43.
- Chang, J Judy et al. 2012. "Differential Regulation of Toll-like Receptor Pathways in Acute and Chronic HIV-1 Infection." *AIDS (London, England)* 26(5): 533–41.
- Chapman, T L, A P Heikeman, and P J Bjorkman. 1999. "The Inhibitory Receptor LIR-1 Uses a Common Binding Interaction to Recognize Class I MHC Molecules and the Viral Homolog UL18." *Immunity* 11(5): 603–13.
- Chen, Jenny J-Y et al. 2002. "CD4 Lymphocytes in the Blood of HIV(+) Individuals Migrate Rapidly to Lymph Nodes and Bone Marrow: Support for Homing Theory of CD4 Cell Depletion." *Journal of leukocyte biology* 72(2): 271–78.
- Chowdhury, Ankita et al. 2015. "Differential Impact of In Vivo CD8 + T Lymphocyte Depletion in Controller versus Progressor Simian Immunodeficiency Virus-Infected Macaques." *Journal of Virology* 89(17): 8677–86.
- Cisse, Babacar et al. 2008. "Transcription Factor E2-2 Is an Essential and Specific Regulator of Plasmacytoid Dendritic Cell Development." *Cell* 135(1): 37–48.
- Ciubotariu, Rodica et al. 2001. "Detection of T Suppressor Cells in Patients with Organ Allografts." *Human Immunology* 62(1): 15–20.
- Clapham, Paul R., and Áine' McKnight. 2002. "Cell Surface Receptors, Virus Entry and Tropism of Primate Lentiviruses." *Journal of General Virology* 83(8): 1809–29.

Bibliographie

- Clark, Ian A, Alison C Budd, Lisa M Alleva, and William B Cowden. 2006. "Human Malarial Disease: A Consequence of Inflammatory Cytokine Release." *Malaria journal* 5(1): 85.
- Clavel, Francois et al. 1986. "Isolation of a New Human Retrovirus from West African Patients with AIDS." *Science (New York, N.Y.)* 233(4761): 343–46.
- Clerici, M. et al. 1989. "Detection of Three Distinct Patterns of T Helper Cell Dysfunction in Asymptomatic, Human Immunodeficiency Virus-Seropositive Patients. Independence of CD4+ Cell Numbers and Clinical Staging." *Journal of Clinical Investigation* 84(6): 1892–99.
- Coates, P. Toby H et al. 2003. "Dendritic Cell Subsets in Blood and Lymphoid Tissue of Rhesus Monkeys and Their Mobilization with Flt3 Ligand." *Blood* 102(7): 2513–21.
- Cocchi, Fiorenza et al. 1995. "Identification of RANTES, MIP-1alpha, and MIP-1beta as the Major HIV-Suppressive Factors Produced by CD8+ T Cells." *Science* 270(5243): 1811–15.
- Collin, Matthew, Naomi Mcgovern, and Muzlifah Haniffa. 2013. "Human Dendritic Cell Subsets." *Immunology* 140(1): 22–30.
- Colonna, M et al. 1998. "Human Myelomonocytic Cells Express an Inhibitory Receptor for Classical and Nonclassical MHC Class I Molecules." *J Immunol* 160(7): 3096–3100.
- Colovai, Adriana I. et al. 2003. "Regulatory CD8+CD28- T Cells in Heart Transplant Recipients." *Human Immunology* 64(1): 31–37.
- Connor, R. I. et al. 1997. "Change in Coreceptor Use Correlates with Disease Progression in HIV-1-Infected Individuals." *Journal of Experimental Medicine* 185(4): 621–28.
- Coombes, Janine L. et al. 2007. "A Functionally Specialized Population of Mucosal CD103 + DCs Induces Foxp3+ Regulatory T Cells via a TGFβ- and Retinoic Acid-Dependent Mechanism." *The Journal of Experimental Medicine* 204(8): 1757–64.
- Cooper, Max D. 2008. "Inhibition of Immune Cell Function." *Immunological Reviews* 224(1): 7–10.

Bibliographie

- Crozat, Karine et al. 2010. "The XC Chemokine Receptor 1 Is a Conserved Selective Marker of Mammalian Cells Homologous to Mouse CD8 α ⁺ Dendritic Cells." *The Journal of Experimental Medicine* 207(6): 1283–92.
- Cumont, M-C et al. 2008. "Early Divergence in Lymphoid Tissue Apoptosis between Pathogenic and Nonpathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infections of Nonhuman Primates." *Journal of virology* 82(3): 1175–84.
- Cunningham, Anthony L et al. 2010. "Viruses and Langerhans Cells." *Immunology and cell biology* 88(4): 416–23.
- Daëron, Marc et al. 1995. "The Same Tyrosine-Based Inhibition Motif, in the Intra-Cytoplasmic Domain of Fc γ RIIB, Regulates Negatively BCR-, TCR-, and FcR-Dependent Cell Activation." *Immunity* 3(5): 635–46.
- Daëron, Marc, Sébastien Jaeger, Louis Du Pasquier, and Eric Vivier. 2008. "Immunoreceptor Tyrosine-Based Inhibition Motifs: A Quest in the Past and Future." *Immunological Reviews* 224(1): 11–43.
- Dalglish, A G et al. 1984. "The CD4 (T4) Antigen Is an Essential Component of the Receptor for the AIDS Retrovirus." *Nature* 312(5996): 763–67.
- Decrion, Anne Zelig, Isabelle Dichamp, Audrey Varin, and Georges Herbein. 2005. "HIV and Inflammation." *Current HIV research* 3(3): 243–59.
- Deng, HongKui et al. 1996. "Identification of a Major Co-Receptor for Primary Isolates of HIV-1." *Nature* 381(6584): 661–66.
- Deng, Mi et al. 2014. "A Motif in LILRB2 Critical for Angptl2 Binding and Activation." *Blood* 124(6): 924–35.
- Dinter, Jens et al. 2015. "Variable Processing and Cross-Presentation of HIV by Dendritic Cells and Macrophages Shapes CTL Immunodominance and Immune Escape." *PLoS pathogens* 11(3): e1004725.

Bibliographie

- Diop, O M et al. 2000. "High Levels of Viral Replication during Primary Simian Immunodeficiency Virus SIVagm Infection Are Rapidly and Strongly Controlled in African Green Monkeys." *J Virol.* 74(16): 7538–47.
- 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(11): 4505–11.
- Doranz, Benjamin J. et al. 1996. "A Dual-Tropic Primary HIV-1 Isolate That Uses Fusin and the β -Chemokine Receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as Fusion Cofactors." *Cell* 85(7): 1149–58.
- Du, Yan et al. 2015. "Impact of the Leucocyte Immunoglobulin-like Receptor A3 (LILRA3) on Susceptibility and Subphenotypes of Systemic Lupus Erythematosus and Sjögren's Syndrome." *Annals of the Rheumatic Diseases* 74(11): 2070–2075 6p.
- Dutertre, C A et al. 2014. "TLR3-Responsive, XCR1+, CD141(BDCA-3)+/CD8alpha+-Equivalent Dendritic Cells Uncovered in Healthy and Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques." *Journal of Immunology* 192(10): 4697–4708.
- Dzionek, A. et al. 2000. "BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: Three Markers for Distinct Subsets of Dendritic Cells in Human Peripheral Blood." *The Journal of Immunology* 165(11): 6037–46.
- Espíndola, Milena S. et al. 2016. "HIV Infection: Focus on the Innate Immune Cells." *Immunologic Research*.
- Estes, Jacob D. et al. 2011. "Early Resolution of Acute Immune Activation and Induction of PD-1 in SIV-Infected Sooty Mangabeys Distinguishes Nonpathogenic from Pathogenic Infection in Rhesus Macaques." *Quest* 31(9): 3148–57.
- Euler, Zelda et al. 2010. "Cross-Reactive Neutralizing Humoral Immunity Does Not Protect from HIV Type 1 Disease Progression." *The Journal of Infectious Diseases* 201(7): 1045–53.

Bibliographie

- Evans, David T, and Guido Silvestri. 2013. "Nonhuman Primate Models in AIDS Research." *Current opinion in HIV and AIDS* 8(4): 255–61.
- Falivene, Juliana et al. 2015. "Th17 and Th17/Treg Ratio at Early HIV Infection Associate with Protective HIV-Specific CD8+ T-Cell Responses and Disease Progression." *Scientific Reports* 5(February): 11511.
- Fiebig, Eberhard W. et al. 2003. "Dynamics of HIV Viremia and Antibody Seroconversion in Plasma Donors: Implications for Diagnosis and Staging of Primary HIV Infection." *Aids* 17(March 2015): 1871–79.
- Figueroa-Vega, N. et al. 2006. "Phenotypic Analysis of IL-10-Treated, Monocyte-Derived Dendritic Cells in Patients with Systemic Lupus Erythematosus." *Scandinavian Journal of Immunology* 64(6): 668–76.
- Fischer, Will et al. 2010. "Transmission of Single HIV-1 Genomes and Dynamics of Early Immune Escape Revealed by Ultra-Deep Sequencing." *PLoS ONE* 5(8).
- Fogg DK et al. 2006. "A Clonogenic Bone Marrow Progenitor Specific for Macrophages and Dendritic Cells." *Science* 311(5757): 83–87.
- Fonteneau, Jean-François et al. 2004. "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activates Plasmacytoid Dendritic Cells and Concomitantly Induces the Bystander Maturation of Myeloid Dendritic Cells." *Journal of virology* 78(10): 5223–32.
- Freed, E O. 2015. "HIV-1 Assembly, Release and Maturation." *Nat Rev Microbiol* 13(8): 484–96.
- Frleta, D et al. 2012. "Apoptotic Microparticles Generated during Acute HIV-1 Infection Inhibit Human Dendritic Cells via CD44." *Retrovirology* 9(12): 4685–97.
- Galicia, Georgina, and Jennifer L. Gommerman. 2014. "Plasmacytoid Dendritic Cells and Autoimmune Inflammation." *Biological Chemistry* 395(3): 335–46.
- Gao, Xiaojiang et al. 2001. "Effect of a Single Amino Acid Change in MHC Class I Molecules on the Rate of Progression to AIDS." *New England Journal of Medicine* 344(22): 1668–75.

Bibliographie

- Gao, Xiaojiang et al. 2005. "AIDS Restriction HLA Allotypes Target Distinct Intervals of HIV-1 Pathogenesis." *Nature Medicine* 11(12): 1290–92.
- Gardner, M. B., and P. A. Luciw. 2008. "Macaque Models of Human Infectious Disease." *ILAR Journal* 49(2): 220–55.
- Gardner, Murray B, and Paul A Luciw. 2008. "Macaque Models of Human Infectious Disease." *ILAR Journal* 49(2): 220–55.
- Gaudin, Raphaël et al. 2013. "Dynamics of HIV-Containing Compartments in Macrophages Reveal Sequestration of Virions and Transient Surface Connections." *PLoS ONE* 8(7).
- Geijtenbeek, T B et al. 2000. "DC-SIGN, a Dendritic Cell-Specific HIV-1-Binding Protein That Enhances Trans-Infection of T Cells." *Cell* 100(5): 587–97.
- Gelderblom, H. R., M. Özel, and G. Pauli. 1989. "Morphogenesis and Morphology of HIV Structure-Function Relations." *Archives of Virology* 106(1–2): 1–13.
- Gerosa, F. et al. 2005. "The Reciprocal Interaction of NK Cells with Plasmacytoid or Myeloid Dendritic Cells Profoundly Affects Innate Resistance Functions." *The Journal of Immunology* 174(2): 727–34.
- Gilliet, Michel, Wei Cao, and Yong-Jun Liu. 2008. "Plasmacytoid Dendritic Cells: Sensing Nucleic Acids in Viral Infection and Autoimmune Diseases." *Nature Reviews Immunology* 8(8): 594–606.
- Giri, Malavika S, Michael Nebozhyn, Louise Showe, and Luis J Montaner. 2006. "Microarray Data on Gene Modulation by HIV-1 in Immune Cells: 2000-2006." *Journal of Leukocyte Biology* 80(5): 1031–43.
- de Goeje, Pauline L et al. 2015. "Immunoglobulin-like Transcript 3 Is Expressed by Myeloid-Derived Suppressor Cells and Correlates with Survival in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer." *Oncoimmunology* 4(7): e1014242.
- Goldstone, David C. et al. 2011. "HIV-1 Restriction Factor SAMHD1 Is a Deoxynucleoside Triphosphate Triphosphohydrolase." *Nature* 480(7377): 379–82.

Bibliographie

- Goncalves, Joao, and Mariana Santa-Marta. 2004. "HIV-1 Vif and APOBEC3G: Multiple Roads to One Goal." *Retrovirology* 1(1): 28.
- Gordon, S N et al. 2007. "Severe Depletion of Mucosal CD4+ T Cells in AIDS-Free Simian Immunodeficiency Virus-Infected Sooty Mangabeys." *J Immunol* 179(5): 3026–34.
- Gougeon, M. L., and M. Piacentini. 2009. "New Insights on the Role of Apoptosis and Autophagy in HIV Pathogenesis." *Apoptosis* 14(4): 501–8.
- Granelli-Piperno, A et al. 1996. "Efficient Interaction of HIV-1 with Purified Dendritic Cells via Multiple Chemokine Coreceptors." *J Exp Med* 184(6): 2433–38.
- Granelli-Piperno, Angela et al. 2004. "HIV-1-Infected Monocyte-Derived Dendritic Cells Do Not Undergo Maturation but Can Elicit IL-10 Production and T Cell Regulation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(20): 7669–74.
- Gregori, Silvia et al. 2010. "Differentiation of Type 1 T Regulatory Cells (Tr1) by Tolerogenic DC-10 Requires the IL-10-Dependent ILT4/HLA-G Pathway." *Blood* 116(6): 935–44.
- Gringhuis, S I et al. 2010. "HIV-1 Exploits Innate Signaling by TLR8 and DC-SIGN for Productive Infection of Dendritic Cells." *Nat Immunol* 11(5): 419–26.
- Guilliams, Martin et al. 2010. "Skin-Draining Lymph Nodes Contain Dermis-Derived CD103– Dendritic Cells That Constitutively Produce Retinoic Acid and Induce Foxp3+ Regulatory T Cells." *Blood* 115(10): 1–3.
- Guilliams, Martin et al. 2014. "Dendritic Cells, Monocytes and Macrophages: A Unified Nomenclature Based on Ontogeny." *Nature Reviews Immunology* 14(8): 571–78.
- Guilliams, Martin et al. 2016. "Unsupervised High-Dimensional Analysis Aligns Dendritic Cells across Tissues and Species." *Immunity* 45(3): 669–84.
- Hahn, Beatrice H, George M Shaw, K M De Cock, and Paul M Sharp. 2000. "AIDS as a Zoonosis: Scientific and Public Health Implications." *Science (New York, N.Y.)* 287(5453): 607–14.

Bibliographie

- Hamimi, Chiraz et al. 2016. "Dendritic Cells from HIV Controllers Have Low Susceptibility to HIV-1 Infection in Vitro but High Capacity to Capture HIV-1 Particles." *PLoS ONE* 11(8): 1–13.
- Haniffa, Muzlifah et al. 2012. "Human Tissues Contain CD141 Hi Cross-Presenting Dendritic Cells with Functional Homology to Mouse CD103 + Nonlymphoid Dendritic Cells." *Immunity* 37(1): 60–73.
- Hatzioannou, Theodora, and David T Evans. 2012. "Animal Models for HIV/AIDS Research." *Nature Reviews Microbiology* 10(12): 652–67.
- Heidkamp, Gordon F et al. 2016. "Human Lymphoid Organ Dendritic Cell Identity Is Predominantly Dictated by Ontogeny, Not Tissue Microenvironment." *Science Immunology* 1(6): 40–50.
- Held, W, and R A Mariuzza. 2008. "Cis Interactions of Immunoreceptors with MHC and Non-MHC Ligands." *Nat Rev Immunol* 8(4): 269–78.
- Hemelaar, Joris. 2012. "The Origin and Diversity of the HIV-1 Pandemic." *Trends in Molecular Medicine* 18(3): 182–92.
- Hemont, C. et al. 2013. "Human Blood mDC Subsets Exhibit Distinct TLR Repertoire and Responsiveness." *J Leukoc Biol* 93(4): 599–609.
- Her, Z. et al. 2010. "Active Infection of Human Blood Monocytes by Chikungunya Virus Triggers an Innate Immune Response." *The Journal of Immunology* 184(10): 5903–13.
- Herbeuval, Jean-Philippe, and Gene M. Shearer. 2007. "HIV-1 Immunopathogenesis: How Good Interferon Turns Bad." *Clinical Immunology* 123(2): 121–28.
- Hersperger, Adam R. et al. 2010. "Perforin Expression Directly Ex Vivo by HIV-Specific CD8+ T-Cells Is a Correlate of HIV Elite Control." *PLoS Pathogens* 6(5): 1–13.
- Higashino, Atsunori et al. 2012. "Whole-Genome Sequencing and Analysis of the Malaysian Cynomolgus Macaque (*Macaca Fascicularis*) Genome." *Genome biology* 13(7): R58.
- Hirayasu, Kouyuki et al. 2016. "Microbially Cleaved Immunoglobulins Are Sensed by the Innate Immune Receptor LILRA2." *Nature microbiology* 1(6): 16054.

Bibliographie

- Hirayasu, Kouyuki, and Hisashi Arase. 2015. "Functional and Genetic Diversity of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor and Implication for Disease Associations." *Journal of human genetics* 60(11): 703–8.
- Hladik, Florian et al. 2007. "Initial Events in Establishing Vaginal Entry and Infection by Human Immunodeficiency Virus Type-1." *Immunity* 26(2): 257–70.
- Hu, J, M B Gardner, and C J Miller. 2000. "Simian Immunodeficiency Virus Rapidly Penetrates the Cervicovaginal Mucosa after Intravaginal Inoculation and Infects Intraepithelial Dendritic Cells." *Journal of virology* 74(13): 6087–95.
- Huang, J et al. 2009. "HLA-B*35-Px-Mediated Acceleration of HIV-1 Infection by Increased Inhibitory Immunoregulatory Impulses." *J Exp Med* 206(13): 2959–66.
- Huang, J et al. 2010. "Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors Maintain Unique Antigen-Presenting Properties of Circulating Myeloid Dendritic Cells in HIV-1-Infected Elite Controllers." *Journal of Virology* 84(18): 9463–71.
- Huang, J et al. 2010. "Soluble HLA-G Inhibits Myeloid Dendritic Cell Function in HIV-1 Infection by Interacting with Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor B2." *J Virol* 84(20): 10784–91.
- Huang, J et al. 2009. "HLA-B*35-Px-Mediated Acceleration of HIV-1 Infection by Increased Inhibitory Immunoregulatory Impulses." *The Journal of experimental medicine* 206(13): 2959–66.
- Huang, J et al. 2011. "Dendritic Cell Dysfunction during Primary HIV-1 Infection." *Journal of Infectious Diseases* 204(10): 1557–62.
- Huang, J et al. 2012. "Systemic Inhibition of Myeloid Dendritic Cells by Circulating HLA Class I Molecules in HIV-1 Infection." *Retrovirology* 9: 11.
- Hudson, Laura Emily, and Rachel Louise Allen. 2016. "Leukocyte Ig-like Receptors - A Model for MHC Class I Disease Associations." *Frontiers in Immunology* 7(JUL): 1–8.

Bibliographie

- Hunt, Peter W. et al. 2008. "Relationship between T Cell Activation and CD4 + T Cell Count in HIV-Seropositive Individuals with Undetectable Plasma HIV RNA Levels in the Absence of Therapy." *The Journal of Infectious Diseases* 197(1): 126–33.
- Huynh, O A et al. 2007. "Down-Regulation of Leucocyte Immunoglobulin-like Receptor Expression in the Synovium of Rheumatoid Arthritis Patients after Treatment with Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs." *Rheumatology (Oxford)* 46(5): 742–51.
- Ince, M. Nedim et al. 2004. "Increased Expression of the Natural Killer Cell Inhibitory Receptor CD85j/ILT2 on Antigen-Specific Effector CD8 T Cells and Its Impact on CD8 T-Cell Function." *Immunology* 112(4): 531–42.
- Inui, Masanori et al. 2016. "Tolerogenic Immunoreceptor ILT3/LILRB4 Paradoxically Marks Pathogenic Auto-Antibodyproducing Plasmablasts and Plasma Cells in Non-Treated SLE." *International Immunology* 28(12): 597–604.
- Ivashkiv, Lionel B. 2009. "Cross-Regulation of Signaling by ITAM-Associated Receptors." *Nature Immunology* 10(4): 340–47.
- Jacquelin, Béatrice et al. 2009. "Nonpathogenic SIV Infection of African Green Monkeys Induces a Strong but Rapidly Controlled Type I IFN Response." *The Journal of clinical investigation* 119(12): 3544–55.
- Jacquelin, Béatrice et al. 2014. "Innate Immune Responses and Rapid Control of Inflammation in African Green Monkeys Treated or Not with Interferon-Alpha during Primary SIVagm Infection." *PLoS Pathogens* 10(7).
- Jego, Gaetan et al. 2003. "Plasmacytoid Dendritic Cells Induce Plasma Cell Differentiation through Type I Interferon and Interleukin 6." *Immunity* 19(2): 225–34.
- Jin, Xia et al. 1999. "Dramatic Rise in Plasma Viremia after CD8+ T Cell Depletion in Simian Immunodeficiency Virus–infected Macaques." *Journal of Experimental Medicine* 189(6): 991–98.
- Jones, D C et al. 2011. "HLA Class I Allelic Sequence and Conformation Regulate Leukocyte Ig-like Receptor Binding." *J Immunol* 186(5): 2990–97.

Bibliographie

- Jones, Des C et al. 2011. "HLA Class I Allelic Sequence and Conformation Regulate Leukocyte Ig-like Receptor Binding." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 186(5): 2990–97.
- Jongbloed, Sarah L et al. 2010. "Human CD141+ (BDCA-3)+ Dendritic Cells (DCs) Represent a Unique Myeloid DC Subset That Cross-Presents Necrotic Cell Antigens." *The Journal of experimental medicine* 207(6): 1247–60.
- Kadowaki, N et al. 2001. "Subsets of Human Dendritic Cell Precursors Express Different Toll-like Receptors and Respond to Different Microbial Antigens." *The Journal of experimental medicine* 194(6): 863–69.
- 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(2): 219–26.
- Kalmbach, Yvonne et al. 2006. "Increase in Annexin V-Positive B Cells Expressing LILRB1/ILT2/CD85j in Malaria." *European Cytokine Network* 17(3): 175–80.
- Kang, Xunlei et al. 2015. "Inhibitory Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors: Immune Checkpoint Proteins and Tumor Sustaining Factors." *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 4101(February).
- Kang, Xunlei et al. 2016. "Inhibitory Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors: Immune Checkpoint Proteins and Tumor Sustaining Factors." *Cell Cycle* 15(1): 25–40.
- Karsunky, H. et al. 2003. "Flt3 Ligand Regulates Dendritic Cell Development from Flt3+ Lymphoid and Myeloid-Committed Progenitors to Flt3+ Dendritic Cells In Vivo." *Journal of Experimental Medicine* 198(2): 305–13.
- Kaslow RA, Carrington M, Apple R, Park L, Muñoz A, Saah AJ, Goedert JJ, Winkler C, O'Brien SJ, Rinaldo C, Detels R, Blattner W, Phair J, Erlich H, Mann DL. 1996. "Influence of Combinations of Human Major Histocompatibility Complex Genes on the Course of HIV-1 Infection." *Nat Med* 2(4): 405–11.
- Katz, H R. 2006. "Inhibition of Inflammatory Responses by Leukocyte Ig-like Receptors." *Adv Immunol* 91: 251–72.

Bibliographie

- Kaufmann, Daniel E et al. 2007. "Upregulation of CTLA-4 by HIV-Specific CD4+ T Cells Correlates with Disease Progression and Defines a Reversible Immune Dysfunction." *Nature immunology* 8(11): 1246–54.
- Kawamura, Tatsuyoshi et al. 2003. "R5 HIV Productively Infects Langerhans Cells, and Infection Levels Are Regulated by Compound CCR5 Polymorphisms." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(14): 8401–6.
- Keating, Sheila M. et al. 2016. "Magnitude and Quality of Cytokine and Chemokine Storm during Acute Infection Distinguish Non-Progressive and Progressive Simian Immunodeficiency Virus Infections of Nonhuman Primates." *Journal of Virology* (September): JVI.01061-16.
- Kedzierska, Katherine, and Suzanne Crowe. 2002. "The Role of Monocytes and Macrophages in the Pathogenesis of HIV-1 Infection." *Current Medicinal Chemistry* 9(21): 1893–1903.
- Keele, Brandon F et al. 2008. "Identification and Characterization of Transmitted and Early Founder Virus Envelopes in Primary HIV-1 Infection." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(21): 7552–57.
- Keiter, E A et al. 2010. "The Major Genetic Determinants of HIV-1 Control Affect HLA Class I Peptide Presentation." *Science* 330(6010): 1551–57.
- Kim-Schulze, Seunghee et al. 2006. "Recombinant Ig-like Transcript 3-Fc Modulates T Cell Responses via Induction of Th Anergy and Differentiation of CD8+ T Suppressor Cells." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 176(5): 2790–98.
- Kim, Taeho et al. 2013. "Human LILRB2 Is a β -Amyloid Receptor and Its Murine Homolog PirB Regulates Synaptic Plasticity in an Alzheimer's Model." 7901(September): 207–10.
- Klatzmann, D et al. 1984. "T-Lymphocyte T4 Molecule Behaves as the Receptor for Human Retrovirus LAV." *Nature* 312(5996): 767–68.
- Kløverpris, Henrik N et al. 2016. "Innate Lymphoid Cells Are Depleted Irreversibly during Acute HIV-1 Infection in the Absence of Viral Suppression." *Immunity* 44(2): 391–405.

Bibliographie

- Koch, S et al. 2005. "Association of Multiple Sclerosis with ILT6 Deficiency." *Genes and immunity* 6(5): 445–47.
- Kollnberger, S et al. 2002. "Cell-Surface Expression and Immune Receptor Recognition of HLA-B27 Homodimers." *Arthritis Rheum* 46(11): 2972–82.
- Koppensteiner, Herwig, and L Wu. 2012. "Macrophages and Their Relevance in Human Immunodeficiency Virus Type I Infection." *Retrovirology* 9(1): 82.
- Kornfeld, Christopher et al. 2005. "Antiinflammatory Profiles during Primary SIV Infection in African Green Monkeys Are Associated with Protection against AIDS." *Journal of Clinical Investigation* 115(4): 1082–91.
- Köstlin, Natascha et al. 2017. "HLA-G Promotes Myeloid-Derived Suppressor Cell Accumulation and Suppressive Activity during Human Pregnancy through Engagement of the Receptor ILT4." *European Journal of Immunology* 47(2): 374–84.
- Krathwohl, Mitchell D, Timothy W Schacker, and Jodi L Anderson. 2006a. "Abnormal Presence of Semimature Dendritic Cells That Induce Regulatory T Cells in HIV-Infected Subjects." *The Journal of infectious diseases* 193: 494–504.
- Krathwohl, Mitchell D. 2006b. "Abnormal Presence of Semimature Dendritic Cells That Induce Regulatory T Cells in HIV-Infected Subjects." *The Journal of infectious diseases* 193(4): 494–504.
- Kubagawa, H, P D Burrows, and M D Cooper. 1997. "A Novel Pair of Immunoglobulin-like Receptors Expressed by B Cells and Myeloid Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(10): 5261–66.
- Kubagawa, Hiromi et al. 1999. "Biochemical Nature and Cellular Distribution of the Paired Immunoglobulin-like Receptors, PIR-A and PIR-B." *The Journal of experimental medicine* 189(2): 309–18. 78F5C8AC2006.
- Laforge, Mireille et al. 2011. "HIV/SIV Infection Primes Monocytes and Dendritic Cells for Apoptosis." *PLoS Pathogens* 7(6).

Bibliographie

- Lahouassa, Hichem et al. 2013. "SAMHD1 Restricts HIV-1 by Reducing the Intracellular Pool of Deoxynucleotide Triphosphates." *Nature immunology* 13(3): 223–28.
- Lambotte, Olivier et al. 2006. "HIV Controllers: A Homogeneous Group of HIV-1 Infected Patients with a Spontaneous Control of Viral Replication." *Clinical Infectious Diseases* 54(10): 566–71.
- Lambotte, Olivier et al. 2009. "Heterogeneous Neutralizing Antibody and Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity Responses in HIV-1 Elite Controllers." *AIDS (London, England)* 23(8): 897–906.
- Langford, Simone E, Jintanat Ananworanich, and David A Cooper. 2007. "Predictors of Disease Progression in HIV Infection: A Review." *AIDS research and therapy* 4: 11. [/pmc/articles/PMC1887539/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1887539/).
- Lauterbach, Henning et al. 2010. "Mouse CD8 α + DCs and Human BDCA3+ DCs Are Major Producers of IFN- λ in Response to Poly IC." *The Journal of Experimental Medicine* 207(12): 2703–17.
- Lavreys, Ludo et al. 2006. "Higher Set Point Plasma Viral Load and More-Severe Acute HIV Type 1 (HIV-1) Illness Predict Mortality among High-Risk HIV-1-Infected African Women." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 42(9): 1333–39.
- Lee, B et al. 1999. "Quantification of CD4, CCR5, and CXCR4 Levels on Lymphocyte Subsets, Dendritic Cells, and Differentially Conditioned Monocyte-Derived Macrophages." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(9): 5215–20.
- Lee, Delphine J et al. 2007. "LILRA2 Activation Inhibits Dendritic Cell Differentiation and Antigen Presentation to T Cells." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 179(12): 8128–36.
- Lemp, G F et al. 1990. "Survival Trends for Patients with AIDS." *JAMA : The Journal of the American Medical Association* 263(3): 402–6.

Bibliographie

- Letvin, N L et al. 1985. "Induction of AIDS-like Disease in Macaque Monkeys with T-Cell Tropic Retrovirus STLV-III." *Science* 230(4721): 71–73.
- Lewis, Kanako L. et al. 2011. "Notch2 Receptor Signaling Controls Functional Differentiation of Dendritic Cells in the Spleen and Intestine." *Immunity* 35(5): 780–91.
- Li, Q. et al. 2009. "Microarray Analysis of Lymphatic Tissue Reveals Stage-Specific, Gene Expression Signatures in HIV-1 Infection." *The Journal of Immunology* 183(3): 1975–82.
- Lichterfeld, M et al. 2007a. "A Viral CTL Escape Mutation Leading to Immunoglobulin-like Transcript 4-Mediated Functional Inhibition of Myelomonocytic Cells." *J Exp Med* 204(12): 2813–24.
- Lichterfeld, M et al. 2007b. "A Viral CTL Escape Mutation Leading to Immunoglobulin-like Transcript 4-Mediated Functional Inhibition of Myelomonocytic Cells." *J Exp Med* 204(12): 2813–24.
- Lichterfeld, M, and X G Yu. 2012. "The Emerging Role of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors (LILRs) in HIV-1 Infection." *J Leukoc Biol* 91(1): 27–33.
- Little, S J et al. 1999. "Viral Dynamics of Acute HIV-1 Infection." *The Journal of experimental medicine* 190(6): 841–50.
- Liu, K. et al. 2009. "In Vivo Analysis of Dendritic Cell Development and Homeostasis." *Science* 324(April): 392–97.
- Ma, G, PY Pan, and S Eisenstein. 2011. "Paired Immunoglobulin Like Receptor-B Regulates the Suppressive Function and Fate of Myeloid Derived Suppressor Cells." *Immunity* 34(3): 385–95.
- Macdonald, Kelli P a et al. 2002. "Characterization of Human Blood Dendritic Cell Subsets." *Cell* 100(13): 4512–20.
- Maddon, Paul Jay et al. 1986. "The T4 Gene Encodes the AIDS Virus Receptor and Is Expressed in the Immune System and the Brain." *Cell* 47(3): 333–48.

Bibliographie

- Majumder, Biswanath et al. 2005. "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vpr Impairs Dendritic Cell Maturation and T-Cell Activation: Implications for Viral Immune Escape." *Journal of virology* 79(13): 7990–8003.
- Malleret, Benoît et al. 2008. "Effect of SIVmac Infection on Plasmacytoid and CD1c+ Myeloid Dendritic Cells in Cynomolgus Macaques." *Immunology* 124(2): 223–33.
- Manavalan, J S et al. 2003. "High Expression of ILT3 and ILT4 Is a General Feature of Tolerogenic Dendritic Cells." *Transpl Immunol* 11(3–4): 245–58.
- Mandl, Judith N et al. 2008. "Divergent TLR7 and TLR9 Signaling and Type I Interferon Production Distinguish Pathogenic and Nonpathogenic AIDS Virus Infections." *Nature Medicine* 14(10): 1077–87.
- Manel, Nicolas et al. 2010. "A Cryptic Sensor for HIV-1 Activates Antiviral Innate Immunity in Dendritic Cells." *Nature* 467(7312): 214–17.
- Manz, M G et al. 2001. "Dendritic Cell Development from Common Myeloid Progenitors." *Annals of the New York Academy of Sciences* 938: 167-73-4.
- Manz, Markus G. et al. 2001. "Dendritic Cell Potentials of Early Lymphoid and Myeloid Progenitors." *Blood* 97(11): 3333–41.
- Marras, Francesco et al. 2013. "Natural Killer Cells in HIV Controller Patients Express an Activated Effector Phenotype and Do Not up-Regulate NKp44 on IL-2 Stimulation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(29): 11970–75.
- Martin-Gayo, Enrique et al. 2015. "Potent Cell-Intrinsic Immune Responses in Dendritic Cells Facilitate HIV-1-Specific T Cell Immunity in HIV-1 Elite Controllers." *PLoS Pathogens* 11(6): 1–22.
- Martin-Gayo, Enrique, Elena Sierra-Filardi, Angel L. Corbí, and María L. Toribio. 2010. "Plasmacytoid Dendritic Cells Resident in Human Thymus Drive Natural Treg Cell Development." *Blood* 115(26): 5366–75.

Bibliographie

- Martin-Gayo, Enrique, and Xu G. Yu. 2017. "Dendritic Cell Immune Responses in HIV-1 Controllers." *Current HIV/AIDS reports* 14(1): 1–7.
- Masuda, A et al. 2007. "Cis Binding between Inhibitory Receptors and MHC Class I Can Regulate Mast Cell Activation." *J Exp Med* 204(4): 907–20.
- Mattapallil, Joseph J et al. 2005. "Massive Infection and Loss of Memory CD4+ T Cells in Multiple Tissues during Acute SIV Infection." *Nature* 434(7037): 1093–97.
- Matthews, K et al. 2012. "Potent Induction of Antibody-Secreting B Cells by Human Dermal-Derived CD14+ Dendritic Cells Triggered by Dual TLR Ligation." *J Immunol* 189(12): 5729–44.
- McIlroy, D et al. 1995. "Infection Frequency of Dendritic Cells and CD4+ T Lymphocytes in Spleens of Human Immunodeficiency Virus-Positive Patients." *Journal of virology* 69(8): 4737–45.
- McLellan, A. D. et al. 1998. "Dermal Dendritic Cells Associated with T Lymphocytes in Normal Human Skin Display an Activated Phenotype." *Journal of Investigative Dermatology* 111(5): 841–49.
- Mee, Edward T. et al. 2009. "Mhc Haplotype H6 Is Associated with Sustained Control of SIVmac251 Infection in Mauritian Cynomolgus Macaques." *Immunogenetics* 61(5): 327–39.
- Mee, Edward T. 2015. "MHC Haplotype Frequencies in a UK Breeding Colony of Mauritian Cynomolgus Macaques Mirror Those Found in a Distinct Population from the Same Geographic Origin." 38(1): 1–14.
- Meier, A et al. 2007. "MyD88-Dependent Immune Activation Mediated by Human Immunodeficiency Virus Type 1-Encoded Toll-like Receptor Ligands." *J Virol* 81(15): 8180–91.
- Meier, Angela et al. 2009. "Sex Differences in the Toll-like Receptor-Mediated Response of Plasmacytoid Dendritic Cells to HIV-1." *Nature medicine* 15(8): 955–59.

Bibliographie

- Meixlsperger, Sonja et al. 2013. "CD141+ Dendritic Cells Produce Prominent Amounts of IFN- α after dsRNA Recognition and Can Be Targeted via DEC-205 in Humanized Mice." *Blood* 121(25): 5034–44.
- Mellors, J W et al. 1996. "Prognosis in HIV-1 Infection Predicted by the Quantity of Virus in Plasma." *Science (New York, N.Y.)* 272(5265): 1167–70.
- Merad, Miriam et al. 2013. "The Dendritic Cell Lineage: Ontogeny and Function of Dendritic Cells and Their Subsets in the Steady State and the Inflamed Setting." *Annual Review of Immunology* 31(1): 563–604.
- Migueles, S A et al. 2000. "HLA B*5701 Is Highly Associated with Restriction of Virus Replication in a Subgroup of HIV-Infected Long Term Nonprogressors." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(6): 2709–14.
- Migueles, Stephen A et al. 2008. "Lytic Granule Loading of CD8+ T Cells Is Required for HIV-Infected Cell Elimination Associated with Immune Control." *Immunity* 29(6): 1009–21.
- Miller, E A et al. 2012. "Plasma Factors during Chronic HIV-1 Infection Impair IL-12 Secretion by Myeloid Dendritic Cells via a Virus-Independent Pathway." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 61(5): 535–44.
- Miner, Jonathan J. et al. 2015. "Brief Report: Chikungunya Viral Arthritis in the United States: A Mimic of Seronegative Rheumatoid Arthritis." *Arthritis & Rheumatology* 67(5): 1214–20.
- Mittag, Diana et al. 2011. "Human Dendritic Cell Subsets from Spleen and Blood Are Similar in Phenotype and Function but Modified by Donor Health Status." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 186(11): 6207–17.
- Moir, Susan et al. 2008. "Evidence for HIV-Associated B Cell Exhaustion in a Dysfunctional Memory B Cell Compartment in HIV-Infected Viremic Individuals." *The Journal of experimental medicine* 205(8): 1797–1805.
- Moir, Susan, and As Fauci. 2009. "B Cells in HIV Infection and Disease." *Nature Reviews Immunology* 9(4): 235–45.

Bibliographie

- Monsiváis-Urenda, A. et al. 2007. "Analysis of Expression and Function of the Inhibitory Receptor ILT2 (CD85j/LILRB1/LIR-1) in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE)." *Journal of Autoimmunity* 29(2–3): 97–105.
- Moretta, Alessandro et al. 1996. "Receptors for HLA Class-I Molecules in Human Natural Killer Cells." *Annual Review of Immunology* 14(1): 619–48.
- Moseman, E. A. et al. 2004. "Human Plasmacytoid Dendritic Cells Activated by CpG Oligodeoxynucleotides Induce the Generation of CD4+CD25+ Regulatory T Cells." *The Journal of Immunology* 173(7): 4433–42.
- Muthumani, Karupiah et al. 2005. "HIV-1 Vpr Inhibits the Maturation and Activation of Macrophages and Dendritic Cells in Vitro." *International Immunology* 17(2): 103–16.
- Myszka, D G et al. 2000. "Energetics of the HIV gp120-CD4 Binding Reaction." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(16): 9026–31.
- Naik, Shalin H et al. 2006. "Intrasplenic Steady-State Dendritic Cell Precursors That Are Distinct from Monocytes." *Nature immunology* 7(6): 663–71.
- Naik, Shalin H et al. 2007. "Development of Plasmacytoid and Conventional Dendritic Cell Subtypes from Single Precursor Cells Derived in Vitro and in Vivo." *Nature immunology* 8(11): 1217–26.
- Naji, Abderrahim, Antoine Durrbach, Edgardo D. Carosella, and Nathalie Rouas-Freiss. 2007. "Soluble HLA-G and HLA-G1 Expressing Antigen-Presenting Cells Inhibit T-Cell Alloproliferation through ILT-2/ILT-4/FasL-Mediated Pathways." *Human Immunology* 68(4): 233–39.
- Navarro, Francisco et al. 1999. "The ILT2(LIR1) and CD94/NKG2A NK Cell Receptors Respectively Recognize HLA-G1 and HLA-E Molecules Co-Expressed on Target Cells." *European Journal of Immunology* 29(1): 277–83.
- Ndhlovu, Zaza M. et al. 2013. "High-Dimensional Immunomonitoring Models of HIV-1-Specific CD8 T-Cell Responses Accurately Identify Subjects Achieving Spontaneous Viral Control." *Blood* 121(5): 801–11.

Bibliographie

- Nieminen, Janne K. et al. 2013. "Dendritic Cells from Crohn's Disease Patients Show Aberrant STAT1 and STAT3 Signaling." *PLoS ONE* 8(8).
- Nigam, P et al. 2010. "Expansion of FOXP3+ CD8 T Cells with Suppressive Potential in Colorectal Mucosa Following a Pathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infection Correlates with Diminished Antiviral T Cell Response and Viral Control." *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 184(4): 1690–1701.
- Nimmerjahn, F, and A Lux. 2014. "LILR-B1 Blocks Activating FcγR Signaling to Allow Antibody Dependent Enhancement of Dengue Virus Infection." *Proc Natl Acad Sci U S A* 111(7): 2404–5.
- Nizzoli, Giulia et al. 2013. "Human CD1c+ Dendritic Cells Secrete High Levels of IL-12 and Potently Prime Cytotoxic T-Cell Responses." *Blood* 122(6): 932–42.
- Noel, Nicolas et al. 2014. "Elevated IP10 Levels Are Associated with Immune Activation and Low CD4⁺ T-Cell Counts in HIV Controller Patients." *Aids* 28(4): 467–76.
- O'Keeffe, Meredith, Wai Hong Mok, and Kristen J. Radford. 2015. "Human Dendritic Cell Subsets and Function in Health and Disease." *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 72(22): 4309–25.
- Okulicz, Jason F et al. 2009. "Clinical Outcomes of Elite Controllers, Viremic Controllers, and Long-Term Nonprogressors in the US Department of Defense HIV Natural History Study." *The Journal of infectious diseases* 200(11): 1714–23.
- Okulicz, Jason F, and Olivier Lambotte. 2011. "Epidemiology and Clinical Characteristics of Elite Controllers." *Current Opinion in HIV and AIDS* 6(3): 163–68.
- Onai, Nobuyuki et al. 2007. "Identification of Clonogenic Common Flt3+M-CSFR+ Plasmacytoid and Conventional Dendritic Cell Progenitors in Mouse Bone Marrow." *Nature immunology* 8(11): 1207–16.
- Orsini, Giulia et al. 2014. "Quantification of Blood Dendritic Cells in Colorectal Cancer Patients During the Course of Disease." *Pathology & Oncology Research* 20(2): 267–76.

Bibliographie

- Owen, Rachel E et al. 2010. "HIV+ Elite Controllers Have Low HIV-Specific T-Cell Activation yet Maintain Strong, Polyfunctional T-Cell Responses." *AIDS* 24(8): 1095–1105.
- Pace, Matthew J., Luis Agosto, Erin H. Graf, and Una O'Doherty. 2011. "HIV Reservoirs and Latency Models." *Virology* 411(2): 344–54.
- Pandrea, Ivona V. et al. 2015. "Acute Loss of Intestinal CD4+ T Cells Is Not Predictive of Simian Immunodeficiency Virus Virulence." 510(7503): 84–91.
- Pereira, L E et al. 2007. "Simian Immunodeficiency Virus (SIV) Infection Influences the Level and Function of Regulatory T Cells in SIV-Infected Rhesus Macaques but Not SIV-Infected Sooty Mangabeys." *Journal of virology* 81(9): 4445–56.
- Pereyra, Florencia et al. 2008. "Genetic and Immunologic Heterogeneity among Persons Who Control HIV Infection in the Absence of Therapy." *The Journal of infectious diseases* 197: 563–71.
- Pierre Roques, Karl Ljungberg, Beate M. Kümmerer, Leslie Gosse, Nathalie Dereuddre-Bosquet, Nicolas Tchitchek, David Hallengård, Juan García-Arriaza, Andreas Meinke, Mariano Esteban, Andres Merits, Roger Le Grand, Peter Liljeström. 2017. "Attenuated and Vectored Vaccines Protect Nonhuman Primates against Chikungunya Virus." *JCI Insight* 2(6): e83527.
- Piguet, Vincent, and Ralph M. Steinman. 2007. "The Interaction of HIV with Dendritic Cells: Outcomes and Pathways." *Trends in Immunology* 28(11): 503–10.
- Pope, M et al. 1995. "Low Levels of HIV-1 Infection in Cutaneous Dendritic Cells Promote Extensive Viral Replication upon Binding to Memory CD4+ T Cells." *The Journal of experimental medicine* 182(6): 2045–56.
- Poulin, Lionel F. et al. 2012. "DNDR-1 Is a Specific and Universal Marker of Mouse and Human Batf3-Dependent Dendritic Cells in Lymphoid and Nonlymphoid Tissues." *Blood* 119(25): 6052–62.

Bibliographie

- Presicce, Pietro et al. 2012. "Myeloid Dendritic Cells Isolated from Tissues of SIV-Infected Rhesus Macaques Promote the Induction of Regulatory T Cells." *AIDS (London, England)* 26(3): 263–73.
- Puppo, Francesco et al. 1994. "Increased Level of Serum HLA Class I Antigens in HIV Infection Correlation with Disease Progression." *Human Immunology* 40(4): 259–66.
- Qiu, J. et al. 2006. "Soluble HLA-G Expression and Renal Graft Acceptance." *American Journal of Transplantation* 6(9): 2152–56.
- Ravetch, Jeffrey V, and Lewis L Lanier. 2000. "Immune Inhibitory Receptors." *Science* 290(5489): 84–89.
- Ristich, Vladimir, Wei Zhang, Siyuan Liang, and Anatolij Horuzsko. 2007. "Mechanisms of Prolongation of Allograft Survival by HLA-G/ILT4-Modified Dendritic Cells." *Human Immunology* 68(4): 264–71.
- RM, Steinman, and Cohn ZA. 1973. "Identification of a Novel Cell Type in Peripheral Lymphoid Organs of Mice. I. Morphology, Quantitation, Tissue Distribution." *J Exp Med* 137: 1142–62.
- Roberts, Lindi et al. 2010. "Plasma Cytokine Levels during Acute HIV-1 Infection Predict HIV Disease Progression." *Aids* 24(6): 819–31.
- Rose, Kristine M., Mariana Marin, Susan L. Kozak, and David Kabat. 2004. "The Viral Infectivity Factor (Vif) of HIV-1 Unveiled." *Trends in Molecular Medicine* 10(6): 291–97.
- Rydnert, Frida, Kristina Lundberg, Lennart Greiff, and Malin Lindstedt. 2014. "Circulating CD1c(+) DCs Are Superior at Activating Th2 Responses upon Phl P Stimulation Compared with Basophils and pDCs." *Immunology and cell biology* 92(6): 557–60.
- Ryu, M et al. 2011. "LILRA3 Binds Both Classical and Non-Classical HLA Class I Molecules but with Reduced Affinities Compared to LILRB1/LILRB2: Structural Evidence." *PLoS One* 6(4): e19245.

Bibliographie

- Sabado, Rachel Lubong et al. 2010. "Evidence of Dysregulation of Dendritic Cells in Primary HIV Infection." *Blood* 116(19): 3839–52.
- Sabado, Rachel Lubong et al. 2013. "Evidence of Dysregulation of Dendritic Cells in Primary HIV Infection." 116(19): 3839–52.
- Saez-Cirion, A. et al. 2007. "HIV Controllers Exhibit Potent CD8 T Cell Capacity to Suppress HIV Infection Ex Vivo and Peculiar Cytotoxic T Lymphocyte Activation Phenotype." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(16): 6776–81.
- Sáez-cirión, Asier et al. 2011. "Restriction of HIV-1 Replication in Macrophages and CD4 + T Cells from HIV Controllers." *Blood* 118(4): 955–64.
- Sancho, David et al. 2009. "Identification of a Dendritic Cell Receptor That Couples Sensing of Necrosis to Immunity." *Nature* 458(7240): 899–903.
- Saracino, Annalisa et al. 2013. "X4 Viruses Are Frequently Archived in Patients with Long-Term HIV Infection but Do Not Seem to Influence The 'inflamm-Aging' process." *BMC infectious diseases* 13(1): 220.
- Sattentau, Q J et al. 1988. "The Human and Simian Immunodeficiency Viruses HIV-1, HIV-2 and SIV Interact with Similar Epitopes on Their Cellular Receptor, the CD4 Molecule." *AIDS (London, England)* 2(2): 101–5.
- Saverino, D et al. 2000. "The CD85/LIR-1/ILT2 Inhibitory Receptor Is Expressed by All Human T Lymphocytes and down-Regulates Their Functions." *J Immunol* 165(7): 3742–55.
- Saverino, D et al. 2004. "Specific Recognition of the Viral Protein UL18 by CD85j/LIR-1/ILT2 on CD8+ T Cells Mediates the Non-MHC-Restricted Lysis of Human Cytomegalovirus-Infected Cells." *J Immunol* 172(9): 5629–37.
- Schafer, Jamie L. et al. 2015. "Accumulation of Cytotoxic CD16 + NK Cells in SIV-Infected Lymph Nodes Associated with in Situ Differentiation and Functional Anergy." *Journal of Virology* 89(April): JVI.00660-15.

Bibliographie

- Schilte, Clémentine et al. 2010. "Type I IFN Controls Chikungunya Virus via Its Action on Nonhematopoietic Cells." *The Journal of experimental medicine* 207(2): 429–42.
- Schlitzer, Andreas et al. 2013. "IRF4 Transcription Factor-Dependent CD11b+ Dendritic Cells in Human and Mouse Control Mucosal IL-17 Cytokine Responses." *Immunity* 38(5): 970–83.
- Schütz, Fabian, and Holger Hackstein. 2014. "Identification of Novel Dendritic Cell Subset Markers in Human Blood." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 443(2): 453–57.
- See, Peter et al. 2017. "Mapping the Human DC Lineage through the Integration of High-Dimensional Techniques." *Science (New York, N.Y.)* 356(6342).
- Segura, Elodie. 2016. "Review of Mouse and Human Dendritic Cell Subsets." *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1423(May): 3–15.
- Segura, Elodie, and Sebastian Amigorena. 2013. "Inflammatory Dendritic Cells in Mice and Humans." *Trends in Immunology* 34(9): 440–45.
- SG, Deeks et al. 2004. "Immune Activation Set Point during Early HIV Infection Predicts Subsequent CD4+ T-Cell Changes Independent of Viral Load." *Blood* 104(4): 942–47.
- Sharp, Paul M., and Beatrice H. Hahn. 2011. "Origins of HIV and the AIDS Pandemic." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 1(1): 1–22.
- Shiroishi, M et al. 2003. "Human Inhibitory Receptors Ig-like Transcript 2 (ILT2) and ILT4 Compete with CD8 for MHC Class I Binding and Bind Preferentially to HLA-G." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(15): 8856–61.
- Shortman, Ken, and Shalin H. Naik. 2007. "Steady-State and Inflammatory Dendritic-Cell Development." *Nature Reviews Immunology* 7(1): 19–30. 0.1038/nri1996.
- Siliciano, Janet D et al. 2003. "Long-Term Follow-up Studies Confirm the Stability of the Latent Reservoir for HIV-1 in Resting CD4+ T Cells." *Nature medicine* 9(6): 727–28.

Bibliographie

- Silvestri, Guido et al. 2003. "Nonpathogenic SIV Infection of Sooty Mangabeys Is Characterized by Limited Bystander Immunopathology despite Chronic High-Level Viremia." *Immunity* 18(3): 441–52.
- Slukvin, I. I. et al. 2006. "Cloning of Rhesus Monkey LILRs." *Tissue Antigens* 67(4): 331–37.
- Smed-sørensen, Anna et al. 2005. "Differential Susceptibility to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells Differential Susceptibility to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells." *Journal of virology* 79(14): 8861–69.
- Smed-Sørensen, Anna et al. 2005. "Differential Susceptibility to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells." *Journal of virology* 79(14): 8861–69.
- de Sorrentino, A H et al. 2000. "HLA Class I Alleles Associated with Susceptibility or Resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection among a Population in Chaco Province, Argentina." *The Journal of infectious diseases* 182(5): 1523–26.
- Spira, A I et al. 1996. "Cellular Targets of Infection and Route of Viral Dissemination after an Intravaginal Inoculation of Simian Immunodeficiency Virus into Rhesus Macaques." *The Journal of experimental medicine* 183(1): 215–25.
- Stacey, Andrea R et al. 2009. "Induction of a Striking Systemic Cytokine Cascade prior to Peak Viremia in Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection, in Contrast to More Modest and Delayed Responses in Acute Hepatitis B and C Virus Infections." *Journal of virology* 83(8): 3719–33.
- Stockmann, M et al. 2000. "Mechanisms of Epithelial Barrier Impairment in HIV Infection." *Annals of the New York Academy of Sciences* 915: 293–303.
- Stremlau, Matthew et al. 2004. "The Cytoplasmic Body Component TRIM5alpha Restricts HIV-1 Infection in Old World Monkeys." *Nature* 427(6977): 848–53.
- Sui, Yongjun, Shari Gordon, Genoveffa Franchini, and Jay A Berzofsky. 2013. "Nonhuman Primate Models for HIV/AIDS Vaccine Development." *Current protocols in immunology / edited by John E. Coligan ... [et al.]* 102(August): Unit 12.14.

Bibliographie

- Sumpter, Beth et al. 2007. "Correlates of Preserved CD4(+) T Cell Homeostasis during Natural, Nonpathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infection of Sooty Mangabeys: Implications for AIDS Pathogenesis." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 178(3): 1680–91.
- Sunseri, N., M. O'Brien, N. Bhardwaj, and N. R. Landau. 2011. "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Modified To Package Simian Immunodeficiency Virus Vpx Efficiently Infects Macrophages and Dendritic Cells." *Journal of Virology* 85(13): 6263–74.
- Swan, Zachary D., Anthea L. Bouwer, Elizabeth R. Wonderlich, and Simon M. Barratt-Boyes. 2017. "Persistent Accumulation of Gut Macrophages with Impaired Phagocytic Function Correlates with SIV Disease Progression in Macaques." *European journal of immunology*: 1–11.
- Takai, Toshiyuki. 2005. "A Novel Recognition System for MHC Class I Molecules Constituted by PIR." *Adv Immunol* 88: 161–92.
- Tasca, Silvana et al. 2003. "Escape of Monocyte-Derived Dendritic Cells of HIV-1 Infected Individuals from Natural Killer Cell-Mediated Lysis." *AIDS (London, England)* 17(16): 2291–98.
- Tavano, Barbara et al. 2013. "Ig-like Transcript 7, but Not Bone Marrow Stromal Cell Antigen 2 (Also Known as HM1.24, Tetherin, or CD317), Modulates Plasmacytoid Dendritic Cell Function in Primary Human Blood Leukocytes." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 190: 2622–30.
- Thieblemont, Nathalie et al. 1995. "CD14^{low}CD16^{high}: A Cytokine-producing Monocyte Subset Which Expands during Human Immunodeficiency Virus Infection." *European Journal of Immunology* 25(12): 3418–24.
- Thomas, Rasmi et al. 2009. "HLA-C Cell Surface Expression and Control of HIV/AIDS Correlate with a Variant Upstream of HLA-C." *Nature genetics* 41(12): 1290–94.
- Tomaras, Georgia D et al. 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." *Journal of virology* 82(24): 12449–63.

Bibliographie

- Torkar, M et al. 2000. "Arrangement of the ILT Gene Cluster: A Common Null Allele of the ILT6 Gene Results from a 6.7-Kbp Deletion." *Eur J Immunol* 30(12): 3655–62.
- van der Touw, William, Hui Ming Chen, Ping Ying Pan, and Shu Hsia Chen. 2017. "LILRB Receptor-Mediated Regulation of Myeloid Cell Maturation and Function." *Cancer Immunology, Immunotherapy* 66(8): 1079–87.
- Trapp, Susanna et al. 2009. "Double-Stranded RNA Analog poly(I:C) Inhibits Human Immunodeficiency Virus Amplification in Dendritic Cells via Type I Interferon-Mediated Activation of APOBEC3G." *Journal of virology* 83(2): 884–95.
- Turnbull, Emma L et al. 2009. "Kinetics of Expansion of Epitope-Specific T Cell Responses during Primary HIV-1 Infection." *Journal of immunology* 182(11): 7131–45.
- den Uyl, Debby, Irene E van der Horst-Bruinsma, and Michiel van Agtmael. 2010. "Progression of HIV to AIDS: A Protective Role for HLA-B27?" *AIDS reviews* 6(2): 89–96.
- Vargas-Inchaustegui, D. A. et al. 2012. "NK and CD4+ T Cell Cooperative Immune Responses Correlate with Control of Disease in a Macaque Simian Immunodeficiency Virus Infection Model." *The Journal of Immunology* 189(4): 1878–85.
- Velu, Vijayakumar et al. 2009. "Enhancing SIV-Specific Immunity in Vivo by PD-1 Blockade." *Nature* 458(7235): 206–10.
- Vlad, G et al. 2003. "Interleukin-10 Induces the Upregulation of the Inhibitory Receptor ILT4 in Monocytes from HIV Positive Individuals." *Hum Immunol* 64(5): 483–89.
- Wang, Linlin et al. 2015. "Co-Expression of Immunoglobulin-like Transcript 4 and Angiopoietin-like Proteins in Human Non-Small Cell Lung Cancer." *Molecular Medicine Reports* 11(4): 2789–96.
- Waskow, C et al. 2008. "The Receptor Tyrosine Kinase Flt3 Is Required for Dendritic Cell Development in Peripheral Lymphoid Tissues." *Nat Immunol* 9(6): 676–83.

Bibliographie

- Watchmaker, Payal B et al. 2014. “Comparative Transcriptional and Functional Profiling Defines Conserved Programs of Intestinal DC Differentiation in Humans and Mice.” *Nature immunology* 15(1): 98–108.
- Wauquier, Nadia et al. 2011. “The Acute Phase of Chikungunya Virus Infection in Humans Is Associated with Strong Innate Immunity and T CD8 Cell Activation.” *Journal of Infectious Diseases* 204(1): 115–23.
- Wei, X et al. 2003. “Antibody Neutralization and Escape by HIV-1.” *Nature* 422(6929): 307–12.
- Wijewardana, V et al. 2010. “Early Myeloid Dendritic Cell Dysregulation Is Predictive of Disease Progression in Simian Immunodeficiency Virus Infection.” *PLoS Pathog* 6(12): e1001235.
- Wijewardana, Viskam et al. 2013. “Kinetics of Myeloid Dendritic Cell Trafficking and Activation: Impact on Progressive, Nonprogressive and Controlled SIV Infections.” *PLoS Pathogens* 9(10).
- Wijewardana, Viskam et al. 2014. “Accumulation of Functionally Immature Myeloid Dendritic Cells in Lymph Nodes of Rhesus Macaques with Acute Pathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infection.” *Immunology* 143(2): 146–54.
- Willcox, Benjamin E, Leonard M Thomas, and Pamela J Bjorkman. 2003. “Crystal Structure of HLA-A2 Bound to LIR-1, a Host and Viral Major Histocompatibility Complex Receptor.” *Nature Immunology* 4(9): 913–19.
- Wonderlich, Elizabeth R., Viskam Wijewardana, Xiangdong Liu, and Simon M. Barratt-Boyes. 2013. “Virus-Encoded TLR Ligands Reveal Divergent Functional Responses of Mononuclear Phagocytes in Pathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infection.” *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 190(5): 2188–98.
- Wonderlich, Elizabeth R., Wen-Chi Wu, Daniel P. Normolle, and Simon M. Barratt-Boyes. 2015a. “Macrophages and Myeloid Dendritic Cells Lose T Cell–Stimulating Function in Simian Immunodeficiency Virus Infection Associated with Diminished IL-12 and IFN- α Production.” *The Journal of Immunology* 195(7): 3284–92.

Bibliographie

- Wonderlich, Elizabeth R, and Simon M Barratt-Boyes. 2013. "SIV Infection of Rhesus Macaques Differentially Impacts Mononuclear Phagocyte Responses to Virus-Derived TLR Agonists." *Journal of medical primatology* 42(5): 247–53.
- Wonderlich, Elizabeth R, Wen-Chi Wu, Daniel P Normolle, and Simon M Barratt-Boyes. 2015b. "Macrophages and Myeloid Dendritic Cells Lose T Cell-Stimulating Function in Simian Immunodeficiency Virus Infection Associated with Diminished IL-12 and IFN- α Production." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 195(7): 3284–92.
- Wong, J K et al. 1997. "Recovery of Replication-Competent HIV despite Prolonged Suppression of Plasma Viremia." *Science (New York, N.Y.)* 278(5341): 1291–95.
- Xu, Huanbin, Xiaolei Wang, and Ronald S. Veazey. 2013. "Mucosal Immunology of HIV Infection." *Immunol Rev* 254(1): 10–33.
- Yan, Jiyu et al. 2013. "HIV-Specific CD8⁺ T Cells from Elite Controllers Are Primed for Survival." *Journal of virology* 87(9): 5170–81.
- Yan, Nan et al. 2010. "The Cytosolic Exonuclease TREX1 Inhibits the Innate Immune Response to Human Immunodeficiency Virus Type 1." *Nature Immunology* 11(11): 1005–13.
- Yang, Y et al. 2010. "Mutational Escape in HIV-1 CTL Epitopes Leads to Increased Binding to Inhibitory Myelomonocytic MHC Class I Receptors." *PLoS One* 5(12): e15084.
- Yang, Zhiru, and Pamela J Bjorkman. 2008. "Structure of UL18, a Peptide-Binding Viral MHC Mimic, Bound to a Host Inhibitory Receptor." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(29): 10095–100.
- Yonezawa, Akihito et al. 2003. "Natural Alpha Interferon-Producing Cells Respond to Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Alpha Interferon Production and Maturation into Dendritic Cells." *Journal of virology* 77(6): 3777–84.
- Yonkers, Nicole L et al. 2009. "Accessory Cell Dependent NK Cell Mediated PBMC IFN-Gamma Production Is Defective in HIV Infection." *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 131(2): 288–97.

Bibliographie

- Yonkers, Nicole L. et al. 2011. "Systemic Immune Activation in HIV Infection Is Associated with Decreased MDC Responsiveness to TLR Ligand and Inability to Activate Naive CD4 T-Cells." *PLoS ONE* 6(9).
- Yoshio, Sachiyo et al. 2013. "Human Blood Dendritic Cell Antigen 3 (BDCA3)+ Dendritic Cells Are a Potent Producer of Interferon-G in Response to Hepatitis C Virus." *Hepatology* 57(5): 1705–15.
- Yu, Chun I. et al. 2013. "Human CD1c+ Dendritic Cells Drive the Differentiation of CD103+ CD8+ Mucosal Effector T Cells via the Cytokine TGF- β ." *Immunity* 38(4): 818–30.
- Zaitseva, Marina et al. 1997. "Expression and Function of CCR5 and CXCR4 on Human Langerhans Cells and Macrophages: Implications for HIV Primary Infection." *Nature Medicine* 3(12): 1369–75.
- Zaunders, John, and David Van Bockel. 2013. "Innate and Adaptive Immunity in Long-Term Non-Progression in HIV Disease." *Frontiers in Immunology* 4(APR): 1–14.
- Zhang, Fei Fei et al. 2015. "Inhibitory Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors in Cancer Development." *Science China Life Sciences* 58(12): 1216–25.
- Zhang, W, S Liang, J Wu, and A Horuzsko. 2008. "Human Inhibitory Receptor Immunoglobulin-like Transcript 2 Amplifies CD11b+Gr1+ Myeloid-Derived Suppressor Cells That Promote Long-Term Survival of Allografts." *Transplantation* 86(8): 1125–34.
- Zhu, T et al. 1993. "Genotypic and Phenotypic Characterization of HIV-1 Patients with Primary Infection." *Science (New York, N.Y.)* 261(5125): 1179–81.
- Ziegler-Heitbrock, Loems et al. 2010. "Nomenclature of Monocytes and Dendritic Cells in Blood." *Blood* 116(16).

Titre : Etude de la dynamique de l'axe inhibiteur LILRB2/CMH-I et de sa régulation au cours de l'infection par le VIH/SIV

Mots clés : LILRB2, CMH-I, cDC, VIH/SIV, primo-infection, Macaque cynomolgus

Résumé : Les cellules dendritiques classiques (cDC) jouent un rôle crucial dans l'efficacité des réponses immunitaires précoces conduisant au contrôle ou à la persistance virale. A cet égard, il a été montré que l'infection par le VIH induit des dysfonctions des cDC caractérisées par une inhibition de leur capacité à stimuler les cellules T et associées à la progression de la maladie. Parmi les mécanismes moléculaires impliqués dans ces dysfonctions, des études in vitro ont mis en évidence le rôle du récepteur inhibiteur LILRB2. Néanmoins, la dynamique d'expression de LILRB2 ainsi que son rôle dès les premiers stades de l'infection restent à démontrer. Chez des patients en primo-infection VIH-1, nous observons une augmentation de l'expression de LILRB2 et de ses ligands HLA-I à la surface des cDC. Par ailleurs, la cinétique d'expression de LILRB2 et CMH-I au cours de l'infection de macaques cynomolgus par le SIVmac251 montre une augmentation transitoire de l'expression de LILRB2 et du

CMH-I sur les cDC du sang et des ganglions lymphatiques dès les premiers jours de l'infection. Parmi les mécanismes qui pourraient être impliqués dans la régulation de l'expression de LILRB2, nos résultats indiquent que la réplication du VIH-1, l'activation de voies TLR7/8 ainsi que la présence d'IL-10 et d'IFN-I induisent une forte expression de LILRB2. Enfin, cette expression exacerbée de LILRB2 sur les cDC semble être spécifique à l'infection par le VIH/SIV. En effet, l'infection de macaques cynomolgus par le virus chikungunya, qui est caractérisée par une réponse immunitaire antivirale robuste aboutissant à un contrôle de la virémie, est associée à une expression diminuée de LILRB2 sur les cDC dès les premiers jours de l'infection. L'ensemble de nos données suggèrent un rôle majeur de l'axe inhibiteur LILRB2/MHC-I dans les mécanismes de dérégulations des cDC qui pourrait participer à l'inefficacité des réponses immunitaires adaptatives et à la persistance du VIH/SIV.

Title : Dynamic and regulation of LILRB2/MHC-I inhibitory axis during HIV/SIV infection

Keywords : LILRB2, MHC-I, cDC, HIV/SIV, primary infection, Cynomolgus macaque

Abstract : Conventional dendritic cells (cDCs) play a crucial role in setting up early immune responses leading to viral control or persistence. In this regard, it has been shown that HIV-1 infection induces cDC dysfunctions characterized by inhibitions in their ability to stimulate T-cells and associated with disease progression. In vitro studies have shown the implication of LILRB2 inhibitory receptor in cDC dysfunctions. However, the dynamic of LILRB2 expression and its role in the early stages of infection are yet to be characterized. In primary HIV-1 infected patients, we observe an increased expression of LILRB2 and its ligands, HLA-I, on the surface of cDCs. Kinetics of LILRB2 and MHC-I expressions during SIV infection of Cynomolgus macaques shows a transient increase in LILRB2 and MHC-I

expressions on blood and lymph node cDCs during the first days of infection. We also show that HIV replication, activation of TLR7/8 pathways, and presence of IL-10 and IFN-I drive upregulated expression of LILRB2. Finally, this strong induced LILRB2 expression seems specific to HIV/SIV infections. Indeed, chikungunya virus infection of cynomolgus macaques, which characterized by a robust antiviral immune response leading to viral control, is associated with decreased expression of LILRB2 on cDCs in the first days of infection. Taken together, our data suggest a major role of the LILRB2/HLA-I inhibitory axis, mediating cDC dysfunctions and thus contributing to inefficient adaptive immune responses and viral persistence.

