



HAL
open science

Caractérisation immunologique des réservoirs des virus de l'immunodéficience humaine VIH-2 et VIH-1 dans les cellules immunocompétentes et étude des paramètres de l'immunité innée et intrinsèque

Mariama Sadjo Diallo

► **To cite this version:**

Mariama Sadjo Diallo. Caractérisation immunologique des réservoirs des virus de l'immunodéficience humaine VIH-2 et VIH-1 dans les cellules immunocompétentes et étude des paramètres de l'immunité innée et intrinsèque. Immunologie. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS030 . tel-03419933

HAL Id: tel-03419933

<https://theses.hal.science/tel-03419933>

Submitted on 8 Nov 2021

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.



Sorbonne Université

École doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique (ED394)

*Laboratoire d'Immunologie Cellulaire / Équipe de recherche d'Immunité et immunogénétique
antivirale et vaccinale. Équipe 9 V. Vieillard. Inserm U1135*

Caractérisation immunologique des réservoirs des virus de l'immunodéficience humaine VIH-2 et VIH-1 dans les cellules immunocompétentes et étude des paramètres de l'immunité innée et intrinsèque.

Par Mariama Sadjó DIALLO

Thèse de doctorat d'Immunologie

Dirigée par

Professeur Brigitte AUTRAN

Professeur Mohamed CISSE

Présentée et soutenue publiquement le 18 mars 2020

Devant un jury composé de :

Professeur Guislaine CARCELAIN PUPH, NSERM U976.....Rapporteur

Professeur Laurence WEISS PUPH, INSERM U976Rapporteur

Professeur Stéphanie Graff-Dubois PU, UMRS - 959 INSERM.....Examineur

Docteur Delphine SAUCE CR, INSERM U1135Examineur

Remerciements

Je vais m'atteler à une tâche qui n'est pas du tout facile pour moi, celle de remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce passionnant travail durant les 5 années que j'ai passée au sein du Département d'Immunologie de manière directe ou indirecte.

Je voudrais tout d'abord remercier sincèrement ma directrice de thèse, le Professeur Brigitte AUTRAN, pour toute son aide et l'opportunité qu'elle m'a accordée en acceptant de m'accueillir dans son service et de diriger cette thèse. J'ai particulièrement apprécié vos conseils et surtout votre disponibilité à discuter de science. Je suis ravie d'avoir travaillé en votre compagnie car outre votre appui scientifique, vous avez toujours été là pour me soutenir et me conseiller au cours de la réalisation de cette thèse.

Je remercie également mon co-directeur de thèse, le Professeur Mohamed CISSE, pour le soutien indéfectible et sans lequel je n'aurais jamais pu entamer cette thèse. Je vous ai rencontré pour la première fois il y a plus de 10 ans et vous m'avez directement adopté, encadré et prodigué beaucoup de conseils, qui vont du scientifique jusqu'au personnel. Encore merci pour tout.

Aux Professeurs Guislaine CARCELAIN et Laurence WEISS qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ma thèse. Elles ont pris le temps de m'écouter et de discuter avec moi. Leurs remarques m'ont permis d'améliorer mon travail. Pour tout cela je les en remercie chaleureusement.

Je tiens à remercier le Professeur Stéphanie GRAFF-DUBOIS pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et pour sa participation scientifique ainsi que le temps qu'elle a consacré à ma recherche.

Je remercie également le Docteur Delphine SAUCE pour l'honneur qu'elle me fait d'être dans mon jury de thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Docteur Vincent VIEILLARD pour toutes nos discussions et ses précieux conseils qui m'ont énormément aidé.

Au sein de l'équipe 3 du Professeur Brigitte AUTRAN et de l'équipe 9 du Docteur Vincent VIEILLARD, je tiens à remercier tous les membres et collègues (anciens et nouveaux).

Sophie : merci pour m'avoir enseigné mes premières techniques de marquage et de cytométrie en flux, les petits gestes aux grands détails qui font la différence. Merci pour ton aide et tes conseils précieux. J'ai apprécié chaque moment passé en ta compagnie avant ton départ du laboratoire. J'admire ton travail rigoureux, ton sens de l'organisation mais aussi le fait que tu veux rendre tout plus pratique pour tout le labo.

Christophe PARIZOT : merci pour m'avoir enseigné les bases de la cytométrie en flux et surtout pour ta grande disponibilité.

Cecilia : j'ai passé de très bons moments en ta compagnie, ma voisine, toutes nos discussions scientifiques et interrogations quotidiennes vont me manquer et toi avec.

Alice : merci également pour avoir relu ma thèse et corriger tous mes petites fautes d'orthographe et de tournures de phrases. Je te souhaite beaucoup de succès et de réussite pour les prochaines années.

Virginie : est-ce que je vais te manquer ?? Ne t'inquiète pas je reviendrais très souvent. Merci pour ton attention et ton sens du détail mais aussi pour prendre soin de moi. Tu as toujours un petit mot pour remonter le moral. Ton travail est toujours efficace, bien fait et très utile.

Véronique et Anne : Merci beaucoup pour votre collaboration très agréable et l'analyse transcriptomique de ma thèse.

Catherine, Bénédicte et Aurélien : Vous êtes des champions en cytométrie, merci pour l'encadrement et les différentes matrices et tris cellulaires.

Un grand merci à Amélie pour les conseils et discussions scientifiques enrichissants ainsi que Assia, Nadine et Marine.

A ma petite famille : Dominique, Louise Alex, Louisa et mon petit dernier bébé d'amour Marc-Alain ; merci pour votre soutien inconditionnel et l'amour que vous me donnez tous les jours.

A mes parents : Baba, Maman, Catherine, Louise, Ramatoulaye, les oncles, les tantes, cousins, cousines, neveux, nièces.

A mes amis : Monique Binta, Fifi, Bofanta, Sako, Oumar, Stéphen, merci beaucoup pour ces années de partage, de joie et de bonheur.

Merci à tous ceux je n'ai pas pu citer nommément.

En fin, merci à mon pays pour la confiance placé en ma personne.

Sommaire

REMERCIEMENTS	2
SOMMAIRE	5
ABREVIATIONS	8
PREMIERE PARTIE INTRODUCTION.....	11
HISTORIQUE ET EPIDEMIOLOGIE DU VIH.....	12
ASPECTS VIROLOGIQUES ET TRANSMISSION.....	16
1. LA REPLICATION VIRALE : TIENT EN 6 ETAPES (FIGURE 5) :.....	19
2. VARIABILITE GENETIQUE.....	22
3. TRANSMISSION DES VIH.....	23
ÉVOLUTION ET TRAITEMENT	24
SYSTEME IMMUNITAIRE ET VIH.....	29
1. CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE ET CIBLES DU VIH	29
2. INFECTION ET DEPLETION DES CELLULES T CD4 AU COURS DE L'INFECTION VIH	43
RECEPTEUR, CORECEPTEURS ET FACTEURS DE RESTRICTION DU VIH.....	46
1. RECEPTEUR D'ENTREE	46
2. CORECEPTEURS.....	46
3. FACTEURS DE RESTRICTION ET DE TRANSCRIPTION	49
RESERVOIR ET LATENCE	55
A. MISE EN PLACE DE LA LATENCE ET DU RESERVOIR.	58
B. ESTIMATION QUANTITATIVE DU RESERVOIR.....	62
OBJECTIFS	64
LE PREMIER OBJECTIF VISAIT A ETUDIER LA DISTRIBUTION	64
SECONDE PARTIE.....	66
RESULTATS.....	66
ARTICLE N°1.....	67
<u>“LIMITED HIV-2 RESERVOIRS IN CENTRAL-MEMORY CD4 T-CELLS ASSOCIATED TO CXCR6 CO-RECEPTOR EXPRESSION IN ATTENUATED HIV-2 INFECTION “</u>	67
INTRODUCTION.....	68
MATERIEL ET METHODES	69
RESULTATS OBTENUS	73
DISCUSSION	85
ARTICLE N°2.....	114

B7-H6-MEDIATED DOWNREGULATION OF NKP30 IN NATURAL KILLER CELLS CONTRIBUTES TO HIV-2 IMMUNE ESCAPE..... 114

INTRODUCTION..... 115
MATERIEL ET METHODES 116
RESULTATS..... 121
DISCUSSION 136
ARTICLE N°3..... 156

A COMPARISON OF CELL ACTIVATION AND EXHAUSTION, EXPRESSION OF HIV CO-RECEPTORS AND RESTRICTION FACTORS IN HIV-1 INFECTED AND HIV-2 INFECTED NON PROGRESSORS 156

RESUME : 156
INTRODUCTION..... 158
METHODS..... 161
RESULTS 164
DISCUSSION 170

TROISIEME PARTIE 179

DISCUSSION ET CONCLUSION 179
LES RESERVOIRS VIH-2 180
CELLULES ET EXPRESSION DE MARQUEURS DE L'IMMUNITE INNEE..... 185
ANALYSE COMPARATIVE DE L'EXPRESSION DE CERTAINS CORECEPTEURS ET FACTEURS DE RESTRICTION ASSOCIES A LA NON-PROGRESSION DES INFECTIONS A VIH-2 ET VIH-1 189

BIBLIOGRAPHIE 192

ANNEXES..... 275

MATERIELS ET METHODES 276

1 PATIENTS ET DONNEURS 276
DONNEURS SAINS : 277
PATIENTS INFECTES PAR LE VIH-1. 278
2 METHODES..... 279
CELLULES SANGUINES : 279
TRAVAUX N° 1 ET 3 : 279
ANALYSES STATISTIQUES..... 284
TRAVAIL N°2 : ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DES CELLULES NK..... 284
ANALYSE EN CYTOMETRIE EN FLUX 284
ANALYSE POLYFONCTIONNELLE DES CELLULES NK 285
ANALYSE DES LIGANDS DES RECEPTEURS DE CELLULES NK SUR LES CELLULES CIBLES NON INFECTEES ET INFECTEES PAR LE VIH-2. 285
CONSIDERATIONS ETHIQUES 286

TABLE DES ILLUSTRATIONS 287

ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : Acide nucléique

ARV : Traitement antirétrovirale

BLIMP-1 : B lymphocyte-induced maturation protein 1

CCR5 : Cystéine -Cystéine chimiokine récepteur de type 5

CD : classe de différenciation (cluster of differentiation)

CD : cellules dendritiques

CD4 : classe de différenciation 4

CD8 : classe de différenciation 8

CDC : Centers for Disease Control

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CXCR4 : Cystéine X Cystéine Récepteur de type 4

EC : Elite Controller

Gp : glycoprotéine

HLA-DR : les antigènes des leucocytes humains classe II génotype DR

ICAM-1 : Inter Cellular Adhesion Molecule

IFN γ : Interféron Gamma

IL-4 : Interleukine type 4

MFI : intensité moyenne de fluorescence

EFS : Établissement Français du Sang

LTNP : long term non progressors

NK : cellules Natural Killer

PBMC : cellules mononuclées du sang périphérique

PCR : polymerase chain reaction

PD-1 : Programmed cell death 1

CPA : présentation d'antigène

SAMHD1 SAM [stérile alpha motif] Domain and HD

SIDA : syndrome de l'immunodéficience acquise

SIV : Virus immunodéficience simien

T CD4 : lymphocyte T de classe de différenciation 4

TN : lymphocyte T naïf

TCM : lymphocytes T central mémoire

TTM : lymphocytes T transitionnel mémoire

TCR : T cell receptor

TEM : lymphocytes T effecteur mémoire

Tfh : lymphocyte T folliculaire helper

Th : lymphocyte T helper (Lymphocyte T auxiliaire)

TNF : Tumor necrosis factor

TRIM5 (N-terminal tripartite motifs 5)

TSC : stem cell–like memory T, cellule souche mémoire T

TTM : Les cellules à mémoire transitionnelle

VIH : Virus de l'immunodéficience humain (Type 1 ou 2)

PREMIERE PARTIE
INTRODUCTION

Introduction

En 1983, un rétrovirus d'environ 9,7 kb, appelé plus tard virus d'immunodéficience humaine-1 (VIH-1), a été découvert en tant qu'agent responsable du syndrome d'immunodéficience fatale en émergence (Barré-Sinoussi et al. 1983). La mise en évidence en 1997 des bienfaits de la trithérapie antirétrovirale qui inhibe de façon durable la virémie en dessous du seuil de détection (Perelson et al. 1997), se traduit par un arrêt quasi complet de la réplication virale. Cependant, en dépit de ces succès, les ARV ne sont pas curatifs et il existe toujours un rebond virémique en cas d'interruption thérapeutique (Chun et al. 1999; Davey et al. 1999). Ceci reflète la capacité du VIH à rester à l'état de latence dans les réservoirs cellulaires, notamment les cellules T CD4 mémoire au repos à demi-vie longue, opposant un frein à la mise en place d'un traitement curatif (Chun et al. 1995 et 1997 ; Finzi et al. 1997 ; Wong et al. 1997).

Historique et épidémiologie du VIH

Les premiers cas de VIH ont été décrits en 1981 dans un rapport hebdomadaire à propos de 5 patients chez lesquels le diagnostic de *Pneumocystis carinii* avait été posé (Centers for Disease Control (CDC) 1981). Il s'agissait du premier rapport publié sur ce que l'on allait appeler plus tard le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Le VIH-1 a été décrit en mai 1983 par le Dr Françoise Barré-Sinoussi et le Dr Luc Montagnier et leurs collègues de l'Institut Pasteur (Barré-Sinoussi et al. 1983). A l'époque le monde ignorait l'ampleur qu'allait prendre le phénomène, surtout les avancées thérapeutiques et diagnostiques liées aux progrès de la science.

Le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) est dû au Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH), qui appartient à la famille des *Retroviridae*, sous famille des *Orthoretrovirinae*, au genre *Lentivirus* (Azevedo-Pereira et al. 2016). Ces *rétrovirus* partagent les mêmes caractéristiques morphologiques et génomiques. Le SIDA a très tôt été reconnu comme une zoonose. Les hôtes naturels de tous les rétrovirus humains sont des primates non humains. Le VIH-1 et VIH-2 résultent de multiples croisements entre les espèces dans la transmission entre simiens, puis au passage des virus simiens de l'immunodéficience (SIVs) à l'homme. L'infection naturelle du SIV chez les singes d'Afrique ne cause aucune maladie.

L'analyse phylogénique montre que le croisement entre plusieurs espèces de virus provenant de l'espèce simienne a donné naissance à deux types distincts de Virus de l'immunodéficience Humain (VIH) : le VIH-1 qui est très proche du Virus de l'immunodéficience simien (SIVcpz), retrouvé chez le chimpanzé, et le VIH-2 très proche du Sooty mangabey (SIVsm). De plus cette analyse a montré que parmi les 18 lentivirus différents qui infectent les primates, l'origine du VIH-2 était le SIVsm. (Hirsch et al. 1989).

À la fin du XIX^e siècle, le SIVsm a fait son entrée dans l'espèce humaine par suite d'une transmission zoonotique, probablement par le biais de la chasse dans la forêt tropicale de Côte d'Ivoire (Santiago et al. 2005). Cependant, l'adaptation du virus à l'homme était nécessaire (Azevedo-Pereira et al. 2016) et sa propagation due à une transmission efficace d'humain à humain ne s'est produite qu'au milieu du XX^e siècle dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest (Wertheim et al. 2009). L'existence du VIH-2 a été suspectée pour la première fois en 1985, en observant des profils sérologiques inhabituels chez des patients sénégalais, ce qui a suggéré l'existence d'un type distinct de VIH présentant un profil sérologique plus étroitement apparenté au SIV du macaque (SIVmac) qu'à celui du VIH-1 (Barin et al. 1985). L'origine du VIH-2 et sa distribution actuelle ressemblent étroitement à celle du SIVsm du Sooty mangabey d'Afrique de l'Ouest (*Cercocebus torquatus atys*), un virus simien qui aurait pénétré dans la population humaine à au moins huit occasions distinctes (Damond et al. 2004; Hahn et al. 2000). Le VIH-2 a été initialement détecté en Afrique de l'ouest et ensuite s'est propagé dans d'autres parties d'Afrique, d'Europe et à un bien moindre degré en Asie et aux États Unis. A la fin de l'année 1980, Guinée Bissau, Gambie, Sénégal, Cap Vert, Côte d'ivoire, Mali, Sierra Leone et Nigeria avaient tous rapporté une prévalence > 1% dans leur population nationale (Figure 1) (« Centers for Disease Control. Accessed 24 February 2019 »).

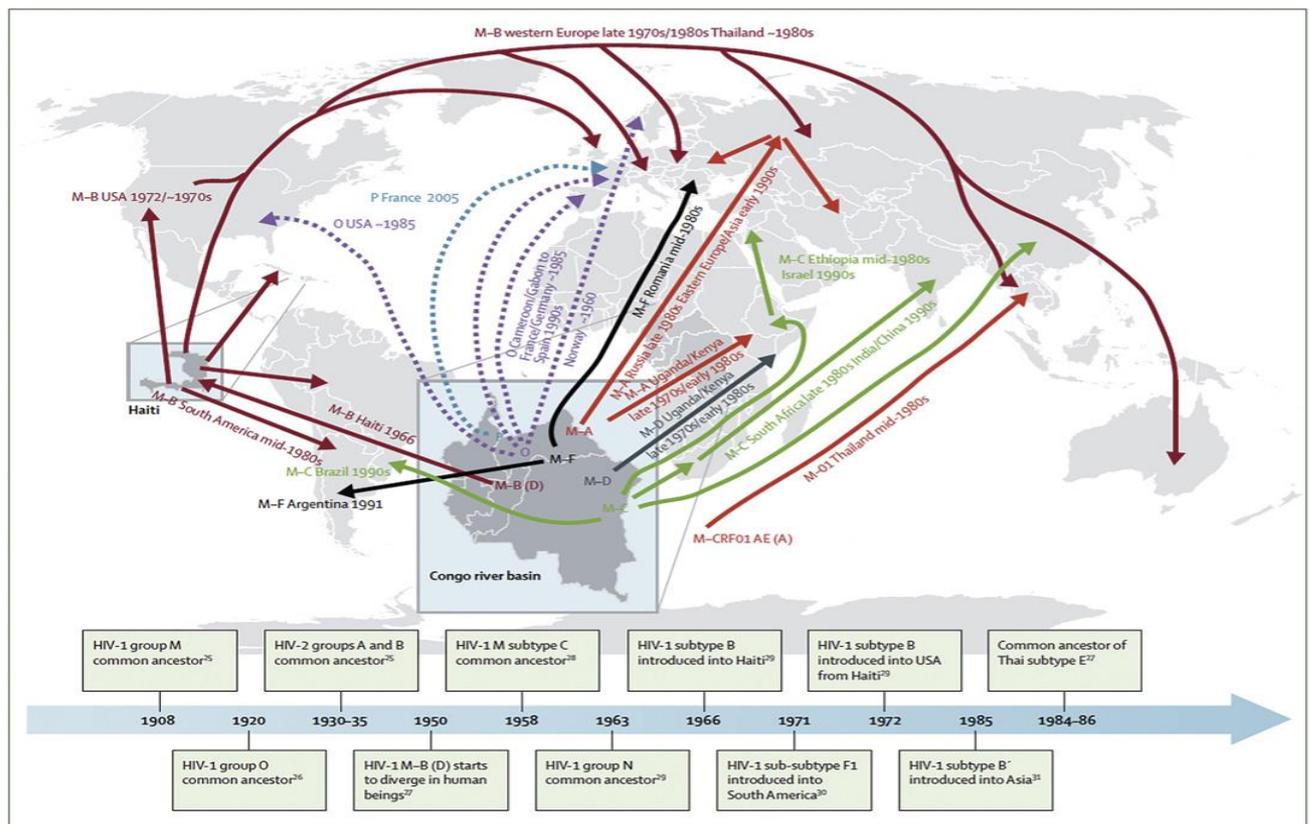


Figure 1 : Estimation de l'évolution et de la propagation mondiale des types, groupes et sous-types de VIH. La chronologie indique les événements clés de l'évolution des groupes VIH-1, M, N et O, avant l'apparition du groupe P (Afrique centrale) et du VIH-2. CRF (forme recombinante circulante) (Tebit et al. 2011).

En France le VIH-2 constituait 2% des cas de VIH diagnostiqués entre 2003 et 2013 (Visseaux et al. 2016; Cazein et al. 2015).

Plus de 30 ans après la découverte des virus VIH, l'infection par ces virus continuent à poser un problème de santé publique dans le monde avec plus de 36 millions de personnes vivant avec le VIH, 2 millions de nouvelles infections et 1 million de mort lié au SIDA par an (« Global AIDS Update 2016 » ; « Global AIDS Update 2019 »). En 2018 on estime que 23,3 [20,5-24,3 millions] des 37,9 millions [32,7- 44,0 millions] de personnes vivant avec le VIH dans le monde étaient sous traitement, soit trois fois plus qu'en 2010 (Figure 2) (« Global AIDS Update 2019 »). Depuis le pic de nouveaux cas en 1997 (2,3-3,8 millions), ce nombre continue de décroître avec une incidence entre 1,6 et 2,3 millions en 2018.

Au niveau mondial, les nouvelles infections à VIH chez les jeunes femmes (âgées de 15 à 24 ans) ont été réduites de 25% entre 2010 et 2018 (« Global AIDS Update 2019 »);

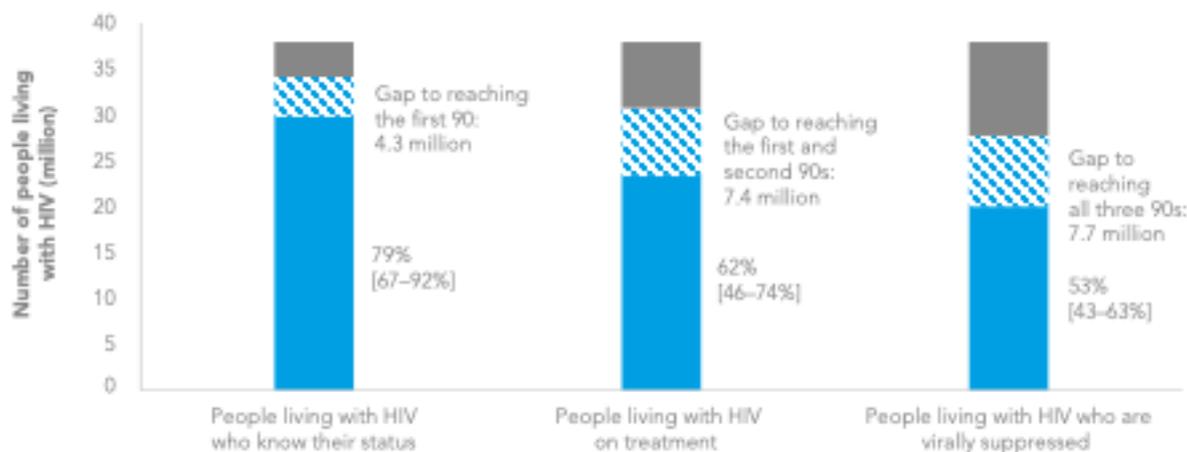


Figure 2 : Cascade de soin du VIH dans la population mondiale («Global AIDS Update 2019»).

Le VIH-2 prédomine en Afrique de l’Ouest et notamment en Guinée-Bissau, Gambie, Sénégal, Cap Vert, Côte d’Ivoire, Mali, Sierra Leone et Nigeria avec une prévalence de 1% pour ces différents pays (Campbell-Yesufu et al. 2011). On estime à 2 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH-2 en Afrique de l’Ouest (Gottlieb et al. 2008) et dans des pays ayant des relations historiques avec l’Afrique occidentale, tels que le Portugal et la France (de Mendoza et al. 2017; Visseaux et al. 2016). La cohorte de l’étude française VIH-2 (ANRS Co- 05) confirme la faible progression vers la maladie par rapport au VIH-1 et une très faible charge virale plasmatique qui est prédictive de l’évolution et du stade de la maladie (Matheron et al. 2003).

La compréhension de la virologie et de la pathogénie du VIH continue à faire l’objet de nombreuses recherches, car la compréhension de ces mécanismes est cruciale pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Aspects virologiques et Transmission

Le VIH-1 est responsable de la pandémie de sida à travers plusieurs groupes viraux, dont le groupe majoritaire dénommé M, le groupe outlier dénommé O et les très rares variants des groupes N et P. Le VIH-1 du groupe M est composé de plusieurs sous-types (de A à D, F à H et J à K) (Figure 3). Le VIH-2 présente 40% de ressemblance avec le VIH-1 dans sa séquence nucléotidique (60% conservée dans les gènes *gag* et *pol*) (Guyader et al. 1987).

Le VIH-2 reste géographiquement circonscrit contrairement au VIH-1 qui est retrouvé partout à travers le monde. Depuis la première mise en évidence du virus VIH-2 en 1986, un total de neuf sous-types de VIH-2, appelés de A à I, ont été identifiés. Les groupes A, B, C, G, H et I sont plus étroitement liés à SIVsmm de la forêt de Taï (au sud-ouest de la Côte d'Ivoire), le groupe D est lié à SIVsmm du Libéria et les groupes E ou F à SIVsmm de Sierra Leone (Santiago et al. 2005; Ayouba et al. 2013). Seuls les groupes A et B sont endémiques, les autres infections seraient celles liées à une seule personne (Damond et al. 2004; Hahn et al. 2000).

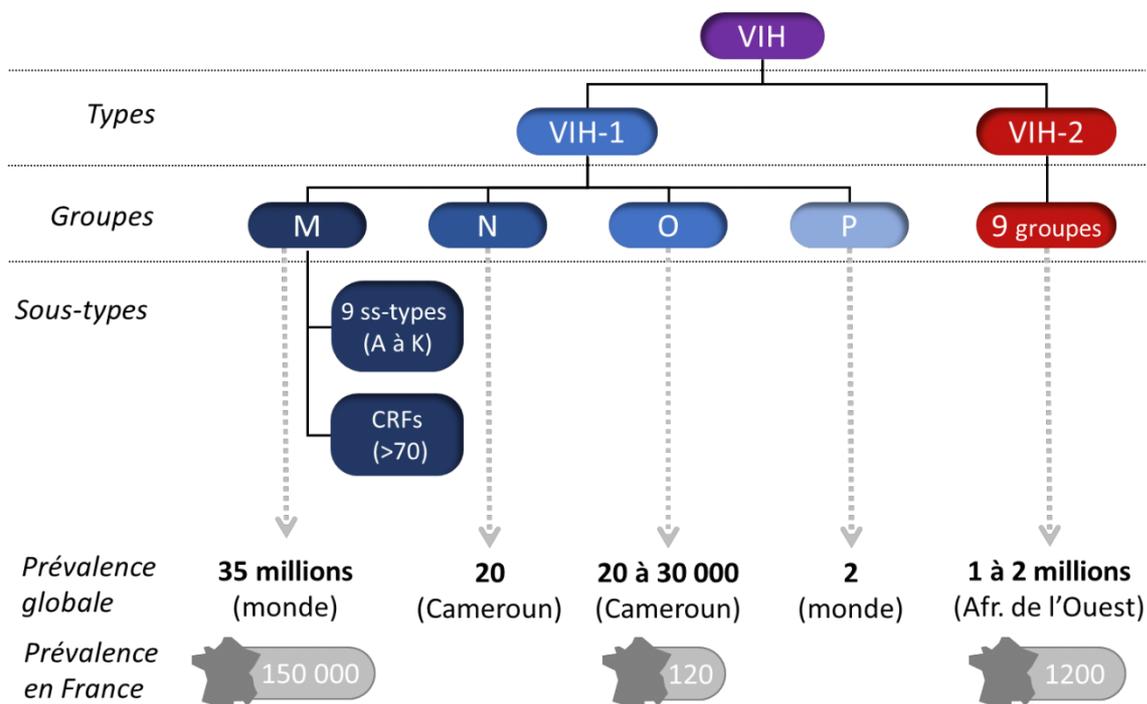


Figure 3 : Les différents sous types du VIH (Avettand-Fenoel et al. 2017).

Les cycles de réplication du VIH-1 et VIH-2 sont assez similaires de même que les mécanismes immunologiques qui conduisent à l'immunodépression. Bien que l'épisode zoonotique soit responsable du passage du VIH chez l'hôte humain (Korber et al. 2000; Lemey et al. 2003; Salemi et al. 2000; Sharp et al. 2001), les deux virus se sont propagés presque au même moment (Lemey et al. 2003; Marx et al. 2001; Poulsen et al. 2000).

Le génome du rétrovirus est composé de deux copies identiques d'ARN monocaténares (Requejo et al. 2006) et caractérisé par la présence des gènes *gag*, *pol* et *env* (Figure 4). Le VIH-1 et VIH-2 sont différents dans l'organisation de leur génome, cependant leur base est identique à celle observée dans les rétrovirus :

- le gène *gag* de ces virus code pour les protéines de la capsidie et nucléocapsidie (p24, p7, p6) et matrice (p17) ;

-le gène *pol* (polymérase) codant pour les enzymes nécessaires et indispensables pour la réplication virale :

*Transcriptase inverse qui permet de convertir l'ARN en ADN viral.

*Protéase : clive les grosses protéines *gag* et *pol* qui sont les précurseurs de gènes *gag* et *pol*.

*Intégrase : Permet d'intégrer l'ADN viral a l'ADN de l'hôte (ADN proviral) (Gelderblom et al. 1989).

En plus de leurs trois gènes communs avec les autres rétrovirus, le génome du VIH-1 et VIH-2 présente des gènes de régulation et des gènes accessoires qui sont spécifiques à chaque virus.

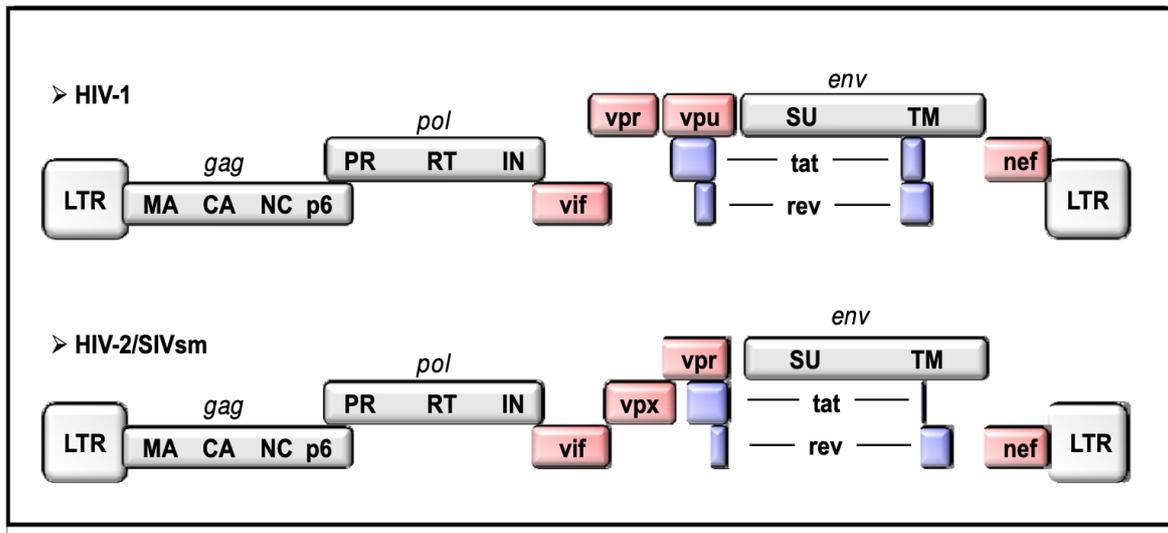


Figure 4. Représentation des génomes du VIH-1 et du VIH-2. Les cases grises représentent les gènes structuraux, les cases bleues les gènes régulateurs et les cases roses les gènes accessoires (Ayinde et al. 2010).

Les particules virales ont un diamètre de 100 nm et sont entourées par une membrane lipoprotéique. Chaque particule virale possède une membrane qui est composée de complexes hétérodimériques des glycoprotéines de surface (gp120) et transmembranaire (gp41). La liaison entre la gp120 et la gp41 est une liaison non-covalente qui peut se rompre spontanément. Par conséquent, la gp120 peut se retrouver dans le microenvironnement local et dans le sérum ainsi que dans les tissus lymphatiques chez les patients atteints par le VIH. Durant le processus de fixation du virus à la cellule hôte et pendant la phase de bourgeonnement, le virus intègre différentes protéines à sa membrane parmi lesquelles des protéines de classe I et II du CMH mais aussi certaines molécules d'adhésion, telles que les ICAM-1, qui peuvent faciliter l'adhésion du virus à d'autres cellules cibles. La protéine de la matrice P17 (encrée au niveau de la membrane) et la membrane virale, constituée de polymères, forment l'antigène de la capsid (P24). Cette capsid contient deux copies d'ARN du VIH combinées avec une nucléoprotéine et les enzymes transcriptase inverse, intégrase et protéase (Gelderblom et al. 1989).

Les gènes accessoires ou de régulation qui caractérisent ces virus jouent un rôle clé dans la modulation de la réplication virale et leur pouvoir pathogène. Parmi ces gènes on peut citer :

*le gène *tat* qui code pour la protéine du même nom (Tat). Cette protéine est exprimée très précocement, juste au début de l'infection et favorise l'expression des autres gènes du VIH.

* la protéine Rev qui est codée par le gène *rev*, favorise la migration de l'ARNm du noyau vers le cytoplasme.

La fonction des autres protéines accessoires est moins connue. Néanmoins la protéine Vpr semble intervenir dans le blocage du cycle cellulaire. Cette protéine est aussi impliquée dans la retro-transcription de l'ADN dans le noyau des cellules hors phase de division tel que les macrophages. Dans le VIH-2 cette fonction est assurée par la protéine Vpx. La protéine Vpu quant à elle est nécessaire pour la libération de la particule virale alors que le gène qui code pour la petite protéine Vif favorise la pathogénicité du virus. La protéine Nef a de multiples fonctions incluant la transduction du signal et la down-régulation du récepteur CD4 à la surface de la cellule et permet ainsi au virus de sortir par bourgeonnement à la surface de la cellule (Emerman et al.1998).

1. La réplication virale : tient en 6 étapes (Figure 5) :

1- Fixation et entrée/ Reconnaissance de la cellule à infecter via le récepteur CD4 et le corécepteur CCR5 : l'entrée du VIH-1 et du VIH-2 se répartit en trois étapes complexes (fixation, activation et fusion). L'enveloppe du virus composée des protéines gp120 et gp41 est essentielle à la reconnaissance et l'entrée dans la cellule cible. La gp120 du VIH se lie à la molécule CD4 qui est une glycoprotéine exprimée à la surface d'environ 60% des lymphocytes T circulants, sur les précurseurs des cellules T dans la moelle osseuse et le thymus, mais aussi à la surface des monocytes/macrophages, cellules dendritiques et cellules microgliales du système nerveux central (Miceli et al. 1993). Lors de la liaison de la gp120 avec la molécule CD4, l'enveloppe virale subit un changement structurel, exposant un domaine spécifique de la gp120 capable de lier les récepteurs de chimiokines à la surface de la cellule cible.

L'expression des récepteurs de chimiokines sur les cellules cibles s'est avérée déterminante dans le tropisme du VIH-1 (Broder et al. 1995). Il existe des souches de VIH-1 qui se lient au récepteur de chimiokine β CCR5; ce récepteur est principalement exprimé par les macrophages et les lymphocytes T (Coakley et al. 2005). Ces souches sont connues sous le nom de virus ayant un tropisme pour les macrophages (M-tropic ou virus R5). Par ailleurs, certaines chimiokines telles que RANTES, MIP-1- α et MIP-1- β , qui sont des ligands du

récepteur CCR5, sont capables de bloquer l'interaction entre le virus et la cellule et ainsi bloquer in vitro l'infection par le VIH-1 (Garzino-Demo et al. 2006). Le corécepteur CCR5 est utilisé par la majorité des isolats du VIH-1 pendant la phase primaire, quel que soit le sous-type génétique viral. Cependant d'autres souches utilisent de préférence le CXCR4 pour infecter la cellule hôte et se répliquer dans les lymphocytes T CD4⁺ durant la phase primaire. Ces souches sont connues sous le nom de T-lymphocyte-tropic (T-tropic ou virus X4). La chimiokine SDF-1 (α -chemokine) qui est un ligand du CXCR4 est capable de bloquer la réplication des virus VIH-1 à tropisme X4, car en compétition avec le virus pour la liaison au CXCR4. Enfin, d'autres isolats du VIH peuvent se lier aux deux corécepteurs CCR5 et CXCR4. Ces souches sont appelées virus à tropisme double ou virus X4R5.

2 - Fusion de l'enveloppe du virus avec la membrane de la cellule : L'interaction entre la gp120 du virus avec le récepteur CD4 et un corécepteur (récepteur de chimiokine) permet une fixation plus stable du virus et ainsi la fusion membranaire. La gp41 contient une sous-unité hydrophobe à son extrémité amino-terminale qui est indispensable pour la fusion du virus à la membrane cellulaire. Ensuite, le noyau viral se libère dans le cytoplasme de la cellule cible, libérant ainsi l'ARN viral (Broder et al. 1995).

3 - Transcription inverse de l'ARN du virus : le matériel génétique du virus est copié en ADN grâce à une enzyme virale, la transcriptase inverse. La conversion de l'ARN viral en ADN proviral se fait avec la transcriptase inverse et l'intégrase. La transcriptase inverse (site actif ribonucléique H) commence la transcription inverse de l'ARN viral dans le cytoplasme, en initiant la transcription à partir de l'amorce, jusqu'à obtention d'un ARN/ADN à double hélice hybride ; puis, la ribonucléase H sépare les brins d'ARN et la transcriptase inverse (polymérase) crée un brin d'ADN complémentaire (ADNc) pour former une molécule d'ADN à double hélice. L'ADN double hélice est intégré au génome cellulaire par l'intégrase.

4 - L'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule est médiée par l'intégrase d'origine virale : Une intégration efficace de l'ADN proviral et l'expression du provirus exigent que la cellule cible soit activée. Les monocytes/macrophages, les cellules microgliales et les lymphocytes T CD4⁺ quiescents infectés contiennent un provirus intégré. Ces cellules sont d'importants réservoirs cellulaires du VIH, à longue durée de vie (Chun et al. 1997).

5 - Transcription de l'ADN viral : synthèse de molécules d'ARN viral et des protéines virales : Lors de l'activation de la cellule infectée, la transcription de l'ADN proviral en un

ARNm se produit. Le processus de transcription aboutit à la synthèse précoce des protéines régulatrices du VIH-1, telles que Tat et Rev. L'ARNm viral migre dans le cytoplasme de la cellule hôte, où les protéines structurelles des nouveaux virions sont synthétisées. Les protéines codées par les gènes *pol* et *gag* forment le noyau de la particule VIH en maturation ; les protéines codées par le gène *env* forment les glycoprotéines de l'enveloppe virale. La gp160 (précurseur) est clivée par la protéase du VIH-1 en gp120 et gp41. Une grosse protéine de 160 kD donne plusieurs protéines après clivage par la protéase : Gag et Pol mais aussi p24, p17, p9 et p7.

6 - Formation de virions, maturation des protéines virales (grâce à une enzyme virale, la protéase) et bourgeonnement : Le clivage des molécules précurseurs par la protéase du VIH-1 est nécessaire à la production de particules virales infectieuses. La formation de nouvelles particules virales est un processus d'assemblage des différentes protéines synthétisées : les deux brins d'ARN viraux s'associent aux enzymes de réplication, et à la matrice formée par la capsid du virus (Fanales-Belasio et al. 2010).

La particule virale immature migre vers la surface cellulaire : elle est libérée par le clivage, ce qui produit de nouvelles particules virales infectieuses, qui bourgeonnent à travers la membrane de la cellule hôte, acquérant ainsi une nouvelle enveloppe. Au cours du processus de bourgeonnement, les membranes lipidiques du virus peuvent intégrer différentes protéines de la cellule hôte et s'enrichir en phospholipides et en cholestérol. Contrairement aux lymphocytes T, pour lesquels le bourgeonnement se produit à leur surface et où les virions sont libérés dans le milieu extracellulaire, pour les monocytes/macrophages le processus de bourgeonnement entraîne l'accumulation de virions dans les vacuoles intracellulaires qui sont ensuite libérées.

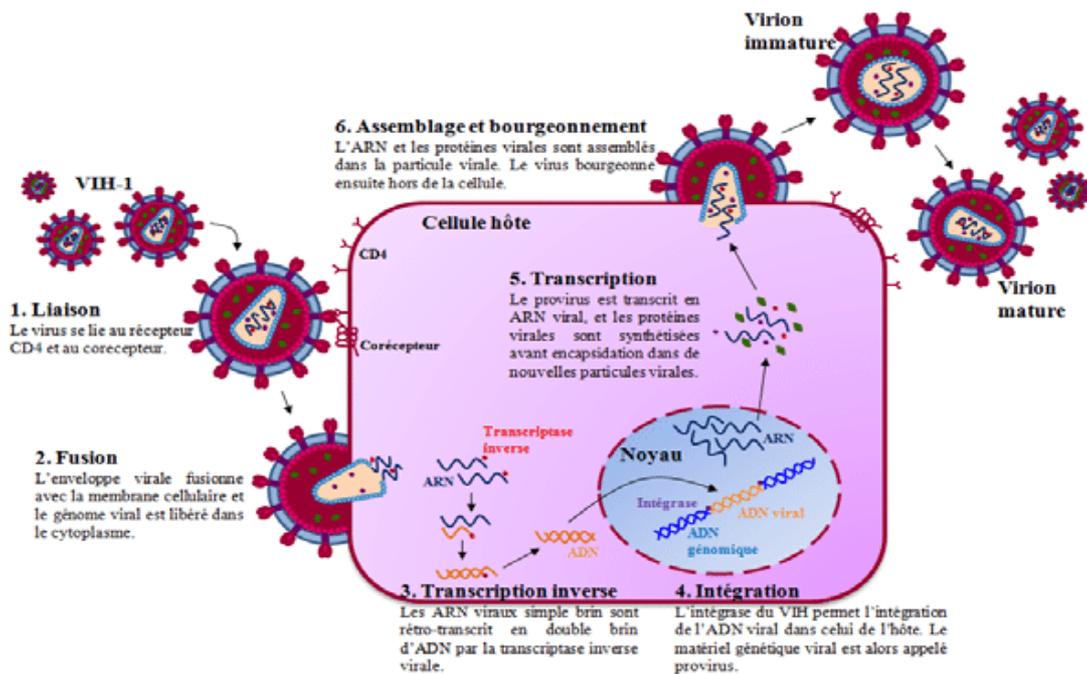


Figure 5 : les différentes étapes de la réplication virale (Proust et al. 2013)

2. Variabilité génétique

Le VIH présente une forte capacité à muter et à s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement humain. Une incidence d'erreurs élevée au niveau transcriptionnel entraîne des changements génétiques au cours du cycle évolutif du VIH. La transcriptase inverse joue un rôle majeur dans la production de divers rétrovirus. Plusieurs mécanismes d'erreur ont été attribués aux polymérases, entraînant une fréquence élevée de mutations tels que : des sauts génétiques, des délétions, des recombinaisons, des répétitions et des insertions. Chacun de ces mécanismes peut impliquer un ou plusieurs nucléotides.

En raison des erreurs qui peuvent survenir lors de la réplication virale, la transcriptase inverse joue un rôle clé dans la production de la diversité des séquences du VIH chez les personnes infectées. La variabilité génétique élevée du VIH a d'importantes répercussions sur le diagnostic en laboratoire, le traitement et la prévention, ainsi que sur les enquêtes épidémiologiques (Peeters et al. 2000). Comme tous les virus à ARN, la variabilité du VIH est la conséquence :

- du mécanisme d'action de la transcriptase inverse "sujette aux erreurs" qui introduit, en moyenne, une substitution par génome par cycle de réplication (Sarafianos et al. 2009).

-de la réplication virale très rapide, qui génère un nombre élevé de virions par jour (estimé à environ 10^{10}) chez la personne infectée (Ho et al. 1997).

- d'une recombinaison entre deux ou plusieurs virus du VIH différents chez la même personne infectée (Fanales-Belasio et al. 2010).

3. Transmission des VIH

La compréhension des mécanismes de transmission, la prévention de cette transmission et de l'infection sont des objectifs majeurs de recherche depuis la découverte du VIH.

L'une des principales voies de transmission du VIH se faisant à travers les rapports sexuels non protégés (« UNAIDS Global Report 2013»), ceci définit l'infection à VIH comme étant une infection principalement muqueuse. Au niveau mondial, on estime que 90% des infections débutent au niveau des muqueuses (United Nations Programme HIV/AIDS 2008) (Ghosn et al. 2018). Ces données épidémiologiques indiquent que des comportements sexuels différents ont un impact sur le risque de transmission de l'infection. Ainsi, les relations sexuelles anales sont statistiquement susceptibles de provoquer plus d'infections que les relations sexuelles vaginales (Powers et al. 2008 ; Boily et al. 2009).

Le VIH-2 étant moins pathogène que le VIH-1, la transmission hétérosexuelle se produit moins pour le VIH-2 que pour le VIH-1, et sa transmission verticale est rare (Kanki et al. 1994; Adjorlolo-Johnson et al. 1994; Andreasson et al. 1993).

Le développement d'un vaccin contre le VIH reste toujours la priorité des chercheurs. Plusieurs recombinants viraux ont été utilisés comme tests dans ce sens par plusieurs plateformes avec l'utilisation de vecteurs dérivant de différentes familles virales telles que les adénovirus (Barouch et al. 2010) et les poxvirus (Adis International Ltd 2003; Pitisuttithum et al. 2011; Rerks-Ngarm et al. 2009) sans succès probant pour le moment.

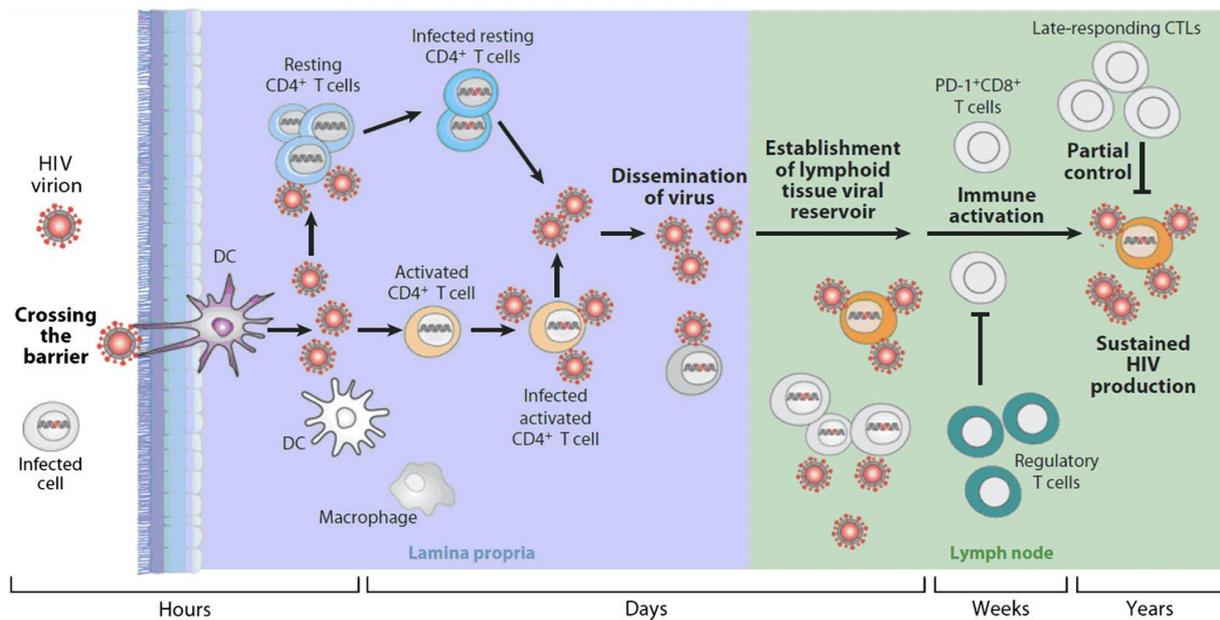


Figure 6 : Phases de l'infection après l'exposition au VIH. La propagation, la dissémination et l'établissement des réservoirs viraux. La réponse immunitaire (CTL tardive, lymphocyte T cytotoxique, PD-1, mort programmée 1), pic virémique (réplication virale) (Moir et al. 2011).

Évolution et Traitement

L'infection par les lentivirus est caractérisée par une longue période de latence sans manifestation clinique avec une persistance du virus, une réplication virale et une dissémination suivies d'une phase chronique émaillée de manifestations cliniques (Figure 6) (Pandrea et al. 2008 ; Paiardini et al. 2009).

L'histoire naturelle de l'infection à VIH-1 varie considérablement d'une personne à l'autre, mais le temps nécessaire au développement du sida en l'absence de traitement antirétroviral est en médiane d'environ 11 ans (Rowland-Jones et al. 2007). L'infection de macaques rhésus par le VIH et le SIV progressent toutes les deux vers le SIDA ; contrairement à l'infection de Sooty mangabey ou de singes verts d'Afrique qui ont une moindre pathogénicité mais présentent un niveau élevé de réplication virale (Pandrea et al. 2008 ; Paiardini et al. 2009).

Dans l'évolution classique de la maladie, la multiplication du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4 cause une forte déplétion de cellules CD4, en particulier dans les organes lymphoïdes associés aux muqueuses (Schacker, et al. 2004). L'homéostasie des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ est très perturbée lors d'une infection par le VIH chez le sujet non traité (McCune et al. 2001). Pendant la phase aiguë de l'infection, la majorité des lymphocytes T CD4⁺ de

l'intestin disparaissent (Clayton et al. 1997 ; Brenchley et al. 2006) alors que dans la phase chronique, les cellules T CD4⁺ périphériques diminuent progressivement. Le pool de lymphocytes T CD8⁺ quant à lui, augmente pendant la phase aiguë de l'infection et commence à décliner au stade SIDA (Margolick et al. 1995), tandis que le pourcentage de cellules naïves dans le pool de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ est fortement réduit pendant l'infection à VIH (Rabin et al. 1995; Ganesan et al. 2010; Marchetti et al. 2009). Lors de l'entrée du VIH dans les différentes sous-populations T CD4⁺, le virus rencontrera différents profils de transcription et différents facteurs cellulaires intrinsèques, ce qui favorisera la transcription provirale ou stimulera la répression et la latence provirales (Agosto et al. 2018).

Les premières semaines qui suivent la transmission de l'infection par VIH-1 sont très dynamiques : elles sont rapidement associées à une perturbation du microenvironnement (Figure 7) et des dommages cellulaires causés par une cytopathogénicité virale directe et des effets collatéraux, ainsi qu'une réponse immunitaire contrôlant partiellement l'infection mais détruisant les cellules infectées répliquant le virus (Figure 6) (McMichael et al. 2010). L'infection virale des lymphocytes T CD4⁺ provoque leur dysfonctionnement et finalement leur mort entraînant un déficit immunitaire secondaire.

L'élimination des cellules infectées est due au système immunitaire (Cellules cytotoxiques T CD8 et NK). On observe également une perte de cellules non-infectées du fait d'une apoptose accrue liée à l'activation chronique. En effet la persistance d'une activation chronique dans l'évolution de l'infection jouerait un rôle majeur dans la progression de la déplétion CD4 et de la maladie vers le SIDA, en induisant une apoptose accrue et/ou la perte des capacités répliquatives (anergie) des lymphocytes T CD4 matures non infectés (Fauci 1984; Silvestri et al. 2007). Il faut également noter une perte des capacités de régénération des lymphocytes T CD4⁺, liée d'une part à des anomalies de production des précurseurs au niveau médullaire (en relation avec une myélodysplasie) et de lymphocytes T du fait de l'infection thymique, et d'autre part à la perte des capacités de renouvellement des lymphocytes matures périphériques.

On considère généralement plusieurs phases dans cette déplétion T CD4⁺ :

- La première phase lors de l'infection aiguë est très rapide et liée à la très forte répllication virale dans les lymphocytes T CD4⁺ fortement activés à courte durée de vie (inférieure à 1 jour) (Dahl et al. 2010; Bacchus et al. 2013).

- La deuxième phase reflète principalement la production de virus à partir d'autres populations de cellules infectées dont la demi-vie est de 1 à 4 semaines (pour les cellules infectées) (Rong et al. 2009).

- La troisième phase est une phase de plateau relatif, causée partiellement par l'activation des cellules T CD4⁺ mémoire qui commencent à produire des virions (Van Lint et al. 2013). Néanmoins ces 3 types cellulaires interviennent à tous les stades de la déplétion CD4.

Bien que l'infection des lymphocytes T CD4⁺ naïfs se produise à une faible fréquence par rapport à celle des lymphocytes T CD4⁺ mémoire activés, l'infection à VIH-1 est associée à des changements quantitatifs et qualitatifs dans le compartiment des lymphocytes T naïfs (TN) chez les enfants comme chez les adultes (Plaeger-Marshall et al. 1993; Rabin et al. 1995; Chattopadhyay et al. 2006; Roederer et al. 1995). Chez les adultes infectés par le VIH-1, une perte des TN précède la perte de l'homéostasie des cellules T et donc la progression vers le stade SIDA. Elle est généralement attribuée à une conversion accélérée en cellules mémoires et effectrices visant à compenser les pertes par mort cellulaire de ces dernières (Chattopadhyay et al. 2006).

Cependant une faible proportion (environ 2% de la plupart des cohortes) de patients infectés par le VIH-1 évolue très lentement par rapport à cette forme classique : ce sont les « long term non progressors » (LTNP), qui restent asymptomatiques durant plus de 10 ans tout en maintenant un niveau élevé de taux des lymphocytes T CD4⁺, ou des Elite Controller (EC) qui contrôlent spontanément la réplication virale en l'absence de traitement ARV (Thiébaud et al. 2011). L'évolution de l'infection chez ces patients rappelle celle des hôtes naturels du SIV (sooty Mangabeys, singe vert d'Afrique) qui n'induit pas de perte importante de cellules T CD4⁺ ni d'activation chronique des lymphocytes T (Müller et al. 2003; Silvestri et al. 2003) ou de progression vers le SIDA en dépit d'une forte réplication virale (Grabar et al. 2009). Ainsi, chez les EC, le niveau d'activation immunitaire peut être relativement élevé et associé à une perte en lymphocytes T CD4. A l'inverse, chez les LTNP on observe un maintien des lymphocytes T CD4 associée à une réplication virale active (Grabar et al. 2009).

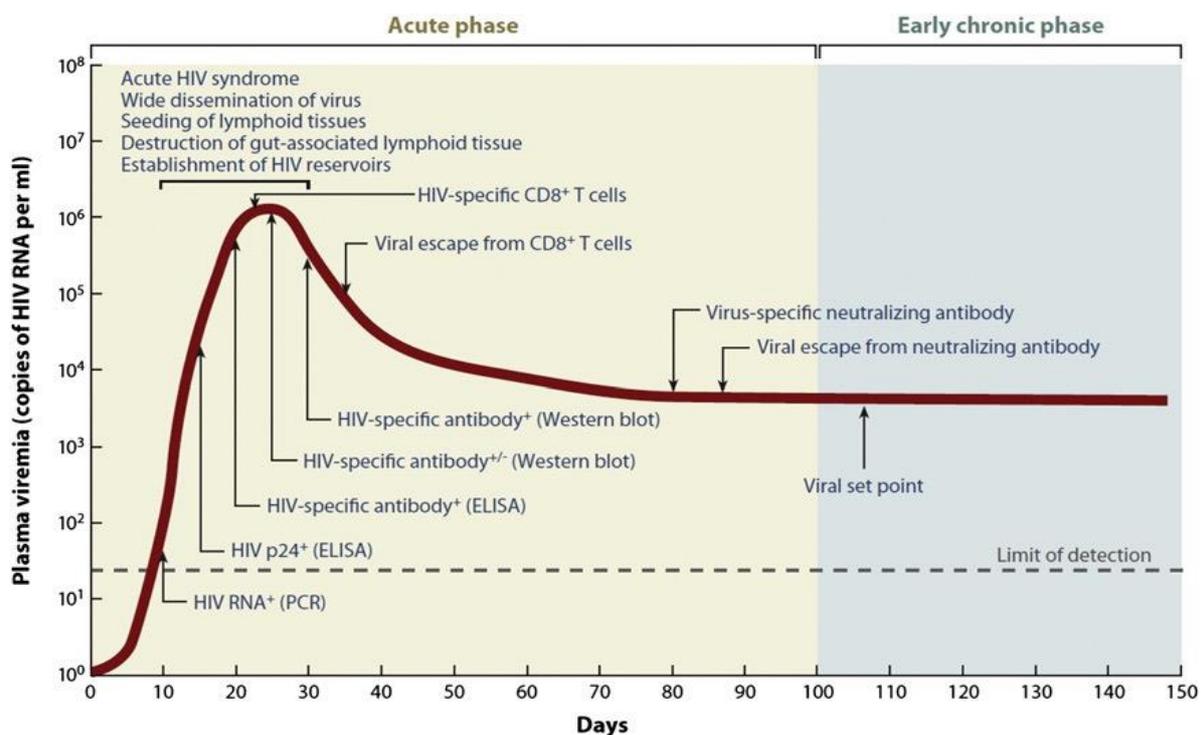


Figure 7 : Cinétique des marqueurs immunologiques et virologiques associés à l'infection à VIH pendant les phases aiguë et chronique (Moir et al. 2011).

Particularités chez l'enfant : L'infection par le VIH chez l'enfant est généralement secondaire à une transmission mère-enfant (TME) (Mirza et al. 2012). L'introduction du traitement ARV a joué un très grand rôle dans la réduction de la transmission mère-enfant (E. M. Connor et al. 1994) . On estime à 2,1 millions le nombre d'enfants vivant avec le VIH à travers le monde et moins de 50% bénéficie d'un traitement ARV (« Global AIDS Monitoring 2018, Indicators for Monitoring the 2016»). En dépit de la baisse considérable du nombre de nouvelles infections chez les enfants, l'année 2016 a enregistré 160 000 nouvelles infections et 120 000 nouveaux décès liés à l'infection.

L'infection pédiatrique par le VIH diffère de celle de l'adulte en termes de progression clinique, de pathophysiologie, de réponse au traitement et de réplication virale (Hazra, et al. 2010; Tobin et al. 2013).

En revanche, il n'y a pas de différences dans l'évolution clinique des patients infectés par le VIH-2, comparée aux patients infectés par le VIH-1 à la fin de la phase asymptomatique (Damond et al. 2001; Gao et al. 1994). Cette évolution clinique (vers le stade SIDA) émaillée de divers symptômes est liée à une production virale accrue et une déplétion T CD4⁺ associées

à une activation immunitaire importante. La charge virale est très similaire à celle des patients infectés par le VIH-1 pour un même stade de la maladie, ce qui suggère une même capacité pour les deux virus à infecter les cellules. Cependant la charge virale plasmatique reste très faible chez les sujets infectés par le VIH-2 (Popper et al. 2000) et le virus montre une sensibilité accrue aux anticorps neutralisants (Blaak et al. 2006). Malgré cela, les porteurs du VIH-2 peuvent développer le SIDA après une moyenne de 25 à 30 ans, beaucoup plus lentement que la moyenne de 10 ans pour une infection par le VIH-1 non traitée (Tchounga et al. 2016; Marlink et al. 1994; Whittle et al. 1994). La plupart des sujets infectés ont une espérance de vie identique à celle des sujets non infectés par le VIH (Poulsen et al. 1997).

Le traitement ARV réduit considérablement la charge virale en dessous du seuil de détection des techniques usuelles, ce qui permet de renverser la tendance (l'histoire naturelle de la maladie) et d'éviter l'immunodépression, malgré quelques effets secondaires des médicaments qui sont difficiles à gérer, surtout dans les pays à ressources limitées. Chez les personnes séropositives mais naïves de traitement, les variants du virus du VIH-1 présentent parfois des mutations qui leur confèrent des résistances aux médicaments (Larder et al. 1989). La mise en place d'un traitement ARV permet de reconstituer le compartiment de CD4 en réduisant la réplication virale. La restauration des compartiments des lymphocytes T naïfs et mémoire contribue à la reconstitution du nombre total de lymphocytes T CD4⁺ (Autran et al. 1997; Lange et al. 2002).

Les ARV ont transformé la vie de millions de personnes infectées par le VIH en induisant une augmentation progressive du nombre de lymphocytes T CD4⁺ (Ghosn et al. 2018). La reconstitution des lymphocytes T CD4⁺ avec les ARV est caractérisée par deux phases : une phase initiale d'expansion et de redistribution des lymphocytes T CD4⁺ mémoire, suivie d'une phase de reconstitution des lymphocytes T CD4⁺ avec une réduction de l'activation des lymphocytes T (Moore et al. 2007; Lederman et al. 2001; Robbins et al. 2009; Autran et al. 1997; Pakker et al. 1998). Cependant, chez environ 20 % des patients, on peut observer une absence de réponse immunitaire même après un traitement ARV suppressif, ce qui est plus fréquent chez les patients qui sont traités tardivement (les patients dont le nombre de cellules T CD4⁺ au départ était inférieur à 350 cellules/mm³ au moment de l'instauration du traitement) (Gaardbo et al. 2012). Les traitements pour les personnes infectées par le VIH-2 sont limités, car de nombreux antirétroviraux usuels contre le VIH-1 que sont les inhibiteurs non

nucléotidique de la transcriptase inverse ne sont pas efficaces sur le VIH-2 (Witvrouw et al. 2004; Hizi et al. 1993; Menéndez-Arias et al. 2014).

En dépit des avancées significatives dans la prise en charge et la prévention du VIH, le nombre de nouveaux cas est resté relativement stable avec environ 2 millions de nouveaux cas par an, augmentant continuellement le nombre de personnes nécessitant un traitement à vie («UNAIDS DATA 2016 » ; « Global AIDS Update 2019»). Il est donc urgent de guérir du VIH-1. Les stratégies de recherche se sont concentrées sur les efforts de guérison comme la stratégie de “shock and kill” « Réveiller et Tuer ». Cette stratégie a pour objectif d’éliminer le réservoir (Cure et al. 2012; Katlama et al. 2013), pour inverser la latence du VIH dans les cellules afin d’induire l’expression des antigènes viraux à la surface des cellules infectées. Ce type de stratégies devrait permettre la reconnaissance des cellules réservoir et leur destruction par un effet cytopathogène ; par exemple par un arrêt du cycle et une entrée en apoptose médiée par Vpr (Poon et al. 1998; Sheila A. Stewart et al. 2000) ou par des cellules cytotoxiques spécifiques du VIH-1. Une telle stratégie serait mise en œuvre pendant que les personnes séropositives restent sous ARV pour prévenir de nouvelles infections (rebond).

Malgré l’efficacité des traitements ARV actuels, le VIH continue d'exister dans plusieurs réservoirs cellulaires en raison d'une faible pénétration des médicaments dans les ganglions et les sanctuaires viraux anatomiques, sites de l'établissement d'une latence virale ou de la réplication virale cryptique (Van Lint et al. 2013; Langer et al. 2001).

Nous décrivons plus loin les caractéristiques de ces réservoirs viraux.

Système Immunitaire et VIH

1. Cellules du système immunitaire et Cibles du VIH

Le virus du VIH cible principalement les lymphocytes T CD4⁺ et les cellules de la lignée monocyte/macrophage exprimant également la molécule CD4 et les corécepteurs nécessaires pour sa pénétration. Les cellules T CD4⁺ sont centrales dans la modulation de la réponse immunitaire (Abbas et al. 2014). Nous décrivons ici les principales cellules cibles de l’infection VIH et celles impliquées dans l’immunité innée.

1.1. Cellules de l'immunité innée

a. Les cellules dendritiques

Elles représentent le premier contact entre le système immunitaire et l'agent pathogène dans le tissu (Bertram et al. 2019). Ce sont des cellules hautement hétérogènes et professionnelles de la présentation d'antigène (CPA) ; elles expriment des niveaux élevés de CD45 et de HLA-DR à leur surface ainsi que de CD1a (Nasr et al. 2014; Hladik et al. 2007), le récepteur de la langerine CLR (C-type lectin receptor, récepteur de type C des lectines exprimé surtout par les cellules de Langerhans) permettant la liaison du VIH (Y. Ganor et al. 2010) et le CD11c. On retrouve également à leur surface des molécules d'adhésion intercellulaire spécifiques des cellules dendritiques : le DC-SIGN ou le récepteur du mannose (MR) qui se lie avec affinité à la gp120 du VIH (Bertram et al. 2019). Leur rôle principal est de détecter les micro-organismes qui envahissent l'organisme au niveau du site de pénétration, elles internalisent le pathogène et le découpent tout en migrant vers les ganglions lymphatiques où elles présentent les antigènes aux cellules T CD4⁺. L'interaction entre les CPA et les lymphocytes T induit la prolifération et la différenciation des cellules T CD4⁺ naïves, établissant ainsi le pont entre l'immunité innée et adaptative (Steinman et al. 2010). Outre leur rôle dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative, les CD précurseurs et immatures sont également impliquées dans plusieurs fonctions effectrices de l'immunité innée à laquelle elles appartiennent : la liaison des PAMs (motifs moléculaires associés aux agents pathogènes) des micro-organismes aux récepteurs de reconnaissance des CD va limiter voire interrompre la croissance et la réplication des agents pathogènes. En raison de leur rôle important dans la surveillance et l'homéostasie, les CD se trouvent dans la plupart des tissus, notamment ceux à l'interface avec l'environnement extérieur comme l'épithélium de la peau ou des muqueuses (Banchereau et al. 1998).

Indépendamment du type de muqueuse à l'origine de l'infection (par exemple vaginale, utérine, prépuce, anale), les mécanismes cellulaires régissant les interactions initiales virus/hôte, sont cruciaux pour aboutir à l'infection systémique d'un nouvel hôte (Altfeld et al. 2011; Haase et al. 2011; Tsunetsugu-Yokota et al. 2013). De nombreux types de cellules immunitaires sont présents dans ces tissus, y compris les CD, qui sont ciblées par le VIH peu après la transmission muqueuse. En outre, l'infection à VIH bouleverse la biologie normale des CD, entraînant l'absorption de virus, l'infection et le transfert à d'autres cellules notamment aux cellules T CD4 au niveau du ganglion de drainage lors de la contamination par voie

muqueuse puis tout au long de la maladie, avec ou sans infection à VIH productive dans les cellules dendritiques (Bertram et al. 2019).

b. Monocytes/Macrophages

Comme les cellules T CD4⁺, les cellules de la lignée des monocytes-macrophages sont considérées comme la première cible de l'infection par le VIH (Koenig et al. 1986 ; Koppensteiner et al. 2012). Ces cellules expriment la molécule CD4 mais aussi les corécepteurs CCR5 et CXCR4 à leur surface (Szabo et al. 1990 ; Lee et al. 1999) ; cette lignée est très résistante aux effets cytopathogènes du VIH, et peut ainsi héberger le virus pendant de plus longues périodes (Le Douce et al. 2010). La présence des macrophages dans la plupart des organes, fait qu'ils sont capables de disséminer le virus partout dans l'organisme. Ces caractéristiques ont classé les monocytes/macrophages comme d'importants réservoirs viraux (Siliciano et al. 2011 ; Blankson et al. 2002). Plusieurs études ont montré la présence d'ADN VIH-1 dans des monocytes isolés de patients infectés (McElrath et al. 1991).

L'étude des caractéristiques des monocytes chez les macaques rhésus a montré que dans l'infection aiguë, on notait une augmentation des monocytes CD14⁺⁺CD16⁺ et CD14⁺CD16⁺⁺, tandis que les monocytes CD14⁺⁺CD16⁻ baissaient deux semaines après l'infection (W.-K. Kim et al. 2010). De même, au cours de l'infection chronique on observe également une augmentation des sous-populations de monocytes CD14⁺⁺CD16⁺ et CD14⁺CD16⁺⁺ associée à une forte charge virale (Kim et al. 2010 ; Crowe et al. 2010). Il a été démontré que chez les personnes infectées par le VIH et sous traitement ARV, les phénotypes de monocytes exprimant CD14⁺⁺⁺CD16⁺ étaient plus sensibles à l'infection par le VIH-1 avec production virale et hébergeaient plus le VIH-1 comparé à la majorité des monocytes sanguins qui sont CD14⁺⁺⁺CD16⁻ (Ancuta et al. 2000 ; Thieblemont et al. 1995). Chez les sujets sains, les monocytes CD14⁺⁺CD16⁺ représentent 10% des monocytes circulants (Ellery et al. 2007). Les cellules CD14⁺CD16⁺⁺ chez les patients infectés par le VIH produisent de façon constitutive des cytokines pro-inflammatoires (Thieblemont et al. 1995). Les monocytes CD14⁺CD16⁺⁺ expriment fortement la molécule CD1a qui est exprimée uniquement à la surface des cellules dendritiques immatures. Les molécules co-stimulatrices (CD40, CD86) et HLA- DR sont fortement exprimées sur les CD immatures et également sur les monocytes de CD14⁺CD16⁺⁺. En résumé, les monocytes CD14⁺CD16⁺⁺ partagent l'expression de plusieurs marqueurs avec les CD immatures (Ancuta et al. 2000). Cependant, le rôle physiopathologique de la sous-population CD14⁺CD16⁺⁺ des monocytes reste flou.

La présence de monocytes CD14⁺CD16⁺⁺ circulants semble être corrélée à un risque accru de développer une encéphalopathie à VIH. Il a donc été suggéré que les monocytes CD14⁺CD16⁺⁺ pouvaient pénétrer de préférence dans le cerveau et exposer les cellules neurales à des facteurs toxiques (Thieblemont et al. 1995). Par ailleurs, chez les sujets infectés par le VIH-1 l'augmentation de la sous-population CD14⁺⁺CD16⁺ des monocytes est associée à une augmentation du taux intracellulaire de CCL2 (Ansari et al. 2013). Le CCL-2 est une chimiokine pro-inflammatoire très importante, produite pendant l'infection par le VIH-1 ; elle est l'un des principaux facteurs responsables de l'inflammation chronique et des lésions tissulaires chez les patients infectés par le VIH (Abdul W. Ansari et al. 2011). L'existence d'une corrélation positive entre l'encéphalite à VIH-1 et le taux de CCL2 dans le liquide céphalorachidien des patients infectés a été rapportée (Cinque et al. 1998). En outre, le rôle du CCL-2 a été démontré dans l'évolution de la réplication du VIH-1 dans les PBMC isolées de patients (Vicenzi et al. 2000).

Les macrophages dérivés des monocytes présentent deux types de polarisation selon le microenvironnement, point très important dans la pathogénèse du VIH-1. Il existe des états d'activation classique ou d'activation de façon alternative ; ces différents états jouent un rôle important dans la réponse immunitaire contre les agents infectieux tel que le VIH (Mills et al. 2014 ; Xuan et al. 2015 ; Cassol et al. 2010 ; Herbein et al. 2010 ; Italiani et al. 2014).

L'activation classique des macrophages est caractérisée par la production d'une quantité très élevée de cytokines de la voie Th1 (IFN- γ , IL-2, IL-12), de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18) et de chimiokines (CCL3, CCL4, CCL5) qui bloquent l'entrée d'un nouveau virus dans la cellule pour éviter la surinfection des macrophages déjà infectés et agissent sur la production virale (Herbein et al. 2010). Pendant la phase initiale de l'infection, on note une prédominance de macrophages activés producteurs de cytokines inflammatoires ; ces macrophages causent des lésions tissulaires dans les ganglions lymphatiques qui sont associées à l'apoptose des cellules T (Herbein et al. 2008). Cependant, plus tard dans l'évolution de l'infection virale, on observe un passage vers des macrophages activés de manière alternative produisant des cytokines anti-inflammatoires telles que TGF- β et IL-10 en grande quantité (Xuan et al. 2015) et une production plus importante d'IL-4 et d'IL-13.

c. Les cellules Natural Killer (NK)

Elles occupent une place de choix dans la réponse immunitaire innée. Elles sont capables de reconnaître les signaux génériques de stress, de transformation ou d'infection avec une mise en place très rapide de leurs fonctions effectrices. Les cellules NK sont les effecteurs antiviraux cruciaux et leur déficit naturel (génétique) exceptionnel est associé à une susceptibilité accrue aux infections virales (Grabar et al. 2009 ; Biron et al. 1989 ; Fleisher et al. 1982). Elles étendent leur surveillance à tout l'organisme, à la recherche de cellules du soi transformées (cellules tumorales) ou infectées qu'elles peuvent détecter en l'absence de spécificité antigénique (Pahl et al. 2017 ; Waggoner et al. 2016 ; Caligiuri et al. 2008 ; Lugli et al. 2014). Ces cellules sont dotées de fonctions immuno- modulatrices qui régulent et relient les réponses immunitaires innées et adaptatives par la sécrétion de chimiokines/cytokines et par des interactions synergiques impactant la maturation et la fonction des cellules CPA (Moretta et al. 2005 ; Vivier et al. 2011 ; Mattioli et al. 2015).

Les cellules NK représentent 5 à 15 % de tous les lymphocytes circulants et sont divisées en deux populations distinctes sur la base de l'expression en surface des CD56 et CD16 (Cooper et al. 2001). La sous-population de cellules NK CD56^{bright}/CD16^{neg} représente environ 5 à 10% de l'ensemble des NK et exerce d'importantes fonctions de régulation (production de médiateurs solubles comme l'interféron (IFN)- γ , le tumor nécrosis factor (TNF)- α et la mise en place d'une communication intercellulaire (Figure 8) . En revanche, les cellules NK CD56^{dim}/CD16⁺ qui représentent environ 90% des cellules NK périphériques, sont principalement des effecteurs cytotoxiques mais peuvent également produire de l'IFN- γ après activation (Cooper et al. 2001; De Maria et al. 2011).

Les cellules NK ont été décrites dans différents tissus. Ces cellules NK résidentes des tissus présentent souvent des caractéristiques phénotypiques qui les distinguent de leurs homologues en circulation. Ces cellules sont responsables de l'homéostasie dans les organes lymphoïdes secondaires (éliminer les cellules défectueuses ou sénescents) (Ferlazzo et al. 2004 ; Grégoire et al. 2007) et dans d'autres organes non lymphoïdes comme la peau, l'intestin, le foie, les poumons et l'utérus (Carrega et al. 2012 ; Hudspeth et al. 2016).

Les fonctions effectrices des cellules NK sont contrôlées par une grande famille de récepteurs de cellules NK, dont l'engagement est réglé par un équilibre dynamique entre signaux inhibiteurs et signaux activateurs (Lanier et al. 2008; Moretta et al. 2002). En effet, les

cellules autologues sont normalement épargnées de la destruction des cellules NK grâce à l'engagement de récepteurs inhibiteurs, comme les KIR-L ou NKG2A qui reconnaissent certaines molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I) (Long et al. 2013 ; Moretta et al. 2002). Inversement les récepteurs activateurs, comme les NCR (NKp30, NKp46 et NKp44, NKG2D ou NKG2C) vont reconnaître des molécules de stress présentes sur les cellules infectées ou tumorales (Long et al. 2013 ; Moretta et al. 2002). Dans le cas du VIH, l'interaction entre certaines molécules du CMH et les récepteurs KIR correspondants serait associée à une diminution de la progression de la maladie (Figure 8) (Martin et al. 2002; 2007) et/ou à la protection contre le développement de la maladie (Boulet et al. 2008a ; 2008b). Parmi les hypothèses pour expliquer ces effets, une interaction directe des KIR avec les motifs peptidiques dérivés du VIH-1 présentés sur les molécules CMH pourrait être envisagée (Alter, Heckerman, et al. 2011).

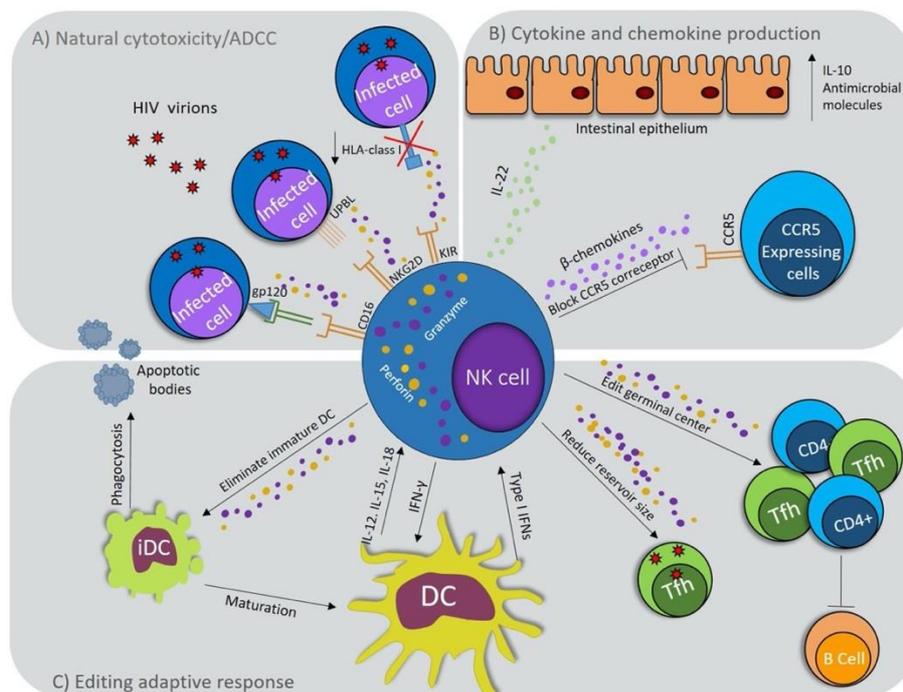


Figure 8 : Rôle des cellules NK pendant l'infection par le VIH-1 (Flórez-Álvarez et al. 2018).

Une meilleure compréhension de la biologie des NK pourrait permettre de relever plusieurs défis actuels liés au VIH, tels que : la mise au point d'un vaccin efficace, le contrôle de l'inflammation résiduelle chez les sujets traités et de nouvelles stratégies d'éradication ou de guérison (Scully et al. 2016). La revue de la littérature sur la mise en place d'un vaccin anti-VIH a mis en évidence l'importance cruciale de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) (Figures 9 et 10), dont la médiation est principalement assurée via les

cellules NK, par l'intermédiaire d'anticorps non neutralisants, comme voie de réponse pour les vaccins protecteurs (Haynes et al. 2012). De nombreux efforts sont mis en place pour l'amélioration de la qualité des anticorps en vue de maximiser la fonction des NK dans la prévention liée à la vaccination (Horowitz et al. 2013).

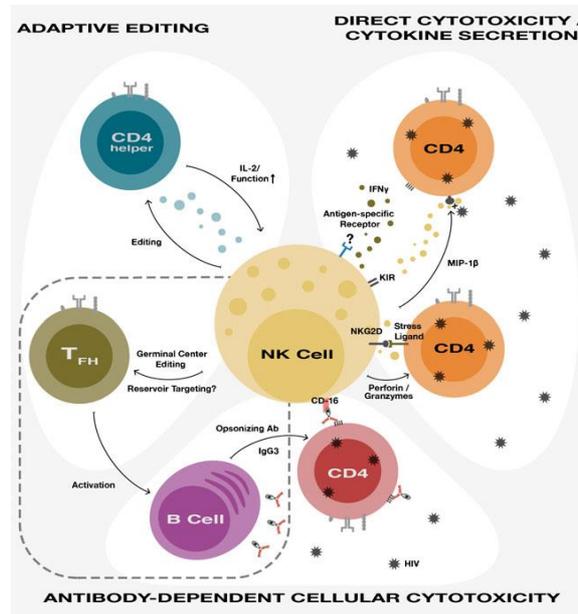
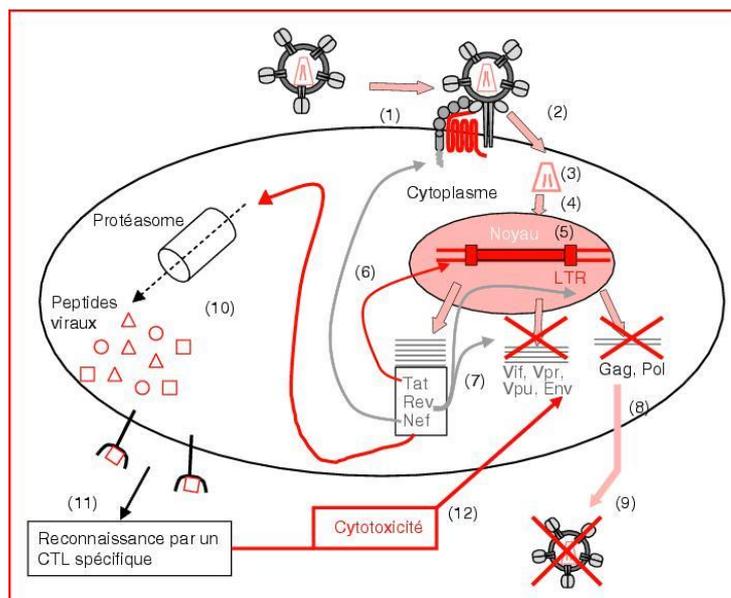


Figure 9 : les différentes facettes de la biologie et des mécanismes d'action des cellules NK VIH (Scully et al. 2016).



Figures 10 : Reconnaissance et élimination de la cellule infectée (Stankovic et al. 2004).

1-2. Immunité adaptative et lymphocytes T

La mise en place d'un réseau de cellules ayant des récepteurs de surface capables de reconnaître spécifiquement un antigène, ayant une mémoire et une durée de vie très longue est l'un des socles du système immunitaire adaptatif (Figure 13) (Farber et al. 2014 ; Ahmed et al. 1996). Les cellules du système immunitaire circulent continuellement dans les tissus, elles établissent également des populations de cellules T mémoire résidentes (TRM) dans les tissus qui réagissent en premier lieu contre les agents pathogènes (Figure 13) (Fan et al. 2016). La recirculation des lymphocytes T est un processus dynamique régulé pendant toutes les phases de la réponse immunitaire et crucial dans la lutte contre les agents pathogènes ou les cellules modifiées (Zhang et al. 2015).

Le thymus est un organe retro sternal ; il fait partie des organes lymphoïdes primaires avec la moelle osseuse, chargés de la production, maturation et différenciation des cellules du système immunitaire. Le thymus se développe de la naissance jusqu'à l'âge de 2-3 ans, atteint son poids maximal (30-40g) à la puberté puis régresse progressivement à l'âge adulte (Bredenkamp et al. 2014). Il joue un rôle important dans la mise en place du système immunitaire chez l'enfant en assurant la maturation des lymphocytes T encore appelés thymocytes. Sur le plan histologique c'est un organe lymphoïde épithélial constitué de 2 lobules entourés de membranes conjonctives, chaque lobule comprend une partie sombre appelée le cortex et une partie claire appelée la médulla entre lesquelles se situe la jonction cortico- médullaire servant de porte d'entrée aux précurseurs des thymocytes venant de la moelle osseuse (Figure 11) (Thapa et al. 2019). Les précurseurs d'origine médullaire acquièrent d'abord la capacité de co-exprimer le TCR et les molécules CD4 et CD8 (Figure 12). Plus de 95% de ces thymocytes immatures sont détruits par apoptose lors de leur maturation. Le signal de déclenchement est la reconnaissance par le TCR des auto-antigènes présentés par les CPA via le CMH, résultant en d'abord de la sélection positive puis de la sélection négative des lymphocytes (Galy et al. 1993). Puis survient une sélection positive, lors de la sélection clonale où seules les cellules qui reconnaissent l'antigène sont activées. Le résultat de cette activation est une prolifération des lymphocytes T par mitose et une augmentation des lymphocytes T matures qui ont la capacité de reconnaître les antigènes du non soi. Grâce à cette capacité, les lymphocytes T peuvent maintenir l'homéostasie. Après ces sélections positive puis négative les lymphocytes T matures migrent vers les organes lymphoïdes secondaires ; les T matures naïfs vont circuler en permanence entre ces organes et la périphérie.

Il a été démontré que le thymus est un site précoce d'infection à VIH-1 (Mano et al. 1991 ; McCune et al. 1998 ; Nunes-Cabaço et al. 2015). En effet dans le thymus, la molécule CD4 est exprimée non seulement sur les cellules T matures ($CD3^+CD4^+CD8^-$) mais aussi sur les thymocytes en cour de différenciation ($CD3^{+/+} CD4^+CD8^+$) et les progéniteurs intra-thymiques (ITTP, $CD3^-CD4^+CD8^-$) (Kraft et al. 1993; Galy et al. 1993). Bien qu'ils n'aient pas été bien étudiés pendant l'infection par le VIH-1, les organes thymiques des fœtus et des enfants infectés par le VIH-1 présentent des lésions parenchymateuses profondes (Davis et al. 1984; Hahn et al. 1984; Joshi et al. 1985; Papiernik et al. 1992; Pekovic et al. 1987; Schuurman et al. 1989). Les cellules progénitrices T du thymus sont infectées par le VIH-1, ce qui entraîne leur déplétion ou leur dysfonctionnement et donc une déplétion des thymocytes (Su et al. 1995; Schnittman et al. 1990; Schneider et al. 2017). La progression vers le stade SIDA est accélérée chez les nourrissons dont les fonctions thymiques sont anormales et le système immunitaire immature (Kourtis et al. 1996). Grâce aux techniques d'imagerie, on sait que la masse thymique est corrélée à la production de cellules T naïves chez les patients séropositifs pendant le traitement ARV (Smith et al. 2000; McCune et al. 1998). Enfin, la progression de l'infection et la destruction du thymus sont des phénomènes caractéristiques d'autres maladies liées aux lentivirus (chez les macaques rhésus et les chats) (Beebe et al. 1994; Lackner et al. 1994).

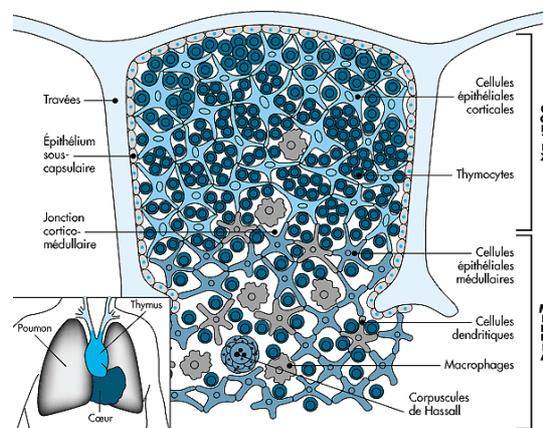


Figure 11 : Structure du thymus (Berrih-Aknin et al. 1999).

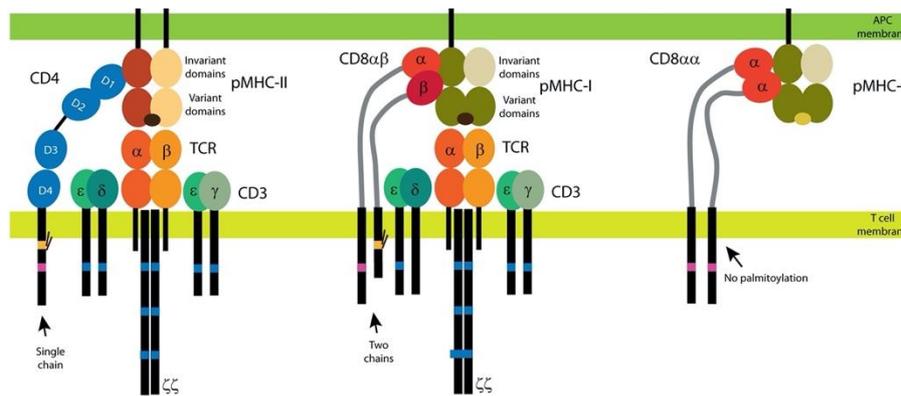


Figure 12 : Expression et structure protéique des TCR associés aux corécepteurs (Glatzová et al. 2019).

i. Les cellules T Naïves (TN)

Les lymphocytes matures dotés d'un TCR $\alpha\beta$ migrent dans les organes lymphoïdes secondaires ou dans le sang périphérique après leur passage dans le thymus (Surh et al. 2008; Takada et al. 2009) et suivent des étapes de maturation périphérique : les cellules T $CD4^+$ mémoire dérivent des TN. Les TN ont un niveau très élevé du marqueur de co-stimulation CD27 en plus des marqueurs lymphoïdes CD62L et CCR7 (Cieri et al. 2013; Hinrichs et al. 2011; Casati et al. 2013; Xu et al. 2014).

Les lymphocytes T matures naïfs au repos ont un phénotype cellulaire caractérisé par un taux élevé de récepteurs d'origine ganglionnaire (CD62L et CCR7). Ces cellules sont maintenues en vie par le contact du TCR avec des ligands (peptides du soi associés au CMH) et sous l'influence de la cytokine majeure de l'homéostasie lymphoïde, l'IL-7 (Surh et al. 2008; Takada et al. 2009). Au niveau thymique, l'interaction entre le TCR de la cellule naïve et le peptide sous l'influence de l'IL-7 favorise la viabilité cellulaire avec l'expression des molécules de survie telles que le Bcl-2. Lors de la sélection positive au niveau thymique, on note une forte expression de CD69, un marqueur d'activation, sur les cellules naïves au repos, alors que les lymphocytes T extra-thymiques matures n'expriment pas ce marqueur à moins d'être activés par l'antigène (Starr et al. 2003).

Lorsque les TN entrent en contact avec l'antigène dans les organes lymphoïdes secondaires, pendant la réponse immunitaire, une petite proportion des cellules répondeuses survie pour former les lymphocytes T mémoire spécifiques de l'antigène (Figure 14) (Cui et al.

2010). Certaines expriment fortement CD62L et CCR7 (cellules T centrale mémoire) et d'autres expriment faiblement CD62L et CCR7 (cellules T effecteur mémoire).

Ces lymphocytes T de phénotype mémoire représentent 10 à 20 % des lymphocytes T chez les jeunes souris, mais augmentent à des niveaux élevés chez le sujet âgé (Sprent et al. 2011).

Nous décrivons plus loin leur infectivité par le VIH (Page 41).

ii. Les cellules TSCM (stem cell-like memory T, cellule souche mémoire T)

Les TSCM sont une sous-population de cellules mémoire auto-régénérantes récemment identifiées qui donnent naissance à des cellules T effectrices et à d'autres populations de cellules mémoire (Gattinoni et al. 2011; 2017 ; Zhang et al. 2005 ; Lugli et al. 2013) ; ce sont des lymphocytes T mémoire au stade précoce de différenciation (Gattinoni et al. 2011; Lugli et al. 2013), avec des caractéristiques semblables à celles des cellules souches : capacité d'auto renouvellement et de production de cellules plus différenciées à partir de la stimulation antigénique (Stemberger et al. 2009).

Elles constituent une petite proportion du sous-ensemble des cellules T mémoire, environ 2-4% du total des cellules T CD4⁺ et CD8⁺ dans le sang (Gattinoni et al. 2011; Lugli et al. 2013).

Les cellules TSCM partagent des caractéristiques phénotypiques communes avec les lymphocytes T naïfs car elles sont CD45RA⁺, CD45RO⁻, CCR7⁺ et CD27⁺; cependant, elles peuvent être distinguées des lymphocytes T naïfs par une forte expression de CD95 et CD122 (IL-2R β) (Gattinoni et al. 2011; Buzon et al. 2014; Flynn et al. 2014) ; elles expriment également une molécule anti apoptotique (CD95=Fas), un récepteur de chimiokine (CXCR3, CXCR4), un antigène-1 associé à la fonction lymphocytaire (LFA-1) et moins de CD38 et CD31 comparativement aux cellules naïves (Gattinoni et al. 2011).

Les TSCM ont été décrites comme étant le stade de développement le plus précoce et le plus durable des cellules T mémoire (Gattinoni et al. 2011) et présentant un profil de gènes et un profil d'activation entre les cellules naïves et centrales mémoire (Gattinoni et al. 2011; Lugli et al. 2013).

iii. Lymphocytes T CD4⁺ mémoire

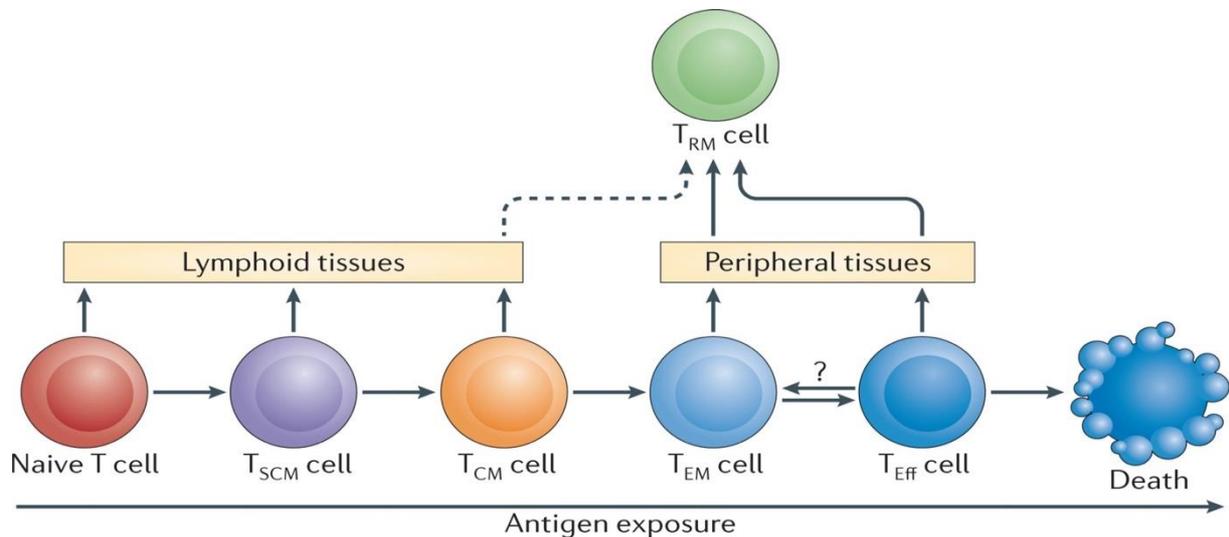


Figure 13 : Schéma de différenciation des sous-populations des cellules mémoire (Farber et al. 2014)

a. Les cellules T centrale mémoire (TCM)

Les TCM sont des cellules ayant une demi-vie relativement longue (6 mois - 1 an) et représentant le compartiment cellulaire primaire responsable de la mémoire immunologique à long terme (Sallusto et al. 1999 ; 2004) ; elles sont CD45RA⁻CCR7⁺ (Figure 15). Comme les lymphocytes TN, elles circulent en permanence entre les organes lymphoïdes secondaires et la périphérie. Ces cellules subissent une expansion clonale rapide dans les organes lymphoïdes secondaires lorsque leurs TCR reconnaissent les antigènes à la surface des CPA et se différencient par la suite en cellules effectrices (Schenkel et al. 2014). À ce stade, elles perdent leurs récepteurs de migration ganglionnaire (CD62L et CCR7) et migrent vers les tissus périphériques non lymphoïdes où les cellules changent sous l'influence de cytokines en cellules effectrices ou de la cytolysse des cellules hôtes infectées (Schenkel et al 2014 ; Fan et al. 2016;).

Les lymphocytes TCM sont capables de se différencier en lymphocytes TTM (transitionnelle mémoire) et TEM (effecteur mémoire) à durée de vie plus courte après stimulation antigénique (Gattinoni et al. 2013; Fritsch et al. 2005; Sallusto et al. 2004). Ils se

maintiennent en vie ou prolifèrent indépendamment de l'antigène sous l'influence de cytokines homéostatiques (IL-7 et IL-15) (Chomont et al. 2009 ; Geginat et al.2001).

b. Les cellules T transitionnelle mémoire (TTM)

Selon la théorie du système hiérarchique des cellules mémoire, il existe des cellules en transition entre l'étape de cellules naïves et/ou TCM vers les cellules TEM qui se caractérisent par le maintien de la capacité à répondre aux cytokines homéostatiques, aux récepteurs de homing (résidence) tissulaire, aux molécules anti-apoptotiques mais aussi d'acquérir la fonction effectrice, tout en perdant l'expression des récepteurs de homing ganglionnaire (CCR7 et CD62L) et la capacité de prolifération et de production d'IL-2 (Lanzavecchia et al. 2005).

Les cellules TTM peuvent être distinguées des autres sous-populations de cellules TEM par l'utilisation supplémentaire de l'expression du récepteur de surface CD27 (Figure 15) (Chomont et al. 2009). Elles ont été décrites comme ayant des caractéristiques fonctionnelles et transcriptionnelles intermédiaires entre les cellules TCM et TEM (Riou et al. 2007), avec une capacité proliférative conservée mais une plus grande capacité à produire des cytokines effectrices.

c. Les cellules T effectrice mémoire (TEM)

Les TEM sont issues de l'activation antigénique puissante soit de TN, soit de TCM soit de TTM. Ces cellules n'expriment pas de CD45RA, de CD62L ni de CCR7 (Figure 15). Elles se localisent dans les tissus ayant une propriété effectrice ; elles représentent aussi le compartiment des cellules ayant rencontré l'antigène. Elles expriment également différents récepteurs de chimiokines tels que CXCR3 qui permet au TEM et au TEMRA d'accéder aux tissus périphériques inflammatoires. Les TEM humaines, et les TEMRA en particulier, sont plus différenciés en termes de fonction effectrice par rapport aux TCM. Elles migrent directement dans les tissus inflammatoires et se caractérisent par une réponse rapide après interaction avec l'antigène (Sallusto et al. 1999 ; 2004). Les TEM perdent leur capacité de sécrétion d'IL-2 et donc leur capacité d'auto-renouvellement. Cependant on ne sait pas encore si la perte de la capacité de sécrétion d'IL-2 n'est qu'une simple conséquence de l'interaction avec un antigène ou si elle est la cause sous-jacente d'une réplication virale incontrôlée dans le cas de l'infection VIH (Potter et al. 2007). Les TEM ont une sécrétion accrue de cytokines effectrices, dont l'interféron- γ (IFN- γ) et l'IL-4 (Sallusto et al. 1999 ; 2004).

d. Les cellules T effectrice mémoire ré-exprimant CD45RA (TEMRA)

A la différence des cellules naïves elles sont $CCR7^-$ et sont caractérisées par une diminution de l'expression du CD27 et CD28 mais une augmentation de l'expression du CD57 et des molécules effectrices telles que la perforine et le granzyme B. Elles semblent être au stade terminal de différenciation avec une incapacité à produire de l'IL-2 (Larbi et al. 2014; Weiskopf et al. 2015; Harari et al. 2004). Elles ont une faible capacité proliférative et expriment certains marqueurs de sénescence (Mahnke et al. 2013). Leur demi-vie est généralement estimée à 1 à 2 semaines.

Cette sous-population est beaucoup plus étudiée dans le compartiment CD8, cependant sa fréquence varie d'un individu à un autre, en lien avec les contacts antigéniques et infectieux (Burel et al. 2017). Cependant le rôle des cellules T $CD4^+$ TEMRA n'est pas bien établi (Tian et al. 2017).

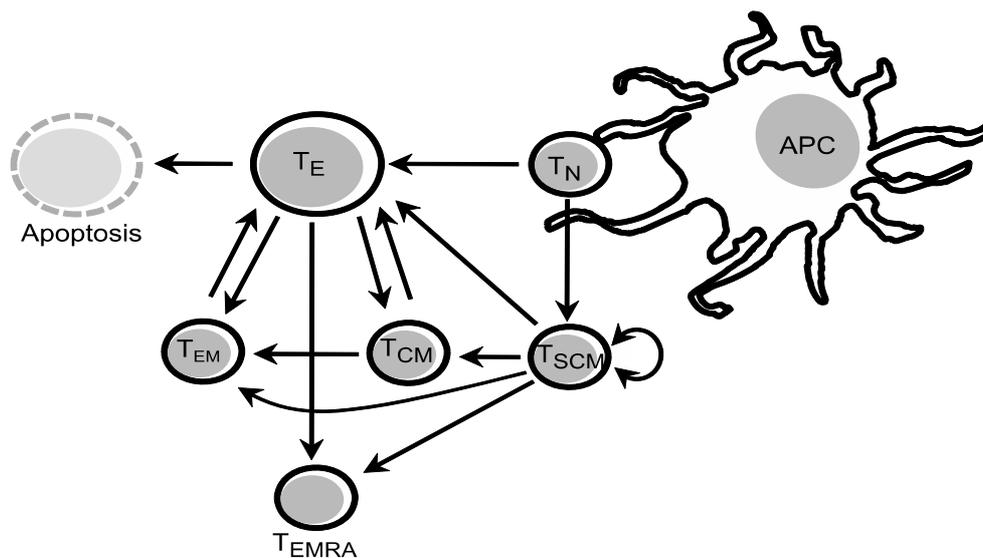


Figure 14 : Différenciation des TN après rencontre avec l'antigène via la CPA (Agosto et al. 2018).

e. Les cellules T résidentes mémoire (TRM)

Les TRM sont divisées en cellules centrale mémoire (TCM) et effectrices mémoire (TEM) dans la circulation ou en périphérie (Figure 13) (Schenkel et al. 2014). Les cellules

mémoire résidentes sont essentiellement dans les tissus et prédominent au sein des muqueuses ; elles sont caractérisées par l'expression du CD69⁺ (Neuenhahn et al. 2013).

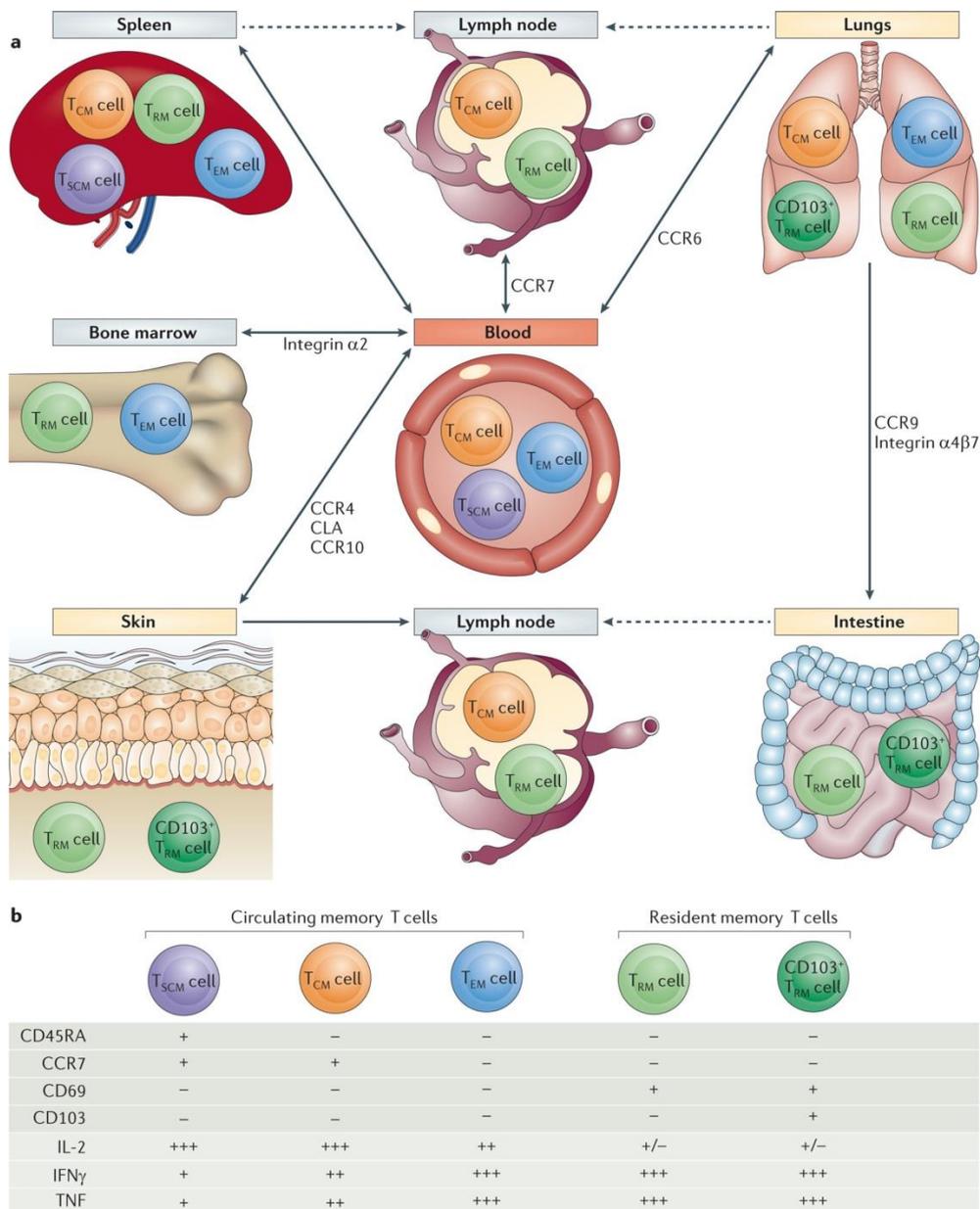


Figure 15 : Schéma de l'hétérogénéité des cellules T mémoire dans le sang et les tissus périphériques (Farber et al. 2014).

2. Infection et déplétion des cellules T CD4 au cours de l'infection VIH

Le VIH-1 infecte principalement les lymphocytes T CD4⁺ et les macrophages. Une interaction initiale entre la gp120 et le récepteur de surface CD4 induit la formation d'une liaison entre les domaines interne et externe du monomère gp120, exposant le site de liaison d'une

deuxième molécule de surface de la cellule cible, par exemples le récepteur de chimiokine CCR5 (Chen et al. 2005; Rizzuto et al. 1998; Kwong et al. 1998). L'engagement du corécepteur conduit à l'insertion du peptide de fusion situé à l'extrémité N-terminale de la gp41 et la membrane cellulaire, qui à son tour déclenche des réarrangements entre les séquences répétées de portion N- et C-terminales de la gp41, entraînant la formation d'une structure en épingle à cheveux à six hélices, induisant la fusion des membranes du virus et de la cellule hôte (Figure 16) (Buzon et al. 2010; Weissenhorn et al. 1997; Chan et al. 1997).

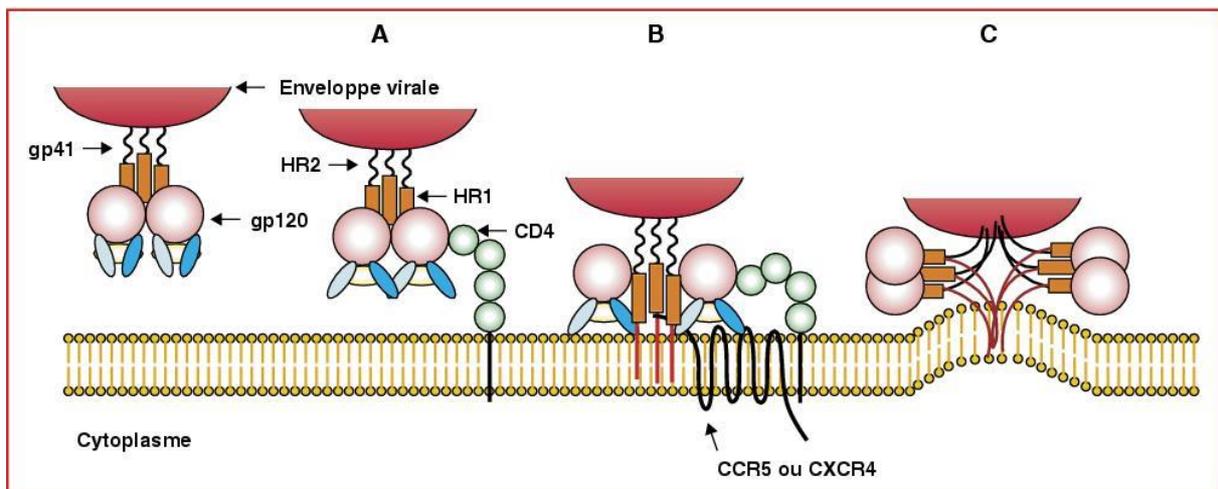


Figure 16 : Schéma d'interaction entre le récepteur CD4 et les corécepteurs (Soliman et al. 2017).

L'infection du thymus par le VIH et la diminution de la production thymique qui en résulte, ainsi que leur conversion accélérée en cellules mémoire du fait de la mortalité importante de ces dernières, contribueraient à la perte graduelle des cellules T naïves dans l'infection à VIH, alors que ces cellules T $CD4^+$ naïves sont très faiblement infectées elles- même.

Le déclin des lymphocytes T $CD4^+$ dans la circulation périphérique est l'une des caractéristiques de la progression de l'infection par VIH-1 (McCune et al. 2001). L'analyse des changements phénotypiques des lymphocytes T au cours de la progression de la maladie indique que le nombre de lymphocytes T naïfs ($CD4^+$ et $CD8^+$) est très réduit, ce qui suggère une altération de la restauration des cellules T matures (Roederer et al. 1995). Par ailleurs, l'incapacité par l'organisme à maintenir l'homéostasie des lymphocytes T a été corrélée à l'apparition du SIDA (Margolick et al. 1995). La suppression de la réplication du VIH-1 par

l'administration d'ARV entraîne une restauration du nombre de lymphocytes T CD4⁺ naïfs (Douek et al. 1998).

L'infection par le VIH-2 a été associée à une longue période asymptomatique, une charge virale plasmatique plus faible, une diminution plus lente du nombre de lymphocytes T CD4⁺ (de Silva et al. 2008; Campbell-Yesufu et al. 2011; Nyamweya et al. 2013). Seulement une minorité de sujets infectés VIH-2 progressent vers le stade SIDA (Berry et al. 2002; Ariyoshi et al. 2000), la majorité des sujets VIH-2⁺ sont des Long Term Non progressors (Salwe et al. 2019) avec une charge virale indétectable (Berry et al. 2002).

Les niveaux d'ADN proviral dans les cellules T CD4⁺ du sang périphérique sont équivalents à ceux trouvés chez les individus infectés par le VIH-1 au même stade de la maladie (Ariyoshi et al. 2000). Les sujets infectés par VIH-2 contrôlent leurs répliquions virales à travers une réponse immunitaire qui limite le déclin des lymphocytes T CD4⁺ (Whittle et al. 1998). La réponse polyfonctionnelle des lymphocytes T CD4⁺ mémoire spécifique au VIH est bien conservée et caractéristique de l'infection par le VIH-2 (Duvall et al. 2006; 2008). La réponse immunitaire des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques au VIH-2 est bien présente (Gotch et al. 1993; Bertoletti et al. 1998), cependant, il n'y a pas de différence dans les réponses spécifiques comparées VIH-1 en terme de : production d'IFN-g (Gillespie et al. 2005; Jaye et al. 2004; Zheng et al. 2004), capacité de prolifération (Duvall et al. 2006) ou cytotoxicité (Jaye et al. 2004), ce qui suggère que la réponse immunitaire adaptative spécifique au VIH-2 ne serait pas la seule caractéristique contribuant à un meilleur contrôle viral et à de meilleurs résultats cliniques.

La répartition des cellules T CD4⁺ est identique chez les sujets infectés par le VIH-1 et les VIH-2 comparée aux donneurs sains, cependant on observe une augmentation significative des lymphocytes T CD4⁺ régulateurs (Treg) et des effecteurs mémoires avec une diminution des TN et TCM. La valeur absolue des lymphocytes Treg CD4⁺ et TEM est négativement corrélée avec la progression de la maladie chez les sujets infectés (VIH-1 et 2) et sous traitement antirétroviral. L'activation associée aux cellules T CD4⁺ et T CD8⁺ est plus faible chez sujets infectés par le VIH-2 comparée aux VIH-1⁺ (Salwe et al. 2019).

Récepteur, Corécepteurs et Facteurs de restriction du VIH

Le VIH utilise le CD4 en combinaison avec un récepteur de chimiokine pour pénétrer dans les cellules cibles.

1. Récepteur d'entrée

CD4 : La molécule CD4 est une glycoprotéine membranaire exprimée principalement à la surface des lymphocytes T auxiliaires dont le TCR reconnaît l'antigène présenté par la CPA via le CMH de classe II.

Cette glycoprotéine monomorphe a un poids moléculaire de 55000 kD , est constituée d'une partie extracellulaire (370 acides aminés), d'une région transmembranaire (25 acides aminés) et d'un domaine intra-cytoplasmique (38 acides aminés) (Maddon et al. 1985). En outre la molécule CD4, chez l'homme, représente le principal récepteur cellulaire pour le VIH, lequel se lie à la molécule CD4 par l'intermédiaire de sa gp120 (Klatzmann et al. 1984).

2. Corécepteurs

Plus de 40 chimiokines (Tableau 1) ont été identifiées et sont classées en familles et sous-familles en fonction de l'emplacement des deux premiers résidus cystéine amino-terminaux C, CC, CXC et CX3C (Mandai et al. 2013). Les premiers récepteurs de chimiokines reconnus comme étant des corécepteurs du VIH sont le CCR5 et le CXCR4 (Figure 17) (H. Deng et al. 1996; Feng et al. 1996; Dragic et al. 1996). Depuis lors, les capacités de nombreuses familles de récepteurs de chimiokines à permettre la pénétration du VIH *in vitro* ont été étudiées, par exemple : les CCR1 à CCR8, CXCR6 (BONZO), GPR15 (BOB), GPR1, APJ, CX3CR1 (V28), CXCR5 et RDC1 (Choe et al. 1998; 1996; Combadiere et al. 1998; Doranz et al. 1996; Farzan et al. 1997; Kanbe et al. 1999; Liao et al. 1997; Rucker et al. 1997; Shimizu et al. 2000).

Tableau 1 : Classification des cytokines suivant les caractères biochimiques et structuraux

Famille	Caractéristique	Cytokines	Récepteurs
Hématopoïétines ou cytokines de type I	4 hélices α	IL-2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 21, 23, 27, GM-CSF,	Récepteurs de cytokines de type I
Interférons ou cytokines de type II	Dimériques 4 hélices α	IFN- α , β ,... IL-10.. ...29	Récepteurs de cytokines de type II
Famille du TNF	Trimériques	TNF- α , LT α (TNF- β)	TNFR
Famille de l'IL1	12 feuillets β	IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-1ra	IL-1R
Chimiokines α	CC	CCL1 à 16	CCR
Chimiokines β	CXC	CXCL1 à 27	CXCR

- Le **CCR5** (C-C chimiokine de type 5) est le récepteur de **chimiokine** de type 5 aussi appelé CD195. Chez l'homme, le gène de cette protéine se situe sur le chromosome 3, on peut noter une mutation de ce gène chez certaines personnes connue sous le nom de mutation delta 32 (CCR5 Δ 32) (Rottman et al. 1997). Les sujets porteurs de la mutation CCR5 Δ 32 sont naturellement résistants à l'infection par le VIH (Dragic et al. 1996).

L'utilisation du CCR5 par le virus se fait surtout pendant la phase précoce de l'infection par le VIH ; il s'agit d'un récepteur transmembranaire. Le SIV utilise plus fréquemment le CCR5 par rapport au CXCR4 (Samson et al. 1996 ; Huang et al. 1996). Le CCR5 a été longtemps considéré comme le seul récepteur d'entrée du SIV dans la cellule cible *in vivo*. Il y a quelques années, une découverte cruciale a permis de noter que l'expression du CCR5 était extrêmement faible à la surface des cellules TCD4 des primates SM et AGM, contrairement aux macaques Rhesus et aux humains qui expriment des niveaux de CCR5 plutôt élevés (Pandrea et al. 2007). Une diminution d'expression ou une anomalie de ce corécepteur protégerait les cellules cibles contre l'infection (Cartwright et al. 2014; Paiardini et al. 2011; Pandrea et al. 2007). Cependant on ne savait pas encore que l'on pouvait retrouver des charges virales très élevées chez des individus exprimant faiblement le CCR5 à la surface des lymphocytes TCD4⁺ (Wetzel et al. 2017). Une mutation du gène du CCR5 chez le RCM entraîne une infection des cellules cibles par le SIV via le CXCR6 et le CCR2B mais pas le

CCR5 (Zhiwei Chen, Kwon, et al. 1998; Beer et al. 2001). Cette même mutation n'a aucune conséquence sur l'infection chez le Sooty mangabey (charge virale toujours élevée) (Riddick et al. 2010).

- **Le CXCR4 ou CD184** est un récepteur de chimiokine qui intervient dans diverses fonctions vitales. Il est le ligand membranaire de la protéine CXCL12 (Oberlin et al. 1996) et intervient dans la mobilisation et la domiciliation des cellules progénitrices des organes lymphoïdes primaires vers la périphérie (Döring et al. 2017). Le CXCR4 permet l'entrée du VIH dans les cellules cibles en association avec la molécule CD4 (Desjardins et al. 2007). L'utilisation du CXCR4 est parfois observée tard dans l'infection et plus rarement pour le SIV (Connor et al. 1997; Scarlatti et al. 1997; Z. Chen et al. 1997 ; 1998).

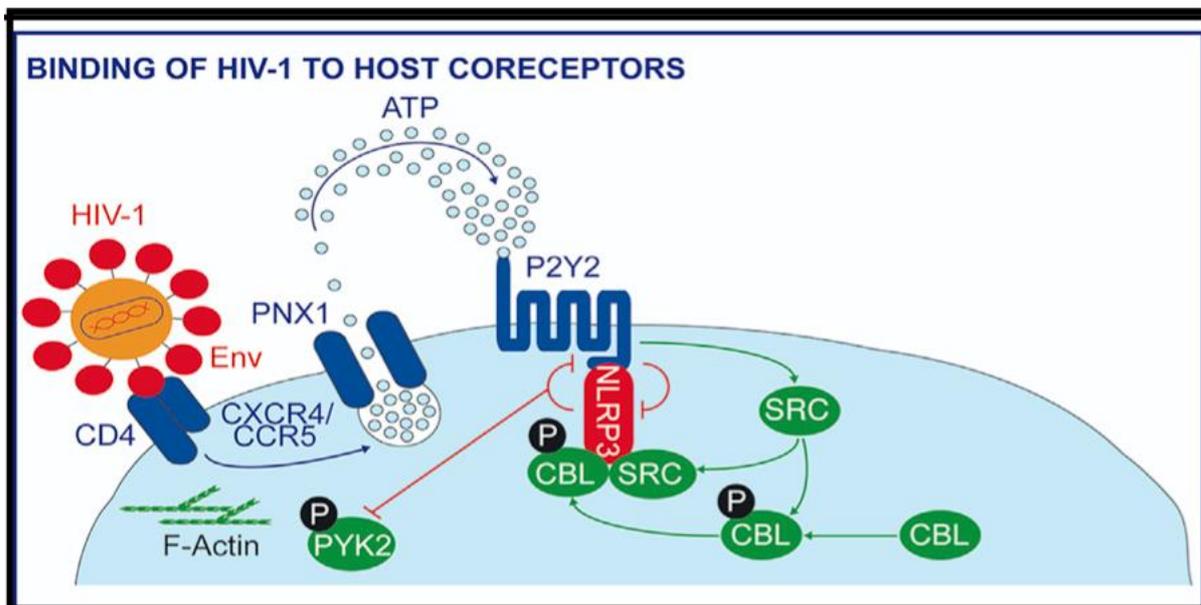


Figure 17 : Principaux récepteurs d'entrée du VIH. (Paoletti et al. 2019)

Les formes fréquemment transmises de VIH-1 sont celles à tropisme R5 qui utilisent le récepteur de chimiokine CCR5 pour entrer dans les cellules mémoire au repos qui expriment des niveaux suffisants de CCR5 pour supporter l'infection (Theodore Pierson et al. 2000). Les virus R5 pénètrent peu ou pas dans les cellules T CD4⁺ naïves qui expriment peu de CCR5 (Pierson et al. 2000; Mo et al. 1998; Blaak et al. 2000). Les virus à tropisme X4 peuvent pénétrer dans les cellules T CD4⁺ au repos, qu'elles soient naïves ou mémoire, en raison d'une large expression de ce corécepteur (Pierson et al. 2000; Mo et al. 1998; Chun et al. 1997).

Le CXCR6 est le récepteur de chimiokine de type 6, aussi appelé CD186 ; il a été identifié comme récepteur alternatif d'entrée du VIH et du SIV (Deng et al. 1997). Chez l'homme, le CXCR6 est exprimé par les T effecteurs mémoire (Unutmaz et al. 2000; Kim et al. 2001), les cellules NK, les cellules NKT (Kim et al. 2002) mais aussi les plasmocytes (Nakayama et al. 2003). Le CXCR6 est un corécepteur robuste servant de voie d'entrée efficace chez les Sooty Mangabey pour le SIV *ex vivo* (Elliott et al. 2012) mais aussi *in vivo* (Wetzel et al. 2017; Riddick et al. 2015). L'utilisation du CXCR6, au lieu du CCR5, semble être une caractéristique courante des interactions virus/hôtes dans les infections impliquant de multiples hôtes naturels chez lesquels l'expression du CCR5 est faible ou dans certains cas absente (génétique). En outre, il a été récemment démontré que l'utilisation du CXCR6 caractérise les lentivirus non pathogènes (Wetzel et al. 2018) et qu'elle est liée à la position 326 sur la boucle V3 associée à la gp105. Il est intéressant de noter que les 259 séquences de la gp105 du VIH-2 ont été retrouvées chez les sujets dans la cohorte ANRS-VIH-2 comparées aux gènes de référence. (C Charpentier et F Brun-Vezinet, communication personnelle).

3. Facteurs de restriction et de transcription

Après avoir infecté une cellule, un virus se reproduit en utilisant la machinerie de la cellule hôte pour produire de nouveaux virus, qui se propagent ensuite aux autres cellules. Cependant, les cellules ont développé des facteurs internes d'immunité intrinsèque de lutte contre ces infections. Par exemple, chez les mammifères, de nombreuses cellules contiennent des protéines appelées facteurs de restriction qui empêchent le virus de se multiplier et bloquent ainsi la progression de l'infection par le VIH tels que (Figure 18) :

- **SAMHD1** (SAM [stérile alpha motif] Domain and HD domain-containing protein 1) a été découvert à l'origine dans des cellules dendritiques humaines en tant qu'homologue d'une protéine induite par l'IFN- γ de souris (DCIP) (Dragin et al. 2013 ; Li et al. 2000). Il a été récemment identifié comme un facteur de l'hôte qui limite la réplication du VIH-1 dans les cellules dendritiques et myéloïdes, et plus récemment dans les cellules lymphoïdes (Hrecka et al. 2011; Laguette et al. 2011). Le domaine HD de SAMHD1 possède des activités de nucléotidase et de phosphodiesterase. Ces caractéristiques sont requises pour la restriction (Hrecka et al. 2011; Manel et al. 2010; Zimmerman et al. 2008). Le VIH-2 et le SIV codent pour la protéine accessoire Vpx, absente du VIH-1, qui possède quant à elle la faculté d'induire

la dégradation de SAMHD1 et donc est un antagoniste de celui-ci. Ainsi, la fonction antivirale de SAMHD1 s'active en recrutant SAMHD1 liant la protéine E3 dans le complexe d'ubiquitine ligase CRL4DCAF1. Ce recrutement entraîne une dégradation très spécifique du SAMHD1, lié au protéasome, par laquelle Vpx entraîne la restriction induite par SAMHD1 lors de la réplication virale dans les cellules myéloïdes (Laguette et al. 2011; Hrecka et al. 2011; Ahn et al. 2012; W. Wei et al. 2012). Les domaines du motif alpha stérile sont responsables de l'interaction protéine-protéine et pourraient servir de médiateurs à la liaison de l'ARN. Le domaine HD hébergerait une activité phosphohydrolase (Rice et al. 2009). Une activité enzymatique de désoxynucléotide triphosphohydrolase régulée par dGTP a été la première activité enzymatique de SAMHD1 à être décrite après avoir été définie comme facteur inné et limitant de l'infection par le VIH-1 (Powell et al. 2011; Goldstone et al. 2011). Son mode d'action consiste à convertir les désoxynucléosides triphosphates en composés désoxynucléoside et triphosphate inorganique par leur activité dNTPase après stimulation par le dGTP11. Ces données suggèrent que SAMHD1 peut interagir directement avec l'ADN ou l'ARN viral (Goncalves et al. 2012; Beloglazova et al. 2013).

En outre, SAMHD1 limite la réplication du VIH-1 par une activité de ribonucléase interférant avec les étapes précoces de la transcription inverse du VIH-1 (Ryoo et al. 2014). Par ailleurs, SAMHD1 dégraderait directement l'ARN du VIH-1 dans les monocytes, les macrophages et les lymphocytes T CD4⁺ (Ryoo et al. 2014). De plus, SAMHD1 a une action spécifiquement limitée au rétrovirus du fait de son activité RNase mais cette action ne s'étend pas aux virus à ARN dépourvus de transcriptase inverse (Choi et al. 2015). Tous ces résultats démontrent que l'activité de ribonucléase de SAMHD1 pourrait être requise pour la restriction du VIH-1.

Il est également intéressant de noter que de nombreux SIV de primates codant pour Vpx présentent une faible pathogénicité chez leurs hôtes naturels (Yu et al. 1988; Shingai et al. 2015; Li et al. 2015). La Vpx pourrait jouer un rôle clé dans la diminution de pathogénicité du VIH-2 chez l'homme. Cette protéine Vpx est antagoniste de la fonction de SAMHD1 au cours de l'infection par VIH-2, et pourrait réduire le niveau d'infection, la détection de l'ADN virale, l'assemblage d'inflammasome et de pyroptose (Wu et al. 2012; Descours et al. 2012).

De nombreuses études ont montré qu'approximativement 5% des cellules CD4 résidant dans les amygdales sont suffisamment activés pour produire le VIH-1 et meurent ensuite d'apoptose. Cependant, les 95% restants des cellules T CD4 dans les amygdales seraient

quiescents (au repos) et donc réfractaires à une infection productive par le VIH-1 (Doitsh et al. 2010; 2014; Doitsh et Greene 2016). Les cellules CD4⁺ et CD4⁻ des amygdales expriment des niveaux élevés de SAMHD1 qui devraient fonctionner comme des facteurs de restriction. Inversement dans cette étude sur la déplétion des cellules CD4, le niveau d'infection productive était inférieur à 10% dans les amygdales. Les taux de SAMHD1 étaient indétectables dans les T CD4 des amygdales après une infection par le VIH-2. En outre SAMHD1 a été facilement détecté dans des cellules infectées par VIH-2ΔVpx ou VIH-1. Le VIH-2ΔVpx qui est biologiquement actif à la capacité de dégrader SAMHD1 dans les cellules T CD4 des amygdales infectées de manière productive. En revanche, la dégradation de SAMHD1 induite par Vpx n'a aucun impact sur le déficit en lymphocytes T induit par VIH-2. Par ailleurs, l'augmentation du nombre de cellules infectées par le VIH-2 de manière productive, présentes comparé au début des cultures des cellules infectées, complique l'interprétation des résultats (Luo et al. 2019).

SAMHD1 est exprimé par 19% des lymphocytes non-T, cependant il est exprimé par la majeure partie des cellules TCD3⁺ ; parmi les cellules CD4 certaines expriment de très faibles taux de SAMHD1 et sont majoritairement retrouvées parmi les cellules mémoire des PBMC de l'adulte (Ruffin et al. 2015). Les cellules au repos (resting) expriment fortement SAMHD1 ce qui constitue un des facteurs empêchant leur infection par le VIH (Baldauf et al. 2012; Descours et al. 2012). En effet l'expression de SAMHD1 est progressivement diminuée par la prolifération des cellules T CD4⁺ pour se stabiliser après quatre cycles de division puis s'en suit une diminution de l'expression de la protéine ; cette diminution d'expression de SAMHD1 implique une augmentation de la sensibilité des cellules à l'infection à VIH-1 et est corrélée avec une augmentation de l'antigène P24 (Ruffin et al. 2015). Le taux de SAMHD1 est plus faible dans les TTM et TEM des patients VIH-1 comparé aux donneurs sains. Cependant on note le même niveau de SAMHD1 avec une très faible différence dans les TN et les TCM chez les sujets VIH-1 positifs et négatifs. Les cellules CD4⁺ porteuses de faibles niveaux de SAMHD1 expriment fortement le Ki67, un bon indicateur de division cellulaire. Les cellules qui expriment de faibles taux de SAMHD1 présentent des taux plus élevés en PD1, CD38 et HLA- DR par rapport aux cellules CD4 exprimant fortement SAMHD1. Les cellules pourraient perdre l'expression de SAMHD1 au cours de leur différenciation après rencontre avec l'antigène *in vivo*. L'analyse de l'expression de SAMHD1 dans les différentes sous-populations des Th1, Th2 et Th17 chez les sujets VIH-1 positifs et chez les contrôles VIH-1 négatifs a

montré que les cellules Th17 des sujets négatifs exprimaient deux fois moins de SAMHD1^{low} que celles des sujets VIH-1 positifs (Ruffin et al. 2015).

Les proportions des autres sous-populations Th exprimant SAMHD1 ne variaient que faiblement entre les groupes de personnes VIH-négatives et VIH-positives, à l'exception de la population Th2 avec une faible proportion de cellules Th2 dans les compartiments SAMHD1^{low} et SAMHD1⁺ chez les individus infectés par le VIH par rapport aux témoins (VIH négatif) (Hani et al. 2019). Une plus grande sensibilité des cellules Th17 à l'infection par le VIH-1 pourrait être liée à une plus faible expression de SAMHD1. Par ailleurs, les Tfh exprimant un faible taux de SAMHD1 sont très sensibles au VIH-1. Les cellules CXCR5⁺PD1^{hi} Tfh des ganglions expriment principalement le SAMHD1^{low}. Les taux élevés de facteur de transcription Bcl-6 dans les cellules T CXCR5⁺PD1^{hi}CD4⁺ des VIH négatifs et VIH positifs démontrent en outre que ces cellules sont bien des cellules Tfh (Hani et al. 2019).

Les cellules Tfh des amygdales (CXCR5⁺PD1^{hi}Bcl-6⁺), similaires aux Tfh des ganglions lymphatiques, expriment des niveaux inférieurs de SAMHD1 au niveau protéique et d'ARNm comparés à des cellules CXCR5⁻PD1⁻, CXCR5⁺PD1^{int} et CXCR5⁻PD1⁺. Les cellules Tfh expriment des niveaux élevés de CXCR4 et moyens de CCR5 (Perreau et al. 2013; Petrovas et al. 2012; Wang et al. 2011). En outre, les cellules triées CXCR5⁺PD1^{hi} ne prolifèrent pas dans les mêmes conditions que CXCR5⁻PD1⁻, CXCR5⁺PD1^{int} et CXCR5⁻PD1⁺. Généralement les cellules Tfh sont plus sensibles à l'infection par le VIH-1. Les cellules CXCR5⁺PD1^{hi} Tfh infectées *in vitro* (souche VIH-1NL4.3) ont des taux plus élevés de protéine p24 intracellulaire que les cellules CXCR5⁻PD1^{hi} et CXCR5⁺PD1^{int}. Ces résultats montrent qu'une faible expression de SAMHD1 dans les cellules CXCR5⁺PD1^{hi} Tfh pourrait expliquer leur sensibilité accrue au VIH-1 (Ruffin et al. 2015).

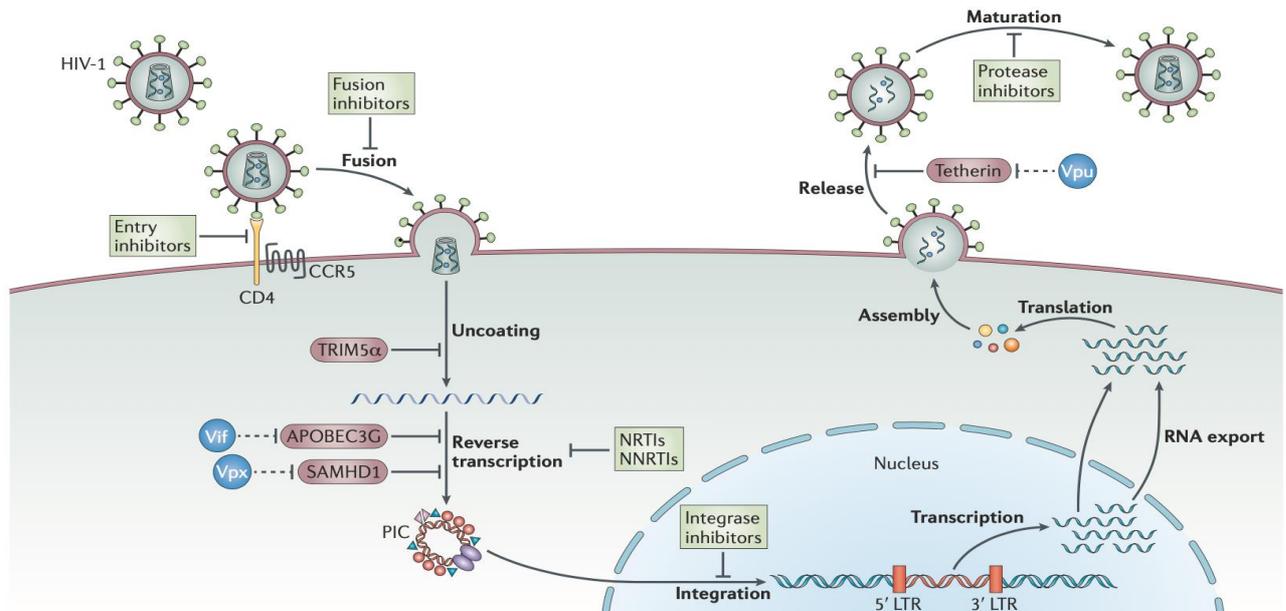


Figure 18 : Interaction entre les facteurs de restriction et le VIH-1 au cours de son cycle de réplication (Barré-Sinoussi et al. 2013)

- **Les protéines TRIM5** (N-terminal tripartite motifs 5) forment un ensemble commun de facteurs de restriction qui agissent contre une classe de rétrovirus. Elles sont également impliquées dans la signalisation pour l'immunité innée (Lienlaf et al. 2011; Versteeg et al. 2013). La famille des protéines TRIM est caractérisée par la présence d'un motif RBCC (RING-B-box-coiled-coil) tripartite. De plus TRIM5 α contient également un domaine PRY-SPRY qui facilite la reconnaissance spécifique des rétrovirus (Stremlau et al. 2004; 2005; Diaz-Griffero et al. 2009; Li et al. 2007; Lienlaf et al. 2011).

TRIM5 est un facteur de restriction qui limite l'évolution de l'infection SIV en bloquant la liaison de la capsid à la cellule cible (Hatziioannou et al. 2004; Stremlau et al. 2004, 2005, Towers et al. 2000, 2002). Son importance clairement établie pour le SIV ne semble pas l'être pour le VIH-1, et peu de données sont connues pour le VIH-2 (Stremlau et al. 2004 ; 2005 ; 2006 ; Towers et al. 2000 ; 2002 ; Hatziioannou et al. 2004). TRIM5 est retrouvé dans la plupart des cellules de primates. Le gène est différent selon les espèces (Stremlau et al. 2005 ; 2006). La famille TRIM5 a été transcrite en 5 isotypes et son activité antivirale est assurée par son isotype TRIM5 α . Les autres isotypes de TRIM5 n'ont pas de domaine PRY-SPRY et inhibent

l'activité de TRIM5 α , par conséquent la proportion de TRIM5 α dans les transcriptions totales de TRIM5 peut influencer la restriction du VIH (Battivelli et al. 2011).

Le facteur de restriction antiviral TRIM5 α en réponse à une stimulation de l'interféron va perturber le cycle évolutif du virus à plusieurs niveaux (Stremlau et al. 2004 ; 2005 ; 2006; Towers et al. 2002; Hatzioannou et al. 2004; Towers et al. 2000; Doyle et al. 2015).

Le mécanisme antirétroviral de TRIM5 α agit à la phase pré-intégration du cycle du VIH. Peu après l'entrée du rétrovirus dans une cellule, les protéines TRIM5 se lient à la capsid. La capsid est alors détruite, ce qui empêche la réplication virale. Plusieurs protéines TRIM5 doivent se lier entre elles via le domaine B-box 2 afin d'induire une reconnaissance efficace ou peuvent se fixer directement à la capsid du VIH-1 ((Li et al. 2016) et indépendamment (Wagner et al. 2016)) en formant de grands réseaux. Le réseau TRIM5 α permet à TRIM5 α de se lier fortement aux capsides du VIH-1 et de s'adapter à la forme de la capsid du VIH-1 (Wagner et al. 2016). L'action de TRIM5 varie en fonction de la structure de la capsid virale et des séquences des protéines (Hatzioannou et al. 2003; Wilson et al. 2008).

La sensibilité du VIH-2 à TRIM5 α est déterminée par la région de la capsid qui correspond à la boucle de liaison de la cyclophiline (Ylinen et al. 2005). En outre, une absence de cyclophiline A renforcerait la restriction médiée par TRIM5 α et réduit l'infectiosité du VIH-2 (Mamede et al. 2017). TRIM5 α chez le macaque rhésus est également capable d'un blocage tardif par incorporation dans les nouveaux virions, réduisant ainsi la production de nouvelles particules virales fonctionnelles. Cette restriction tardive est un processus à saturation, car l'augmentation de la production de virions peut envahir le système (Ohmine et al. 2011).

La variation de l'expression de TRIM5 α dans les cellules CD4 dans l'infection par le VIH-2 pourrait être l'un des facteurs expliquant l'évolution lente de l'infection et sa faible pathogénicité qui pourraient être liées à la faible réplication virale.

- **BLIMP-1** : le B lymphocyte-induced maturation protein 1, est un facteur de transcription exprimé par toutes les cellules sanguines (Kallies et al. 2006). Blimp-1 bloque la transcription des facteurs de régulation Bcl-6, T-bet, IL-2, IFN- γ et IFN- β et favorise la transcription d'IL-10 (Cimmino et al. 2008; Iwasaki et al. 2013; Keller et Maniatis 1991; G. A. Martins et al. 2008). Les cellules Tfh CXCR5⁺ PD1^{hi}Bcl-6⁺ SAMHD1 négatives pour Foxp3,

(Linterman et al. 2011) expriment de faibles taux de PRDM1/Blimp-1, le facteur de transcription antagoniste de Bcl-6 (Johnston et al. 2009). Les protéines Bcl6 et Blimp-1 qui sont exprimées par les Tfh ont des relations antagonistes (Martins et al. 2008; Crotty et al. 2010), Blimp-1 inhibe à la fois la prolifération des T mais aussi la différenciation des Tfh (Crotty et al. 2010) et participe ainsi à la production d'anticorps. Blimp-1 est fortement exprimé dans les cellules Th2 par rapport aux Th1 et bloque la différenciation des Th1 (Cimmino et al. 2008).

Dans le cas du VIH-1, l'expression de Blimp1 est augmentée chez les patients infectés de façon chronique dans les cellules T et associée à une augmentation de l'expression des molécules de rétrocontrôle immunitaire (immune check points) incluant PD-1, LAG3 et CTLA- 4, traduisant l'épuisement des lymphocytes T et l'apoptose (Che et al. 2012; Seddiki et al. 2013; Shankar et al. 2011). Le LTR du VIH-1 inclut un site de fixation pour Blimp1, cette partie se fixe directement au provirus et régule ainsi la réplication virale. Il a été démontré que Blimp1 pouvait inhiber la transcription du VIH-1 (Michaels et al. 2015).

L'expression de PRDM1-ARNm (gène de transcription de Blimp1) est élevée dans les TCM des sujets EC VIH-1⁺ comparée aux LTNP VIH-1⁺ virémiques avec des différences dans les TTM, alors que l'expression est très faible dans les TN (de Masson et al. 2014). L'expression de Blimp1 ne semble pas être modifiée chez les non progresseurs VIH-1⁺. Il se pourrait que Bcl6 favorise la réplication du VIH tandis que Blimp-1 la bloque; l'augmentation de Blimp-1 dans les cellules contribuerait ainsi à la latence du VIH- 1 (Kaczmarek et al. 2013).

Réservoir et latence

Avant de considérer plusieurs réservoirs potentiels pouvant permettre la persistance du VIH-1, il est important de définir le terme réservoir. Le réservoir viral est défini comme un type de cellule ou un site anatomique dans lequel une forme du virus capable de se répliquer s'accumule et persiste avec des propriétés cinétiques plus stables que dans le pool principal de virus (virus se répliquant activement) (Blankson et al. 2002). Les cellules constituant le réservoir doivent pouvoir stocker la forme virale capable de se répliquer et ainsi reconstituer dans l'avenir la population de cellule infectées. Ainsi, les séquences provirales défectueuses ou les particules virales en décomposition ne représentent pas un réservoir. Les virus peuvent persister longtemps sous forme de virions ou dans des cellules infectées. Les virions sont sujets à des processus de désintégration biochimique, tels que la dissociation des sous-unités gp120

et gp41 de la protéine env. Un réservoir viral doit avoir un mécanisme biologiquement plausible permettant aux virus d'échapper aux processus de désintégration biochimique ou dans le cas d'un réservoir cellulaire d'échapper aux mécanismes immunitaires effecteurs. De plus le renouvellement cellulaire doit être plus lent que celui des cellules infectées productives qui entretiennent l'infection et meurent rapidement.

La persistance de réservoirs est en grande partie due à la latence virale, un état réversible non productif d'infection, qui décrit une cellule infectée qui ne produit pas de virus mais conserve la capacité de le faire dans des conditions appropriées. Le VIH-1 à l'état de latence peut exister dans divers types cellulaires (Van Lint et al. 2013 ; Eisele et al. 2012; Tyagi et al. 2012). Le réservoir est principalement localisé dans la sous- population de cellules T mémoire CD4⁺ au repos (Resting) (Chun et al. 1997; 1995). Ces cellules contenant le provirus intégré avec la capacité de se répliquer lors de l'activation de la cellule au repos (Blankson et al. 2002 ; Rong et al. 2009; Finzi et al. 1999).

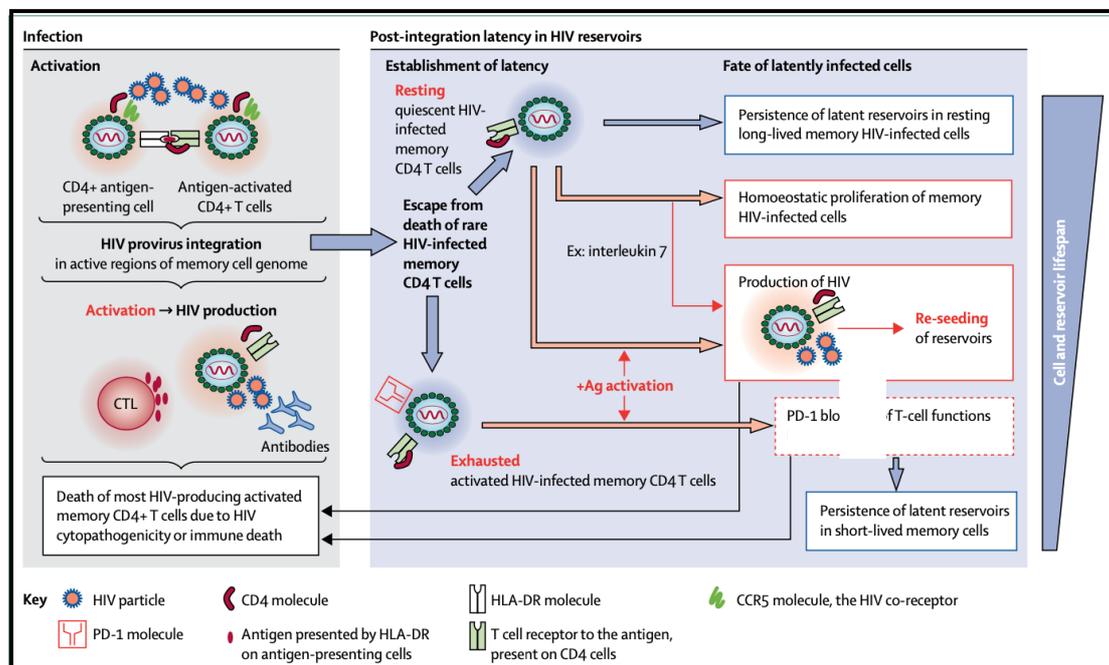


Figure 19 : Principaux mécanismes de la mise en place de la latence (Ghoshn et al. 2018).

Le réservoir se met en place très tôt pendant la phase aiguë de l'infection. Ce réservoir n'est affecté ni par le système immunitaire ni par les antirétroviraux, cependant c'est un espace de production virale qui contribue à la persistance de l'infection virale et donc au maintien de la charge virale plasmatique et des phénomènes de rebond lors de l'interruption du traitement (Zerbato et al. 2016; Chomont et al. 2009; Siliciano et al. 2011).

Comme vu ci-dessus, ces réservoirs viraux se définissent comme un type de cellule ou un site anatomique où persiste du virus à long terme sans réplication active. Les réservoirs du VIH sont particulièrement concentrés dans certaines sous-populations de lymphocytes CD4 TCM et à un moindre degré dans les TTM (Buzon et al. 2014), ainsi que dans de petites sous-populations comme les cellules souches mémoire et les cellules Tfh (Perreau et al. 2013; Banga et al. 2016; Xu et al. 2017). La localisation exacte de ces cellules chez le patient infecté est un problème majeur. Il semble que ces réservoirs soient constitués de cellules T CD4 qui surexpriment certains marqueurs de rétrocontrôle immunitaire ou « immune check-points » (ICP) (par ex. PD-1, CTLA-4, TIGIT) (Fromentin et al. 2016; Chew et al. 2016) alors que l'expression du CD32a est très controversée (Descours et al. 2017).

Les cellules T mémoire au repos infectées de façon latente peuvent être réactivées par l'antigène. La fréquence des cellules CD4⁺ de type mémoire au repos infectées est très faible *in vivo* surtout chez les patients sous traitement ART (longue durée) (Chun et al. 1995 ; Finzi et al. 1997). Les acteurs les plus importants du réservoir sont principalement les TCM et les TTM (Chomont et al. 2009; Chun et al. 1997; 1995). Par ailleurs, les TN peuvent également contenir le provirus à l'état de latence (Wightman et al. 2010; Yuan et al. 2010 ; Chomont et al. 2009) qui persiste même sous traitement ARV, bien que la fréquence de l'infection soit plus faible (1 à 2 log) comparée à celle des lymphocytes T CD4⁺ mémoire (Van Lint et al. 2013).

L'expression de l'ARN et des protéines viraux est réprimée tant que les cellules restent au repos. Les lymphocytes T CD4⁺ aux repos infectés ne peuvent être différenciés des cellules non infectées et ne sont donc pas éliminés par les cellules cytotoxiques. Cependant, au niveau de ces cellules, la quiescence n'est pas permanente et les cellules contenant des génomes viraux peuvent être réactivées et induire la production de virus (Hill et al. 2014). Chez les patients sous traitement ARV, la réactivation d'un seul lymphocyte T CD4⁺ infecté de manière latente peut entraîner la production de virions, ainsi provoquer l'infection d'autres lymphocytes T CD4⁺ et créer un rebond viral (Davey et al. 1999; Chun et al. 1999). Des études de simulation ont montré que l'activation ponctuelle des cellules latentes peut maintenir la persistance d'un faible niveau

de virémie (blips viraux intermittents) tout en reconstituant le réservoir viral latent en fonction de l'homéostasie (Rong et al. 2009). La persistance du faible niveau de virémie, détectable par des techniques ultrasensibles (Palmer et al. 2003) a été observée chez des patients traités en phase aiguë de l'infection avec une fréquence plus élevée de cellules mémoire au repos (Nancie M. Archin et al. 2012).

a. Mise en place de la latence et du réservoir.

La latence s'établit quelques jours après l'infection (Shan et al. 2017) dans plusieurs sous-populations de lymphocytes T CD4 (Buzon et al. 2014; Chomont et al. 2009; Pallikkuth et al. 2016; Bacchus et al. 2013). Ses mécanismes de mise en place ne sont pas très clairs. Elle peut s'établir de multiples façons (Figure 19) : il peut s'agir d'une pré-activation, impliquant l'infection directe de cellules T CD4 au repos (Saleh et al. 2007; Swiggard et al. 2005; Lassen et al. 2012). Dans ce cas, l'ADN complémentaire du VIH-1 (ADNc) est synthétisé partiellement ou totalement au cours de la transcription inverse, mais ne parvient pas à s'intégrer au génome cellulaire, restant présent sous forme d'épisome (Zack et al. 1990; Bukrinsky et al. 1991; Chun et al. 1997). Il peut s'agir d'une latence de post-activation, impliquant l'infection de cellules activées et leur retour à l'état de repos, ou encore l'infection directe de cellules T en transition du stade mémoire effectrice à mémoire centrale au repos après stimulation du TCR (Bosque et al. 2009; Marini et al 2008; Evans et al. 2013). La latence de pré-intégration du génome viral a été décrite d'abord dans les cellules T CD4+ mais, il existe également des preuves de ce type d'infection dormante dans les monocytes. Cette forme de latence mise en place lors de l'activation des lymphocytes T permet l'intégration du provirus et conduit généralement à une infection productive (Bukrinsky et al. 1991).

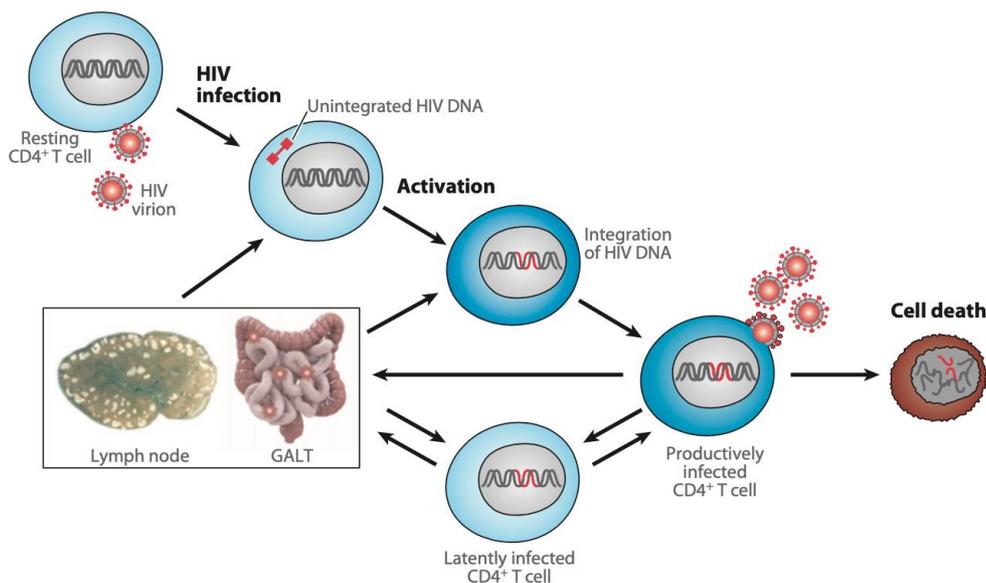


Figure 20 : Établissement et entretien du réservoir de lymphocytes T CD4⁺ au repos. (Moir et al. 2011)

Le VIH-1 n'infecte pas facilement les cellules au repos en raison de la faible expression du corécepteur CCR5 nécessaire à son entrée (Pierson et al. 2000) et une réduction des dNTP nécessaires pour la transcription inverse résultant de l'activité de la dNTPase du facteur de restriction SAMHD1 (Baldauf et al. 2012 ; Goldstone et al. 2011). De ce fait le processus de transcription inverse de l'ARN viral génomique en ADN ne serait pas achevé dans les cellules au repos (Zack et al. 1990 ; 1992; Korin et al. 1998 ; 1999). Une infection abortive des cellules T CD4⁺ au repos peut survenir et conduire à la mort cellulaire (Doitsh et al. 2010). Les cellules T CD4⁺ au repos constituent la majeure partie du réservoir (Figure 20); il s'agit de sous-populations très hétérogènes comprenant des TN et des cellules mémoire comme les TCM, TTM, TEM et les cellules en fin de différenciation (Chomont et al. 2009; Bacchus et al. 2013; Sáez-Ciri3n et al. 2013; Buzon et al. 2014). Ces cellules possèdent diverses capacités prolifératives (Santiago et al. 2005; Lee et al. 2017; Bui et al. 2017) pouvant produire des virus intacts ou défectueux (Simonetti et al. 2016; Ho et al. 2013).

Les lymphocytes T CD4⁺ activés, principales cibles cellulaires du VIH, meurent massivement pendant la phase initiale de l'infection, et donc seule une très faible proportion des cellules initialement infectées vivent assez longtemps pour entrer dans un état de repos (quiescence), établissant ainsi un réservoir mémoire. Les lymphocytes T CD4⁺ mémoire

génèrent une protection à long terme grâce à la mémoire immunitaire (parfois pendant toute la vie de l'individu), sans avoir besoin d'un second contact avec l'agent pathogène, grâce notamment à la survie homéostatique. Il est possible que la longue durée de vie de cette population cellulaire soit un atout suffisant pour maintenir ces réservoirs (Murray et al. 2016).

Par ailleurs certains stimuli responsables de la prolifération des cellules T réactivent les cellules infectées latentes, induisent une infection productive avec réduction de la demi-vie des cellules réactivées (Ho et al. 1995; Wei et al. 1995). En outre, certaines cytokines telles que l'IL-7 et l'IL-15 peuvent conduire à la prolifération homéostatique des lymphocytes T CD4⁺ sans induire l'expression du virus (Vandergeeten et al. 2013; Bosque et al. 2011), mais l'IL-7 peut également inverser la latence dans certains systèmes (Vandergeeten et al. 2013; Bosque et al. 2011). D'un autre côté la protéine Vpr du virus du VIH-1 bloque le cycle cellulaire retardant ainsi la mort cellulaire (Stewart et al. 1997 ; 2000 ; Jowett et al. 1995; Sakai et al 2006; DeHart et al. 2007; Hrecka et al. 2007; Schröfelbauer et al 2007; Romani et al 2012).

La longévité des cellules de la mémoire et la latence virale semblent être un moyen de prolonger la survie du VIH-1 *in vivo*. Cependant, contrairement aux virus de l'herpès, le VIH- 1 se réplique continuellement tout au long de l'infection chez les sujet non traités (Piatak et al. 1993; Scripture-Adams et al. 2002; Wang et al. 2005), échappant à la réponse immunitaire anticorps et aux cellules cytotoxiques, ainsi qu'aux mutations rapides des épitopes (Borrow et al. 1997; Price et al. 1997; Wei et al. 2002; Kwong et al. 2002).

En dépit du fait que l'existence d'un réservoir latent stable dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos soit clairement établie, une analyse détaillée de la virémie résiduelle a permis d'établir l'existence de réservoirs supplémentaires (Bailey et al. 2006; Brenchley et al. 2004; Anderson et al. 2011; Sahu et al. 2009; Brennan et al. 2009). Les macrophages tissulaires qui sont des cibles de l'infection par le VIH-1, pourraient également être à l'origine de la persistance du VIH-1. En effet, les cellules de la lignée monocyte/macrophage, sont l'un des principaux réservoirs persistants du VIH-1. Dans ces cellules, les virus ne sont pas complètement latents mais maintiennent un faible niveau de réplication. Contrairement aux lymphocytes T, l'infection à VIH-1 est moins cytopathique pour ces cellules ; elle prolonge leur durée de vie en les rendant plus résistantes à l'apoptose (Van Lint et al. 2013).

Un traitement ARV précoce pourrait limiter la taille du réservoir viral sans pour autant empêcher sa mise en place (Chun et al. 1998). Le réservoir viral diminue de manière progressive et lente; cette diminution peut atteindre la moitié du réservoir au bout de 36 ans de prise d'ARV, de sorte que même la prise prolongée d'ARV est incapable d'éradiquer l'infection durant la vie du patient (Finzi et al. 1999; Siliciano et al. 2003; Strain et al. 2003; Crooks et al. 2015). En outre, la présence de sanctuaires pharmacologiques et immunologiques a été associée à une réplication virale résiduelle dans les tissus, contribuant ainsi à la persistance virale (Fletcher et al. 2014; Estes et al. 2017). De plus, le VIH-1 peut être détecté dans les monocytes de patients sous ARV (Lambotte et al. 2000; Redel et al. 2010). Sachant que les monocytes circulants ont une durée de vie relativement courte (76h avant de migrer dans les tissus et de se différencier en macrophages (Whitelaw et al. 1972) comparativement aux lymphocytes T au repos. L'importance de la latence dans les monocytes/macrophages n'est pas bien comprise; qu'il s'agisse d'une latence réelle ou d'une faible réplication continue du VIH-1, n'est pas très clair (Zhu et al. 2002a et 2002b; Coleman et al. 2009). Cependant, le réservoir viral et la dissémination du virus dans les sanctuaires anatomiques liée aux monocytes infectés par le VIH-1 ne peuvent être ignorés (Perno et al., 2006). De plus, les particules virales liées aux cellules dendritiques folliculaires (FDC) pourraient représenter des réservoirs du VIH-1 (Blankson et al., 2002).

Pour agir de manière efficace sur le réservoir, la réactivation de provirus est nécessaire de manière à permettre aux cellules infectées de ré-exprimer les antigènes viraux et ainsi permettre aux cellules du système immunitaire de reconnaître les cellules infectées et de les éliminer. En outre la réponse immunitaire intrinsèque liée à la cellule infectée pourrait permettre de limiter la production mais aussi l'intégration virale et donc éviter la latence virale et la formation du réservoir (Autran et al., 2013). Éliminer ou réduire l'infection latente serait possible par activation cellulaire induisant l'expression d'antigènes viraux et la production du VIH activant la cytolysse générée par le virus ou une clairance immunitaire des cellules infectées. Cependant certaines cellules infectées de façon latente ne répondent pas à une seule stimulation (Hosmane et al. 2017). Les virus obtenus à partir de ces stimulations répétées ne présentent pas de défauts de séquences majeurs (Ho et al. 2013; Cillo et al. 2014; Bullen et al. 2014). La fréquence de production virale à partir d'une même stimulation diffèrera en fonction de la nature des cellules infectées ou de la sous-population testée in vitro (Spina et al. 2013; Saleh et al. 2011; Novis et al. 2013; Cillo et al. 2014; Bullen et al. 2014). L'activation et la production virale à partir de virus à l'état de latence ne sont pas seulement liées à la stimulation

via le TCR mais d'autres facteurs et voies de signalisation pourraient être nécessaires pour la réactivation du réservoir latent (par exemple l'activation de la protéine kinase C (PKC), la calcineurine, le facteur nucléaire des cellules T activées (NFAT) etc.). Une interaction directe entre cellules dendritiques immatures dérivées des monocytes et cellules infectées en état de latence induirait la production virale par les lymphocytes T activés *in vitro* (van der Sluis et al. 2013).

b. Estimation quantitative du réservoir

Chez les personnes infectées par le VIH-1 et traitées, l'ADN proviral est détecté surtout dans les TCM et les TTM ce qui les désigne comme réservoir majeur de la latence virale (Chomont et al. 2009; Bacchus et al. 2013; Sáez-Ciri3n et al. 2013) ; la réplique du VIH-1 serait systématiquement détectée dans les TCM et plus rarement dans TTM (Soriano-Sarabia et al. 2014). De plus l'ADN du VIH-1 est presque toujours détecté dans les cellules TN chez les individus virémiques et les sujets traités, bien qu'avec une fréquence beaucoup plus basse que dans les TCM et les TTM (Chomont et al. 2009; Bacchus et al. 2013; M. J. Buzon, Sun, et al. 2014; Olivier Lambotte et al. 2002).

La quantification se fait par la technique de PCR ; il existe plusieurs types de PCR en fonction des groupes de recherche. Une méthode de PCR ultrasensible peut être utilisée chez les patients traités, où la majorité du génome virale existe sous forme intégrée. Cette méthode permet d'amplifier le génome viral à l'aide d'amorces permettant l'appariement des gènes, et l'orientation de l'amplification peut être guidée par le choix des amorces (Samri et al. 2019; Avettand-Fenoel et al. 2014). Des kits prêts à l'emploi existent (Biocentric) ou des techniques maison. La quantification d'ADN viral permet de faire une évaluation de la quantité d'ADN par millions de PBMC (Avettand-Fenoël et al. 2008). Cependant 2 techniques différentes sont nécessaires pour quantifier les acides nucléiques dans le VIH-1 et le VIH-2. Ces différents résultats suggèrent que la quantification de l'ADN viral seul ne permet pas nécessairement de déterminer la taille du réservoir latent inductible et de faire preuve de prudence dans la caractérisation d'un réservoir cellulaire de VIH-1 latent comme « majeur » sur la seule base de la fréquence d'infection.

La réduction des réservoirs du VIH pourrait ne pas suffire pour éradiquer le VIH, car il existe des rebonds viraux qui surviennent dès l'interruption de la thérapie antirétrovirale chez les personnes infectées de façon chronique et dont l'ADN viral était presque indétectable dans

les cellules du sang périphérique (Calin et al. 2016). Plusieurs approches synergiques, comme le concept dit de « shock and Kill», visent à purger les réservoirs du VIH en combinant la réactivation du VIH latent dans les cellules infectées et la destruction des cellules productrices de VIH (Bullen et al. 2014; Katlama et al. 2013; Deeks et al. 2016). Aucune des méthodes utilisées (le vorinostat, le panobinostat, le disulfirame ou la romidepsine, ou avec l'interleukine 7) n'a réussi à réduire de manière significative les réservoirs du VIH (Archin et al. 2012; Elliott et al. 2014; Søggaard et al. 2015). Dans le même but, le renforcement de l'immunité cellulaire anti-VIH au moyen de vaccins thérapeutiques seuls n'a pas réussi à réduire les niveaux des réservoirs du VIH (Carcelain et al. 2013).

Le réservoir de VIH-2 pourrait se localiser dans les cellules CD4 des cellules du sang périphérique, principalement dans les cellules CD4 au repos et dans les monocytes comme cela a été confirmé pour le VIH-1 et les SIV. Cependant, la localisation et la distribution précise de ce réservoir reste inconnu pour le cas particulier du VIH-2.

Objectifs

Mes travaux de thèse ont eu pour objectifs de caractériser les cellules immunitaires impliquées dans les réservoirs des virus de l'immunodéficience humaine de type VIH-2 et dans le contrôle immunitaire de l'infection VIH-2 médié par l'immunité intrinsèque et l'immunité innée chez des patients porteurs d'une infection faiblement pathogène.

Le premier objectif visait à étudier la distribution immunitaire des réservoirs de VIH-2. Mon but était d'étudier sous la direction du Pr B Autran les réservoirs du VIH-2 latents et inducibles, dans les différentes populations de cellules CD4 périphériques de patients non progressifs et non traités de la cohorte VIH-2 ANRS dans le cadre du programme de recherche Immunovir-2 soutenu par l'ANRS.

Notre hypothèse de travail était que la distribution des réservoirs cellulaires du VIH-2 pouvait différer de celle du VIH-1 fortement pathogène et tester si les réservoirs de VIH-2 étaient :

- relativement limités dans les cellules T CD4⁺ à mémoire centrale, comme dans les modèles d'infection non pathogène, comme le SIV chez les singes naturellement infectés (modèle SM) ou le VIH-1 chez les sujets non-progressifs à long terme,
- présents ou non dans les cellules myéloïdes en formulant l'hypothèse que ces cellules pouvaient être protégées dans le cadre d'une infection non pathogène,
- productifs dans le cadre des faibles niveaux de réplication virale observés *in vivo*, chez des sujets naïfs de traitement.

Afin de tester ces hypothèses nous avons (**article N°1**) :

- caractérisé les différentes sous-populations de lymphocytes périphériques de patients VIH-2 positifs,
- trié les populations de cellules mononucléées sanguines CD4⁺ dans lesquelles nous avons recherché le VIH-2,
- étudié les capacités de production virale par culture cellulaire des cellules CD4⁺,

- étudié les corécepteurs du VIH-2 impliqués dans l'infection de ces cellules,
- participé à l'étude transcriptomique et protéique des corécepteurs et des facteurs de restriction retrouvés dans les cellules de ces patients.

Les résultats obtenus sur les facteurs moléculaires en lien avec le contrôle des réservoirs immuns du VIH-2 impliquent les corécepteurs d'entrée (CXCR6 pour le VIH-2) et possiblement les facteurs de restriction tels que TRIM5 α pour le VIH-1 et le VIH-2. Ces données nous ont conduits à un 2nd travail visant à comparer l'expression des corécepteurs CCR5 et CXCR6 et des facteurs de restriction comme SAMHD1, Blimp-1 et TRIM5 α dans les infections atténuées à VIH-1 chez des Sujets Asymptomatiques à LTNP (ALT, ANRS-CO15) et chez les patients VIH-2⁺. Nous avons voulu également tester si l'expression de ces molécules différait entre ces deux modèles, en la comparant à celle observée chez des sujets sains VIH-négatifs (**Article N°3**).

Le deuxième objectif était de caractériser les cellules NK impliquées dans le contrôle du VIH-2 dans le cadre de la même cohorte VIH-2 ANRS et du programme de recherche Immunovir-2 soutenu par l'ANRS, sous la direction du Dr V Vieillard.

Avant la réalisation de ce travail, les données concernant le rôle des cellules NK chez les patients VIH-2⁺ étaient très limitées contrairement à celles obtenues chez les patients VIH-1. Notre hypothèse de travail était que les NK des patients VIH-2⁺ devaient être similaires à celles des patients VIH-1⁺ LTNP. Pour tester notre hypothèse, nous avons donc procédé à une analyse phénotypique et fonctionnelle extensive des cellules NK des patients non traités de la cohorte VIH-2 ANRS dans le cadre du programme de recherche Immunovir-2 soutenu par l'ANRS, en comparaison à des sujets VIH-1⁺ Asymptomatiques à Long Terme (ALT, ANRS- CO15) (**Article N°2**).

SECONDE PARTIE

RESULTATS

Article n°1

“Limited HIV-2 reservoirs in central-memory CD4 T-cells associated to CXCR6 co-receptor expression in attenuated HIV-2 infection “

Assia Samri¹, Charlotte Charpentier², Mariama Sadjó Diallo¹, Mélanie Bertine², Sophie Even¹, Véronique Morin³, Anne Oudin³, Christophe Parizot^{1,4}, Gilles Collin², Anne Hosmalin⁵, Rémi Cheynier⁵, Rodolphe Thiébaud⁶, Sophie Matheron⁷, Fideline Collin⁶, Rima Zoorob³, Françoise Brun-Vézinet^{8,†*}, Brigitte Autran^{9,†*}, the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study Group[¶]

1 Sorbonne Université¹, Inserm 1135, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, Paris, France, **2** IAME, UMR 1137, Inserm, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité², Laboratoire de Virologie, Hôpital Bichat, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France, **3** Sorbonne-Université³, Inserm1135, CNRS ERL8255, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, Paris, France, **4** Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupement Hospitalier Pitié - Salpêtrière, Département d'Immunologie, Paris, France, **5** Institut Cochin, Inserm, U1016, CNRS, UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité⁵, Paris, France, **6** Inserm U1219 Bordeaux Population Health, INRIA SISTM, Univ. Bordeaux, Bordeaux, France, **7** Inserm, IAME, UMR 1137, Univ. Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité⁷, Assistance Publique -Hôpitaux de Paris, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat, HUPNVS, Paris, France, **8** University Paris7, Denis Diderot, Paris, France, **9** Sorbonne Université⁹, Inserm 1135, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, AP-HP, Hôpital universitaire Pitié - Salpêtrière, Paris, France

PLOS Pathogens | <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758> May 16, 2019

Introduction

Le VIH-2 est un lentivirus similaire au SIV du Sooty Mangabey (Santiago et al. 2005) qui présente des homologies avec le VIH-1 dans les gènes suivants : 30-40% des gènes *env* et *gag*, et 60% du gène *pol* (de Silva et al. 2008). Cependant, ces deux virus diffèrent sur les plans épidémiologique, clinique et virologique ainsi que dans la sensibilité aux antirétroviraux (Andersson et al. 2000; Berry et al. 1998; Clavel et al. 1986; De Cock et al. 1993; Marlink et al. 1994; Matheron et al. 2003; Popper et al. 1999; Simon et al. 1993; van der Loeff et al. 2006). Le VIH-2 est associé à une faible réplication virale et une progression lente de l'infection vers le stade SIDA, comparable à ce qui est observé chez les Elite Controllers infectés par le VIH-1. Il a été proposé qu'une réponse immunitaire active T et NK (Alatrakchi et al. 2006; Angin et al. 2016; Duvall et al. 2006; Foxall et al. 2008; Leligdowicz et al. 2007; Nuvor et al. 2006) participe au contrôle de cette infection faiblement pathogène mais d'autres facteurs entrent en compte.

Le VIH-2 utilise les mêmes corécepteurs CCR5 et CXCR4 que le VIH-1 (Choe et al. 1996; Doranz et al. 1996; McKnight et al. 1994) et semble également utiliser in vitro une large gamme de corécepteurs alternatifs (CCR1 à CCR8, CXCR6 (BONZO), GPR15 (BOB), GPR1, APJ, CX3CR1 (V28), CXCR5 et RDC1) (Doranz et al. 1996; Choe et al. 1996; McKnight et al. 1994; Choe et al. 1998; Combadiere et al. 1998; Farzan et al. 1997; Liao et al. 1997; Shimizu et al. 2000).

Il existe également une différence dans la résistance aux facteurs de restriction ; ainsi le VIH-1 est sensible à SAMHD1 qui est inefficace sur le VIH-2 (Laguette et al. 2012). Inversement TRIM5 α semble être efficace dans le cadre des infections par le SIV et le VIH-2, alors que le VIH-1 n'y est pas sensible (Hatzioannou et al. 2004; Stremlau et al. 2004; H.-L. Zhang et al. 2016). En outre, on ne sait pas si le VIH-2 est sensible à d'autres facteurs comme Blimp-1, un facteur de restriction du VIH-1 récemment découvert par notre groupe et d'autres équipes (de Masson et al. 2014).

Enfin, on ne connaît pas la distribution des réservoirs du VIH-2 dans les cellules CD4 alors que le réservoir du VIH-1 intégré et inductible se trouve principalement dans les cellules T CD4 de type centrale-mémoire (TCM) au repos (Buzon et al. 2014; Chomont et al. 2009) et dans les monocytes/macrophages (Bacchus et al. 2013; Sáez-Cirión et al. 2013), contrairement au SIVsm dont l'infection est plus limitée dans les TCM que dans les cellules plus différenciées

à cause de la faible expression du corécepteur CCR5 (Paiardini et al. 2011). Chez les LTNP (Long Term Non Progressors) infectés par VIH-1 exprimant des allèles protecteurs HLA-B*27 ou B*57, le réservoir viral est également plus faible dans les TCM que dans les TTM (Descours et al. 2012). Un même profil a été retrouvé chez les contrôleurs post-traitement (Sáez-Ciri3n et al. 2013). Ainsi un faible niveau d'infection des TCM semble associ3e à une moindre pathog3enicité des SIV/HIV.

L'objectif de ce premier travail 3tait de caract3riser les r3servoirs de VIH-2 dans les cellules immunocomp3tentes et d'analyser les m3canismes de contr3le immunologique de ces r3servoirs en testant l'hypoth3se d'une similitude avec les autres mod3les de faible pathog3enicité SIV/HIV. Dans ce but, nous avons analys3 les PBMC du sang p3riph3rique (cellules CD4 et monocytes) des sujets infect3s VIH-2 de la cohorte CO-05 de l'ANRS fran3aise (Thi3baut et al. 2011) à la recherche du r3servoir latent inductible et de sa distribution dans les cellules immunes.

Mat3riel et m3thodes

Patients

Pour r3aliser ce travail nous avons utilis3 les PBMC de 14 patients de la cohorte nationale ANRS-CO-05 infect3e par le VIH-2 ; les r3sultats ont 3t3 ensuite compar3s aux r3sultats des donneurs sains (7 EFS et 5 donneurs Ouest Africain) et de 8 LTNP infect3s par VIH-1 de la cohorte ANRS-CO15.

M3thodes

Tri cellulaire

Les PBMC des patients ont 3t3 d3congel3es et d3pl3t3es en CD8⁺ puis marqu3es avec le panel suivant : anti-CD3-Pacific Blue, anti-CD4-AlexaFluor700, anti-CCR7-PE-Cyanine7, anti-CD27-APC, anti-CD69-FITC, anti-HLA-DR-FITC, anti-CD14-BV711 (BD-Bioscience, San-Jose, Californie, USA), anti-CD45RA-ECD, anti-CD25-FITC (Beckman-Coulter, Villepinte, France), Bleu vif-mort (Thermo-Fisher, Scientific/Life-Technologies).

Le tri a 3t3 effectu3 sur trieur FACS Aria 5 lasers (Becton-Dickinson) (plateforme CyPS) : les sous-populations suivantes ont 3t3 r3colt3es : Monocytes CD3⁻CD4⁺CD14⁺,

cellules T activées CD25⁺CD69⁺HLADR⁺ et au repos CD25⁻CD69⁻HLADR⁻. Les cellules T CD4⁺ au repos ont été triées en cellules T Naïves (TN), CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺, Centrale Mémoire (TCM) CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺, Transitionnel Mémoire (TTM) CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺ et Effecteur Mémoire (TEM) CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻. Pour chaque population triée, des culots secs de 5 000 cellules pour l'analyse du transcriptome à 50 000 cellules pour la quantification de l'ADN du VIH-2 ont été congelés à -80 °C.

Culture cellulaire de réactivation in vitro du VIH-2 :

Les PBMCs déplétées en cellules CD8 de 11 sujets infectés par VIH-2 ont été mises en culture pendant 30 jours après stimulation à jour J0 avec une combinaison d'anti-CD3/anti-CD28, IL-2 (Sigma), IL-7 (R&D Systems) et d'IL-15 (Peprotech) et addition à J13 de cellules CD8⁻ de donneurs sains. Les surnageants de culture ont été prélevés tous les trois jours pour la quantification de la production virale (ARN du VIH-2). En fin de culture l'ADN du VIH-2 a également été quantifié par une technique ultrasensible.

Analyse par cytométrie en flux :

L'analyse des corécepteurs et des facteurs de restriction a été effectuée *ex vivo* sur des PBMC décongelées (7 sujets VIH-2 et 7 donneurs sains) à J0 après culture. A J0, les cellules CD4 ont été marquées avec : Fixable Viability-Stain-780, anti -CD3-BV510, -CD4-BUV395, -CD45RA-PE, -CCR7-PE-Cy7, -CD27-BUV737, -CD25-BV786, -HLA-DR-BV786, -CD69- BV786, -PD1-APC, -CXCR5-APC-R700, -CCR5-PE ou -CCR5-BV650 (Becton-Dickinson). Les cellules ont été analysées sur le cytomètre en flux Fortessa (Becton-Dickinson) à l'aide du logiciel FacsDIVA version 6.1.3.

L'expression de CXCR6 et TRIM5 α a été étudiée à J0 avec le marquage : Viabilité FSV620, anti-CD3-APC-H7, -CD4-BV510, -CD45RA-FITC, -CD27-PE-Cy7, -CCR7-APC-R700, -PD1-BB700, -CXCR5-AF647, -CXCR6-BV421, -CD32-PE (Becton-Dickinson). Après perméabilisation (CytoFix/CytoPerm, Becton-Dickinson), un marquage intracellulaire de TRIM5 α et l'anti-IgG PE (tous deux de Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) a été suivi du marquage membranaire, puis analysé avec le cytomètre en flux Gallios. Une analyse phénotypique a également été réalisée sur les cellules en culture à J3, J7, J10 et J13, en utilisant le même panel d'anticorps qu'à J0, sauf pour l'anti-CCR5-BV650, et a été effectuée sur le cytomètre en flux Fortessa et analysée à l'aide de FowJo (version 10.4.1).

Études virologiques : elles ont été réalisées dans le laboratoire de virologie de l'Hôpital Bichat par l'équipe du Pr Françoise Brun-Vézinet :

- Quantification de la charge virale plasmatique du VIH-2 par méthode ultrasensible
- Définition du sous-type et du tropisme viral réalisé par les techniques de génotypage
- Quantification de l'ADN total du VIH-2 : les culots secs de cellules réalisés après le tri cellulaire ont servi à la quantification de l'ADN total du VIH-2 à l'aide du kit d'ADN DSP QIA symphony (Qiagen, Courtaboeuf, France) (Dehee et al. 2001; Laurendeau et al. 1999; Bertine et al. 2017; Avettand-Fènoël et al. 2009; Dib et al. 1996). Lorsque la valeur de l'ADN du VIH-2 n'était pas quantifiable mais qu'un signal de PCR était détectable, les résultats ont été attribués à une valeur estimée, calculée à 50 % de la valeur de l'ADN du VIH-2 et exprimée pour un million de cellules (Sáez-Cirión et al. 2013).

Analyse du transcriptome (groupe de Rima Zoorob) :

L'ARN total a été extrait de chaque sous-population triée de TN, TCM, TTM, TEM et de monocytes à l'aide d'un kit Mirvana (Life Technologies). Les ADNc ont ensuite été pré-amplifiés (PreAmp Master Mix, Fluidigm, Les Ulis, France). Les gènes marquants exprimés (DEG) ont été identifiés à l'aide du programme ANOVA en soustrayant la valeur du gène de ménage RPS14 à la valeur des gènes cibles et des comparaisons entre les sous-populations TN, TCM, TTM et TEM ont été effectuées.

Analyse statistique

Un test de Wilcoxon apparié a été utilisé pour comparer l'expression de CXCR6, TRIM5, IL22 et TP53 dans les sous-populations de TCM et de TTM.

Le test de Mann Whitney et le test de McNemar ont été utilisés pour comparer les sous-populations de cellules CD4 dans les différents groupes. Les corrélations entre les variables ont été déterminées à l'aide du test de Spearman. Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

Considérations éthiques

Cette étude a été menée selon les principes de la Déclaration d'Helsinki. L'étude a été approuvée par le comité d'éthique (CPP). Les participants à l'étude étaient des adultes et ont donné par écrit leur consentement éclairé pour le prélèvement des échantillons et leurs analyses.

Résultats obtenus

Les caractéristiques des 14 sujets infectés par VIH-2 (12 non progresseurs et 2 progresseurs) étudiées sont décrites dans la table 1

Tableau 1 : Caractéristiques des patients infectés par le VIH-2

Patients	Gender	Age (years)	CD4 T-cell counts (cells/mm ³)	Time since diagnosis (years)	Plasma viral Load (c/mL)	Ultra-Sensitive Viral Load (c/mL plasma)	HIV-2 DNA (c/10 ⁶ PBMC)	HIV-2 DNA (log 10 c/10 ⁶ PBMC)	HIV-2 group	HLA-A	HLA-B	HLA-C	Geographic origin
1	M	52	891	11.3	<100	<1	131	2.12	B	02/03	49/57	07/18	Ivory Coast
2	M	53	1228	17.6	<40	<1	170	2.23	A1	23/23	07/14	07/08	Guinea Bissau
3	F	52	604	25.6	<40	19	139	2.14	B	02/23	15/52	02/16	Guinea Conakry
4	M	57	1090	23	<100	ND	107	2.03	A1	23/34	53/53	04/04	Ivory Coast
5	F	34	1212	12.5	<40	5.6	88	1.94	A1	03/26	58/58	03/07	Gambia
6	F	50	1776	8.8	<40	<1	53	1.73	B	68/68	07/52	-	Ghana
7	F	39	1036	12.7	<100	<1	53	1.73	B	03/03	35/53	04/04	Ivory Coast
8	F	48	859	9.2	<40	ND	40	1.60	B	34/34	15/53	02/04	Guinea Conakry
9	F	49	895	11.3	<40	<1	28	1.45	B	02/68	15/51	14/16	Ivory Coast
10	F	54	1118	27.2	<100	2.4	10	0.99	B	03/74	14/15	07/08	Guinea Conakry
11	M	59	1300	8.8	<40	<1	<7.5	<0.88	NA	01/29	44/57	06/16	Colombia
12	M	44	707	20.5	<40	1.3	187	2.27	A	03/23	35/53	04/04	Ivory Coast
13#	F	43	858	22.7	<40	<1	10	1.00	NA	1/33	15/35	04/14	Ivory Coast
14#	M	70	502	7.4	117	58	127	2.10	A	02/02	27/53	02/04	Guinea Conakry
Median		51	966	12.6	40	1	70.5 (88*)	1.84 (1.94*)					
[IQR 25–75%]		[44-55]	[820-1216]	[9.1-22.8]	[40-100]	[1-4]	[34-135] *	[1.53-2.13] *					

patients progressors ; ND : No data ; NA : N Amplifiable ; * in patients with detectable HIV-2

Analyse cytométrique des sous-populations T CD4

L'analyse cytométrique a montré que les proportions de lymphocytes T CD4⁺ activés et de monocytes n'étaient pas significativement différentes entre les sujets VIH-2 et les donneurs sains (Figure 1A). Par contre, il y avait des différences dans la répartition des sous-populations T CD4⁺ entre les sujets VIH-2 et les donneurs sains pour les TCM (CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺ : p=0,001), les TTM (CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺ : p = 0,001), et les TEM (CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻ : p = 0,001) (Figure 1B). L'analyse de la distribution des différentes sous-populations de T CD4⁺ au repos des sujets infectés VIH-2 comparée aux LTNP n'a montré aucune différence significative (Figure 1C). L'expression de CCR5 sur les lymphocytes T CD4⁺ activés et au repos ne montrait pas de différence significative entre les individus infectés par le VIH-2 et les donneurs sains (Figure 1D).

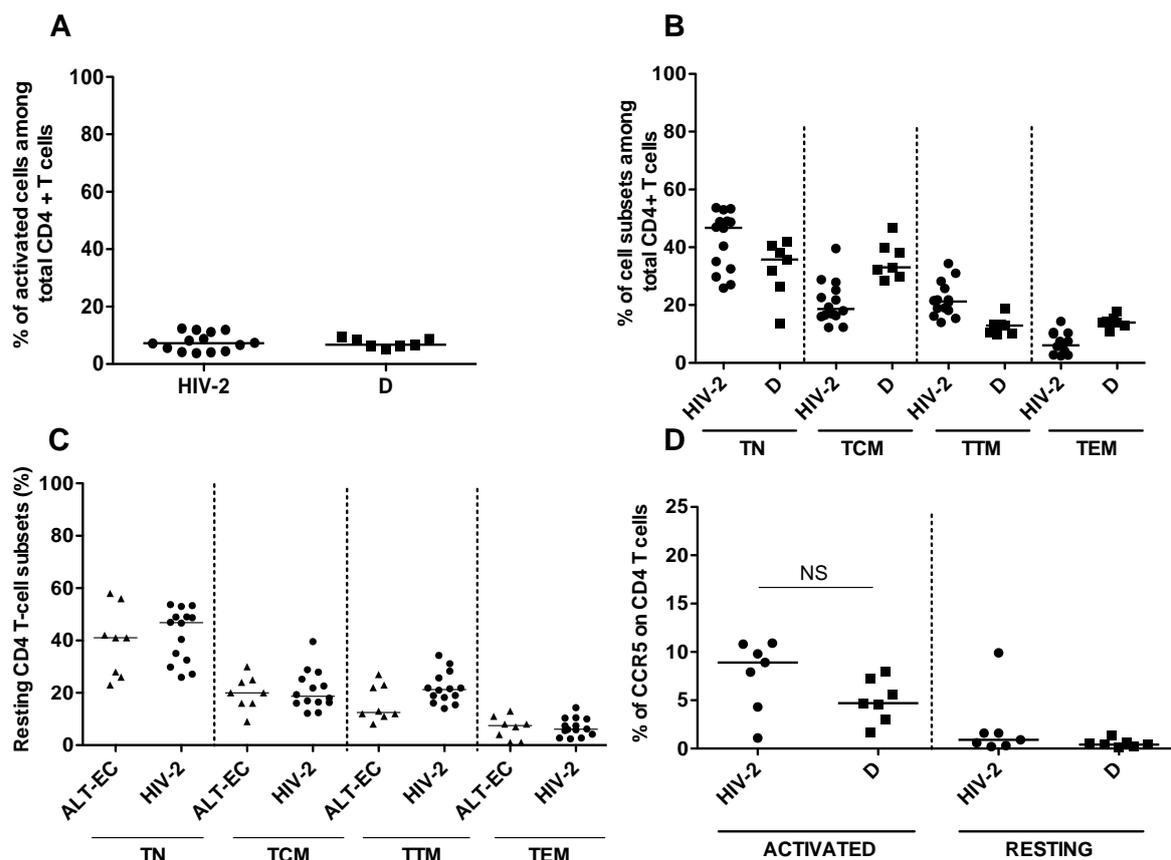
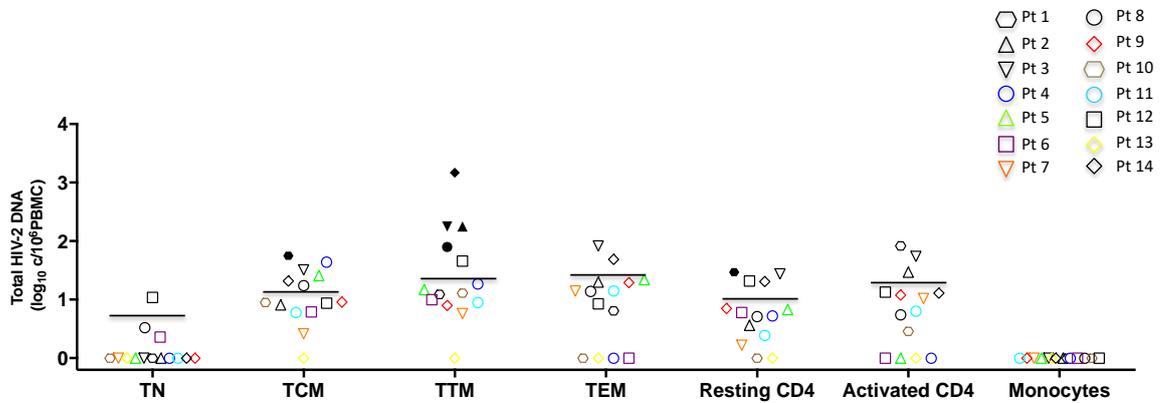


Figure 1. A) Pourcentage de lymphocytes T CD4⁺ activés de 14 patients infectés par le VIH-2 comparés à ceux de 7 donneurs sains. Chaque point représente un sujet, les résultats sont présentés en médiane. B) La répartition des sous populations de lymphocytes T CD4⁺ resting a été évaluée chez les patients infectés par le VIH-2 comparés aux donneurs sains : les lymphocytes T Naïfs (TN) (CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺), lymphocytes T central mémoire (TCM), (CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺), lymphocytes T transitionnels mémoire (TTM) (CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺) et lymphocytes T effecteurs mémoire (TEM) (CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻). C) L'analyse de la répartition des différentes sous-populations des T CD4⁺ resting TN, TCM, TTM et TEM des patients infectés par le VIH-2 comparés aux Long-Term-Non-Progressors (ALT) infectés par le VIH-1. D) Le pourcentage de CCR5 exprimé sur les sous-populations lymphocytes T CD4⁺ activés et resting des patients infectés par le VIH-2 comparés aux donneurs sains.

Distribution majoritaire des réservoirs du VIH-2 dans les TTM des CD4⁺ et absence d'infection dans les monocytes

L'ADN du VIH-2 était indétectable dans une médiane de 1,36 million de monocytes par patient. En revanche, l'ADN du VIH-2 était détectable dans les lymphocytes T CD4⁺ activés de 10 sujets et des lymphocytes T CD4⁺ au repos de 11 sujets, mais n'était quantifiable que dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos d'un seul individu. Enfin, l'ADN du VIH-2 n'a pu être quantifié que dans les TTM de 4 sujets sur 11 alors qu'il ne l'était que dans les TCM d'1 seul individu. Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre les TTM et les TCM (Figures 2, 3, 4).



Number of values	TN	TCM	TTM	TEM	Resting CD4	Activated CD4	Monocytes
with no PCR signal	11/14	1/14	1/14	4/14	2/14	4/14	14/14
with a PCR signal below the LOD	3/14	9/14	8/14	10/14	9/14	9/14	0/14
with a PCR signal between the LOD and the LOQ	0/14	3/14	1/14	0/14	2/14	1/14	0/14
with a PCR signal above the LOQ	0/14	1/14	4/14	0/14	1/14	0/14	0/14

Figure 2. L'ADN VIH-2 total a été quantifiée dans les différentes sous-populations des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) des 14 patients infectés par le VIH-2. L'ADN total a été quantifié dans les monocytes (CD3⁺CD4⁻CD14⁺), les cellules T CD4⁺ activées (CD25⁺CD69⁺HLADR⁺), les cellules T CD4⁺ resting (CD25⁻CD69⁻HLADR⁻), les sous-population des cellules T CD4⁺ resting : naïf (TN ; CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺), central-mémoire (TCM ; CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺), transitionnel mémoire (TTM ; CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺) et effecteurs mémoire (TEM ; CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻). Les résultats de la quantification de l'ADN VIH-2 ont été exprimés en log₁₀ copies par million de cellules. Les résultats ont été montrés en médiane. LOD : le seuil de détection de l'ADN VIH-2 était de 3 copies/PCR ou LOQ : le seuil de quantification était de 6 copies/PCR.

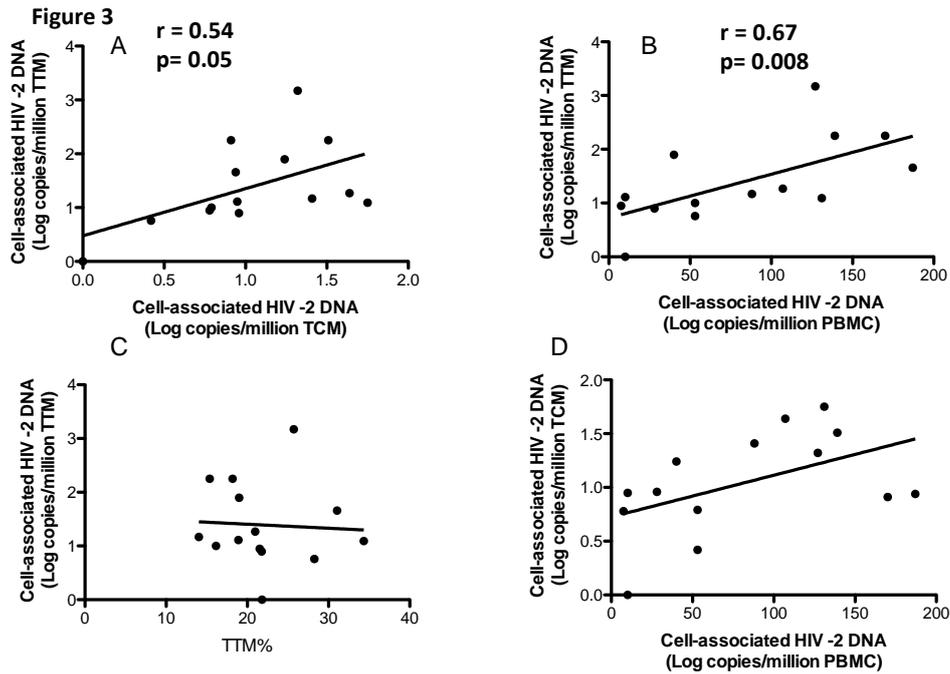


Figure 3. Relation entre les lymphocytes T CD4⁺ transitionnels mémoire (TTM ; CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺) et l'ADN VIH-2. **A)** Les lymphocytes T CD4⁺ central mémoire (TCM ; CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺). **B)** les cellules mononuclées du sang périphérique associées à l'ADN VIH-2. **C)** les lymphocytes T CD4⁺ transitionnels mémoire (TTM ; CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺) **D)** Relation entre les cellules central-mémoire (TCM ; CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺) et l'ADN VIH-2 dans les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC). Les corrélations ont été évaluées par le test de Spearman (Corrélation de Spearman).

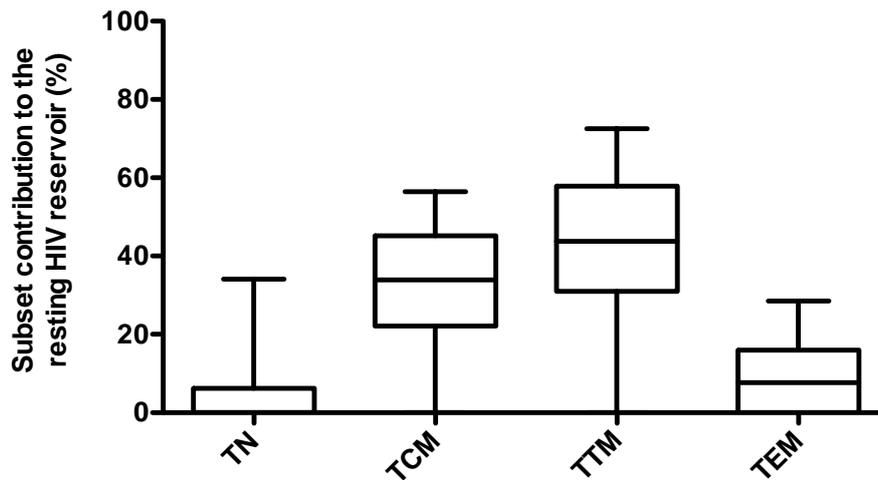
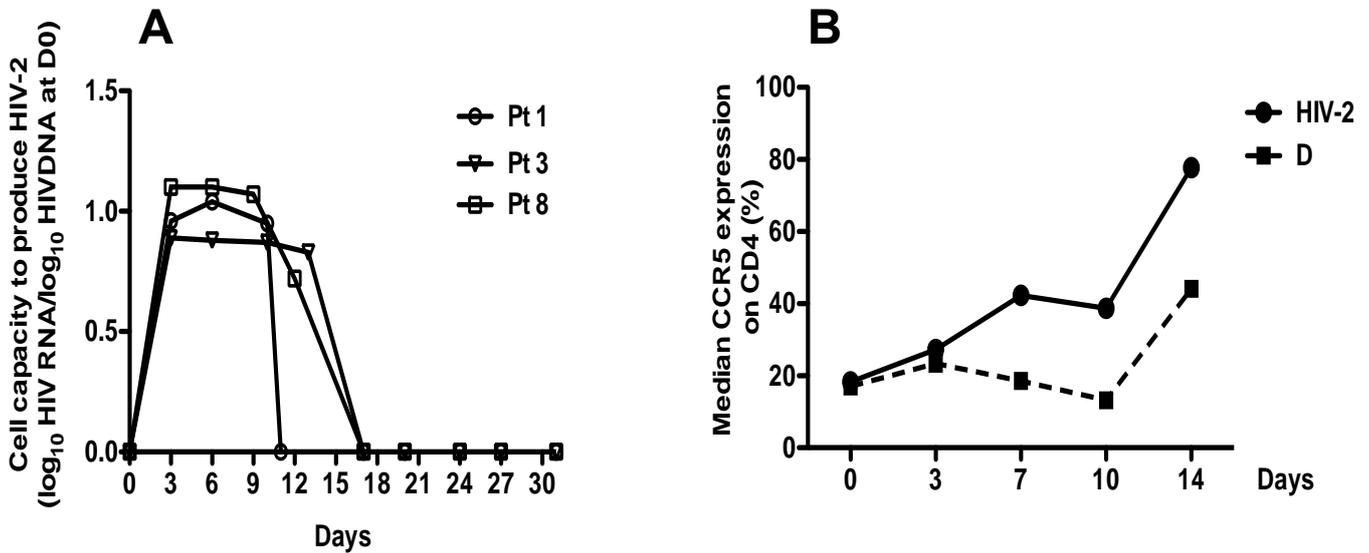


Figure 4. La fréquence de la contribution des sous-populations de cellules T CD4⁺ resting infectées par le VIH-2 au réservoir viral : naïfs (TN : CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺), central mémoire (TCM : CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺), transitionnelle mémoire (TTM : CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺) et effecteurs mémoire (TEM : CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻). Les résultats ont été exprimés en médiane de pourcentage avec des intervalles de quartiles maximum et minimum [25%–75%]

Faible inductibilité du VIH-2 dans les cellules CD4⁺

La capacité d'induire la réplication du VIH-2 à partir de cellules CD4⁺ en culture par stimulation *in vitro* a été très faible : l'ARN du VIH-2 a été détecté dans les surnageants de 3 des 11 échantillons testés entre J3 et J15 (Figure 5 A). Afin de mieux comprendre cette faible production virale, nous avons analysé l'expression du corécepteur CCR5 sur les cellules CD4 en culture. Comme prévu l'expression de CCR5 a augmenté régulièrement de J3 à J14 dans les lymphocytes T CD4 de personnes infectées par le VIH-2, atteignant des niveaux encore plus élevés que chez les donneurs sains (Figure 5 B).



Figures 5. A) Inductibilité du VIH-2 *in vitro* dans des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC). La capacité des cellules à induire la réplication virale a été évaluée chez 11 sujets infectés par le VIH-2 par stimulation avec anti-CD3/anti-CD28 et une co-stimulation IL-2, IL-7 plus IL-15 sur des cellules CD8⁻. Les cellules ont été mises en culture de J0 à J31 et le surnageant de culture a été récolté tous les 3 jours. Les résultats de la quantification de l'ARN VIH-2 a été exprimé en log₁₀ copies par million de cellules. B) La médiane d'expression de CCR5 en culture à la surface des cellules CD4⁺ comparée aux donneurs sains entre J0 et J14.

Distribution de l'ADN du VIH-2 dans les sous-populations CD4 mémoire associée à l'expression des gènes TRIM5 et CXCR6

Afin de mieux comprendre les facteurs qui peuvent influencer la distribution atypique des réservoirs du VIH-2 dans les cellules T CD4⁺ mémoire, une analyse du profil transcriptionnel a été réalisée, en multiplex avec 96 gènes dans chaque sous-population de cellules T CD4⁺ au repos (TN ; TCM ; TTM ; TEM) et de monocytes triés provenant des 14 sujets infectés par VIH-2 (Figure 6). Nous avons observé une expression différentielle significative de 4 gènes entre TCM et TTM, avec notamment à une surexpression du CXCR6 et une sous-expression de TRIM5 dans les TTM par rapport aux TCM (Figure 7).

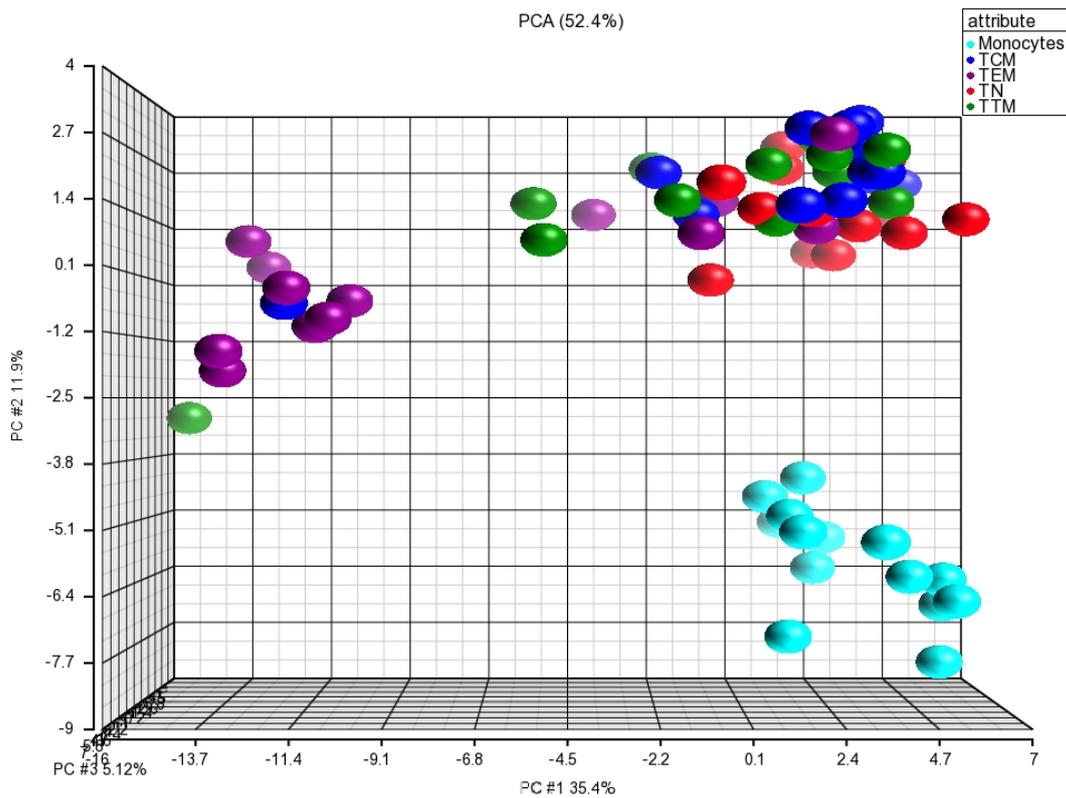


Figure 6. Analyse du transcriptome : analyse en multiplex du profil transcriptomique des 96 gènes testés sur : les monocytes ($CD3^-CD4^-CD14^+$), les sous-populations de lymphocytes T $CD4^+$ resting : Naïfs (TN ; $CD45RA^+CCR7^+CD27^+$), central mémoire (TCM ; $CD45RA-CCR7^+CD27^+$), transitionnel mémoire (TTM ; $CD45RA^-CCR7^-CD27^+$) et effecteur mémoire (TEM ; $CD45RA^-CCR7^-CD27^-$) des 14 sujets infectés par le VIH-2. Une Analyse par composante principale a été réalisée.

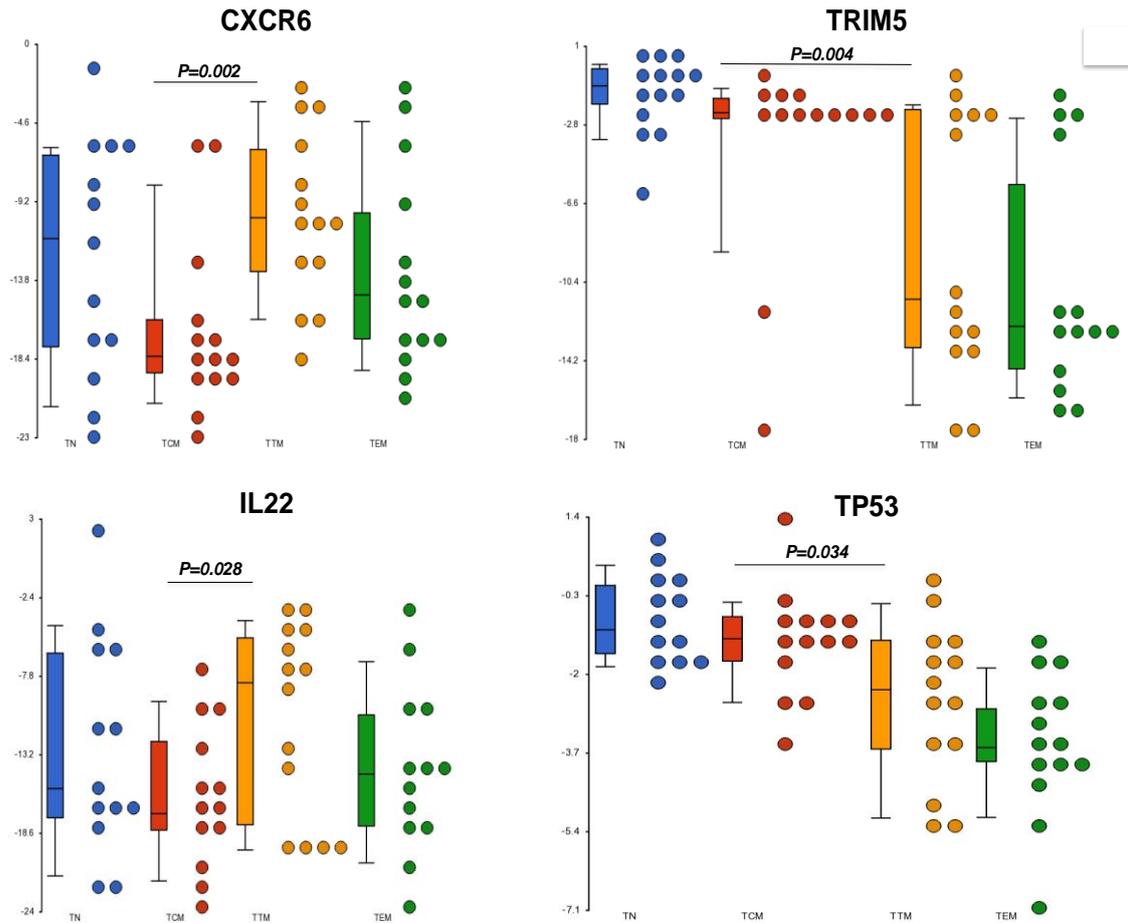


Figure 7. Analyse du transcriptome : analyse en multiplex du profil transcriptomique des 96 gènes testés sur : monocytes ($CD3^-CD4^+CD14^+$), les sous-populations de lymphocytes T $CD4^+$ resting : Naïfs (TN ; $CD45RA^+CCR7^+CD27^+$), central mémoire (TCM ; $CD45RA^-CCR7^+CD27^+$), transitionnel mémoire (TTM ; $CD45RA^-CCR7^-CD27^+$), et effecteur- mémoire (TEM ; $CD45RA^-CCR7^-CD27^-$) des 14 sujets infectés par le VIH-2. L'expression de CXCR6, TRIM5, IL-22 et TP53 dans les sous-populations des cellules CD4 resting a été analysée par le test non paramétrique de Wilcoxon (two-tailed paire) pour comparer la fréquence des gènes CXCR6, TRIM5, IL22 et TP53 dans les différentes sous-populations TCM and TTM.

Déséquilibre dans l'expression des protéines CXCR6 et TRIM5 α entre cellules T CD4 de type TCM et TTM

Pour tester si l'expression des gènes CXCR6 et TRIM5 α était traduite en différences au niveau protéique, L'expression membranaire de CXCR6 et l'expression intracellulaire de TRIM5 α dans les différentes sous-populations de cellules TCD4⁺ des sujets infectés par le VIH- 2 et de 9 donneurs sains ont été analysées par cytométrie en flux. Nous avons d'abord observé que les TCM exprimaient moins de CXCR6⁺ que les TTM avec une différence très significative (p=0,001) (Figure 8 A). Nous avons mis au point l'analyse de l'intensité d'expression de TRIM5 α mais sa distribution était similaire dans les 2 sous-populations (Figure 8 B).

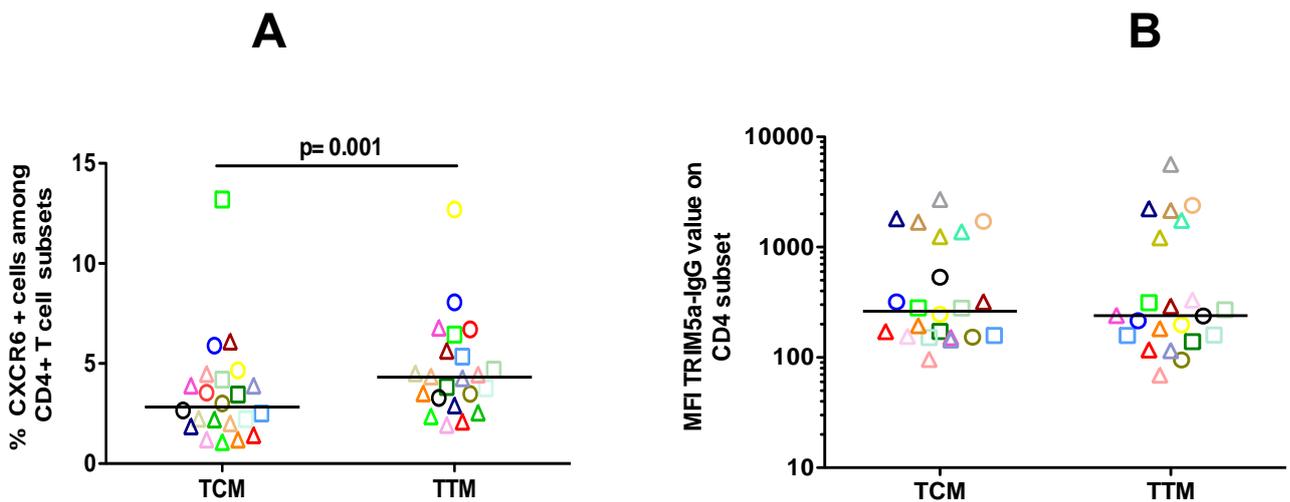


Figure 8. Analyse par cytométrie en flux de l'expression protéique CXCR6 et TRIM5 α dans les sous-populations de lymphocyte T CD4⁺ : TCM (CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺) et TTM (CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺). A) Expression de CXCR6 sur les sous-populations de CD4⁺ TCM et TTM de 12 sujets infectés par le VIH-2 (représentés par des triangles), 4 donneurs sains (représentés par des cercles), 5 donneurs Ouest Africains (représentés par des carrés). B) L'intensité moyenne de fluorescence (MFI) intracellulaire a été obtenue après avoir soustrait la fluorescence de l'Ac secondaire. Les résultats ont été présentés en médiane.

Discussion

Cette étude a permis de procéder à une première caractérisation immuno-virologique des réservoirs du VIH-2. Nos résultats ont montré une répartition particulière des réservoirs du VIH-2, différente de celle décrite dans VIH-1 et caractérisée par une absence d'infection dans les monocytes et une prédominance de l'infection dans les cellules TTM au lieu des cellules TCM. La variation dans l'expression du CXCR6, corécepteur alternatif, et du facteur de restriction TRIM5 α chez les sujets VIH-2 pourrait expliquer cette distribution particulière du réservoir sur les cellules mémoire.

L'ADN du VIH-2, très faible et quantifiable seulement chez 5/14 des sujets de l'étude est en accord avec la faible répliquabilité du VIH-2 ainsi que la faible inductibilité virale détectée chez seulement 3 sujets, et ce malgré une culture de 30 jours au lieu de 14 jours comme dans le cas du VIH-1 (Bacchus et al. 2013; Sáez-Cirión et al. 2013; Descours et al. 2012) et même en ajoutant des cellules allogéniques. Cette faible productivité pourrait être expliquée par la prédominance de sujets non progresseurs (12 sur 14 sujets) dans notre étude.

L'absence d'ADN VIH-2 dans les monocytes des sujets de l'étude est une découverte importante car plusieurs études ont montré que chez le sujet VIH-1 ces cellules sont infectées (Bacchus et al. 2013; Sáez-Cirión et al. 2013; Descours et al. 2012). Cette absence d'infection dans les monocytes ne pouvait être attribuée au nombre de cellules triées car en moyenne plus d'1 million de monocytes ont été analysés par sujet. Nos résultats suggèrent que les monocytes ne constituent pas un réservoir pour le VIH-2. Ceux-ci restent concentrés dans les lymphocytes T CD4 où l'ADN viral était quantifiable. La distribution du réservoir dans les sous-populations CD4 est différente de celle décrite habituellement chez le sujet VIH-1 majoritairement localisée dans les TCM, rapportée également pour l'infection atténuée et productive chez le Sooty mangabey (Paiardini et al. 2011), mais également dans notre étude chez les LTNP HLA-B*27 ou B*57 (Descours et al. 2012) et les Elite Controller. L'infection limitée des TCM pourrait suggérer une forme de protection et de faible pathogénicité du virus mais n'était liée ni à l'expression d'un quelconque HLA comme dans le VIH-1, ni à l'expression plus faible de CCR5 comme dans le modèle du Sooty Mangabey (Paiardini et al. 2011). En effet, l'expression de CCR5 sur les lymphocytes T CD4⁺ mémoire suivait un gradient progressif classique, plus faible sur les TCM que les TTM sans différence significative, comme observé dans l'infection

à VIH-1, alors que l'expression de CCR5 augmente de façon normale sur les lymphocytes T CD4 activés des sujets infectés par le VIH-2. Le rôle possible de Blimp-1 dans les TCM, tel que rapporté pour les LTNP (de Masson et al.) a été exclu, puisque le VIH-2 ne possède pas de sites de liaison à ce répresseur transcriptionnel comme décrit dans le VIH-1 (Michaels et al. 2015; de Masson et al. 2014).

L'analyse transcriptomique en multiplex d'une centaine de gènes des corécepteurs et facteurs de restriction a montré que la distribution du réservoir pourrait être liée à la surexpression du gène CXCR6 dans les TTM et à la sous-expression de TRIM5 α . Cette expression de CXCR6 a été confirmée au niveau protéique et pourrait jouer un rôle puisque CXCR6 a été décrit comme un récepteur alternatif du VIH-2 mais pas pour le VIH-1 (Blaak et al. 2005; Heredia et al. 1997; Owen et al. 1998). La fonction de corécepteur pourrait s'exercer uniquement chez les lentivirus faiblement pathogènes (Wetzel et al. 2018). L'expression de TRIM5 α ne semble pas jouer un rôle identique dans cette distribution du réservoir puisqu'il n'y a pas de différence au niveau protéique. En effet, TRIM5 α agit comme un puissant facteur de restriction pour le SIV mais pas pour le VIH-1 alors que la très forte ressemblance structurale au niveau des protéines de capsid e entre SIV et VIH-2, montrant des niveaux élevés de sensibilité à TRIM5 α (Takeuchi et al. 2013), aurait pu le suggérer.

En conclusion, l'analyse de la distribution des réservoirs du VIH-2 dans les cellules mononucléées du sang périphérique des adultes infectés par le VIH-2 montre :

- Une absence d'infection dans les monocytes, qui pourrait traduire une mauvaise adaptation de ce virus dérivé du SIV au compartiment myéloïde.

- Un faible niveau d'infection des TCM par le VIH-2 qui semble refléter l'expression cellulaire du corécepteur CXCR6 et des facteurs de restriction agissant sur le VIH-2, mais pas sur le VIH-1. Ceci suggère que le VIH-2 serait moins adapté aux TCM par rapport aux TTM.

L'ensemble de nos résultats suggèrent que cette distribution particulière des réservoirs du VIH-2, similaire à celle observée chez le Sooty mangabey et les LTNP de type HLA-B*27 ou 57, pourrait être caractéristique de la faible pathogénicité encore mal comprise de l'infection à VIH-2 et être liée à des facteurs clés de l'hôte.

Remerciements

Nous remercions les membres de la cohorte française VIH-2 (ANRS CO5 VIH-2), qui est soutenue par une subvention de l'ANRS ("France Recherche Nord&Sud Sida-HIV Hépatites") et parrainée par l'INSERM-ANRS.

Nous tenons à remercier également les membres du groupe d'étude IMMUNOVIR-2 de l'ANRS CO5 : Victor Appay, Brigitte Autran, Françoise Brun-Vezinet, Nathalie Chaghil, Charlotte Charpentier, Rémi Cheynier, Diane Descamps, Anne Hosmalin, Gianfranco Pancino, Nicolas Manel, Lucie Marchand, Sophie Matheron, Fideline Collin, Livia Pedroza-Martins, Asier Sàez-Cirion, Assia Samri, Rodolphe Thiebaut, et Vincent Vieillard.

Nous sommes reconnaissants à Ioannis Theodorou, Sabine Canivet et Marie-Line Moussalli pour le typage HLA des participants.

Un grand merci à Bénédicte Charmeteau, Suzanne Figueredo et Stéphane Isnard pour la gestion des échantillons.

Nos remerciements vont particulièrement à Catherine Blanc et Bénédicte Hoareau pour leurs expertises dans les techniques de tri cellulaire sur la plateforme de cytométrie en flux CyPS de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière.

RESEARCH ARTICLE

Limited HIV-2 reservoirs in central-memory CD4 T-cells associated to CXCR6 co-receptor expression in attenuated HIV-2 infection

Assia Samri¹✉, Charlotte Charpentier²✉, Mariama Sadjo Diallo¹, Mélanie Bertine², Sophie Even¹, Véronique Morin³, Anne Oudin³, Christophe Parizot^{1,4}, Gilles Collin², Anne Hosmalin⁵, Rémi Cheynier⁶, Rodolphe Thiébaud⁶, Sophie Matheron⁷, Fideline Collin⁶, Rima Zoorob³, Françoise Brun-Vézinet^{8†*}, Brigitte Autran^{9‡*}, the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study Group[¶]



1 Sorbonne Université, Inserm 1135, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, Paris, France, **2** IAME, UMR 1137, Inserm, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire de Virologie, Hôpital Bichat, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France, **3** Sorbonne-Université, Inserm 1135, CNRS ERL8255, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, Paris, France, **4** Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupement Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département d'Immunologie, Paris, France, **5** Institut Cochin, Inserm, U1016, CNRS, UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France, **6** Inserm U1219 Bordeaux Population Health, INRIA SISTM, Univ. Bordeaux, Bordeaux, France, **7** Inserm, IAME, UMR 1137, Univ. Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Assistance Publique -Hôpitaux de Paris, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat, HUPNVS, Paris, France, **8** University Paris7, Denis Diderot, Paris, France, **9** Sorbonne Université, Inserm 1135, Centre d'immunologie et des maladies infectieuses, Cimi-Paris, AP-HP, Hôpital universitaire Pitié-Salpêtrière, Paris, France

✉ These authors contributed equally to this work.

‡ FBV and BA also contributed equally to this work.

¶ Membership of the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study Group is listed in the Acknowledgments.

* brunvezinet@gmail.com (FBV); brigitte.autran-ext@aphp.fr (BA)

OPEN ACCESS

Citation: Samri A, Charpentier C, Diallo MS, Bertine M, Even S, Morin V, et al. (2019) Limited HIV-2 reservoirs in central-memory CD4 T-cells associated to CXCR6 co-receptor expression in attenuated HIV-2 infection. *PLoS Pathog* 15(5): e1007758. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758>

Editor: Jeffrey Lifson, Leidos Biomedical Research Inc, UNITED STATES

Received: November 15, 2018

Accepted: April 10, 2019

Published: May 16, 2019

Copyright: © 2019 Samri et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All data are included in the manuscript.

Funding: This work was supported in part by the ANRS (France Recherche Nord&Sud Sida-hiv Hépatites), the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, the Université Pierre et Marie Curie, Paris, the University Paris7, Paris Diderot, France and the French Government's Investissement d'Avenir program, Laboratoires d'Excellence 'Integrative Biology of Emerging

Abstract

The low pathogenicity and replicative potential of HIV-2 are still poorly understood. We investigated whether HIV-2 reservoirs might follow the peculiar distribution reported in models of attenuated HIV-1/SIV infections, i.e. limited infection of central-memory CD4 T lymphocytes (TCM). Antiretroviral-naïve HIV-2 infected individuals from the ANRS-CO5 (12 non-progressors, 2 progressors) were prospectively included. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were sorted into monocytes and resting CD4 T-cell subsets (naïve [TN], central- [TCM], transitional- [TTM] and effector-memory [TEM]). Reactivation of HIV-2 was tested in 30-day cultures of CD8-depleted PBMCs. HIV-2 DNA was quantified by real-time PCR. Cell surface markers, co-receptors and restriction factors were analyzed by flow-cytometry and multiplex transcriptomic study.

HIV-2 DNA was undetectable in monocytes from all individuals and was quantifiable in TTM from 4 individuals (median: 2.25 log₁₀ copies/10⁶ cells [IQR: 1.99–2.94]) but in TCM from only 1 individual (1.75 log₁₀ copies/10⁶ cells). HIV-2 DNA levels in PBMCs (median: 1.94 log₁₀ copies/10⁶ PBMC [IQR = 1.53–2.13]) positively correlated with those in TTM (r = 0.66, p = 0.01) but not TCM. HIV-2 reactivation was observed in the cells from only 3 individuals. The CCR5 co-receptor was distributed similarly in cell populations from individuals and donors. TCM had a lower expression of CXCR6 transcripts (p = 0.002) than TTM confirmed

Infectious Diseases* (ANR-10-LABX-62-IBEID). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

by FACS analysis, and a higher expression of TRIM5 transcripts ($p = 0.004$). Thus the low HIV-2 reservoirs differ from HIV-1 reservoirs by the lack of monocytic infection and a limited infection of TCM associated to a lower expression of a potential alternative HIV-2 co-receptor, CXCR6 and a higher expression of a restriction factor, TRIM5. These findings shed new light on the low pathogenicity of HIV-2 infection suggesting mechanisms close to those reported in other models of attenuated HIV/SIV infection models.

Author summary

HIV-2 induces a still poorly understood attenuated infection compared to HIV-1. We investigated whether this infection might follow peculiarities associated with other models of attenuated HIV-1/SIV infection, i.e. a limited infection of a key subset of memory CD4 T lymphocytes, the central-memory ones (TCM). Thus we studied the infection rates in peripheral blood cells from 14 untreated HIV-2 infected individuals from the ANRS-CO5 HIV-2 cohort, and found; 1) a lack of infection of monocytes, 2) extremely low infection in central-memory CD4+ T lymphocytes while HIV-2 predominated in the transitional-memory cells, 3) a poor replicative capacity of HIV-2 in individuals cells. We then investigated the cellular expression of a hundred-host genes potentially involved in HIV-2 control. We found in individuals' TCM cells, compared to TTM ones, a lower expression of CXCR6, a potentially alternative co-receptor of HIV-2 but not of HIV-1, and a higher expression of TRIM5 α , a restriction factor to which HIV-2 is more sensitive than HIV-1. Altogether our findings shed new light on the low pathogenicity of HIV-2 suggesting mechanisms close to those reported in other models of attenuated HIV/SIV infection models.

Introduction

Human Immunodeficiency type 2 virus (HIV-2) is a Lentivirus responsible for a less pathogenic infection than HIV type 1 virus (HIV-1), characterized by slow clinical progression, prolonged maintenance of CD4 lymphocytes counts, and a high proportion of untreated individuals with undetectable plasma viral load (pVL) [1–3].

HIV-2 infection has indeed peculiar epidemiological, clinical, virological and antiretroviral susceptibility characteristics that distinguish it from HIV-1 infection [1–9]. The much slower CD4 T-cell decline [10] is in line with a preserved thymic function [11] but contrasts with the *in vitro* cytopathogenicity [12] and a relationship between CD4 T-cell depletion and immune activation that appears to be similar to that observed during HIV-1 infection [13, 14]. A main characteristic of HIV-2 infection, concentrated in Western Africa where it is presumed to infect up to 1–2 million people [15], is the low-level of circulating virus at all stages of the disease, responsible for the reduced transmissibility [16]. However, the pathophysiological mechanisms explaining these lower viral loads compared to HIV-1 remain little explored. Though close to HIV-1, HIV-2 shares only nearly 30–40% and 60% homology with HIV-1 in the Env and the Gag and Pol sequences, respectively [17], while almost identical to SIV of sooty mangabeys (sm) [18]. Robust polyfunctional anti-HIV-2 T cell responses have been associated with lower levels of viral replication, suggesting an active immune control of HIV-2 [19–23] with strong NK cells cytotoxic activity [24], comparable to what is observed in HIV-1 infected Elite Controllers. In addition, although HIV-2 uses the same CCR5 and CXCR4 co-receptors as

HIV-1 [25–27], it seems to use *in vitro* a broader spectrum of alternative co-receptors (CCR1 to CCR8, CXCR6 (BONZO), GPR15 (BOB), GPR1, APJ, CX3CR1 (V28), CXCR5 and RDC1) [26–32]. Among those CXCR6 might be a more plausible HIV-2 co-receptor as it is preferentially used in aviraemic HIV-2 infected patients [33] as well as by non-pathogenic lentiviruses [34]. It also differs from HIV-1 for its susceptibility to restriction factors, as SAMHD1 [35] is not active on HIV-2, while TRIM5 α , the well-known SIV restriction factor was also recently shown to limit HIV-2 but not HIV-1 production in human cells [36–38]. In addition, whether HIV-2 is sensitive to other factors such as Blimp-1, an HIV-1 restriction factor newly discovered by our group and others [39], remains unknown.

Therefore, although HIV-1 and HIV-2 infections appear to follow the same basic pathogenic mechanisms, during natural HIV-2 infection, the lower viral production, lower CD4 T-cell decline and slower progression to disease indicate a more favorable host-pathogen balance than during in HIV-1 infection. HIV-2 seems to be able to spread and build a reservoir of infected cells like HIV-1. HIV-2 DNA levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are equivalent to those measured in HIV-1 infected individuals with similar CD4 cell counts [40–43]. The divergence between the levels of viral DNA in PBMCs and of plasma RNA between HIV-2 and HIV-1 infection suggests a scenario with a first phase of active virus replication during primary infection, during which the viral reservoirs are established, followed by a second phase of viral replication control. Indeed, active infection in the early stages of HIV-2 infection is also suggested by the high immune activation and peripheral plasmacytoid dendritic cell (pDC) depletion found in different studies [13, 44]. However, the control of HIV-2 replication might occur soon enough before immune functions are definitively damaged.

During HIV-1 infection, the latent reservoir of integrated but inducible HIV-1 predominantly takes place in resting central-memory T (TCM) lymphocytes CD4 [45, 46] and in few monocytes/macrophages [47, 48]. Conversely, in the classical sooty-mangabey model of attenuated SIV infection, the TCM reservoirs are limited compared to more differentiated cells and this is related to low CCR5 co-receptor expression [49]. Supporting the low TCM infection level as a hallmark of reduced pathogenicity, the TCM from HIV-1 infected Long Term Non Progressors (LTNP) with the protective HLA-B*27 or B*57 alleles are also less infected than transitional-memory CD4-T-cells (TTM) [50]. In addition, a similar low TCM cell contribution to the HIV-1 reservoirs is characteristic of HIV-1 infected post-treatment controllers [48]. Nevertheless, whether the same peculiar reservoir distribution in resting CD4+ memory T cells is true in the low pathogenic HIV-2 infection remains unknown.

To define better the characteristics of the HIV-2 reservoirs, we analyzed the latent and inducible blood reservoir of HIV-2 and its distribution among CD4+ peripheral blood cells from individuals followed in the French ANRS HIV-2 CO5 cohort [51] whose adaptive and innate immune responses are being characterized in the context of the ongoing Immunovir reservoir study [20, 52]. We particularly investigated whether monocytes are infected *in vivo* and tested the hypothesis of a limited infection of TCM, like in non-pathogenic SIVsm infection or in the non-progressive HIV-1 infection of HLA-B*27+ or B*57+ LTNPs.

Results

Characteristics of studied HIV-2 infected individuals

This HIV-2 reservoir study was performed on PBMC from 14 HIV-2 infected individuals from the ANRS-CO5 HIV-2 Cohort, identified as non-progressors (n = 12) according to our previous studies [51] or progressors (n = 2), and defined in material and method section. These individuals were previously described in Angin et al. and Lucar et al. [20, 52]. As described in Table 1, 8 out of 14 (57%) were women and except for individual 11, all donors

Table 1. Participants characteristics.

Participants	Gender	Age (years)	CD4 T-cell Counts (cells/mm ³)	Time since diagnosis (years)	Ultra Sensitive Viral Load (copies/mL plasma)	HIV-2 DNA (copies/10 ⁶ PBMC)	HIV-2 DNA (log ₁₀ copies/10 ⁶ PBMC)	HIV-2 group	HLA-A	HLA-B	HLA-C	Geographic Origin
1	M	52	891	11.3	<1	131	2.12	B	02/03	49/57	07/18	Ivory Coast
2	M	53	1228	17.6	<1	170	2.23	A1	23/23	07/14	07/08	Guinea Bissau
3	F	52	604	25.6	19	139	2.14	B	02/23	15/52	02/16	Guinea Conakry
4	M	57	1090	23	ND	107	2.03	A1	23/34	53/53	04/04	Ivory Coast
5	F	34	1212	12.5	5.6	88	1.94	A1	03/26	58/58	03/07	Gambia
6	F	50	1776	8.8	<1	53	1.73	B	68/68	07/52	-	Ghana
7	F	39	1036	12.7	<1	53	1.73	B	03/03	35/53	04/04	Ivory Coast
8	F	48	859	9.2	ND	40	1.60	B	34/34	15/53	02/04	Guinea Conakry
9	F	49	895	11.3	<1	28	1.45	B	02/68	15/51	14/16	Ivory Coast
10	F	54	1118	27.2	2.4	10	0.99	B	03/74	14/15	07/08	Guinea Conakry
11	M	59	1300	8.8	<1	<7.5	<0.88	NA	01/29	44/57	06/16	Colombia
12	M	44	707	20.5	1.3	187	2.27	A	03/23	35/53	04/04	Ivory Coast
13#	F	43	858	22.7	<1	10	1.00	NA	1/33	15/35	04/14	Ivory Coast
14#	M	70	502	7.4	58	127	2.10	A	02/02	27/53	02/04	Guinea Conakry
Median		51	966	12.6	1	70.5 (88*)	1.84 (1.94*)					
[IQR 25–75%]		[44–55]	[820–1216]	[9.1–22.8]	[1–4]	[34–135] *	[1.53–2.13] *					

progressors individuals; ND: Not Done; NA: Not Amplifiable;

* in individuals with detectable HIV-2 DNA

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.t001>

were from Western Africa. At inclusion, the median age was 51 [IQR: 44–55] years; the median duration of known infection was 12.6 [IQR: 9.1–22.8] years and median CD4 T-cell count was 966 cells/μL [IQR: 820–1216]. Four individuals displayed an HLA-B*27, B*57 or B*58 allele. Five individuals had detectable pVL under the limit of quantification (LOQ) at 1.3, 2.4, 5.6, 19, and 58 copies/mL using an ultrasensitive assay. HIV-2 viral group was A in 5 individuals, B in 7 individuals, and not available because of amplification failure for the two remaining individuals. Median total HIV-2 DNA in PBMCs was above the LOQ in 13 individuals with a median of 1.94 log₁₀ copies/10⁶ PBMC [IQR: 1.53–2.13] for a median total DNA amount analyzed per PCR well of 463 ng [IQR: 328–608]. HIV-2 DNA levels did not differ between the four HLA-B*27, B*57 or B*58 individuals 2.02 log₁₀ copies/10⁶ PBMC [IQR: 1.15–2.12] and the others 1.73 log₁₀ copies/10⁶ PBMC [IQR: 1.34–2.16] (p = 0.94).

Distribution of CD4 cells subsets and CCR5 expression in HIV-2 infected individuals

The proportions of activated CD4 T-cells (Fig 1A) or monocytes were not significantly different in HIV-2 infected individuals compared to HIV-negative donors (D). Similarly, there were no significant differences between the proportions of TN (CD45RA+CCR7+CD27+ cells: 46.76% vs 35.72%) compared to HIV-negative D. However, differences were observed for TCM (CD45RA-CCR7+CD27+ cells: 18.63 vs 33.01%; p = 0.001), TTM (CD45RA-CCR7-CD27+ cells: 21.25% vs 12.87%; p = p = 0.001), TEM (CD45RA-CCR7-CD27- cells: 6.08% vs 13.94%; p = 0.001) (Fig 1B) subsets among CD4 T-cells compared to HIV-negative D. In addition, no differences were observed when comparing the frequencies of subsets among resting CD4 T-cells from the HIV-2 infected individuals to those of 8 HIV-1 infected ALT Elite Controllers (ALT EC) (Fig 1C). The surface expression of CCR5 did not differ between HIV-2 infected

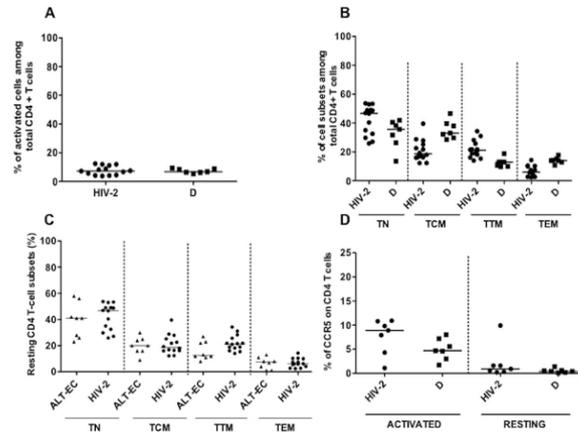


Fig 1. A) Percentage of activated CD4 T lymphocytes (left panel) of 14 HIV-2 infected subjects (dots) compared to 7 donors (D) (squares). Each symbol represents a subject and the medians are shown. B) The repartition of resting CD4 T-cell subsets was assessed in 14 HIV-2 infected subjects (dots) and in 7 donors (D) (squares). The analyzed resting CD4+ subsets are: naive (TN; CD45RA+CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-). Each symbol represents a subject and the medians are shown. C) Resting CD4 T-cell subsets of 7 HIV-2 infected subjects (dots) compared to 8 HIV-1 infected Long-Term-Non-Progressors (ALT) (triangles). The analyzed resting CD4+ subsets are TN, TCM, TTM and TEM. Each symbol represents a subject and the medians are shown. D) Expression of CCR5 on CD4 T-cells activated and resting CD4 T-cells from 7 HIV-2 infected subjects (dots) compared to 7 donors (D) (squares). Each symbol represents a subject and the medians are shown.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g001>

individuals and in D in activated or resting CD4 T-cells (Fig 1D) nor on the various resting CD4 T-cell subsets (S1 Fig).

Preferential distribution of HIV-2 reservoirs in CD4+ TTM and lack of monocyte HIV-2 infection

The distribution of total HIV-2-DNA was quantified in various populations sorted from the PBMC of the 14 individuals. Cells were sorted into CD3-CD4-CD14+ Monocytes, CD25+CD69+HLADR+ activated CD4 T-cells and CD25-CD69-HLADR- resting CD4 T-cells sub-sorted into TN, TCM, TTM, and TEM. After sorting, HIV-2 DNA was quantified in median total DNA 312 ng [IQR: 171–559]. Regarding the TEM cell subset, as could be expected; the number of sorted TEM cells tested for HIV-2 DNA quantification was lower than other subsets in most patients and DNA levels were below 200 ng/PCR in 12 out of 14 individual samples (S1 Table).

HIV-2 DNA was consistently undetectable among the median 1.36 million [IQR: 0.88–1.71] monocytes sorted from each individual. In contrast HIV-2 DNA was detectable in activated and resting CD4 T-cells from 10 and 11 individuals, respectively (Fig 2) but were quantifiable only in the resting CD4 T-cells from a single individual (Pt (Pt 1: 1.47 log₁₀ copies/10⁶ cells). Finally, HIV-2 DNA could be quantified only in the TTM from four individuals (Pt 2; Pt 3; Pt 8; Pt 14 with 2.25, 2.25, 1.90, and 3.17 log₁₀ copies/10⁶ cells respectively) (S1 Table), while in the TCM from only one individual (Pt 1; 1.75 log₁₀ copies/10⁶ cells) (S1 Table). However, no significant difference was observed between TTM and TCM qualitatively (p = 0.37) or quantitatively (p = 0.1). Overall, these low circulating HIV-2 DNA levels were quantifiable in

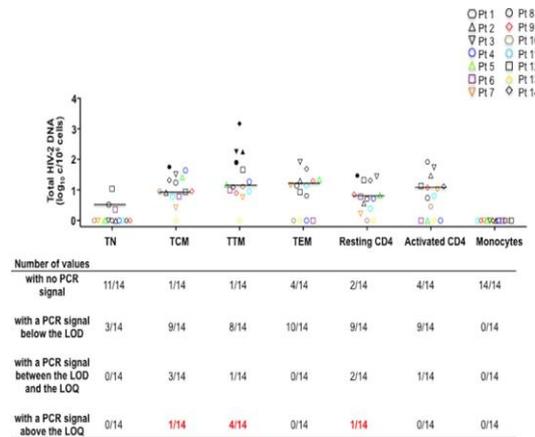


Fig 2. The distribution of total HIV-2 DNA was quantified in various sorted populations from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 14 HIV-2 infected subjects. Total HIV-2 DNA quantification in CD3-CD4-CD14+ Monocytes, CD25+CD69+HLADR+ activated CD4 T-cells and CD25-CD69-HLADR- resting CD4 T-cells sub-sorted into: naive (TN; CD45RA+CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-). Results are expressed as the log₁₀ HIV-2 DNA copies per million cells, and medians are shown. Each symbol represents a subject. Filled symbols show quantifiable DNA detection. The limit of detection (LOD) of the HIV-2 DNA assay is 3 copies/PCR and the limit of quantification (LOQ) is 6 copies/PCR.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g002>

CD4 subsets from only 5 of the 14 individuals tested, 2 of whom only having also quantifiable plasma viremia. The two individuals with the highest ultrasensitive pVL (58 and 19 copies/mL) also had detectable TTM reservoirs, the third was untested, the fourth was undetectable. HIV-2 DNA levels in TTM cells showed a trend towards a correlation with the TCM infection levels ($p = 0.05$; $r = 0.54$) (Fig 3A) and were correlated to HIV-2 total DNA in PBMC ($p = 0.01$; $r = 0.66$) (Fig 3B) while HIV-2 DNA levels in TCM were not (Fig 3D). Of note HIV-2 DNA levels in TTM were not correlated to the TTM cell numbers in the peripheral blood (Fig 3C). This preferential HIV-2 DNA distribution among resting CD4 T-cells was not associated with the hosts' HLA-B*27, *57 or B*58 alleles. We then evaluated the relative contribution of each subset to the whole pool of infected resting CD4 T-cells by taking into account the infection level and the frequency in blood of each subset (Fig 4), showing that the TTM subset contributed to 46% of the total infected resting CD4 T-cell pool and the TCM only to 33% (Fig 4). However, no significant difference, in term of contribution, was observed between TTM and TCM ($p = 0.108$).

Poor inductibility of HIV-2 in CD4+ peripheral blood cells

The capacity to induce HIV-2 replication from CD8-depleted cells was evaluated after strong TCR stimulation by anti-CD3/anti-CD28 coated beads, IL-2, IL-7 and IL-15; and allogeneic cells at D0 of culture. The production of HIV-2 RNA was detected in 3 of the 11 tested samples between D3 and D15 in supernatants with low levels ranging between 2 and 3 log₁₀ HIV-2 RNA copies/mL (Fig 5A). Interestingly, the three individuals from whom HIV-2 was inducible *in vitro* had the highest levels of HIV-2 DNA quantified in TTM (Pt 3 and Pt 8) or in TCM (Pt 1).

In order to better understand such low virus production, we analyzed the expression of the CCR5 co-receptor during culture. As expected (Fig 5B), CCR5 expression increased steadily from D3 to D14 in CD4 T-cells from HIV-2 infected individuals reaching even higher levels than in D.

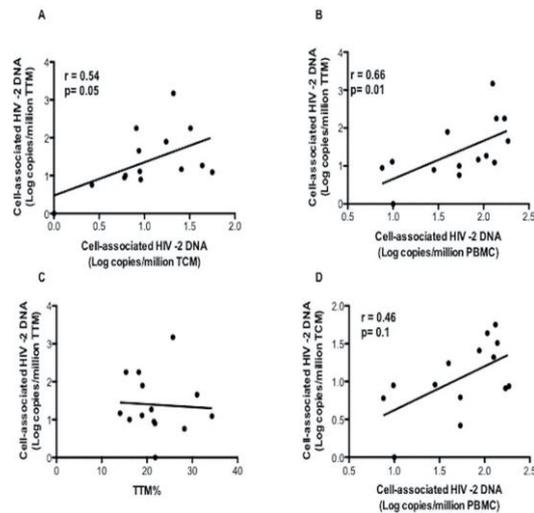


Fig 3. Relationship between cell-associated HIV-2 DNA in transitional memory T cells (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and A) cell-associated HIV-2 DNA in central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) and B) cell-associated HIV-2 DNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and C) transitional memory T cells (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) numbers in the peripheral blood. D) Relationship between cell-associated HIV-2 DNA in central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) and in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Fourteen HIV-2 infected subjects are represented. Each symbol represents a subject. Correlations were determined with Spearman's rank test.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g003>

Distribution of HIV-2 DNA among memory CD4 cell subsets is associated with an imbalance in TRIM5 and CXCR6 gene expression

In order to better understand the determinants of the atypical distribution of HIV-2 reservoirs among memory CD4 T-cells we performed a broad multiplex transcriptional profiling analysis of 96 genes in each resting CD4 T-cell subset (TN; TCM; TTM; TEM) and monocytes sorted

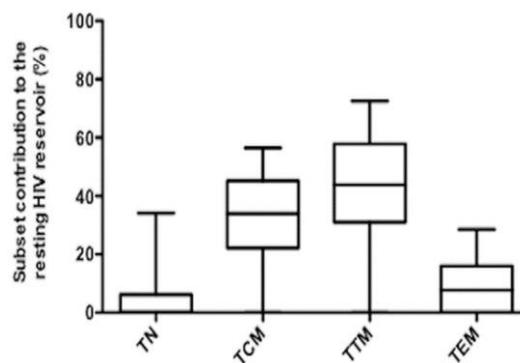


Fig 4. The CD4 T-cell subsets contribution to the resting HIV-2 reservoir considering both infection levels and frequency. Resting CD4 T-cells: naive (TN; CD45RA+CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-) are represented from 14 HIV-2 infected subjects. The results are expressed as the median percentage of the resting CD4 T-cells HIV-2 reservoir, with interquartile range [25%-75%] and minimum and maximum values.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g004>

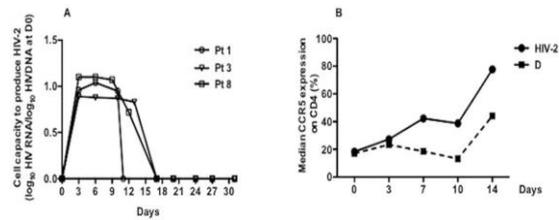


Fig 5. A) *In vitro* inducibility of HIV-2 reservoir in CD8-depleted peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Cell capacity to induce HIV-2 replication was evaluated in 11 HIV-2 infected subjects by stimulating CD8-depleted PBMC with anti-CD3/anti-CD28 co-stimulation plus IL-2, plus IL-7 plus IL-15. Allogeneic feeder CD8-depleted PBMC from a donor were added to culture at D13. Culture supernatants were collected every three days for HIV-2 viral load quantification from D0 to D31. Results are expressed as the log₁₀ of the ratio between the numbers of HIV-RNA copies quantified on a given day of culture and the level of total HIV-DNA in the subset measured at D0 of culture. Each symbol represents a subject. **B)** Expression of CCR5 in culture on CD4 T-cells from 7 HIV-2 infected subjects (dot) compared to 7 donors (D) (square). Median expression of CCR5 on CD4 T-cells during 14 days of culture is represented.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g005>

from the 14 HIV-2 infected subjects PBMC. These genes were mainly related to sensing, inflammation, cytokines, chemokines, interferon signaling pathways, with a particular focus on the putative alternative HIV-2 co-receptors like CXCR6 (S2 Table) and restriction factors such as TRIM5 α and Blimp-1. We first excluded that Blimp-1 could act as an HIV-2 restriction factor by analyzing the HIV-2 LTR sequences. In contrast to HIV-1, they do not contain any Blimp-1 binding sites. Then a principal-component analysis (PCA) of the multiplex transcriptional raw data (Fig 6) allowed us to distinguish monocytes from all resting CD4 T-cell subsets. Among the latter the TEM cells displayed a different gene profile, characteristic for more advanced differentiation compared to the three other TN, TCM and TTM populations.

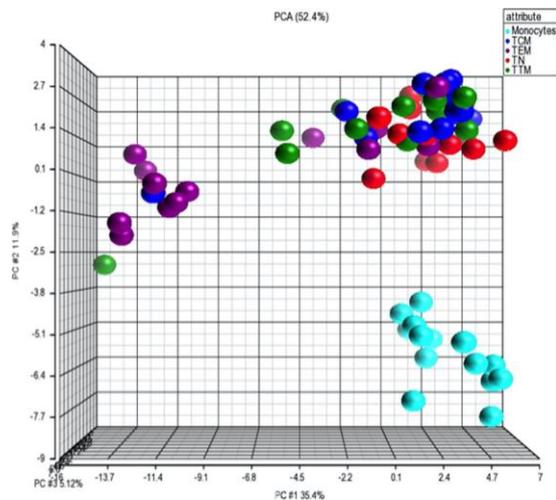


Fig 6. Transcriptomic analysis: A broad multiplex transcriptional profiling analysis of 96 genes was performed in monocytes (CD3-CD4-CD14+) and resting CD4 T-cells subsets: Naive (TN; CD45RA-CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-) from 14 HIV-2 infected subjects. A principal component analysis (PCA) plot representation of gene expression profile in each population is shown.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g006>

As HIV-2 DNA was detectable only in the TTM and TCM subsets, we focused our analysis on these two subsets. Among the 96 genes studied only four genes significantly differed between those two subsets. CXCR6, a putative alternative HIV-2 co-receptor and IL-22, an inflammatory cytokine, were 94 ($p = 0.002$) and 37-times ($p = 0.028$) more expressed in TTM than in TCM. In contrast, TRIM5 α , a SIV/HIV-2 potential restriction factor for HIV-2 but not HIV-1, and TP53, a tumor suppressor, were 35-times ($p = 0.004$) and 2-times ($p = 0.034$) less expressed in TTM than in TCM (Fig 7). However, the significances observed for these four genes were lost after FDR correction. The same analyses done on sorted cells from the 4 donors with the same African origin (West Africa) did not show differences compared to the infected subjects

Imbalance in CXCR6 and TRIM5 α protein expression between TCM and TTM

In order to further investigate whether the differences in CXCR6 and TRIM5 gene expression could be observed at the protein level in CD4 T-cell subsets, we performed an additional flow cytometric analysis of CXCR6 cell surface and TRIM5 α intra-cellular expression in CD4 T-cell subsets from 12 HIV-2 infected individuals, and from 9 donors (D) (4 French and 5 West-African (A)).

We first observed that TCM display less CXCR6+ cells than TTM with a highly significant difference (median 2.8% versus 4.3%, respectively; $p = 0.001$) (Fig 8A). This difference is also observed in HIV-2 patients with a significant difference (median 2.1% versus 3.9%, respectively; $p = 0.005$). These differences followed the known CCR5 gradient between TCM and TTM with approximately one third of CXCR6+ TCM and TTM cells displaying CCR5.

As TRIM5 α expression among CD4 T-cells had never been examined to our knowledge by flow cytometry either in normal or in HIV-infected individuals, we first developed an intra-

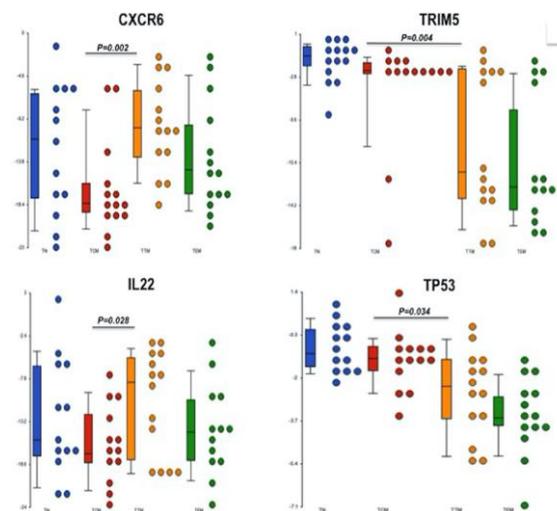


Fig 7. Transcriptomic analysis: A broad multiplex transcriptional profiling analysis of 96 genes was performed in monocytes (CD3-CD4-CD14+) and resting CD4 T-cells subsets: Naive (TN; CD45RA+CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-) from 14 HIV-2 infected subjects. The relative expression of CXCR6, TRIM5, IL22 and TP53 in resting CD4 T-cells subsets. A two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test was used to compare cell subsets frequencies, CXCR6, TRIM5, IL22 and TP53 expression within TCM and TTM.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g007>

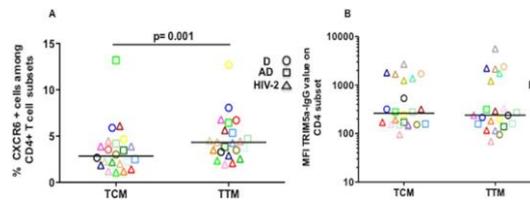


Fig 8. Flow-cytometry analysis of CXCR6 and TRIM5 α proteic expression in TCM and TTM CD4+ T cells Flow cytometry analysis of central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) and in transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) CD4+ T-cells subsets from 12 HIV-2 infected subjects (open triangle), 4 donors (D) (open dot) and 5 West-African donors (AD) (open squares) showing the **A**) Cell surface expression of CXCR6. **B**) Mean fluorescence intensity (MFI) of intra-cellular TRIM5 α after subtracting the secondary immunoglobulin MFI. Each symbol represents a subject and the medians are shown.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758.g008>

cellular indirect staining of TRIM5 α that showed a weak but highly reproducible expression on all CD4 T-cells and all subsets (S2 Fig). The mean fluorescence intensities were similar in CD4 T-cells from HIV-2 infected and D. We then focused on the comparison between TCM and TTM but found no significant differences in TRIM5 α expression between TTM and TCM cells, even after subtracting the secondary immunoglobulin MFI (median MFI = 239 and 263, respectively) (Fig 8B).

Discussion

Our study provides the first immunological characterization of the HIV-2 peripheral blood cell reservoirs in individuals infected by HIV-2 with a poorly productive HIV-2 infection and a slow or absent disease progression. This analysis, despite of limited samples size, clearly demonstrates that HIV-2 reservoirs have different characteristics from the HIV-1 reservoirs by a total lack of monocytic infection and a strong trend towards a predominance of the infection in TTM instead of TCM cells. This later point might reflect the differential expression of CXCR6 an alternative HIV-2 co-receptor, and of the restriction factor Trim5 α among those two CD4 memory cells subsets.

Overall, these HIV-2 infected individuals had low circulating HIV-2 DNA levels, quantifiable in only 5 of the 14 individuals tested. HIV-2 was reactivable *in vitro* in PBMCs from only 3 individuals samples but this weak *in vitro* growth was not related to the HIV-2 DNA burden. This low HIV-2 *in vitro* production did not reflect a bias in the assay we used. Indeed since the HIV-2 DNA amounts were low and the replication cycle of HIV-2 is longer than that of HIV-1, the assay was adapted by culturing for 30 days culture instead of the 6–14 days as for HIV-1 [47, 48, 50] and by adding allogeneic feeder cells to the strong T cell stimuli used for HIV-1 cultures. Our results confirm the known low productivity of HIV-2 but might reflect the individuals' characteristics, as 12 out of the 14 individuals were non-progressors and the two individuals with progressive disease requiring initiation of antiretroviral therapy had the same low level of HIV-2 reservoirs and limited *in vitro* reactivation for one tested individual. This suggests that pathogenicity might be independent from the HIV-2 growth in human PBMCs.

Two key points emerged when analyzing the distribution of HIV-2 DNA among the various mononuclear subsets. First, HIV-2 DNA was never detectable among individuals' monocytes, while several studies show that these cells are infected, although at low frequencies, by HIV-1 [47, 48, 50]. We cannot entirely exclude that such inability to detect HIV-2 DNA in monocytes might reflect the low-levels of HIV-2 reservoirs but this key point did not reflect a paucity of monocytes tested since we analyzed about 1 million monocytic cells per individual, an amount

that was far above the sorted CD4 T-cell numbers in which we detected HIV-2. This means that if monocytes were infected by HIV-2, it would be with a frequency lower than one in a few million cells. The lack of HIV-2 infection we detected *ex vivo* in individuals monocytes point had never been reported so far. It is surprising when considering that HIV-2 expresses vpx, a regulatory protein which counteracts the restriction factor SamHD1 at least when introduced within a pseudotyped virus [53]. However, it is in accordance with the lack of *in vitro* HIV-2 infection in cultured monocytes-derived dendritic cells [54]. Although we had no access to tissue samples and cannot extrapolate to macrophage infection, our results demonstrate that monocytes do not constitute a reservoir for HIV-2, which is purely concentrated among CD4 T lymphocytes at least in the peripheral blood. Furthermore, one of the intrinsic limitations of this study could be the limited amount of cells in some subsets, especially in TEMs that were rare in those non-progressors. However, in most cases the amount of DNA was sufficient to validate the assay.

The second major point is that the distribution of HIV-2 reservoirs among memory CD4 T cell subsets differ from the usual reservoir distribution observed in HIV-1 infection and suggest our working hypothesis of a limited reservoir in TCM is in line with what reported in the sooty-mangabey model of attenuated though productive SIV_{sm} infection [49], as well as, with our own group's description of a relative TCM subset protection in HIV-1 infected LTNPs bearing the protective HLA-B*27 or B*57 alleles [50] or in post-treatment HIV controllers [48]. Altogether these results suggest the relative protection of TCM cells might be an attribute of low pathogenicity models of the HIV/SIV infections.

Our mechanistic exploration first showed such atypical reservoir distribution was totally unrelated to the HLA alleles associated with HIV-1 non-progression, in line with the fact that no clear HLA alleles had been related to HIV-2 non-progression. These characteristics also did not reflect a particular distribution of CCR5, as reported in the sm model [49]. Indeed CCR5 expression followed here-in the same progressive gradient of expression among memory CD4 T-cells, with a slightly lower expression on TCM than on TTM, as observed during HIV-1 infection while the CCR5 expression normally increased on activated CD4 T-cells from HIV-2 infected individuals. We also excluded a possible role of Blimp-1 in TCM as reported in Elite Controllers since HIV-2 has no binding sites to this transcriptional repressor acting on HIV-1 [39, 55]. Instead the multiplex transcriptional exploration of a hundred genes including co-receptors, restriction factors or various ISGs clearly demonstrated that two molecular mechanisms might play a role in this preferential distribution of the HIV-2 cellular reservoir. First, a significantly lower expression of the CXCR6 gene in TCM than in TTM, which was confirmed at the protein level, might contribute to the peculiar HIV-2 distribution, as CXCR6 has been proposed as an alternative co-receptor for HIV-2 but not HIV-1 [33]. Indeed, several studies reported the use *in vitro* of a broader spectrum of alternative co-receptors by HIV-2 [33, 56, 57] with contradictory findings regarding the association between the use of these several possible alternative co-receptors and the HIV-2 pathogenicity. Furthermore, the CXCR6 usage has been recently shown to characterize non-pathogenic lentiviruses [34] and that the CXCR6 usage is abrogated by a proline at position 326 of the gp105 V3 loop. Interestingly, among the 259 HIV-2 gp105 sequences available from the ANRS-HIV-2 cohort, none of them displayed a proline at this position (C Charpentier and F Brun-Vezinet, personal communication). Thus, our data reinforce the findings that the CXCR6 expression may contribute, among other things, to the attenuation of HIV-2 infection. Second, a significantly higher expression of the TRIM5 α gene in TCM compared to TTM might also contribute to this distribution, although the transcripts differences in the HIV-2 infected individuals population and do not reach significance in controls and are not detectable at the proteic level. Indeed TRIM5 α acts as a potent restriction factor for SIV but not for HIV-1. Thanks to the close similarity between

SIVsm and HIV-2, all HIV-2 capsid sequences express high levels of susceptibility to hTRIM5 α [58], a property that might contribute in part to the lower replication in TCM compared to TTM. Altogether the CXCR6 characteristics and, though at a lesser level, the Trim5 α ones, might contribute to modify the susceptibility to infection of the various memory CD4 T-cell compartments to HIV-2 compared to HIV-1.

In conclusion, two series of attributes characterize the distribution of the HIV-2 reservoirs among peripheral blood mononuclear cells of non or slow-progressing HIV-2 infected individuals. First, the lack of HIV-2 infection in monocytes suggests that this SIV-derived virus is poorly adapted to the myeloid compartment. Second, the low HIV-2 infection of central-memory CD4 T-cells appears to reflect the cellular distribution of the CXCR6 co-receptor and of restriction factors proposed to act on HIV-2 but not on HIV-1, suggesting HIV-2 might also be less adapted to human central-memory CD4 T cells than to transitional-memory ones. Altogether our findings suggest this peculiar distribution of the HIV-2 reservoirs might be related to key host factors, thus shedding new light on the still poorly understood low pathogenicity of the HIV-2 infection.

Materials and methods

Ethics statement

This study was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki. The study was approved by the ethics committee (i.e., Comité de Protection des Personnes of Ile de France XI). All study participants were adults and provided written informed consent for the collection of samples and subsequent analyses.

Participants

Study was conducted in 14 HIV-2 infected individuals, 12 HIV negative donors and 8 HIV-1 infected LTNPs.

They were 14 participants of the ANRS IMMUNOVIR-2/RESERVOIR study (part of the French ANRS HIV-2 CO5 cohort) which included asymptomatic treatment-naive individuals infected with HIV-2 infection alone, divided in two groups non progressors ($n = 12$) (HIV-2 diagnosis since at least 8 years, with at least three CD4 cell count or pVL measures during the 5 last years, CD4 cell count $>500/\mu\text{l}$ since at least 5 years without a rapid decrease CD4 cell count slope (i.e. >50 cells/year) during the 3 last years) [51]; and progressors ($n = 2$) (with CD4 cell count $<350/\mu\text{l}$ or rapid CD4 cell count slope decrease (i.e. >50 cells/year) during the 3 last years or CD4 cell count $<500/\mu\text{l}$ for at least 36 months or CD4 cell count $<500/\mu\text{l}$ and HIV-2 pVL >100 copies/mL) (Table 1); and West-African donors (AD) ($n = 5$) (i.e. HIV-negative) served as controls were matched for geographic origin, sex and age.

As controls 8 HIV-1 infected LTNPs from the ANRS-CO15 ALT cohort [50, 59] were included with the following characteristics: 3/8 women, median age 40 [IQR: 37–44] years, infected since a median 11 [IQR: 10–13] years, with median CD4 cell counts of $809/\mu\text{l}$ [IQR: 707–905], pVL of 69 copies/ml [IQR: 49–96] and cell-associated total HIV-1 DNA of 19 copies [IQR: 13–63] / 10^6 PBMC. In addition 7 donors (D) from the French Blood Bank (Etablissement Français du Sang) were studied.

For all participants, PBMC were isolated by Ficoll density gradient and cryopreserved in liquid nitrogen until use.

Ultrasensitive HIV-2 plasma viral load (pVL) quantification

An ultrasensitive pVL method was used. The maximum volume of available plasma was centrifuged (23 600 g, 2H). After elimination of the supernatant, the pellet was resuspended in 1 mL of RPMI (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), then extracted with the MagNa Pure LC Total Nucleic Acid (Roche, Mannheim, Germany). The pVL was determined using the Generic HIV-2 viral load assay (Biocentric, Bandol, France) showing good sensitivity and accuracy to quantify HIV-2 A and B groups as previously described [60]. Thus, for example, if the initial total amount of plasma was 10 mL, the LOQ became 4 copies/mL.

HIV-2 viral group and tropism determinations

HIV-2 viral group and tropism were genotypically determined as previously described [61, 62].

Sorting of peripheral blood CD4+ cell subsets

Eighty millions cryopreserved PBMC were thawed with a viability above 80% and were depleted from CD8 cells using magnetic beads (Miltenyi, Biotec), and a mean of 42 millions CD8- cells per subject were sorted after staining with the following antibodies: anti-CD3-Pacific Blue, anti-CD4-AlexaFluor700, anti-CCR7-PE-Cyanine7, anti-CD27-APC, anti-CD69-FITC, anti-HLA-DR-FITC, anti-CD14-BV711 (BD-Bioscience, San-Jose, California, USA), anti-CD45RA-ECD, anti-CD25-FITC (Beckman-Coulter, Villepinte, France), Live-Dead blue (Thermo-Fisher, Scientific/Life-Technologies), Sorting was performed as described [47] on a 5 laser beams FACS Aria- (Becton-Dickinson) in a BSL3 (CyPS platform) in order to separate: CD3-CD4+CD14+ Monocytes, activated CD25+CD69+HLADR+ and resting CD25-CD69-HLADR- CD3+4+ T cells. Resting CD4+ T cells were sub-sorted in CD45RA+CCR7+CD27+ Naïve (TN), CD45RA-CCR7+CD27+ Central-memory (TCM), CD45RA-CCR7-CD27+ Transitional-memory (TTM) and CD45RA-CCR7-CD27- Effector-memory (TEM) T cells, with purity above 95%. The median number of cells collected per subject was: 1.36, 0.27, 1, 1.36, 0.61, 0.55 and 0.12 million cells for monocytes, activated CD4 T-cells, resting CD4 T-cells, TN; TCM; TTM and TEM respectively. From each sorted subset an aliquot of 5,000 to 50,000 cells was cryopreserved for transcriptome analysis and immediately frozen in dry pellet at -80°C. All remaining sorting cells were used for HIV-2 DNA quantification.

Quantification of HIV-2 total DNA

PBMC and dried pellets of each sorted fraction were stored at -80°C for HIV-2 DNA quantification. For PBMCs, total DNA was extracted from 3 to 5 million cells using the QIA-symphony DSP DNA mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, France). For the CD4+ cell subsets, total DNA was extracted using QIAamp DNA Mini kit (Qiagen) when cells counted more than 500 000 cells (n = 57) and QIAamp DNA Micro kit (Qiagen) when cells counted less than 500 000 cells (n = 41). To normalize HIV-2 DNA quantification, the amount of total DNA in extracts was determined by quantification of the albumin gene using the LightCycler FastStart DNA Master Hybprobe kit (Roche) and serial dilutions of Human Genomic DNA (Roche) as standard [63, 64]. HIV-2 DNA was quantified using a real-time PCR assay with a 95% limit of detection (LOD) of 3 copies/PCR and a limit of quantification LOQ of 6 copies/PCR, showing good sensitivity and accuracy to quantify HIV-2 groups A and B [65]. The number of copies of HIV-2 DNA/ μ g total DNA was calculated using the extract concentration and the final results were reported as the number of copies/ 10^6 cells. The formula used to convert these results was HIV-2 DNA copies/ μ g total DNA $1,000,000/150,000$ HIV-2 DNA copies/ 10^6 cells [66, 67].

When the HIV-2 DNA value was not quantifiable but a PCR signal was detectable, the results were arbitrarily assigned as an estimated value calculated as 50% of the HIV-2 DNA value, and expressed for one million cells, as done in other reservoir studies [48].

HIV-2 *in vitro* reactivation assay

An average of 5 millions viable CD8-depleted PBMC from available samples of 11 HIV-2 infected subjects was cultured for 30 days in 10% FCS-supplemented RPMI 1640 medium after stimulation at day (D) 0 with anti-CD3/anti-CD28 + IL-2 (Sigma) + human recombinant IL-7 (R&D Systems) using a modified protocol from [47] with addition of IL-15 (PeproTech) simultaneously to other cytokines and of 5 millions allogeneic feeder CD8-depleted PBMC from a donor at D13. An average 1.5 million cells were collected at D3, D7, D10, and D14 for phenotypic analysis. Culture supernatants were collected every three days for HIV-2 viral load quantification at all time-points as described below. The viral production capacity was measured by using ultrasensitive pVL as described above and expressed as the ratio between the levels of HIV-2 RNA copies in supernatants at day of culture and HIV-2 DNA quantified in the corresponding CD8-depleted cells at D0 of culture [50].

Flow cytometry analysis

A phenotypic analysis was performed during cell sorting. Additional phenotypic analyses of co-receptors and restriction factors were performed *ex vivo* on thawed PBMC from 7 HIV-2 infected individuals and donors either directly after thawing (D0) or after cell culture. The D0 cell surface staining was performed on thawed cells with: Fixable Viability-Stain-780, anti-CD3-BV510, -CD4-BUV395, -CD45RA-PE, -CCR7-PE-Cy7, -CD27-BUV737, -CD25-BV786, -HLA-DR-BV786, -CD69-BV786, -PD1-APC, -CXCR5-APC-R700, -CCR5-PE for expression on total CD4 cells or -CCR5-BV650 for expression on cell subsets (Becton-Dickinson). Cells were analyzed on a Fortessa flow cytometer (Becton-Dickinson) using the FACS DIVA version 6.1.3 software. The CD32, CXCR6 and TRIM5 α expression was additionally studied at D0 after staining with: Viability FSV620, anti-CD3-APC-H7, -CD4-BV510, -CD45-RA-FITC, -CD27-PE-Cy7, -CCR7-APC-R700, -PD1-BB700, -CXCR5-AF647, -CXCR6-BV421, -CD32-PE (Becton-Dickinson). An indirect intra-cellular staining of TRIM5 α was performed after permeabilization (CytoFix/CytoPerm, Becton-Dickinson). Briefly 1 million thawed cells were incubated on ice for 15 minutes with 5 μ l anti-TRIM5 α monoclonal antibody then washed twice and stained with the anti-IgG PE (both from Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) then washed and incubated with the viability life-Dead then with CCR7 prior to membrane labeling. Cells were fixed (BD Cellfix) and run on the Gallios 3 Laser flow-cytometer and analyzed using FowJo (version 10.4.1). Phenotypic analysis was also performed on cultured cells on D3, D7, D10 and D13 using the D0 antibody panel except for -CCR5-BV650 and run on the Fortessa flow cytometer.

Transcriptome analysis

Total RNA was extracted from each sorted TN, TCM, TTM, TEM and monocytes subset using a Mirvana kit (Life Technologies), treated with DNase I (Life Technologies) and checked for purity on a ND-1000 spectrophotometer (NanoDrop-Technologies, Wilmington, Delaware, USA) before reverse transcription and gene-specific pre-amplification were performed (18 cycles). The cDNAs were then preamplified (PreAmp Master Mix, Fluidigm, Les Ulis, France) treated with exonuclease I (New-England Biolabs, Evry, France) and added to 96 forward and reverse primers matching genes involved in different pathways specific for T cells (S2 Table). The sequences of the primer pair oligos were validated in-house [68] or provided by

DeltaGene (Fluidigm, South San Francisco, CA, USA) or Eurogentec (Eurogentec, Liège, Belgium) (S2 Table). Sample premix (Fast EvaGreen-Supremix; Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) and assay premix were prepared for 96.96 Fluidigm Dynamic arrays (Fluidigm, San Francisco, CA, USA). Two 96.96 Dynamic Array primed chips were then loaded and the pre-amplified prediluted cDNA samples. A real time-PCRs was run on a BioMark HD System for Genetic Analysis according to the Fluidigm Protocol. Invalid reactions, determined using the Real-time PCR-Analysis Software (Fluidigm), were treated as missing data. Data analysis of raw-Cq values were processed with Partek Genomics-Suite (Partek, Saint-Louis, Missouri, USA) as follows: *i*) principal-component analysis (PCA) was performed; *ii*) data normalization was completed by subtracting the value of the house-keeping gene RPS14 to the value of the target genes, *iii*) comparisons between TN, TCM, TTM and TEM subsets were done. The differentially expressed genes (DEGs) were identified by using the ANOVA program. Genes were considered differentially expressed if they met the following two criteria: a p-value of 0.05 and a ≥ 2 fold change.

Statistical analysis

A two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test was used to compare cell subsets frequencies, CXCR6, TRIM5, IL22 and TP53 expression within TCM and TTM. The Mann-Whitney test and the Mc Nemar test were used to compare CD4 cells subsets in the different groups of individuals. Correlations between variables were determined with Spearman's rank test. A p value lower than 0.05 was considered as significant. All values given in the text are medians and [IQR 25–75%]. Transcriptome was analyzed using Partek Genomics- Suite as above. Multivariate analysis allows analysis of all investigated genes. Multiple comparison correction was performed using a FDR of 0.05 [69].

Supporting information

S1 Fig. Expression of CCR5 on resting CD4+ T subsets: Naive (TN; CD45RA+CCR7+CD27+) central-memory (TCM; CD45RA-CCR7+CD27+) transitional memory (TTM; CD45RA-CCR7-CD27+) and effector-memory cells (TEM; CD45RA-CCR7-CD27-). Seven HIV-2 infected subjects (dot) were compared to 7 donors (D) (square). Each symbol represents a subject and the medians are shown.
(TIF)

S2 Fig. Histograms of TRIM5 α and IgG superimposed on total CD4 T-cells for HIV-2 infected subjects and donors (D)) and West-African donor (AD).
(TIF)

S1 Table. Description of number of cells assayed and of HIV-2 DNA copies in the different CD4 cell subsets.
(DOCX)

S2 Table. Primers used in transcriptomic studies.
(DOCX)

Acknowledgments

We would like to thank the members of the French HIV-2 cohort (ANRS CO5 HIV-2), which is supported by a grant from the ANRS ("France Recherche Nord & Sud Sida-HIV Hépatites") and sponsored by INSERM-ANRS.

We would like to thank the members of ANRS CO5 IMMUNOVI-2 Study Group: Victor Appay, Brigitte Autran, Françoise Brun-Vézinet, Nathalie Chaghil, Charlotte Charpentier, Rémi Cheynier, Diane Descamps, Anne Hosmalin, Gianfranco Pancino, Nicolas Manel, Lucie Marchand, Sophie Matheron, Fideline Collin, Livia Pedroza-Martins, Asier Sàez-Cirion, Assia Samri, Rodolphe Thiebaut, and Vincent Vieillard We wish to thank participants. We are grateful to Ioannis Theodorou, Sabine Canivet and Marie-Line Moussalli for HLA typing. We thank Bénédicte Charmeteau, Suzanne Figueredo and Stéphane Isnard for sample management. We particularly want to thank Catherine Blanc and Bénédicte Hoareau for their exceptional cell sorting capacities at the CyPS Flow Cytometry platform at Pitié-Salpêtrière hospital.

Author Contributions

Conceptualization: Anne Hosmalin, Rémi Cheynier, Rodolphe Thiébaud, Sophie Matheron, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Data curation: Rodolphe Thiébaud, Fideline Collin.

Formal analysis: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Rodolphe Thiébaud, Rima Zoorob, Brigitte Autran.

Funding acquisition: Anne Hosmalin, Sophie Matheron, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Investigation: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Mariama Sadjo Diallo, Mélanie Bertine, Sophie Even, Véronique Morin, Anne Oudin, Christophe Parizot, Gilles Collin, Rima Zoorob, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Project administration: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Mariama Sadjo Diallo, Mélanie Bertine, Sophie Even, Véronique Morin, Anne Oudin, Christophe Parizot, Gilles Collin, Fideline Collin, Rima Zoorob, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Resources: Rodolphe Thiébaud, Sophie Matheron, Fideline Collin.

Supervision: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Rima Zoorob, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Validation: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Rima Zoorob, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

Visualization: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Mélanie Bertine, Rima Zoorob, Brigitte Autran.

Writing – original draft: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Mariama Sadjo Diallo, Mélanie Bertine, Rima Zoorob, Brigitte Autran.

Writing – review & editing: Assia Samri, Charlotte Charpentier, Mariama Sadjo Diallo, Mélanie Bertine, Anne Hosmalin, Rémi Cheynier, Rodolphe Thiébaud, Sophie Matheron, Fideline Collin, Rima Zoorob, Françoise Brun-Vézinet, Brigitte Autran.

References

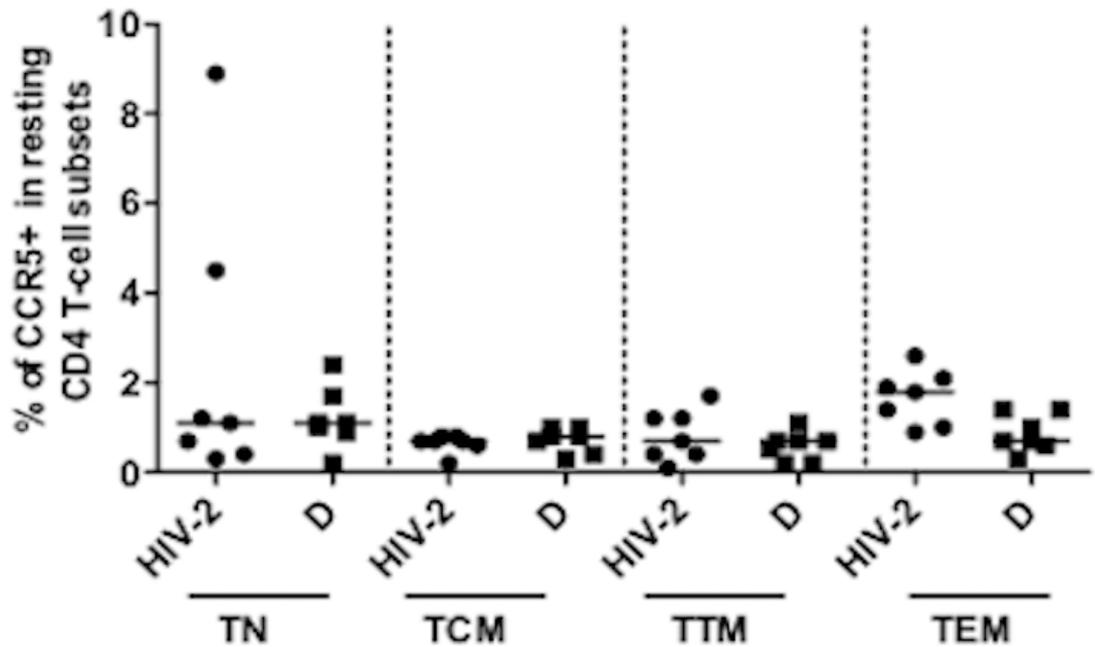
1. Andersson S, Norrgren H, da Silva Z, Biague A, Bamba S, Kwok S, et al. Plasma viral load in HIV-1 and HIV-2 singly and dually infected individuals in Guinea-Bissau, West Africa: significantly lower plasma virus set point in HIV-2 infection than in HIV-1 infection. *Arch Intern Med.* 2000; 160(21):3286–93. PMID: 11088091.
2. Berry N, Ariyoshi K, Jaffar S, Sabally S, Corrah T, Tedder R, et al. Low peripheral blood viral HIV-2 RNA in individuals with high CD4 percentage differentiates HIV-2 from HIV-1 infection. *J Hum Virol.* 1998; 1(7):457–68. PMID: 10195267.

3. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986; 233(4761):343–6. PMID: 2425430.
4. De Cock KM, Adjuorolo G, Ekpini E, Sibailly T, Kouadio J, Maran M, et al. Epidemiology and transmission of HIV-2. Why there is no HIV-2 pandemic. *JAMA*. 1993; 270(17):2083–6. PMID: 8147962.
5. Marlink R, Kanki P, Thior I, Travers K, Eisen G, Siby T, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*. 1994; 265(5178):1587–90. PMID: 7915856.
6. Matheron S, Pueyo S, Damond F, Simon F, Lepretre A, Campa P, et al. Factors associated with clinical progression in HIV-2 infected-patients: the French ANRS cohort. *AIDS*. 2003; 17(18):2593–601. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000096907.73209.b9> PMID: 14685053.
7. Popper SJ, Sarr AD, Travers KU, Gueye-Ndiaye A, Mboup S, Essex ME, et al. Lower human immunodeficiency virus (HIV) type 2 viral load reflects the difference in pathogenicity of HIV-1 and HIV-2. *J Infect Dis*. 1999; 180(4):1116–21. <https://doi.org/10.1086/315010> PMID: 10479138.
8. Simon F, Matheron S, Tamalet C, Loussert-Ajaka I, Bartczak S, Pepin JM, et al. Cellular and plasma viral load in patients infected with HIV-2. *AIDS*. 1993; 7(11):1411–7. PMID: 7904166.
9. van der Loeff MF, Awasana AA, Sarge-Njije R, van der Sande M, Jaye A, Sabally S, et al. Sixteen years of HIV surveillance in a West African research clinic reveals divergent epidemic trends of HIV-1 and HIV-2. *Int J Epidemiol*. 2006; 35(5):1322–8. <https://doi.org/10.1093/ije/dyl037> PMID: 16543363.
10. Drylewicz J, Matheron S, Lazaro E, Damond F, Bonnet F, Simon F, et al. Comparison of viro-immunological marker changes between HIV-1 and HIV-2-infected patients in France. *AIDS*. 2008; 22(4):457–68. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282f4ddfc> PMID: 18301058; PubMed Central PMCID: PMC2727618.
11. Gautier D, Beq S, Cortesao CS, Sousa AE, Cheynier R. Efficient thymopoiesis contributes to the maintenance of peripheral CD4 T cells during chronic human immunodeficiency virus type 2 infection. *J Virol*. 2007; 81(22):12685–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.01131-07> PMID: 17804512; PubMed Central PMCID: PMC2168967.
12. Schramm B, Penn ML, Palacios EH, Grant RM, Kirchhoff F, Goldsmith MA. Cytopathicity of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in human lymphoid tissue is coreceptor dependent and comparable to that of HIV-1. *J Virol*. 2000; 74(20):9594–600. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.20.9594-9600.2000> PMID: 11000231; PubMed Central PMCID: PMC112391.
13. Leligdowicz A, Feldmann J, Jaye A, Cotten M, Dong T, McMichael A, et al. Direct relationship between virus load and systemic immune activation in HIV-2 infection. *J Infect Dis*. 2010; 201(1):114–22. <https://doi.org/10.1086/648733> PMID: 19938978.
14. Sousa AE, Carneiro J, Meier-Schellersheim M, Grossman Z, Victorino RM. CD4 T cell depletion is linked directly to immune activation in the pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but only indirectly to the viral load. *J Immunol*. 2002; 169(6):3400–6. PMID: 12218162.
15. Visseaux B, Damond F, Matheron S, Descamps D, Charpentier C. HIV-2 molecular epidemiology. *Infect Genet Evol*. 2016; 46:233–40. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.010> PMID: 27530215.
16. Schim van der Loeff MF, Aaby P. Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2. *AIDS*. 1999; 13 Suppl A:S69–84. PMID: 10885765.
17. de Silva TI, Cotten M, Rowland-Jones SL. HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends Microbiol*. 2008; 16(12):588–95. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.003> PMID: 18964021.
18. Santiago ML, Range F, Keele BF, Li Y, Bailes E, Bibollet-Ruche F, et al. Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *J Virol*. 2005; 79(19):12515–27. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.19.12515-12527.2005> PMID: 16160179; PubMed Central PMCID: PMC1211554.
19. Alatrakchi N, Damond F, Matheron S, Beretta-Tempelhoff S, Campa P, Carcelain G, et al. Proliferative, IFN γ and IL-2-producing T-cell responses to HIV-2 in untreated HIV-2 infection. *AIDS*. 2006; 20(1):29–34. PMID: 16327316.
20. Angin M, Wong G, Papagno L, Versmisse P, David A, Bayard C, et al. Preservation of Lymphopoietic Potential and Virus Suppressive Capacity by CD8+ T Cells in HIV-2-Infected Controllers. *J Immunol*. 2016; 197(7):2787–95. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600693> PMID: 27566819.
21. Duvall MG, Jaye A, Dong T, Brenchley JM, Alabi AS, Jeffries DJ, et al. Maintenance of HIV-specific CD4+ T cell help distinguishes HIV-2 from HIV-1 infection. *J Immunol*. 2006; 176(11):6973–81. PMID: 16709858.
22. Foxall RB, Cortesao CS, Albuquerque AS, Soares RS, Victorino RM, Sousa AE. Gag-specific CD4+ T-cell frequency is inversely correlated with proviral load and directly correlated with immune activation in infection with human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) but not HIV-1. *J Virol*. 2008; 82(19):9795–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.01217-08> PMID: 18653457; PubMed Central PMCID: PMC2546953.

23. Leligdowicz A, Yindom LM, Onyango C, Sarge-Njie R, Alabi A, Cotten M, et al. Robust Gag-specific T cell responses characterize viremia control in HIV-2 infection. *J Clin Invest*. 2007; 117(10):3067–74. <https://doi.org/10.1172/JCI32380> PMID: 17823657; PubMed Central PMCID: PMC1964515.
24. Nuvor SV, van der Sande M, Rowland-Jones S, Whittle H, Jaye A. Natural killer cell function is well preserved in asymptomatic human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection but similar to that of HIV-1 infection when CD4 T-cell counts fall. *J Virol*. 2006; 80(5):2529–38. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2529-2538.2006> PMID: 16474159; PubMed Central PMCID: PMC1395408.
25. Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, et al. The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell*. 1996; 85(7):1135–48. PMID: 8674119.
26. Doranz BJ, Rucker J, Yi Y, Smyth RJ, Samson M, Peiper SC, et al. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell*. 1996; 85(7):1149–58. PMID: 8674120.
27. McKnight A, Clapham PR, Weiss RA. HIV-2 and SIV infection of nonprimate cell lines expressing human CD4: restrictions to replication at distinct stages. *Virology*. 1994; 201(1):8–18. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1260> PMID: 8178492.
28. Choe H, Farzan M, Konkel M, Martin K, Sun Y, Marcon L, et al. The orphan seven-transmembrane receptor apj supports the entry of primary T-cell-line-tropic and dualtropic human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*. 1998; 72(7):6113–8. PMID: 9621075; PubMed Central PMCID: PMC110417.
29. Combadiere C, Salzwedel K, Smith ED, Tiffany HL, Berger EA, Murphy PM. Identification of CX3CR1. A chemotactic receptor for the human CX3C chemokine fractalkine and a fusion coreceptor for HIV-1. *J Biol Chem*. 1998; 273(37):23799–804. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.37.23799> PMID: 9726990.
30. Farzan M, Choe H, Martin K, Marcon L, Hofmann W, Karlsson G, et al. Two orphan seven-transmembrane segment receptors which are expressed in CD4-positive cells support simian immunodeficiency virus infection. *J Exp Med*. 1997; 186(3):405–11. <https://doi.org/10.1084/jem.186.3.405> PMID: 9236192; PubMed Central PMCID: PMC2198994.
31. Liao F, Alkhatib G, Peden KW, Sharma G, Berger EA, Farber JM. STRL33, A novel chemokine receptor-like protein, functions as a fusion cofactor for both macrophage-tropic and T cell line-tropic HIV-1. *J Exp Med*. 1997; 185(11):2015–23. <https://doi.org/10.1084/jem.185.11.2015> PMID: 9166430; PubMed Central PMCID: PMC2196334.
32. Shimizu N, Soda Y, Kanbe K, Liu HY, Mukai R, Kitamura T, et al. A putative G protein-coupled receptor, RDC1, is a novel coreceptor for human and simian immunodeficiency viruses. *J Virol*. 2000; 74(2):619–26. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.2.619-626.2000> PMID: 10623723; PubMed Central PMCID: PMC111581.
33. Blaak H, Boers PH, Gruters RA, Schuitemaker H, van der Ende ME, Osterhaus AD. CCR5, GPR15, and CXCR6 are major coreceptors of human immunodeficiency virus type 2 variants isolated from individuals with and without plasma viremia. *J Virol*. 2005; 79(3):1686–700. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.3.1686-1700.2005> PMID: 15650194; PubMed Central PMCID: PMC544080.
34. Wetzel KS, Yi Y, Yadav A, Bauer AM, Bello EA, Romero DC, et al. Loss of CXCR6 coreceptor usage characterizes pathogenic lentiviruses. *PLoS Pathog*. 2018; 14(4):e1007003. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007003> PMID: 29659623; PubMed Central PMCID: PMC5919676.
35. Laguette N, Rahm N, Sobhian B, Chable-Bessia C, Munch J, Snoeck J, et al. Evolutionary and functional analyses of the interaction between the myeloid restriction factor SAMHD1 and the lentiviral Vpx protein. *Cell Host Microbe*. 2012; 11(2):205–17. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.01.007> PMID: 22305291; PubMed Central PMCID: PMC3595996.
36. Hatziioannou T, Perez-Caballero D, Yang A, Cowan S, Bieniasz PD. Retrovirus resistance factors Ref1 and Lv1 are species-specific variants of TRIM5alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(29):10774–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402361101> PMID: 15249685; PubMed Central PMCID: PMC490010.
37. Strelau M, Owens CM, Perron MJ, Kiessling M, Autissier P, Sodroski J. The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature*. 2004; 427(6977):848–53. <https://doi.org/10.1038/nature02343> PMID: 14985764.
38. Zhang HL, Liu FL, Jin YB, Deng Q, Liu BL, Zhuo M, et al. The effects of TRIM5alpha polymorphism on HIV-2ROD and SIVmac239 replication in PBMCs from Chinese rhesus macaques and Vietnamese-origin cynomolgus macaques. *Virology*. 2016; 487:222–9. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.10.018> PMID: 26550946.
39. de Masson A, Kirilovsky A, Zoorob R, Avettand-Fenoel V, Morin V, Oudin A, et al. Blimp-1 overexpression is associated with low HIV-1 reservoir and transcription levels in central memory CD4+ T cells from elite controllers. *AIDS*. 2014; 28(11):1567–77. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000295> PMID: 24804861.
40. Berry N, Ariyoshi K, Jobe O, Ngum PT, Corrah T, Wilkins A, et al. HIV type 2 proviral load measured by quantitative polymerase chain reaction correlates with CD4+ lymphopenia in HIV type 2-infected

- individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1994; 10(8):1031–7. <https://doi.org/10.1089/aid.1994.10.1031> PMID: 7811534.
41. Gomes P, Taveira NC, Pereira JM, Antunes F, Ferreira MO, Lourenco MH. Quantitation of human immunodeficiency virus type 2 DNA in peripheral blood mononuclear cells by using a quantitative-competitive PCR assay. *J Clin Microbiol*. 1999; 37(2):453–6. PMID: 9889242; PubMed Central PMCID: PMC84340.
 42. Popper SJ, Sarr AD, Gueye-Ndiaye A, Mboup S, Essex ME, Kanki PJ. Low plasma human immunodeficiency virus type 2 viral load is independent of proviral load: low virus production in vivo. *J Virol*. 2000; 74(3):1554–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.3.1554-1557.2000> PMID: 10627569; PubMed Central PMCID: PMC111493.
 43. Soares R, Foxall R, Albuquerque A, Cortesao C, Garcia M, Victorino RM, et al. Increased frequency of circulating CCR5+ CD4+ T cells in human immunodeficiency virus type 2 infection. *J Virol*. 2006; 80(24):12425–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.01557-06> PMID: 17035326; PubMed Central PMCID: PMC1676275.
 44. Cavaleiro R, Baptista AP, Soares RS, Tendeiro R, Foxall RB, Gomes P, et al. Major depletion of plasmacytoid dendritic cells in HIV-2 infection, an attenuated form of HIV disease. *PLoS Pathog*. 2009; 5(11):e1000667. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000667> PMID: 19936055; PubMed Central PMCID: PMC2773933.
 45. Buzon MJ, Martin-Gayo E, Pereyra F, Ouyang Z, Sun H, Li JZ, et al. Long-term antiretroviral treatment initiated at primary HIV-1 infection affects the size, composition, and decay kinetics of the reservoir of HIV-1-infected CD4 T cells. *J Virol*. 2014; 88(17):10056–65. <https://doi.org/10.1128/JVI.01046-14> PMID: 24965451; PubMed Central PMCID: PMC4136362.
 46. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, Trautmann L, Procopio FA, Yassine-Diab B, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med*. 2009; 15(8):893–900. <https://doi.org/10.1038/nm.1972> PMID: 19543283; PubMed Central PMCID: PMC2859814.
 47. Bacchus C, Cheret A, Avettand-Fenoel V, Nembot G, Melard A, Blanc C, et al. A single HIV-1 cluster and a skewed immune homeostasis drive the early spread of HIV among resting CD4+ cell subsets within one month post-infection. *PLoS One*. 2013; 8(5):e64219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064219> PMID: 23691172; PubMed Central PMCID: PMC3653877.
 48. Saez-Cirion A, Bacchus C, Hocqueloux L, Avettand-Fenoel V, Girault I, Lecuroux C, et al. Post-treatment HIV-1 controllers with a long-term virological remission after the interruption of early initiated antiretroviral therapy ANRS VISCONTI Study. *PLoS Pathog*. 2013; 9(3):e1003211. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003211> PMID: 23516360; PubMed Central PMCID: PMC3597518.
 49. Paiardini M, Cervasi B, Reyes-Aviles E, Micci L, Ortiz AM, Chahroudi A, et al. Low levels of SIV infection in sooty mangabey central memory CD(4)(+) T cells are associated with limited CCR5 expression. *Nat Med*. 2011; 17(7):830–6. <https://doi.org/10.1038/nm.2395> PMID: 21706028; PubMed Central PMCID: PMC3253129.
 50. Descours B, Avettand-Fenoel V, Blanc C, Samri A, Melard A, Supervie V, et al. Immune responses driven by protective human leukocyte antigen alleles from long-term nonprogressors are associated with low HIV reservoir in central memory CD4 T cells. *Clin Infect Dis*. 2012; 54(10):1495–503. <https://doi.org/10.1093/cid/cis188> PMID: 22441653.
 51. Thiebaut R, Matheron S, Taieb A, Brun-Vezinet F, Chene G, Autran B, et al. Long-term nonprogressors and elite controllers in the ANRS CO5 HIV-2 cohort. *AIDS*. 2011; 25(6):865–7. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328344892e> PMID: 21358376.
 52. Lucar O, Sadjó Diallo M, Bayard C, Samri A, Tarantino N, Debre P, et al. B7-H6-mediated down-regulation of Nkp30 in natural killer cells contributes to HIV-2 immune escape. *AIDS*. 2018. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002061> PMID: 30325780.
 53. Laguette N, Sobhian B, Casartelli N, Ringard M, Chable-Bessia C, Segéral E, et al. SAMHD1 is the dendritic- and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx. *Nature*. 2011; 474(7353):654–7. <https://doi.org/10.1038/nature10117> PMID: 21613998; PubMed Central PMCID: PMC3595993.
 54. Chauveau L, Puigdomenech I, Ayinde D, Roesch F, Porrot F, Bruni D, et al. HIV-2 infects resting CD4+ T cells but not monocyte-derived dendritic cells. *Retrovirology*. 2015; 12:2. <https://doi.org/10.1186/s12977-014-0131-7> PMID: 25582927; PubMed Central PMCID: PMC4307230.
 55. Kaczmarek Michaels K, Natarajan M, Euler Z, Alter G, Viglianti G, Henderson AJ. Blimp-1, an intrinsic factor that represses HIV-1 proviral transcription in memory CD4+ T cells. *J Immunol*. 2015; 194(7):3267–74. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402581> PMID: 25710909; PubMed Central PMCID: PMC4369419.
 56. Heredia A, Vallejo A, Soriano V, Gutierrez M, Puente S, Epstein JS, et al. Evidence of HIV-2 infection in Equatorial Guinea (central Africa): partial genetic analysis of a B subtype virus. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1997; 13(5):439–40. <https://doi.org/10.1089/aid.1997.13.439> PMID: 9075486.

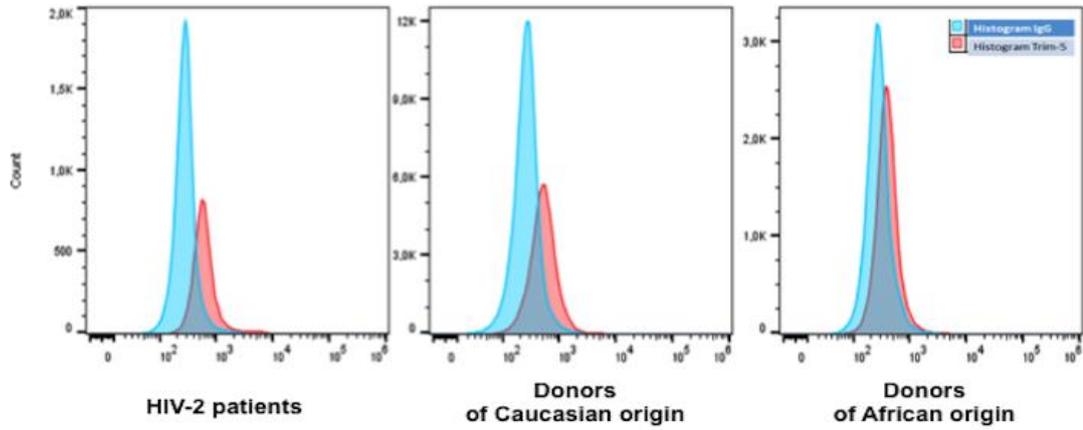
57. Owen SM, Ellenberger D, Rayfield M, Wiktor S, Michel P, Grieco MH, et al. Genetically divergent strains of human immunodeficiency virus type 2 use multiple coreceptors for viral entry. *J Virol*. 1998; 72(7):5425–32. PMID: [9620997](#); PubMed Central PMCID: [PMC110175](#).
58. Takeuchi JS, Perche B, Migraine J, Mercier-Delarue S, Ponscarne D, Simon F, et al. High level of susceptibility to human TRIM5alpha conferred by HIV-2 capsid sequences. *Retrovirology*. 2013; 10:50. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-50> PMID: [23647667](#); PubMed Central PMCID: [PMC3691696](#).
59. Candotti D, Costagliola D, Joberty C, Bonduelle O, Rouzioux C, Autran B, et al. Status of long-term asymptomatic HIV-1 infection correlates with viral load but not with virus replication properties and cell tropism. French ALT Study Group. *J Med Virol*. 1999; 58(3):256–63. PMID: [10447421](#).
60. Avettand-Fenoel V, Damond F, Gueudin M, Matheron S, Melard A, Collin G, et al. New sensitive one-step real-time duplex PCR method for group A and B HIV-2 RNA load. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(8):3017–22. <https://doi.org/10.1128/JCM.00724-14> PMID: [24920771](#); PubMed Central PMCID: [PMC4136173](#).
61. Charpentier C, Eholie S, Anglaret X, Bertine M, Rouzioux C, Avettand-Fenoel V, et al. Genotypic resistance profiles of HIV-2-treated patients in West Africa. *AIDS*. 2014; 28(8):1161–9. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000244> PMID: [24583671](#); PubMed Central PMCID: [PMC4112041](#).
62. Visseaux B, Hurtado-Nedelec M, Charpentier C, Collin G, Storto A, Matheron S, et al. Molecular determinants of HIV-2 R5-X4 tropism in the V3 loop: development of a new genotypic tool. *J Infect Dis*. 2012; 205(1):111–20. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir698> PMID: [22140264](#).
63. Dehee A, Asselot C, Piolot T, Jacomet C, Rozenbaum W, Vidaud M, et al. Quantification of Epstein-Barr virus load in peripheral blood of human immunodeficiency virus-infected patients using real-time PCR. *J Med Virol*. 2001; 65(3):543–52. PMID: [11596092](#).
64. Laurendeau I, Bahuau M, Vodovar N, Larramendy C, Olivi M, Bieche I, et al. TaqMan PCR-based gene dosage assay for predictive testing in individuals from a cancer family with INK4 locus haploinsufficiency. *Clin Chem*. 1999; 45(7):982–6. PMID: [10388473](#).
65. Bertine M, Gueudin M, Melard A, Damond F, Descamps D, Matheron S, et al. New Highly Sensitive Real-Time PCR Assay for HIV-2 Group A and Group B DNA Quantification. *J Clin Microbiol*. 2017; 55(9):2850–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00755-17> PMID: [28701422](#); PubMed Central PMCID: [PMC5648720](#).
66. Avettand-Fenoel V, Chaix ML, Blanche S, Burgard M, Floch C, Toure K, et al. LTR real-time PCR for HIV-1 DNA quantitation in blood cells for early diagnosis in infants born to seropositive mothers treated in HAART area (ANRS CO 01). *J Med Virol*. 2009; 81(2):217–23. <https://doi.org/10.1002/jmv.21390> PMID: [19107966](#).
67. Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, et al. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature*. 1996; 380(6570):152–4. <https://doi.org/10.1038/380152a0> PMID: [8600387](#).
68. Griesbeck M, Valantin MA, Lacombe K, Samri-Hassimi A, Bottero J, Blanc C, et al. Hepatitis C virus drives increased type I interferon-associated impairments associated with fibrosis severity in antiretroviral treatment-treated HIV-1-hepatitis C virus-coinfected individuals. *AIDS*. 2017; 31(9):1223–34. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001455> PMID: [28492391](#).
69. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 1995; 57:289–300.



S1 Fig

Expression of CCR5 on resting CD4⁺ T subsets: Naive (TN; CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺) central-memory (TCM; CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺) transitional memory (TTM; CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺) and effector-memory cells (TEM; CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻).

Seven HIV-2 infected subjects (dot) were compared to 7 donors (D) (square). Each symbol represents a subject and the medians are shown.



S2 Fig

Histograms of TRIM5 α and IgG superimposed on total CD4 T-cells for HIV-2 infected subjects and donors (D)) and West-African donor (AD).

S1 table : Description of number of cells assayed and of HIV-2 DNA copies in the different CD4 cell subsets.

* DNA quantity < 200 ng/PCR ; cp : copies

Participants	T naïve		T central memory		T transitional memory		T effector memory		Resting CD4 cells		Activated CD4 cells		Monocytes	
	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)	Number of cells (/PCR)	HIV-2 DNA (cp/PCR)
1	41100	No signal	124800	7	81000	0.5	38700	0.5	102000	6	3000*	0.5	178800	No signal
2	204000	No signal	61500	1	39000	7	24900*	1	136800	1	68100	4	114900	No signal
3	18600*	No signal	46500	3	56700	10	3000*	0.5	72600	4	18000*	2	37800	No signal
4	32100	No signal	56700	5	53700	2	21600*	No signal	47100	0.5	30000	No signal	357000	No signal
5	25500*	No signal	39000	2	33900	1	11400*	0.5	37200	0.5	24000	No signal	81600	No signal
6	110100	0.5	81000	1	49500	1	23400*	No signal	41400	0.5	54300	No signal	156300	No signal
7	74700	No signal	95100	0.5	86700	1	17700*	0.5	150000	0.5	24000*	0.5	150000	No signal
8	76200	0.5	57000	2	88200	7	18300*	0.5	96900	1	45300	0.5	89700	No signal
9	26100*	No signal	27300	0.5	63000	1	12900*	0.5	70800	1	42000	1	24900*	No signal
10	103500	No signal	56400	1	38400	1	6900*	No signal	6000*	No signal	87600	0.5	23400*	No signal
11	69600	No signal	41100	0.5	56100	1	17700*	0.5	101100	0.5	39300	0.5	84600	No signal
12	22800*	0.5	57600	1	44100	4	29700	0.5	96000	4	18600*	0.5	176700	No signal
13	111000	No signal	39300	No signal	34500	No signal	15000*	No signal	91200	No signal	32400	No signal	133200	No signal
14	19800*	No signal	71700	3	67200	100	5100*	0.5	48600	2	19200	0.5	110400	No signal
Median	55350		56850		54900		17700		81900		31200		112650	
IQR 25%	25650		42450		40275		11775		47475		20400		82350	
IQR 75%	96675		60525		61425		20775		96675		44475		145800	

The limit of quantification (LOQ) of the HIV-2 DNA assay is 6 copies/PCR; The limit of detection (LOD) of the HIV-2 DNA assay is 3 copies/PCR; A PCR signal can be detected below the LOD

Pt : patient; cp : copies

S2 Table : Primers used in transcriptomic studies

Target	Forward Primer	Reverse Primer	Design RefSeq
APLNR	ACACGTACCGGGACTATGAC	CTGGCGTACATGTTGACGAA	NM_005161.N
APOBC3G	CGCAGCCTGTGTCAGAAAA	TTGCTCCAACAGTGCTGAAA	NM_021822.3
BCL11B	CAACCCGCAGCACTTGTC	CCTCGTCTTCTTCGAGGATGG	NM_138576.2
BCL6	GATGGAGCATGTTGTGGACAC	AGGAGGCTTGATGGCAGAAA	NM_001706.4
BRD4	AGCTGGAGCGCTATGTCAC	GAGCCGGCAATCACATCAAC	NM_058243.2
BST2	AGAGAAGGCCCAAGGACAAA	AGACGCGTCCTGAAGCTTA	NM_004335.2
CCL3	ATGGCTCTCTGCAACCAGTT	CCGGGAGGTGTAGCTGAAG	NM_002983.2
CCL4	ACTATGAGACCAGCAGCCTCT	TCAGCACAGACTTGCTTGCT	NM_002984.3
CCL5	CCCTCGCTGTATCCTCA	GGGCAATGTAGGCAAAGCA	NM_002985.2
CCR1	ACGGACAAAGTCCCTTGAA	TCTGTGGTCGTGCATAGTCC	NM_001295.N
CCR5	TGAGACATCCGTTCCCTACA	TGGCAGGGCTCCGATGTATA	NM_001100168.1
CCR8	GCAACACTGAAACCTCCAGAAC	ACTGTTGTCACACTGAGGTCAA	NM_005201.N
CD274	GGAGATTAGATCCTGAGGAAAACCA	TGGAGGATGTGCCAGAGGTA	NM_014143.3
CDKN1A /p21	TGGAGACTCTCAGGTCGAAAA	CGGCGTTTGGAGTGGTAGAA	NM_078467.1
CX3CR1	GTTGGTAGTGTTCGCCCTCAC	GGCCAGGTTCCAGGAGTAAA	NM_001171171.N
CXCL10 /IP10	GCTGTACCTGCATCAGCATT	CTGGATTGACATCTCTTCTCAC	NM_01565.2
CXCR4	ATCTTCTGCCCACCATCTAC	CCCATGACCAGGATGACCAA	NM_003467.2
CXCR5	ATCTTCTTCTCTGCTGGTCAC	GGTATTGTCCACGGCCTTCA	NM_001716.N
CXCR6	TCTCTGGAACAAACTGGCAAA	CTGGCTGCTGTCATTGAAAC	NM_006564.N
DAP12	ACCCGGAAACAGCGTATCA	TTGAGGTCGCTGTAGACATCC	NM_001173514.1
DAXX	ATCTCGGAAGGAGAAGAAGCA	CACTGACCTTTGCCTTTCCA	NM_001141969.N
DDX3	AGCTTCTTCAGTGATCGTGAA	TGCCAATGCCATCGTAATCAC	NM_001193417.1
DDX58	GACTGGACGTGGCAAACA	CTCCACTGGCTTTGAATGCA	NM_014314.3
DNMT1	GCCATTGGCTTGAGATCA	AGCAGCTTCTCCTCTTTA	NM_001379.2
DNMT3B	GTGAAGCACGAGGGGAATATCA	TTCCGCCAATCACCAGTCA	NM_006892.3
FOXO3	CGCTCTCTCCGCTCGAA	TTTGACAGGGGCCACGTA	NM_001455.3
GAG-Virus2	GCGGAGAACTCCGTCTTG	TTCGCTGCCACACAATATGTT	
GAPDH	ACACCATGGGGAAGGTGAAG	GTGACCAGGCGCCAATA	NM_002046.3
GPR1	AAGGTACACCCAGGCATGAC	ACCTTGCTAAATGGAGAATGAAGAA	NM_001261453.N
GPR15	GTGCAAAGGGAGCTCCTACA	TAGCGGTCAACACTCATGCA	NM_005290.N
HAVCR2	GGATCCAAATCCCAGGCATAA	CTTGAAAGGCTGCAGTGAA	NM_032782.3
HIF1A	CAGTCGACACAGCCTGGATA	TTCTTCTGGCTCATATCCATCAA	NM_001530.3
IFI16	GTGAATGGGGTGTGGAGGTAC	CACCACTTCCATCTTCCCTGTA	NM_005531.2
IFI27	TTGTGGCTACTCTGCAGTCA	CCCAGGATGAACTTGGTCAA	NM_005532.3
IFI44	GGCTTTGGTGGGCACTAATA	TGCCATCTTCCCGTCTCTA	NM_006417.4

IFI6	TGCTACCTGCTGCTCTTCA	TCAGGGCCTTCCAGAACC	NM_002038.3
IFIT2	AGAGTGCAGCTGCCTGAA	GTAGGCTGCTCTCCAAGGAA	NM_001547.4
IFIT3	ACTGGCAATTGCGATGTACC	GCTCAATGGCCTGCTTCAAA	NM_001549.4
IFITM1	ACACCCTCTTCTTGAAGTGGT	CCAACCATCTTCTGTCCCTA	NM_003641.3
IFITM2	ACTGAGAACCATCCCGGTAAC	CCGCTGTTGACAGGAGAGAA	NM_006435.2
IFNA2	TCTCCTGCTTGAAGGACAGAC	GGAAGTGGTTGCCAAACTCC	NM_000605.3
IFNAR1	AGTGACGCTGTATGTGAGAAAA	ACGGGAGAGCAAATAATGCA	NM_000629.2
IFNG	ACTGCCAGGACCCATATGTAA	GTTCCATTATCCGCTACATCTGAA	NM_000619.2
IL17A	ACTACAACCGATCCACCTCAC	ACTTTGCCTCCCAGATCACA	NM_002190.2
IL17F	CGCGTTTCCATGTCACGTA	CTGTACAACCTCCGAGGGGTA	NM_052872.3
IL2	ACCCAGGGACTTAATCAGCAA	GCATATTCACACATGAATGTTGTTTCA	NM_000586.3
IL22	TATACCAACCGCACCTTCA	GTTTCTCCCCAATGAGACGAAC	NM_020525.4
IL6	AGAGCTGTGCAGATGAGTACAA	GTTGGGTCAGGGGTGGTTA	NM_000600.3
IL7R	GGAGAAAGTGGCTATGCTCAA	CTGCGATCCATTCACTTCCA	NM_002185.2
ILT7	ACACAACGTCTCCTCCGAGT	TGTCCTGCGATCAGGATGT	NM_012276.3
IRF1	AACAAGGATGCCTGTTTGTTC	TGGGATCTGGCTCCTTTTCC	NM_002198.2
IRF2	TGGCTGGAGGAGCAGATAAA	ATGCATCCAGGGGATCTGAA	NM_002199.3
IRF3	CCAGCCAGACACCTCTCC	TGGGGCCAACACCATGTTA	NM_001197122.1
IRF4	CTACAACCGCGAGGAGGAC	TGTCGATGCCTTCTCGGAAC	NM_002460.3
IRF5	AGATCTACGAGGTCTGCTCCAA	CCTCTCCTGCACCAAAGAGTA	NM_002200.3
IRF7	GGCAGAGCCGTACCTGTCA	ACCGTGCGGCCCTTGTA	NM_004031.2
IRF8	TGGTCCAGGTCTTCGACAC	CGGCCCTGGCTGTTATAGAA	NM_002163.2
IRF9	TGCTCCAGGACTCCCTCAA	TGCTGCTCCCAATGTCTGAA	NM_006084.4
ISG15	CTGAGAGGCAGCGAACTCA	GCTCAGGGACACCTGGAA	NM_005101.3
JUNB	TGGCCCAGCTCAAACAGAA	AGAAGGCGTGTCCCTTGAC	NM_002229.2
LCK	ACCCACTGGTTACCTACGAA	TAGCTGTGCAGAGCGATAAC	NM_001042771.1
LTR-17	TAGTCGCCGCCTGGT	TTCCTGCCGCCCTTACT	
MB21D1	CTGAACACCGGGAGCTACTA	CTAGTTGAATTCTGGGGACTTCC	NM_138441.N
MDA-5	GGTCTGGGGCATGGAGAATAA	CTGACACTTCCTTCTGCCAAAC	NM_022168.2
MDM1	CCATGGGGCTGGACTTAGATCA	ATCTGTGGGTCATGGTAAGGG	NM_017440.4
MDM2	ACAGATTCCAGCTTCGGAAC	GCACCAACAGACTTTAATAACTTCA	NM_006881.3
mTOR	CCAAACCCAGGTGTGATCAA	TCCTCATTTCCAGGCCACTA	NM_004958.3
MX1	ATGCTACTGTGGCCCAGAAA	GGCGCACCTTCTCCTCATA	NM_001144925.1
MX2	CGACTGGCAGAAAGACTTACC	CTTCTGGTGGCTCTCCCTTA	NM_002463.1
NF-KB1	CTGGAACCACGCTCTAGATA	AAACTCTGGCTCATATGGTTTCC	NM_003998.3
OAS3 New	GGATGGATGTTAGCCtggtg	CCTGACCCAGGACATTGAAG	NM_006187.2
OASL	ACCATTGTGCCTGCCTACA	GGCCTTGATCAGGCTCACATA	NM_003733.3
PDCD1/PD1	CCCCAAGGCGCAGATCAA	CCAACCACCAGGGTTTGAA	NM_005018.2

PIK3R1	CGAGTGGTTGGGCAATGAAAA	GTTGCTGCTTCCAACATTCCA	NM_181504.2
PRDM1	CCTGGTACACACGGGAGAAAA	TTGAGATTGCTGGTGCTGCTA	NM_001198.3
PRKRA	TGACCCTTCCAAGCAACCAA	TCTCCAGCCATGATGAATAGCC	NM_001316362.N
RDC1	GTCCCAACATGCCCAACAAA	GCAATCATGCCGATGACGAA	FLDM-078867.1
RORg	CAAGACTCATCGCCAAAGCA	TTTCCACATGCTGGCTACAC	NM_001001523.1
RPS14	GCCCGCTCGGGTATGAA	TTCCTGCGAGTGCTGTCA	NM_001025071.1
SAMHD1	CCCGTGTCTGTGAAGTAGACAA	TGCGAGTGTGGAACATGTCA	NM_015474.3
Scr	AGGAGCCCATTACATCGTCAC	GCAGGTACTIONGCCTGTCTCC	NM_005417.3
SERINC3	TCCCTCATCACCTCTACACTA	TCAGGTTGGGATTGCAGGAA	NM_006811.N
SERINC5	ATACTGGGGACCAGCCTCTTA	CCCTGCAGAGCGTCAGAA	NM_001174072.N
SOCS1	CATCCGCGTGCACTTTCA	GCTCGAAGAGGCAGTCGAA	NM_003745.1
STAT1	TACCTGGCACAGTGGTTAGAA	TGAAAACGGATGGTGGCAAA	NM_007315.3
STAT3	GGAAATAATGGTGAAGGTGCTGAAC	CCGAGGTCAACTCCATGTCAAA	NM_003150.3
STAT5	CCCAGGCTCCCTATAACATGTA	ATGGTCTCATCCAGGTCGAA	NM_003152.3
TBX21	GGGCGTCCAACAATGTGAC	CCGTCGTTACCTCAACGATA	NM_013351.1
TIGIT	GTGGTGGTCGCGTTGACTA	TCCTGTCCAGCTGATTTTCTCC	NM_173799.3
TLR7	TCTTCAACCAGACCTCTACATTCC	AGCCCCAAGGAGTTTGGAAA	NM_016562.3
TLR9 New	CCCCAGCATGGGTTTCTG	GAGAGACAGCGGGTGCAG	NM_017442.2
TNF	TGTAGCAAACCCTCAAGCTG	ATTGGCCAGGAGGGCATT	NM_000594.2
TP53	TGAATGAGGCCTTGGAACTCA	TCAGGCCCTTCTGTCTTGAA	NM_000546.4
TREX1	ACCATCTGCTGTCACAACCA	TCTCTCCAAGGCTGGGACTA	NM_033629.3
TRIM22	CTCCCCTGATTCAAGACTCC	GCAGGTCACCTCCTTCTCTA	NM_006074.4
TRIM5	AGAAGCAGCAGGAAGCTGAA	GCCAAGACGTTGGTTTTGTCA	NM_033092.2

Article n°2

B7-H6-mediated downregulation of NKp30 in natural killer cells contributes to HIV-2 immune escape

Olivier Lucar^a, Mariama Sadjó Diallo^a, Charles Bayard^a, Assia Samri^a, Nadine Tarantino^a, Patrice Debré^a, Rodolphe Thiébaud^b, Françoise Brun-Vézinet^c, Sophie Matheron^d, Rémi Cheyniere,^{f,g} Vincent Vieillard^a, for the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study group

^aSorbonne Université, UPMC Université Paris 06, INSERM U1135, CNRS ERL8255, Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (CIMI-Paris), Paris, ^bINSERM U1219 Bordeaux Population Health, University Bordeaux, Bordeaux, ^cAP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Laboratoire de Virologie, Université Paris 7, ^dINSERM, IAME, UMR 1137, University Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, AP-HP, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat, ^eInstitut Cochin, INSERM, U1016, ^fCNRS, UMR8104, and ^gUniversité Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France.

AIDS 2019, Vol 33 No 1

Introduction

Au cours de ces dernières décennies, la plupart des recherches se sont concentrées sur les avancées liées à l'infection par le VIH-1. Les chercheurs ont accordés beaucoup moins d'attention au VIH-2, qui est endémique en Afrique de l'Ouest et dans les pays ayant des liens socio-économiques étroits avec cette région (Tienen et al. 2010). Comparé à l'infection par le VIH-1, l'évolution clinique de l'infection par le VIH-2 est généralement caractérisée par un stade asymptomatique plus long, même sans traitement antirétroviral, avec une charge virale VIH plasmatique plus faible et un taux de mortalité moins élevé. L'infection par le VIH-2 peut parfois évoluer vers le stade SIDA avec le temps (Nyamweya et al. 2013). Le contrôle de l'infection est néanmoins plus fréquent chez les personnes infectées par le VIH-2, les contrôleurs (HIC) représentant 9,1% dans le cas de VIH-2 (Thiébaud et al. 2011), contre 0,2% pour le VIH-1 (Grabar et al. 2009).

Les cellules natural killer (NK) sont un élément clef de la réponse immunitaire innée. Au cours de la mise en place de l'infection, elles contribuent de façon importante à la réponse immunitaire innée effectrice, comme cela a été décrit chez des personnes atteintes de déficit héréditaire en NK qui montrent une forte susceptibilité à certaines infections virales (Orange et al. 2013). Les cellules NK engagées dans des processus de surveillance immunitaire vont être capables de distinguer les cellules cibles des cellules saines. Le mécanisme qui est mis en jeu est contrôlé par une balance entre des signaux inhibiteurs et activateurs ; les premiers reconnaissent les ligands exprimés sur les cellules saines pour maintenir la tolérance au « soi » alors que les seconds reconnaissent des ligands spécifiquement induits sur les cellules " stressées " pour permettre leur élimination (Gasser et al. 2006). Lorsque le déséquilibre s'installe et que les signaux d'activation l'emporte sur les inhibiteurs, les cellules NK produisent un ensemble de cytokines (par exemple IFN- γ et TNF- α) et exercent leurs fonctions cytotoxiques (Sun et al. 2011; Vivier et al. 2011).

Dans l'infection à VIH-1, plusieurs études génétiques, épidémiologiques et fonctionnelles ont montré que les cellules NK peuvent être directement impliquées dans la prévention de la réplication du VIH-1 (Vieillard et al. 2010 ; Fauci et al. 2005; Jost et al. 2012). Chez les personnes infectées par le VIH-2, les données existantes se limitent à des études de quantification des cellules NK et/ou à des études fonctionnelles sur leur cytotoxicité (Nuvor et al. 2006; Bächle et al. 2016).

La rareté de ces données nous a incité à effectuer une caractérisation phénotypique et fonctionnelle approfondie des cellules NK chez des patients VIH-2⁺ non traités de la cohorte VIH-2 Co5 de l'ANRS (France Recherche Nord&Sud Sida-HIV Hépatites) et à les comparer à celles de patients VIH-1⁺ non progressifs (LTNP) et contrôleurs (EC) de longue durée. Nous rapportons ici qu'une interaction complexe entre le récepteur activateur NKp30 et ses ligands conduit à une déficience phénotypique et fonctionnelle spécifique des cellules NK chez les patients VIH-2⁺.

Matériel et Méthodes

Population et échantillons de l'étude

L'étude a porté sur 24 patients infectés VIH-2 inclus dans l'étude sur le réservoir (immunovir-2) de la cohorte VIH-2 de de l'ANRS (Angin et al. 2016). Ils ont été comparés à 15 contrôles ouest africains séronégatif (Petitdemange et al. 2011) et à 21 patients non traités LTNP et 10 patients EC infectés par VIH-1⁺ de la cohorte ALT de l'ANRS (Vieillard et al. 2010). Des échantillons de PBMC de 20 témoins sains non infectés de type caucasien ont été obtenus à partir de l'EFS (Établissement Français du Sang) et analysés comme témoins pour les patients VIH-1⁺ (Tableau supplémentaire II). Cette étude a été menée conformément aux principes de la Déclaration d'Helsinki et aux lois et règlements français. Les patients ont été informés des recherches effectuées sur les échantillons biologiques et ont donné leur consentement éclairé par écrit pour y participer. Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique (Comité de Protection des Personnes d'Ile de France XI).

Tableau 1 (supplémentaire) : Caractéristiques des patients VIH-2

ID	Gender	Age (years)	CD4 count (cell/ul)	Nadir CD4 count (cell/ul)	Time since Diagnosis (years)	Viral load (copies/mL)	Viral DNA (copies/ 10 ⁶ PBMC)	Country of birth
012-006	M	44	707	444	20.5	1.3	187	Ivory coast
012-009	F	54	1 118	539	27.3	2.4	10	Guinea Conakry
012-045	F	43	858	706	22.7	<1	10	France
012-073	M	52	891	602	11.3	<1	131	Ivory coast
012-084	F	50	1 776	971	8.8	<1	53	Ghana
012-088	M	70	502	390	7.4	58.0	127	Senegal
012-101	F	34	1 212	711	12.5	5.6	88	The Gambia
013-035	F	48	859	601	9.2	75.0	40	Guinea Conakry
013-037	M	59	1 300	712	8.8	<1	nd	Colombia
016-004	M	46	nd	359	7.5	nd	nd	Ivory coast
019-010	F	40	1 170	597	15.4	nd	484	Ivory coast
028-012	F	49	812	513	10.2	<1	nd	Guinea Conakry
028-016	F	49	895	528	11.3	<1	28	Ivory coast
034-005	M	55	927	588	9.0	<1	nd	Ivory coast
036-015	F	49	836	528	10.4	<1	nd	Ghana
036-018	F	39	1 036	800	12.7	<1	53	Ivory coast
036-019	M	53	1 228	1165	17.6	<1	170	Guinea Bissau
036-020	F	21	nd	465	nd	nd	nd	Ivory coast
041-002	F	59	1123	520	16.0	nd	nd	Ivory coast
045-007	F	50	nd	485	16.2	nd	517	Ivory coast
051-007	M	48	399	434	14.4	<1	nd	France
075-001	M	52	413	314	18.2	5.7	342	France
082-005	M	57	1 090	562	23.0	nd	107	Ivory coast

M : masculin ; F : Feminin

Tableau 2 (supplémentaire) : Résumé des caractéristiques des patients VIH-2 et de leurs contrôles pour l'étude NK

	Sujet Ouest Africain	VIH-2	Contrôles caucasiens	LTNP-VIH-1	VHC-VIH-1
Nombre	15	23	20	21	10
Masculin/Feminin	7/9	10/13	9/11	11/10	5/5
Age (ans)	39±13	49±10	43±12	39±9	44±15
Nombre de CD4 (cells/μL)	1104±137	958±324	902±66	758±335	699±169
Nbre d'année depuis le diagnostic	-	14.1±5.6	-	10.1±1.8	10.6±1.3
Charge virale (copies/mL)	-	14±6	-	51006±87573	74±40
Charge virale ADN (copies/10 ⁶ PBMC)	-	156±164	-	1131±1626	42±29

Analyse par cytométrie en flux

Les cellules CD3-CD56⁺ NK ont été analysées à partir de cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC) préalablement congelées par cytométrie en flux avec un cocktail approprié de mAbs dans tableau ci-dessous. Au moins 20 000 cellules CD45⁺ ont été acquises sur le cytomètre de flux Gallios (Beckman Coulter, Pasadena, Californie, USA) puis analysées avec Flow Jo version 9 (TreeStar, Ashland, Oregon, USA).

Tableau 3 : Liste des anticorps

Marker	Clone	Fluorochrome	Société
CD45	J.33	Krome Orange	Coulter
CD3	UCHT1	Efluor 780	eBioscience
anti-CD56	N901	PC7	Coulter
HLA-DR	Immu-357	AlexaFluor 700	BioLegend
NKG2A	Z199	Phycoerythrin	Coulter
NKG2C	134591	Allophycocyanin	R&D systems
NKG2D	ON72	Allophycocyanin	Coulter
NKp30	AF29-4D12	Allophycocyanin	Miltenyi Biotech
NKp46	BAB281	Phycoerythrin	Coulter
DNAM-1	Tx25	Florescein isothiocyanate	BioLegend
KIR2DL1	HP-3E4	Florescein isothiocyanate	BD Pharmingen
KIRDL2/DL3	REA1006	Phycoerythrin	Miltenyi Biotech
KIR3DL1	DX9	AlexaFluor700	BioLegend
CD161	DX12	Phycoerythrin	BD Pharmingen
CD57	NC1	Pacific Blue	Coulter
Siglec-7	Z176	Phycoerythrin	Coulter
IFN-g	B27	AlexaFluor700	BD Pharmingen
TNF-a	Mab11	Allophycocyanin	eBioscience

Étude fonctionnelle

Les cellules NK ont été incubées avec ou sans cellules cibles K562 (ATCC CCL243), qui n'expriment pas de molécules de classe 1 du CMH, à un rapport effecteur/cellule cible de 1 :1, en présence d'anti-CD107a (#H4A3 ; Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA) pour mesurer la dégranulation. Les cellules ont ensuite été incubées pendant 5 heures en présence de solutions Golgi Stop et Golgi Plug (BD Biosciences), puis colorées avec des marqueurs de surface de cellules NK. Les cellules ont été fixées et ensuite perméabilisées avec le kit cytofix/cytoperm (Becton Dickinson), puis marquées en intracellulaire pour la production d'IFN- γ et de TNF- α . Dans certaines études sur la dégranulation, les cellules cibles K562 ont été pré-incubées avec 10 μ g/ml d'anti-B7-H6 bloquant (clone 17B1.3). Les données ont été analysées avec Flow Jo version 9 (TreeStar).

Génotypage HLA

L'ADN a été extrait des PBMC des patients avec le kit QIAamp DNA (Qiagen, Hilden, Allemagne). Les allèles HLA de classe I ont été hybridés avec le kit LABType SSO (One Lambda, Canoga Park, USA). Les séquences HLA ont été lues avec un LABScan 200 (Luminex, Austin, TX) et le logiciel HLA.

Marquage et analyse de cellules cibles non infectées et infectées par le VIH pour les ligands des récepteurs des cellules tueuses naturelles

Les CEM ou les cellules T CD4⁺ purifiées ont été infectées par 10³ doses infectieuses à 50 % de culture tissulaire de souches de VIH-1_{JR-CSF} ou de VIH-2_{ROD} (Petitdemange et al. 2013; Reeves et al. 1999). Après une période de 7 à 9 jours après l'infection, les cellules ont été marquées avec 10 μ g/ml de protéines de fusion solubles (NKp30, NKp44 et NKp46-Ig de R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA) ou d'Anticorps anti-ULBP-1 à ULBP-6 et anti-B7-H6 (R&D Systems), d'anti-BAT-3 (Abcam) ou d'anti-HLA-ABC (Beckton Dickinson) pendant 2 h à 4°C. Pour révéler les protéines de fusion, les cellules ont ensuite été incubées avec des fragments F(ab)₂ d'IgG anti-humaines de chèvre (1/50 ; Jackson ImmunoResearch, West Grove, Pennsylvanie, USA), comme décrit (Baychelier et al. 2013). Pour mesurer la proportion de cellules infectées par le VIH-1 ou le VIH-2, les cellules ont été fixées, perméabilisées avec le kit cytofix/cytoperm (Becton Dickinson), puis marquées par voie intracellulaire avec de l'anti-p24 (clone KC-57 ; Beckman Coulter). Les données ont été analysées avec Flow Jo version 9 (TreeStar).

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Prism (GraphPad, La Jolla, Californie, USA). Les tests non paramétriques de Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis et Wilcoxon ont été utilisés pour comparer des variables continues entre les groupes. Les corrélations entre les variables ont été calculées à l'aide du test Spearman non paramétrique d'ordre hiérarchique. L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée avec XLSTAT (Addinsoft, Paris, France). Les saturations des composantes ont été calculées comme des corrélations entre les valeurs d'expression mesurées et les scores des composantes principales. Les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

Résultats

La diminution de la modulation (downmodulation) de NKp30 dans l'infection VIH-2

Une étude phénotypique approfondie a été réalisée sur les cellules NK de sujets infectés par le VIH-2⁺ asymptomatiques et naïfs de traitement ; les données sont décrites dans les tableaux 1 et 2 supplémentaires.

La fréquence des cellules NK CD3⁻CD56⁺ était similaire chez les patients infectés par le VIH-2⁺ et chez les contrôles Ouest Africains sains ; ce nombre était cependant légèrement plus élevé que celui retrouvé chez les contrôles Caucasiens VIH⁻ et sujets VIH⁺ (LTNP et EC) (Figure 1A). Les sous-populations de cellules NK CD56^{bright} et CD56^{dim} étaient quasi identiques dans les différents groupes (Figure 1B), cependant la proportion de cellules NK CD56⁻ était beaucoup plus élevée chez les patients infectés par le VIH-1, comme précédemment décrit (Mavilio et al. 2005).

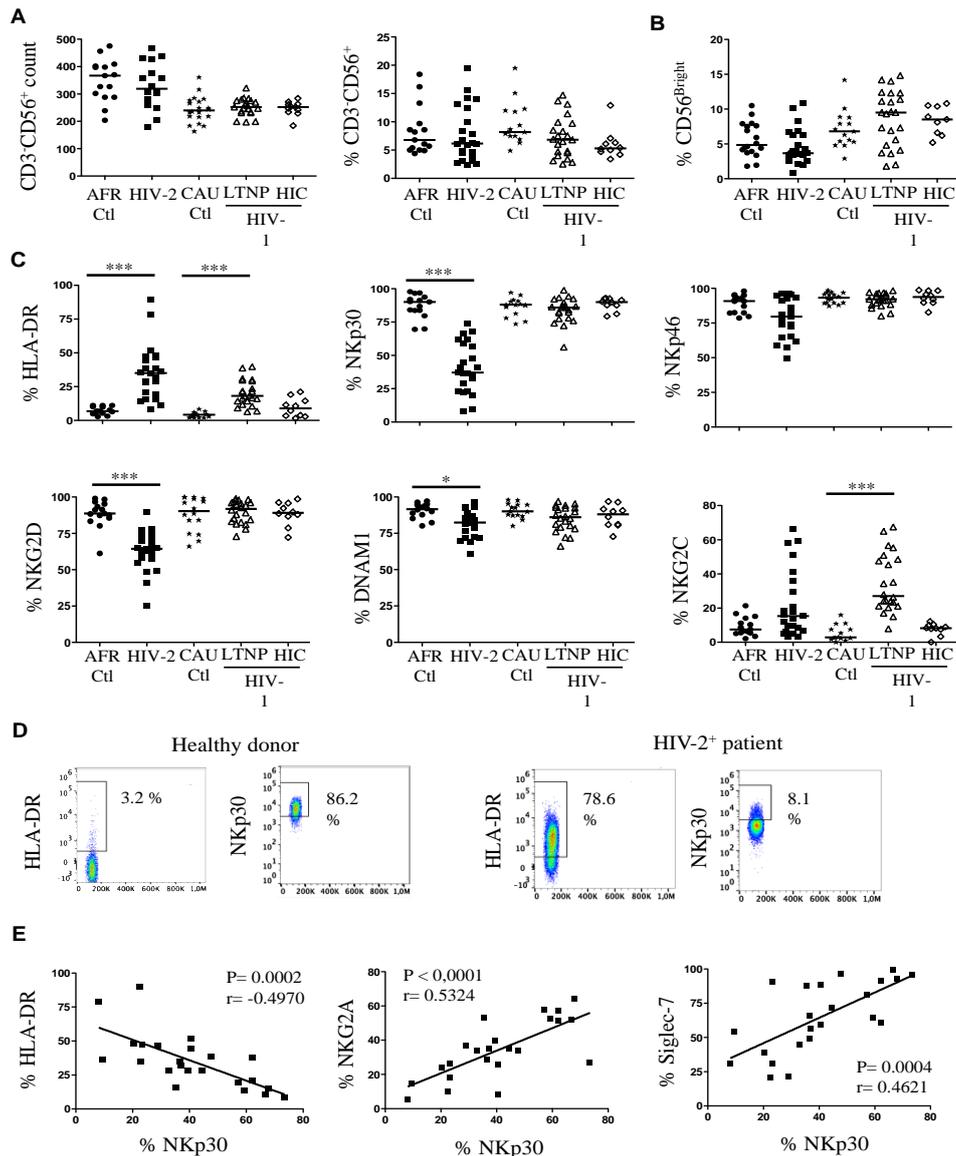


Figure 1. Analyses phénotypiques des cellules NK chez les patients infectés par le VIH-2. A) nombre de cellules NK CD3⁺CD56⁺ en valeur absolue et pourcentage. B) Pourcentage de cellules NK CD56^{bright} parmi les cellules NK CD3⁺CD56⁺. C) Pourcentage de cellules NK CD3⁺CD56⁺ exprimant le HLA-DR et les principaux marqueurs d'activation (NKp30, NKp46, NKG2D, DNAM1, NKG2C). Les données sont présentées pour les donneurs sains Ouest Africains (cercles), les patients infectés par le VIH-2 (carrés), les patients infectés par le VIH-1 LTNP (triangles) les patients infectés VIH-1 EC (losanges creux) et les donneurs sains Caucasiens (étoiles). Les barres horizontales représentent la médiane. L'analyse comparative des groupes a été réalisée à l'aide du test de Kruskal-Wallis. P<0,05 ; P<0,01, P<0,001. D) Image de cytométrie de l'expression de HLA-DR et de NKp30 sur des cellules NK CD3⁺CD56⁺ d'un patient VIH-2⁺ comparé à un donneur sain. E) Corrélation entre l'expression

de Nkp30 et l'expression de HLA-DR, de NKG2A et de Siglec-7 sur des cellules provenant de cellules NK CD3⁻CD56⁺ de patients infectés par le VIH-2.

L'analyse hiérarchique des cellules NK CD3⁻CD56^{dim} a montré que les patients VIH-2⁺ se distinguaient facilement des contrôles Ouest Africains. Les témoins Ouest Africains et Caucasiens VIH⁻ exprimaient des niveaux similaires des marqueurs NK testés, à l'exception de CD161 (Figure supplémentaire 1), comme précédemment décrit (Petitdemange et al. 2011).

Figure 1 (Supplémentaire)

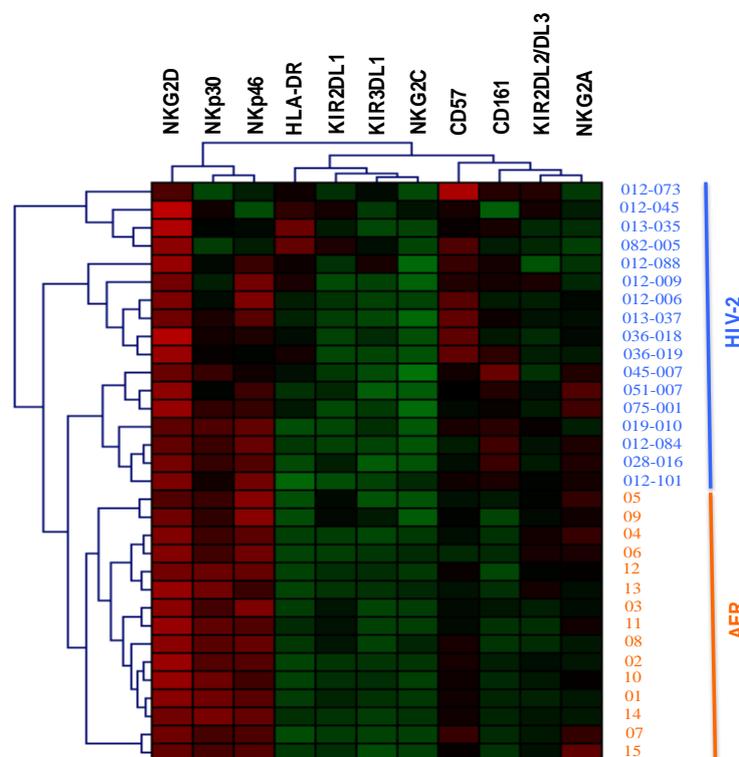


Figure supplémentaire 1. Groupe hiérarchique des 11 combinaisons de marqueurs des cellules NK de patients infectés par le VIH-2. Cette analyse a été réalisée pour 17 patients infectés par le VIH-2 et 15 donneurs sains de même origine que les patients (AFR). Chaque ligne verticale est dédiée à un marqueur NK défini, la couleur de chaque carré reflétant le pourcentage d'expression du marqueur correspondant dans chaque échantillon de cellules NK. Les valeurs mesurées dans les échantillons ont été affichées en couleur et classées par ligne : la couleur verte indique une valeur inférieure à la médiane, et la couleur rouge une valeur supérieure à la médiane. Les analyses ont été effectuées à l'aide du programme Genesis (disponible <http://genome.tugraz.at>), tel que décrit (Vieillard et al. 2010).

Cependant, les cellules NK des sujets infectés par le VIH-2 exprimaient fortement le marqueur d'activation cellulaire tardif HLA-DR [médiane : 35,0 % (8,4 - 89,7)], comparés aux donneurs sains (moins de 11,0 %) et aux patients infectés par le VIH-1 ([médiane : 18,1 % (6,2 - 39,6) pour les LTNP et 8,8 % (1,5 - 21,0) et pour l'EC] ($P < 0,0001$) (Figures 1C et D). Les mêmes tendances ont été observées en médiane d'intensité de fluorescence (MFI) (Figure supplémentaire 2A). Il est important de noter que l'expression de HLA-DR n'est pas augmenté dans les T CD3⁺, ce qui indique que l'activation était exclusivement limitée aux cellules NK des sujets infectés par le VIH-2. Cependant les cellules NK des patients VIH-2⁺ étaient semblables aux autres groupes pour leur expression en récepteurs inhibiteurs, y compris les récepteurs NKG2A, KIR2DL1 et KIR2DL2/DL3 (Figures supplémentaires 2 et 3), à l'exception du KIR3DL1, qui était significativement plus élevé chez les patients VIH-2⁺ par rapport aux autres groupes, indépendamment de l'expression du HLA apparenté (Figures supplémentaires 3 et 2).

En revanche, l'expression des récepteurs activateurs des NK [NKp30, NKp46, NKG2D, et DNAX accessory molecule-1 (DNAM1)] était plus faible chez les patients infectés par le VIH-2⁺. La fréquence de NKp30 a été considérablement réduite chez les patients infectés par le VIH-2 [médiane : 37,1 % (8,1 à 73,5)] par rapport aux patients infectés par le VIH-1⁺ et aux donneurs sains (respectivement des médianes 85,8 et 90,1 %,) ($P < 0,0001$) (Figure 1C ; Figure supplémentaire 2).

Figure 2 (Supplémentaire)

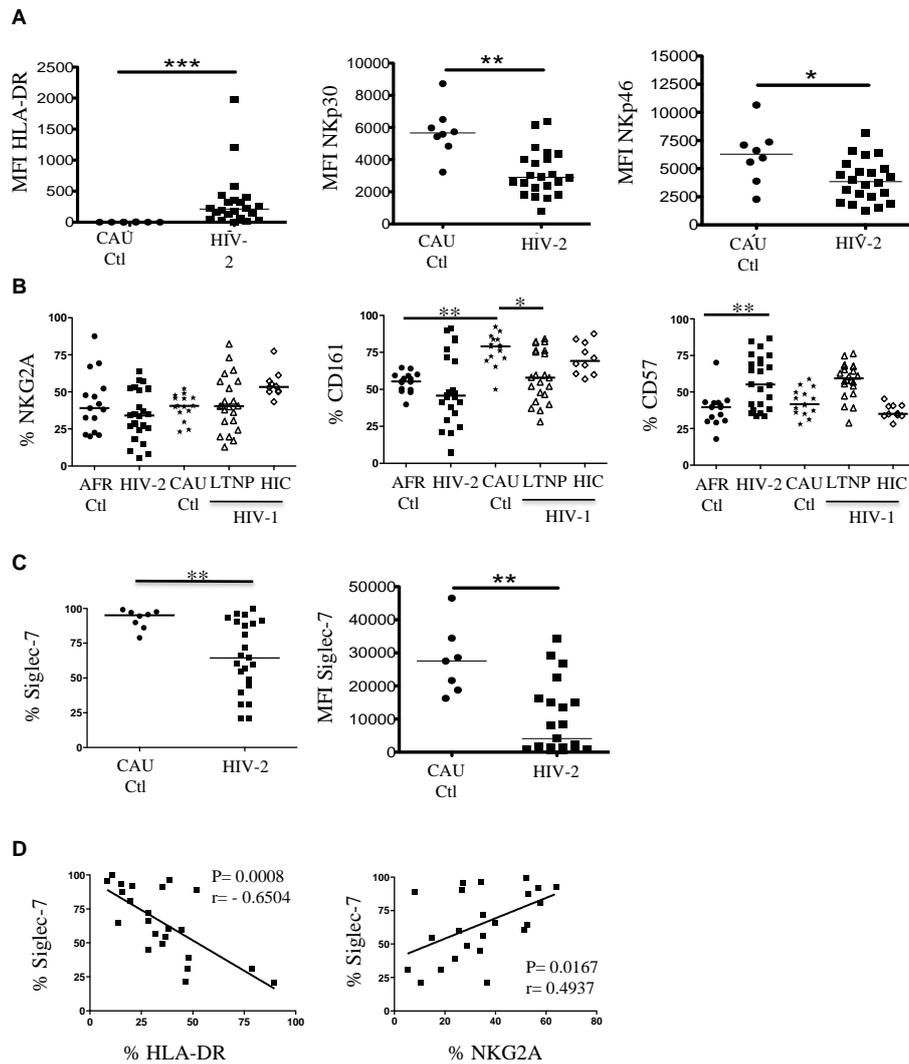


Figure supplémentaire 2 : Analyse complémentaire des marqueurs phénotypiques des cellules NK des patients VIH-2⁺. A) médiane d'intensité de fluorescence (MFI) de HLA-DR, NKp30 et NKp46) sur les cellules NK CD3⁻CD56⁺. B) Pourcentage (médiane) d'expression des marqueurs de différenciation (NKG2A, CD161 et CD57) des cellules NK CD3⁻CD56⁺. Les données sont présentées pour les donneurs sains Africains (AFR, cercles), les patients VIH-2⁺ (carrés), les patients VIH-1⁺ LTNP (triangles creux), les patients VIH-1⁺ EC (losanges creux) et les donneurs sains Caucasiens (CAU, étoiles). Les comparaisons entre les groupes ont été réalisées à l'aide du test de Kruskal-Wallis et du post-test de Dunn. *p< 0,05 ; **p<0,01. C) Pourcentage et médiane d'intensité de fluorescence (MFI) de l'expression de Siglec-7 par les cellules CD3⁻CD56⁺ NK. Les données sont présentées pour les patients VIH-2⁺ (carrés) et les sains (cercles fermés). La comparaison a été analysée par le test Mann-Whitney (non apparié) ; **p=0,0072. D) Corrélation entre Siglec-7 et l'expression de HLA-DR ou de NKG2A sur les cellules ⁺ NK CD3-CD56 de patients VIH-2⁺.

Figure 3 (Supplémentaire)

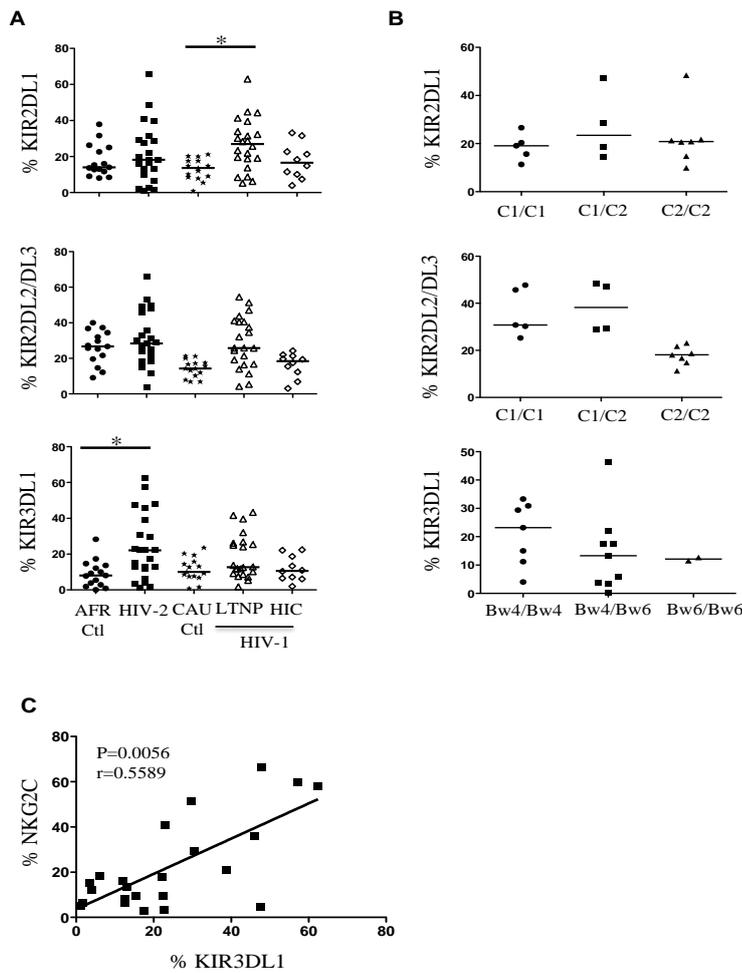


Figure supplémentaire 3. Analyse des marqueurs inhibiteurs KIR dans les cellules NK de patients VIH-2⁺. A) Pourcentage de cellules NK CD3⁺CD56⁺ exprimant KIR2DL1, KIR2DL2/DL3 et KIR3DL1. Les données sont présentées pour les donneurs sains Ouest Africains (AFR, cercles), les patients VIH-2⁺ (carrés), les patients VIH-1⁺LTNP (triangles creux), les patients VIH-1⁺EC (losanges creux) et les donneurs sains Caucasiens (CAU, étoiles). Les comparaisons entre les groupes ont été réalisées avec le test de Kruskal-Wallis et du post-test de Dunn. * $p < 0.05$. B) Analyse de la reconnaissance des KIR inhibiteurs (KIR2DL1, KIR2DL2/DL3 et KIR3DL1) et du groupe HLA classe I (Tableau supplémentaire 2). C) Corrélation entre l'expression de KIR3DL1 et de NKG2C sur les cellules NK CD3⁺CD56⁺ de patients VIH-2⁺.

Il faut noter que CD3 ζ , le corécepteur de NKp30 (A. Moretta et al. 2001), est exprimé de façon similaire dans les échantillons infectés et non infectés (Figure supplémentaire 4). Plus important encore, chez les patients VIH-2⁺, l'expression de NKp30 est corrélée négativement

avec HLA- DR ($r = 0.4970$; $P = 0.0002$) et positivement avec NKG2A ($r = 0.5324$; $P < 0.0001$) et le Siglec-7 ($r = 0.4621$; $P = 0.0004$) (Fig. 1 ; Figure supplémentaire 2). (Brunetta et al. 2009). Néanmoins, aucun de ces marqueurs n'a été corrélé avec les paramètres biologiques testés (numération des CD4⁺ des cellules T, nadir des CD4⁺ des cellules T, charge virale plasmatique ou charge virale ADN du VIH-2).

Figure 4 (Supplémentaire)

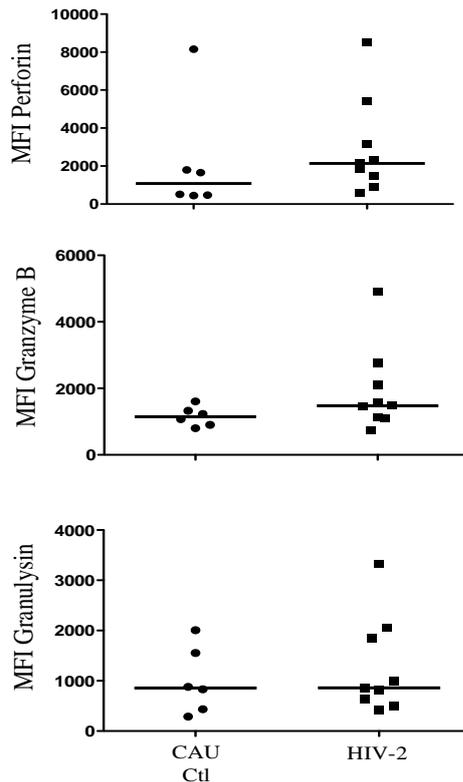


Figure supplémentaire 4. Analyse des marqueurs cytotolytiques dans les cellules NK de patients VIH-2⁺. Médiane d'intensité de fluorescence (MFI) de l'expression intracellulaire de la perforine, du granzyme B et de la granulysine, par les cellules NK CD3⁺CD56⁺. Les données sont présentées pour les patients VIH-2⁺ (carrés) et les donneurs sains (cercles).

Une analyse par composante principale a été réalisée pour renforcer ces données. La figure 2A montre que les patients atteints du VIH-2⁺ sont séparés distinctement de tous les autres groupes ; l'expression de HLA-DR était liée aux patients VIH-2⁺, alors que les marqueurs NKG2C et CD57 étaient surtout associés au statut LTNP. De plus, les patients EC VIH-1⁺ et les témoins VIH⁻ étaient proches les uns des autres mais n'étaient pas directement associés à un marqueur spécifique des cellules NK (figure 2B). L'ensemble de ces données suggère fortement

que le VIH-2 induit une signature de cellules NK différente de celle retrouvée chez les patients LTNP et les EC VIH-1⁺.

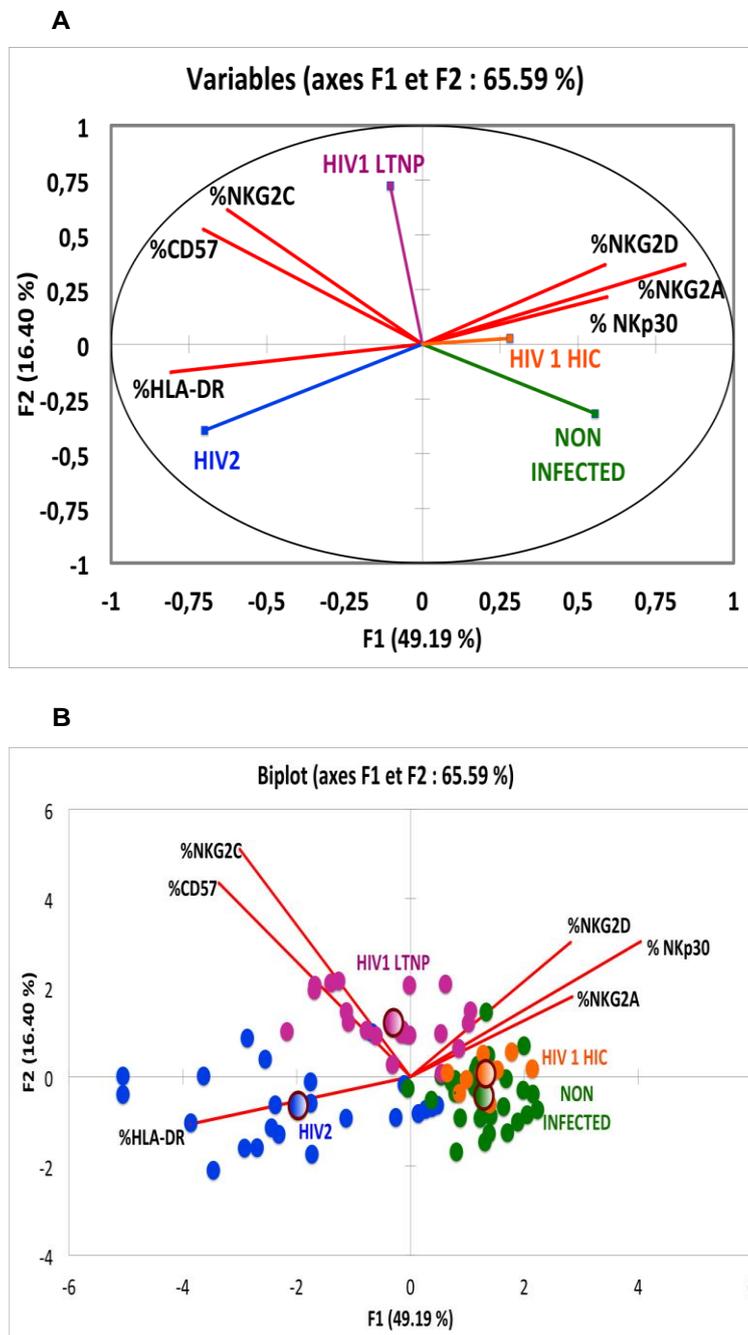


Figure 2. Analyse des principaux marqueurs des cellules NK de patients infectés par VIH-2. A) Distribution statistique des différents marqueurs des cellules NK testés. B) Distribution statistique des individus en fonction de l'expression des marqueurs des NK. Les analyses ont été effectuées pour les patients VIH-2⁺ (bleu), les VIH-1⁺ LTNP (violet), les sujets VIH-1 EC (orange) et les donneurs sains (vert).

La baisse de la modulation (downmodulation) de NKp30 dans les cellules NK est associée à une régulation positive de B7-H6 sur les cellules cibles infectées par VIH-2

Le rôle des ligands spécifiques des principaux récepteurs NK a été évalué en infectant des cellules cibles in vitro par des souches de VIH-2_{ROD} ou de VIH-1_{JR-CSF}.

La fréquence (moyenne \pm écart-type) des cellules infectées était respectivement de $25,2 \pm 8,1$ % et de $27,5 \pm 7,9$ % pour le VIH-2 et le VIH-1. Une baisse significative de l'expression des molécules de classe 1 du CMH a été observée sur les cellules infectées par le VIH-2 ($50,3 \pm 7,5$ %) comparées aux cellules non infectées ($94,3 \pm 3,8$ % ; $P < 0,0001$; Figure 3A), comme déjà signalé pour le VIH-1 (Pogge von Strandmann et al. 2007; Fausther-Bovendo et al. 2009). Pour tenir compte de la forte modulation des récepteurs NK activateurs chez les patients infectés par VIH-2 (Figure 1C), nous avons testé l'expression de leurs ligands sur des cellules cibles. La figure 3B montre que les cellules infectées et non infectées « bystanders » expriment les ULBP-1 à -6 dans les cultures infectées par le VIH-1 et le VIH-2, alors qu'aucune des séquences apparentées aux polypeptides MIC-A, MIC-B de HLA- I ou des ligands pour NKp46 n'ont été induites par le VIH-1 ou le VIH-2 (Figure 3B). L'expression des ligands de NKp44 n'a pas été modifiée par le VIH-2, mais induite dans les cellules VIH-1⁺, comme décrit précédemment (Pogge von Strandmann et al. 2007; Ward et al. 2007). Cependant, les ligands pour le NKp30 n'ont pas été induits dans les cellules infectées par VIH-1, mais fortement augmentés dans les cellules infectées par le VIH-2, par rapport aux cellules contrôles ; la différence était significative seulement dans les cellules non infectées ($P = 0,0144$) (Figure 3B). Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure complètement qu'une fraction des cellules contrôles qui sur-exprimaient B7-H6 étaient infectées mais n'exprimaient pas des quantités suffisantes d'antigènes du VIH pour être détectées.

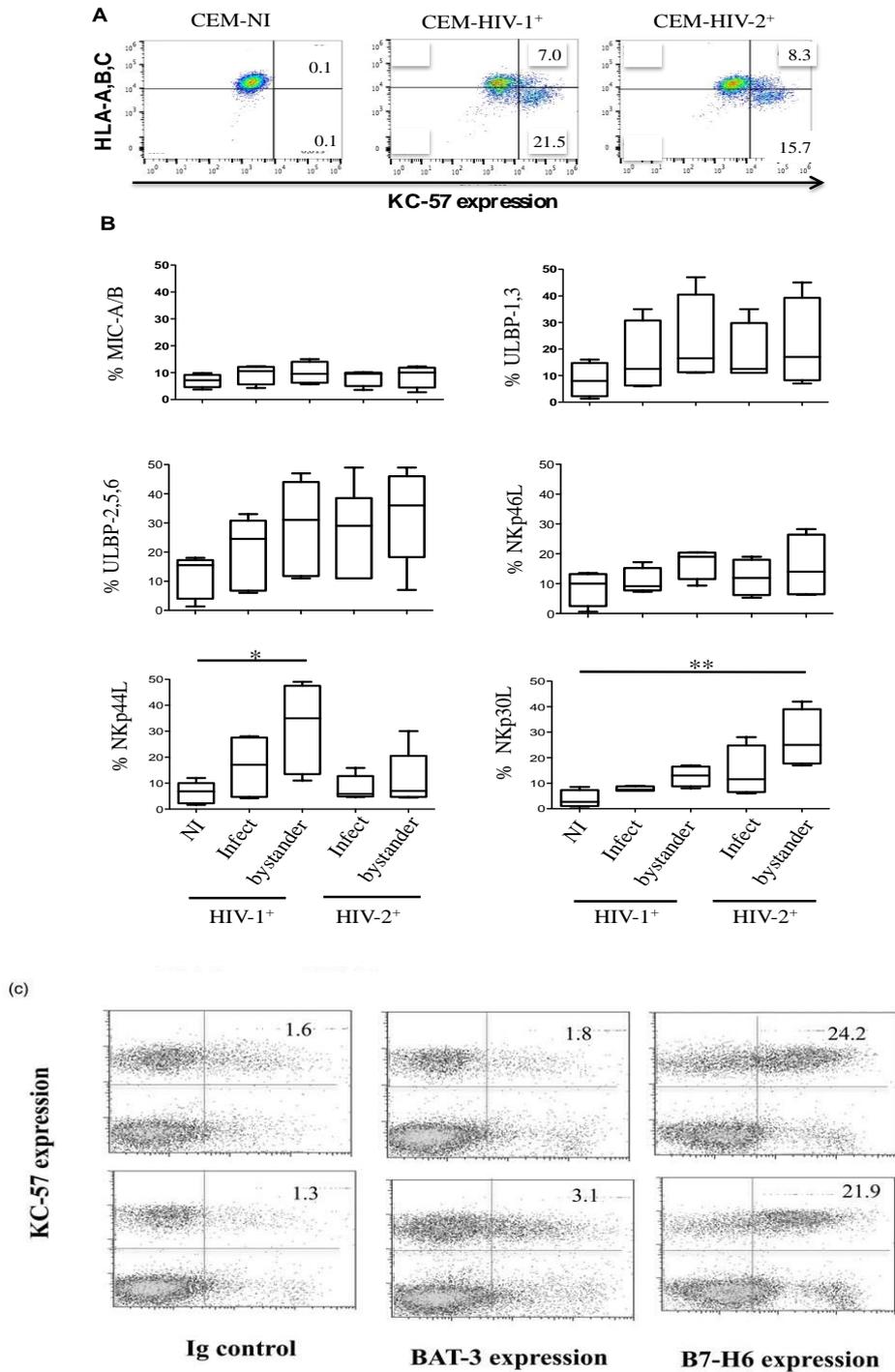


Figure 3. Expression des ligands pour les récepteurs des NK sur des cellules cibles infectées par le VIH-2. A) Images de cytométrie en flux des molécules du CMH de classe I (HLA-A, B et C) sur des cellules non infectées (NI) ou des cellules infectées par le VIH-1_{JR-CSF} (CEM-VIH-1⁺) ou le VIH-2_{Rod} (CEM-VIH-2⁺) selon l'infection par le VIH (expression KC-57⁺). B) Expression des ligands du NKG2D (MIC-A/B, ULBP1/3 et ULBP 2/5/6) et les NCR (NKp30L, NKp44L et NKp46) sur des sujets non infectés (NI) ou des sujets infectés (CEM) par le VIH-1_{JR-CSF} (VIH-1⁺) ou le VIH-2_{Rod} (VIH-2⁺). Les données sont indiquées pour les

cellules infectées CEM (infectées ; KC-57⁺) et non infectées CEM (témoins ; KC-57). Les comparaisons entre les groupes ont été évaluées à l'aide du test de Kruskal-Wallis et du post-test de Dunn. *P<0,05 ; **P<0,01. C) Expression des ligands NKp30 (B7-H6 et BAT-3) sur des cellules T CD4⁺ (purifiées provenant de deux donneurs sains) infectées par la souche VIH- 2_{ROD}. Le pourcentage de cellules infectées par le VIH-2 (KC-57⁺) qui ont exprimé le ligand de NKp30 est indiqué. NI= non infecté.

Pour mieux spécifier l'expression du ligand NKp30 sur des cellules cibles infectées par le VIH-2, des cellules T CD4⁺ purifiées ont été activées par l'IL-2, infectées par HIV_{ROD} et ensuite testées pour l'expression en surface de BAT-3 et B7-H6, deux ligands cellulaires majeurs de NKp30 (Brandt et al. 2009; Pogge von Strandmann et al. 2007). La figure 3C montre que l'expression de BAT-3 n'est pas, ou très légèrement, modulée après l'infection par VIH-2, alors que celle de B7-H6 semble être principalement induite dans les cellules TCD4⁺ in-vitro infectées par HIV-2_{ROD}. Les formes solubles de B7-H6 et de BAT-3 n'étaient pas détectables dans le sérum des patients infectés par l'une ou l'autre forme de VIH ou des donneurs sains.

La perte d'expression de NKp30 dans les cellules NK est associée à une capacité fonctionnelle aberrante chez les patients infectés par VIH-2

Pour déterminer l'importance de ces résultats, nous avons examiné la capacité fonctionnelle globale des sous-populations de cellules NK de patients infectés par VIH-2⁺. La figure 4a montre qu'en l'absence de traitement, 22,6 % des cellules NK produisent de l'IFN- γ alors que chez les témoins négatifs seulement 1,6 %, cette différence est très significative (P<0,0001).

Après stimulation par l'IL-12/IL-18 (Figure 4a), le taux d'IFN- γ n'a pas augmenté de façon significative dans les cellules NK de patients VIH-2 par rapport aux contrôles VIH⁻ (Figure 4a). Cependant la baisse de l'IFN- γ est fortement corrélée avec la hausse l'expression de NKp30 chez les sujets infectés par le VIH (Figure 5 B, n'a pas été présentée dans papier). Par ailleurs le taux de TNF- α était similaire dans les cellules NK des VIH⁻ et VIH- 2⁺, et n'a pas fortement augmenté après stimulation par l'IL-12/IL-18.

Nous avons ensuite testé la dégranulation des cellules NK en présence des cellules cibles K562 qui expriment à leur surface un niveau élevé de B7-H6, l'un des ligands de NKp30. La figure 4b montre que la dégranulation des cellules NK était significativement moins élevée chez

les patients VIH-2⁺, par rapport aux donneurs sains (test de Mann - Whitney, P= 0.005), alors que l'expression des différents composants cytotoxiques présents dans les granules (perforine, granzyme B et granulysine) était similaire dans les échantillons provenant des sujets VIH-2⁺ et des contrôles sains (Figure supplémentaire 5).

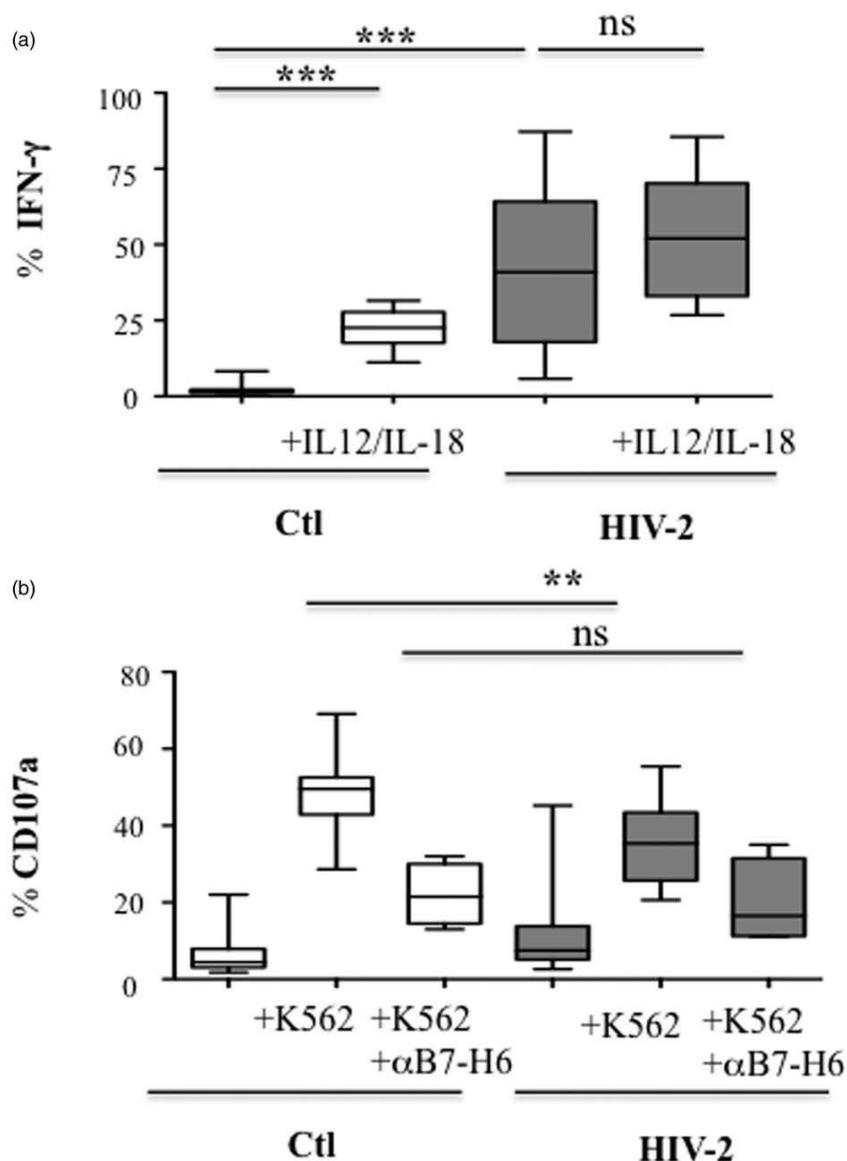


Figure 4. Corrélations fonctionnelles avec le NKp30 dans les cellules tueuses naturelles de patients atteints du VIH-2⁺. (a) Expression intracellulaire de l'IFN- γ par les NK des donneurs sains (Ctl) et des patients VIH-2⁺. Les cellules ont été testées avant et après stimulation (une nuit) avec l'IL12 et l'IL18 (+IL12/IL18). (b) Test de dégranulation par expression de CD107a sur des NK de donneurs sains (témoins) et de patients VIH-2⁺. Les cellules non stimulées et stimulées ont été mises en présence de cellules cibles K562 (+K562) marquées ou non par 10mg/ml d'anticorps anti-B7-H6 (+ α B7-H6). L'effecteur et la cible ont été utilisés dans un

rapport de 1:1. Les comparaisons entre les groupes ont été évaluées à l'aide du test de Kruskal-Wallis et du post-test de Dunn. $P < 0,0001$; $P < 0,01$. ns : non significatif.

Figure 5 (Supplémentaire)

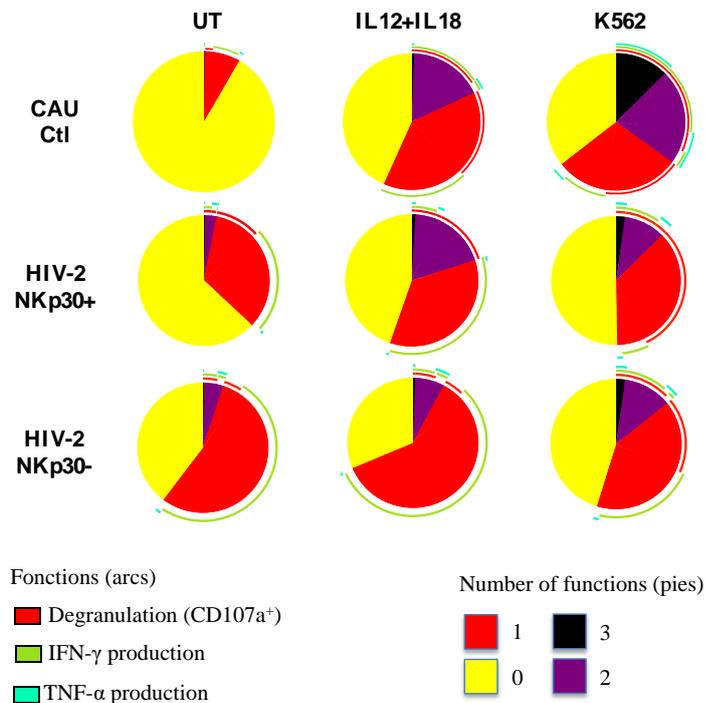


Figure supplémentaire 5. Analyse polyfonctionnelle complémentaire des cellules NK de patients VIH-2⁺. L'expression à la surface des cellules du CD107a et l'expression intracellulaire des TNF- α et IFN- γ ont été évaluées sur des PBMC provenant de donneurs sains et de patients VIH-2⁺ groupés en sous-populations NKp30⁺ et NKp30⁻. Les tests sont réalisés dans des conditions non traitées (UT), après stimulation avec IL-12⁺IL18, ou en présence de cellules cibles K562 négatives pour le CMH de classe I. L'effecteur et la cible sont utilisés dans un rapport de 1/1. Les valeurs ont été analysées avec un algorithme de « Boolean gate » (FlowJo ; Tree Star). Les données ont été présentées sous forme de diagrammes circulaires créés avec le logiciel Pestle and Spice. Les arcs colorés représentent les fréquences des cellules exprimant CD107a et produisant TNF- α et IFN- γ . Les fractions du diagramme représentent les cellules ayant simultanément les fonctions 0, 1, 2 ou 3.

Une analyse plus poussée du rôle du NKp30 dans la dégranulation des cellules NK chez les patients VIH-2⁺, a été réalisée en présence d'anti-B7-H6 (clone 17B1.3), capable de bloquer la reconnaissance du NKp30. En présence d'anti-B7-H6, un niveau similaire de dégranulation

a été observé dans les cellules NK de patients VIH-2⁺ et les contrôles sains (Figure 4b), suggérant que NKp30 joue un rôle clef dans le dysfonctionnement des cellules NK chez les patients VIH-2⁺.

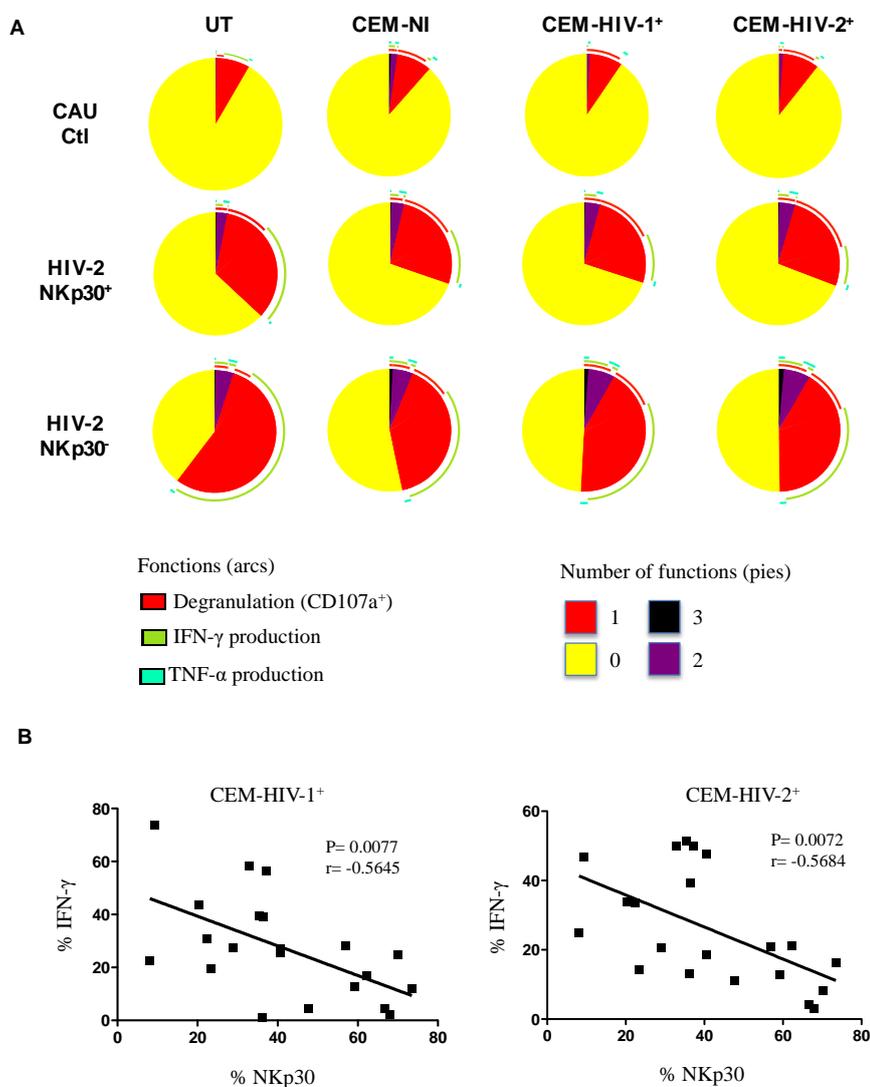


Figure 5. Corrélations entre les fonctions de NKp30 dans les cellules NK de patients VIH- 2⁺. A) Analyse polyfonctionnelle. L'expression membranaire de CD107a et l'expression intracellulaire de TNF- α et IFN- γ ont été évaluées sur des PBMC de donneurs sains et de patients VIH-2⁺ groupés en sous-populations NKp30⁺ et NKp30⁻. Les tests ont été effectués dans des conditions non traitées (UT), et en présence de cellules non infectées (CEM-NI), de cellules infectées par le VIH-1J_{R-CSF} (CEM-VIH-1⁺) ou le VIH-2_{Rod} (CEM-VIH-2⁺). L'effecteur et la cible sont utilisés dans un rapport de 1/1. Les valeurs ont été analysées avec un algorithme de « Boolean gate » (FlowJo ; Tree Star). Les données sont présentées sous forme de

diagrammes circulaires créés avec le logiciel Pestle and Spice. Les arcs colorés représentent les fréquences des cellules produisant CD107a, TNF- α et IFN- γ . Les fractions du diagramme représentent les cellules jouant simultanément les fonctions 0, 1, 2 ou 3. B) Corrélation entre l'expression de l'IFN- γ et la fréquence de NKp30 sur les cellules NK CD3⁺CD56⁺ de patients VIH-2⁺ en présence de cellules infectées (CEM) par HIV-1_{JR-CSF} ou HIV-2_{Rod}.

Discussion

Notre analyse approfondie a révélé que les patients infectés du VIH-2⁺ et les donneurs sains peuvent être séparés en deux groupes distincts selon des caractéristiques spécifiques de leurs cellules NK. D'autre part, la différence entre les patients VIH-2⁺ et VIH-1⁺ (LTNP et EC), suggère également que les cellules NK jouent des rôles distincts dans ces deux infections. Nous avons pu observer que les patients VIH-2⁺ présentaient une signature de cellules NK peu commune, caractérisées par une faible expression du récepteur activateur NKp30 associée à une activation cellulaire chronique (HLA-DR⁺), qui suggère que le VIH-2 pourrait maintenir une activation constitutive des cellules NK, même en l'absence de charge virale détectable.

La forte expression de HLA-DR est déjà considérée comme un signe distinctif de l'infection à VIH-1 (Vieillard et al. 2010) mais, dans le cas du VIH-2, l'expression de HLA-DR est inversement corrélée avec celle de NKp30. L'expression de ce récepteur d'activation est aussi nettement altérée chez le VIH-1, mais seulement chez les patients VIH-1 virémiques (Mavilio et al. 2003), et principalement parmi la sous-population de cellules NK CD56⁺, qui sont anergiques, ce qui explique en grande partie la lyse hautement altérée des cellules dendritiques autologues médiées par les cellules NK au cours de l'infection par le VIH-1 (Mavilio et al. 2006; De Maria et al. 2003), alors que cette sous-population particulière n'est pas fortement représentée chez les patients VIH-2.

La diminution de l'expression de NKp30 a déjà été rapportée dans de nombreuses autres maladies, dont l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) (Alter et al. 2011), le cancer du col de l'utérus induit par le papillomavirus (Garcia-Iglesias et al. 2009), la leucémie myéloïde aiguë (Fauriat et al. 2005), le neuroblastome (Semeraro et al. 2015), le syndrome de Sjögren (Rusakiewicz et al. 2013) ou le syndrome des anti-synthétases (Hervier et al. 2016), suggérant un rôle clé de ce récepteur activateur des cellules NK dans la pathologie. De plus, chez des chimpanzés qui contrôlent l'infection transmise par l'exposition à des variants du VIH-1 adaptés à l'homme, des cellules NK fonctionnellement compétentes ont été associées à l'expression de NKp30 au cours de l'infection (Rutjens et al. 2010). Il est cependant important de noter que, contrairement au VIH-1, les ligands cellulaires de NKp44 ne sont pas induits dans le VIH-2 (Ward et al. 2007), ce qui est cohérent avec l'absence d'un motif 3S dans la protéine d'enveloppe du VIH-2 (Fausther-Bovendo et al. 2009; Vieillard et al. 2010).

La faible expression de NKp30 à la surface des cellules NK a été principalement associée à la production d'une forme soluble de ligands NKp30, dont B7-H6 et BAT-3 (Pazina et al. 2017; Pesce et al. 2015). En revanche, dans cette étude, nous avons constaté que B7-H6 n'était pas détectable sous forme soluble dans les échantillons de sérum de patients infectés par le VIH-2, mais qu'il était exprimé en grande quantité sous forme membranaire à la surface des cellules cibles infectées, alors qu'il était peu exprimé (voire absent) sur les cellules infectées par le VIH-1, comme décrit par Ward et ses collaborateurs (Ward et al. 2007). Ces résultats soutiennent l'hypothèse que la diminution de l'expression de NKp30 sur les cellules NK des patients infectés par le VIH-2⁺ est médiée par une exposition chronique à B7-H6, exprimée sur les cellules cibles, comme cela a été précédemment rapporté dans d'autres contextes (Fauriat et al. 2005; Pesce et al. 2015; Sanchez-Correa et al. 2012).

Cependant on connaît très peu de choses sur les mécanismes impliqués dans la baisse de la modulation des récepteurs NK activateurs, bien qu'elle semble dépendre de l'interaction entre les cellules effectrices NK et les cellules cibles exprimant divers ligands spécifiques. Certains travaux ont cependant été rapportés pour DNAM1, le CD16 et NKG2D (Carlsten et al. 2009). Ainsi, d'autres données indiquent que les ligands NKG2D induisent une endocytose des récepteurs et suggèrent que le taux d'internalisation et de dégradation des récepteurs dépend de la nature du ligand. De plus, l'altération fonctionnelle serait associée à la baisse de la modulation du NKG2D ; par exemple, la diminution de l'expression des récepteurs empêche les cellules NK de rejeter les tumeurs qui expriment MICA, l'un des ligands de NKG2D, chez les souris transgéniques (Wiemann et al. 2005).

Ce mécanisme pourrait permettre l'échappement à l'immuno-surveillance des cellules NK dans différentes situations, y compris au cours de l'infection à VIH-2. Il semble cependant que dans le VIH-2, la baisse de la modulation de NK30 soit indépendante de l'expression de la protéine adaptatrice CD3 ζ nécessaire à l'expression de NKp30 (A. Moretta et al. 2001), alors que l'altération fonctionnelle de ce corécepteur a été démontrée après stimulation des cellules T et NKT pour NKG2D (Hanaoka et al. 2010). L'ensemble de ces données montre que la perte d'expression d'un récepteur activateur est un événement significatif qui doit être pris en compte pour évaluer l'équilibre entre l'activation et l'inhibition fonctionnelle des cellules NK.

Un autre point remarquable est que les cellules NK des patients atteints du VIH-2⁺ produisent des quantités très élevées d'IFN- γ , indépendamment de la pression environnementale. Ceci pourrait s'expliquer par le statut d'activation chronique des cellules

NK, en accord avec la "théorie de la discontinuité" (Pradeu et al. 2016), dans laquelle le système immunitaire répond aux changements soudains lié à la stimulation antigénique et est rendu tolérant par une stimulation lente ou continue. L'étude récente de Huot et al (Huot et al. 2017) sur le contrôle de la réplication du SIV par les cellules NK dans les follicules lymphoïdes des singes verts africains nous encourage à tester cette hypothèse.

En conclusion, nous avons montré que la diminution de l'expression des récepteurs activateurs NKp30 des cellules NK dans le VIH-2 résultait d'une altération de leurs fonctions à cause de l'expression permanente de B7-H6, ce qui pourrait représenter un nouveau mécanisme d'échappement viral et participerait à la subversion immunitaire médiée par une infection chronique du VIH-2.

Remerciements

Nous tenons à remercier les patients et tous les membres du groupe d'étude ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 : Victor Appay, Brigitte Autran, Amel Besseghir, Françoise Brun-Vezinet, Nathalie Chaghil, Charlotte Charpentier, Sandrine Couffin-Cardiergues, Rémi Cheynier, Diane Descamps, Anne Hosmalin, Gianfranco Pancino, Nicolas Manel, Lucie Marchand, Sophie Matheron, Fideline Colin, Livia Pedroza-Martins, Marie-Anne Rey-Cuille, Asier Sa`ez-Cirion, Assia Samri, Rodolphe Thiebaut et Vincent Vieillard.

Nous remercions également Ioannis Theodorou, Sabine Canivet, et Marie-Line Moussalli pour la réalisation du typage HLA.

B7-H6-mediated downregulation of NKp30 in natural killer cells contributes to HIV-2 immune escape

Olivier Lucar^a, Mariama Sajo Diallo^a, Charles Bayard^a, Assia Samri^a,
Nadine Tarantino^a, Patrice Debré^a, Rodolphe Thiébaud^b,
Françoise Brun-Vézinet^c, Sophie Matheron^d, Rémi Cheyrier^{e,f,g},
Vincent Vieillard^a, for the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study group

See related paper on page 153

Objective: HIV-1 and HIV-2 differ notably in their *epidemiology*, with worldwide HIV-1 spread and HIV-2 mainly confined to West Africa. Natural killer (NK) cells are critical antiviral effectors of the immune system; however, limited information is available about these innate effector cells during HIV-2 infection.

Method: In this study, 24 untreated HIV-2-infected patients were analyzed and compared with 21 long-term nonprogressor and 10 controller HIV-1⁺ patients, and healthy donors. Extensive phenotype and functional NK-cell characteristics, as well as ligands of activating NK receptors involved in NK lysis were determined by flow cytometry.

Results: We report in HIV-2⁺ patients a very significant reduced expression of the activating NKp30 receptor ($P < 0.0001$) on NK cells, much higher than observed in HIV-1⁺ patients. The impaired expression of NKp30 is correlated negatively with HLA-DR ($r = -0.5970$; $P = 0.0002$), and positively with both NKG2A ($r = 0.5324$; $P < 0.0001$) and Siglec-7 ($r = 0.5621$; $P = 0.0004$). HIV-2⁺ patients with NKp30^{low} NK cells displayed overproduction of IFN- γ ($P < 0.0001$) associated with impaired cytolytic function when tested against target cells expressing surface B7-H6. This cellular ligand of NKp30 is strongly detectable as a surface molecule on CD4⁺ T cells infected by HIV-2.

Conclusion: Altogether, our data suggested that the defective expression of NKp30 may be induced by the chronic engagement of this receptor by B7-H6 expressed on HIV-2-infected target cells. This represents a novel mechanism by which the chronic ligand exposure by the viral environment may subvert NK-cell-mediated function to establish persistent HIV-2 infection. Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

AIDS 2019, 33:23–32

Keywords: B7-H6, HIV-2, natural killer cells, NKp30, viral escape mechanism

Introduction

In recent decades, intensive research has focused on HIV-1 infection. Much less attention has been paid to the related HIV-2, which is endemic in West Africa, and in countries with strong socioeconomic ties to this region [1]. Compared

with HIV-1 infection, the clinical course of HIV-2 infection is generally characterized by a longer asymptomatic stage and, even without combined antiretroviral therapy, by lower plasma HIV viral loads and a lower mortality rate. HIV-2-infection can however progress to AIDS over time [2]. Spontaneous control of infection is nonetheless more

^aSorbonne Université, UPMC University Paris 06, INSERM U1135, CNRS ERL8255, Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (CIMI-Paris), Paris, ^bINSERM U1219 Bordeaux Population Health, University Bordeaux, Bordeaux, ^cAP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Laboratoire de Virologie, Université Paris 7, ^dINSERM, IAME, UMR 1137, University Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, AP-HP, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat, ^eInstitut Cochin, INSERM, U1016, ^fCNRS, UMR8104, and ^gUniversité Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France.

Correspondence to Vincent Vieillard, Center of Immunology & Infectious Diseases (CIMI-Paris) Pitié-Salpêtrière Hospital, 83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France.

Tel: +33 1 42 17 75 24; e-mail: vincent.vieillard@sorbonne-universite.fr
Received: 2 July 2018; accepted: 28 September 2018.

DOI:10.1097/QAD.0000000000002061

common among HIV-2-infected individuals, with HIV controllers (HIC) accounting for 9.1% of HIV-2⁺ [3], compared with 0.2% of HIV-1⁺ individuals [4].

Natural killer (NK) cells act as bridge between innate and adaptive immune processes. In infectious settings, NK cells critically contribute to effector antiviral innate immune responses, as shown by the high susceptibility to viral diseases of individuals with inherited NK deficiencies [5]. NK cells, while engaged in immune surveillance processes, distinguish their cellular targets from healthy cells as a consequence of the balance between the triggering of their various inhibitory versus activating receptors, the former recognizing ligands expressed on healthy cells to maintain self-tolerance and the latter recognizing ligands specifically induced on 'stressed' cells to allow their elimination [6]. When the activating signals begin to outweigh their inhibitory counterparts, NK cells produce an array of cytokines (e.g. IFN- γ and TNF- α) and perform cytotoxic functions [7,8]. In HIV-1 infection, various genetic, epidemiological, and functional studies have shown that NK cells may be directly involved in preventing HIV-1 replication [9–11]. In HIV-2⁺ individuals, the data collected until now have been limited to a few quantifications of NK cells and/or functional studies demonstrating the cytotoxicity of these cells, more so than for HIV-1⁺ patients [12,13].

The sparseness of these data prompted us to perform an extensive phenotypic and functional characterization of NK cells from untreated HIV-2⁺ patients of the ANRS (France Recherche Nord&Sud Sida-HIV Hépatites) CO5 HIV-2 cohort and compare them with those from long-term nonprogressor (LTNP) and controller (HIC) HIV-1⁺ patients. We report herein that an intricate interplay between NKGp30 and its ligands leads to phenotypic and functional specific impairment of NK cells from HIV-2⁺ patients.

Materials and methods

Study population and samples

The 24 HIV-2⁺ patients were those included in the ANRS Immunovir-2/Reservoir study of the ANRS

HIV-2 CO5 cohort, previously described [14]. They were compared with 15 healthy African control individuals from West Africa [15], and to 21 nontreated LTNP and 10 HIC HIV-1⁺ patients from the ANRS CO15 ALT cohort [10]. Peripheral blood samples from 20 uninfected Caucasian healthy controls were obtained from the French Blood Bank (Établissement Français du Sang) and analyzed as controls for HIV-1⁺ patients (Table 1). This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and with French statutory and regulatory law. Patients received information about research performed on biological samples and provided written informed consent to participate. This study was approved by the institutional ethics committee (Comité de Protection des Personnes of Ile de France XI).

Flow cytometric analysis

CD3⁻CD56⁺ NK cells were analyzed from frozen peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by flow cytometry with an appropriate cocktail of mAbs described in Table Supplement 3, <http://links.lww.com/QAD/B388>. At least 20 000 CD45⁺ cells were acquired on a Gallios flow cytometer (Beckman Coulter, Pasadena, California, USA) and then analyzed with Flow Jo version 9 (TreeStar, Ashland, Oregon, USA).

Functional assay

NK cells were incubated with or without human leukocyte antigen (HLA) class-1 negative K562 target cells (ATCC CCL243), at an effector:target cell ratio of 1:1, in the presence of anti-CD107a mAb (#H4A3; Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA), to measure degranulation. Cells were thereafter incubated for 5 h in the presence of Golgi Stop and Golgi Plug solutions (BD Biosciences) and then stained with NK-cell-surface markers. Cells were fixed, permeabilized with a cytofix/cytoperm kit (Becton Dickinson), and then intracellularly stained for IFN- γ and TNF- α production (Table Supplement 3, <http://links.lww.com/QAD/B388>) [10]. In some experiments of degranulation, K562 target cells were preincubated with 10 μ g/ml of 17B1.3 anti-B7-H6 blocking mAb. Data were analyzed with Flow Jo version 9 (TreeStar).

Table 1. Summary of clinical characteristics of the individual studies.

	AFR-CI ^a	HIV-2 ⁺ ^a	CAU-CI ^a	LTNP-HIV-1 ⁺ ^a	HIC-HIV-1 ⁺ ^a
Number	15	23	20	21	10
Male/female	7/9	10/13	9/11	11/10	5/5
Age (year)	39 \pm 13	49 \pm 10	43 \pm 12	39 \pm 9	44 \pm 15
CD4 ⁺ cell count (cells/ μ l)	1104 \pm 137	958 \pm 324	902 \pm 66	758 \pm 335	699 \pm 169
Time since HIV diagnosis (years)	–	14.1 \pm 5.6	–	10.1 \pm 1.8	10.6 \pm 1.3
Plasma viral load (copies/ml)	–	14 \pm 6	–	51 006 \pm 87 573	74 \pm 40
HIV DNA (copies/10 ⁶ PBMC)	–	156 \pm 164	–	1131 \pm 1626	42 \pm 29

Results are presented as mean \pm SD. Plasma viral load was quantified by an ultrasensitive realtime polymerase chain reaction (qPCR) assay with a lower limit detection of 1 copy per milliliter of plasma; PBMC, peripheral blood mononuclear cells.

^aAFR, samples from African individuals; CAU, samples from Caucasian individuals; CI, healthy controls; HIC, HIV controllers; LTNP, long-term nonprogressor.

HLA genotyping

DNA samples were extracted from patients' whole blood with the QIAamp DNA blood mini kit (Qiagen, Hilden, Germany). HLA class-I alleles were hybridized with the LABType SSO kit (One Lambda, Canoga Park, USA). HLA sequences were read with a LABScan 200 (Luminex, Austin, TX) and computer-assisted HLA Fusion software.

Staining and analysis of uninfected and HIV-infected target cells for ligands of natural killer-cell receptors

CEM or purified CD4⁺ T cells were infected with 10³ 50% tissue culture infective dose of the HIV-1_{JR-CSF} or HIV-2_{ROD} strains [16,17]. A period of 7–9 days after infection, cells were stained with 10 µg/ml of soluble fusion proteins (NKp30, NKp44, and NKp46-Ig from R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA) or mAbs (ULBP-1 to ULBP-6 and B7-H6 from R&D Systems, BAT-3 from Abcam, anti-HLA-ABC from Beckton Dickinson) for 2 h at 4 °C. Cells were then incubated with rat antimouse IgG Ab (1/50) or Fcγ-fragment-specific conjugated affinity-purified F(ab')₂ fragments of goat antihuman IgG (1/50; Jackson ImmunoResearch, West Grove, Pennsylvania, USA), as described [18]. To measure viral protein levels from HIV-1 and HIV-2, cells were fixed, permeabilized with a cytofix/cytoperm kit (Becton Dickinson), and then intracellularly stained with KC-57 mAb (Beckman Coulter). Data were analyzed with Flow Jo version 9 (TreeStar).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with Prism software (GraphPad, La Jolla, California, USA). The nonparametric Mann–Whitney *U*, Kruskal–Wallis, and Wilcoxon tests were used as appropriate for comparison of continuous variables between groups. Correlations between variables were calculated with the nonparametric Spearman rank-order test. Principal component analysis (PCA) was performed with XLSTAT (Addinsoft, Paris, France). The component loadings were calculated as correlations between measured expression values and principal component scores. *P* values more than 0.05 were not considered significant.

Results

NKp30 downmodulation in HIV-2⁺ infection

An extensive phenotypic study was performed in NK cells from asymptomatic and treatment-naïve people infected with HIV-2⁺; all had been infected for at least 5 years, a CD4⁺ T-cell count more than 400 cells/µl, and almost all an undetectable viral load (Table 1 and Supplementary Table 1, <http://links.lww.com/QAD/B388>). Both the frequency and absolute counts of circulating CD3⁺CD56⁺ NK cells were similar in HIV-2⁺ patients and healthy African controls; their absolute

counts were slightly higher than those in uninfected and HIV-1⁺ (LTNP and HIC) Caucasian (Fig. 1a). The CD56^{bright} and CD56^{dim} NK-cell subsets were equivalent in the different groups (Fig. 1b), but the proportion of CD56⁺ NK cells was much higher in viremic HIV-1⁺ patients (data not shown), as described [19].

A hierarchical clustering analysis of CD3⁺CD56^{dim} NK cells revealed that HIV-2⁺ patients were easily distinguishable from healthy African donors, whereas healthy African and Caucasian controls expressed similar levels of NK cell markers, excepted CD161 (Supplementary Fig. 1, <http://links.lww.com/QAD/B388>), as described [15]. However, NK cells from HIV-2⁺ patients highly expressed the late cell-activating human leukocyte antigen (HLA - DR isotype) marker [median: 35.0% (8.4–89.7)], compared with healthy donors (less than 11.0%) and HIV-1⁺ patients [median 18.1% (6.2–39.6) for LTNP and 8.8% (1.5–21.0) for HIC] (*P* < 0.0001) (Fig. 1c and d). Similar effects were observed in the median fluorescence intensity (Supplementary Fig. 2a, <http://links.lww.com/QAD/B388>). Of note, expression of HLA-DR was not increased in CD3⁺ T (data not shown), indicating that lymphocyte activation was exclusively restricted to NK cells from HIV-2-infected patients. NK cells from HIV-2⁺ patients were however indistinguishable from all other groups, in their cell-surface expression of inhibitory receptors, including NKG2A, KIR2DL1, and KIR2DL2/DL3 receptors (Supplementary Figs. 2 and 3, <http://links.lww.com/QAD/B388>), excepted KIR3DL1, which is significantly higher in HIV-2⁺ patients than in any other group, regardless of HLA genotype (Supplementary Fig. 3, <http://links.lww.com/QAD/B388>; Supplementary Table 2, <http://links.lww.com/QAD/B388>). In contrast, expression of activating NK receptors [NKp30, NKp46, NKG2D, and DNAX accessory molecule-1 (DNAM1)] was lower in HIV-2⁺ patients. The frequency of NKp30 was drastically decreased in HIV-2 [median: 37.1% (8.1–73.5)] compared with HIV-1⁺ patients and healthy donors (medians between 85.8 and 90.1%, respectively) (*P* < 0.0001) (Fig. 1c; Supplementary Fig. 2, <http://links.lww.com/QAD/B388>). Of note, CD3ζ, a coreceptor of NKp30 [20], was similarly expressed in infected and noninfected samples (Supplementary Fig. 4, <http://links.lww.com/QAD/B388>). More importantly, in HIV-2⁺ patients NKp30 is correlated negatively with HLA-DR (*r* = -0.4970; *P* = 0.0002) and positively with NKG2A (*r* = 0.5324; *P* < 0.0001) and Siglec-7 (*r* = 0.4621; *P* = 0.0004) (Fig. 1; Supplementary Fig. 2, <http://links.lww.com/QAD/B388>) [21]. Nonetheless, none of these markers was correlated with either biological parameters (CD4⁺ T-cell count, CD4⁺ T-cell nadir, plasma viral load, or HIV-2 DNA level).

These data were strengthened by a PCA. Figure 2a shows that HIV-2⁺ patients segregated distinctly from all the other groups; HLA-DR expression was linked to the

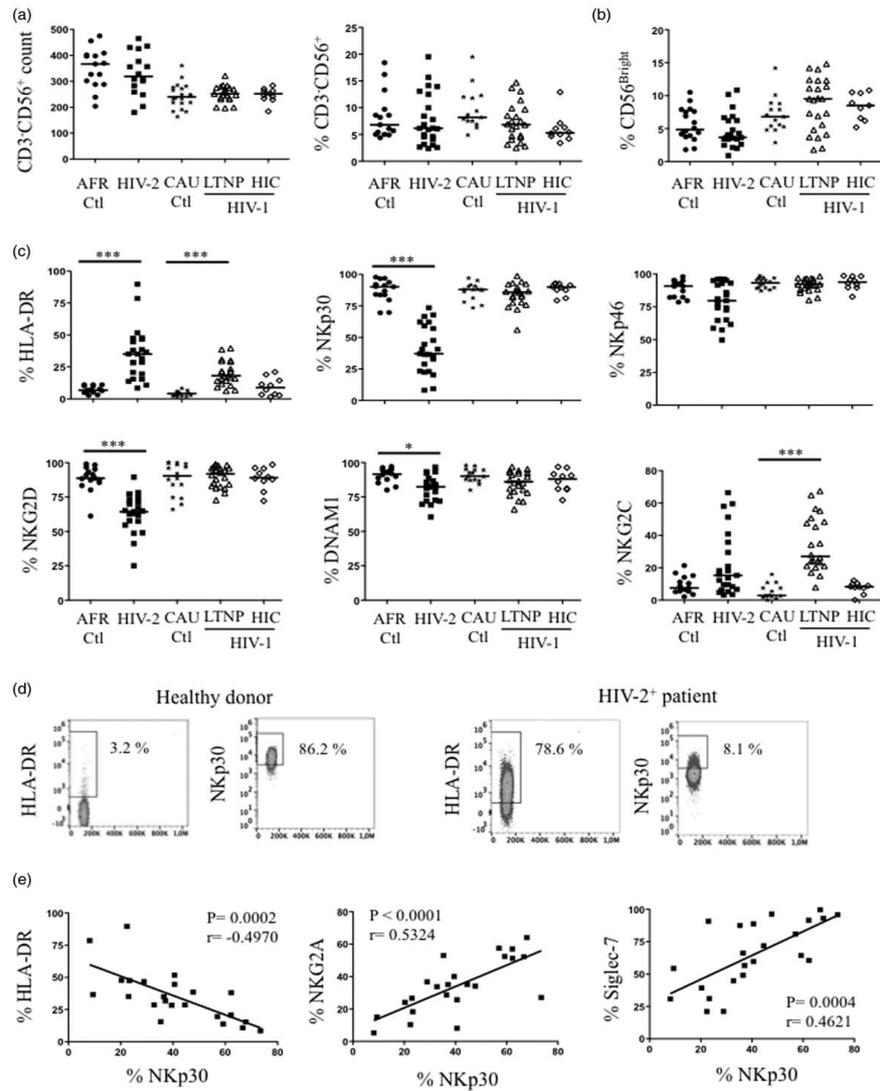


Fig. 1. Quantitative and phenotypic characteristics of natural killer cells in HIV-2⁺ patients. (a) Absolute count and percentage of CD3⁺CD56⁺ natural killer cells. (b) Percentage of CD56^{bright} natural killer cells among CD3⁺CD56⁺ natural killer cells. (c) Percentage of CD3⁺CD56⁺ natural killer cells expressing HLA-DR and major activating markers (NKp30, NKp46, NKG2D, DNAX accessory molecule-1, and NKG2C). Data are shown for African healthy donors (closed circles), HIV-2⁺ patients (closed squares), long-term nonprogressor HIV-1⁺ patients (open triangles), HIV controllers HIV-1⁺ patients (open diamonds), and healthy Caucasian controls (stars). Horizontal bars represent the median. Intergroup comparisons were assessed with the Kruskal–Wallis test and Dunn’s posttest. **P* < 0.05; ***P* < 0.01, ****P* < 0.001. (d) Flow cytometry expression of HLA-DR and NKp30 on CD3⁺CD56⁺ natural killer cells from representative HIV-2⁺ patient and healthy donor. (e) Correlation of NKp30 expression with HLA-DR, NKG2A, and Siglec-7 expression on CD3⁺CD56⁺ natural killer cells from HIV-2⁺ patients.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

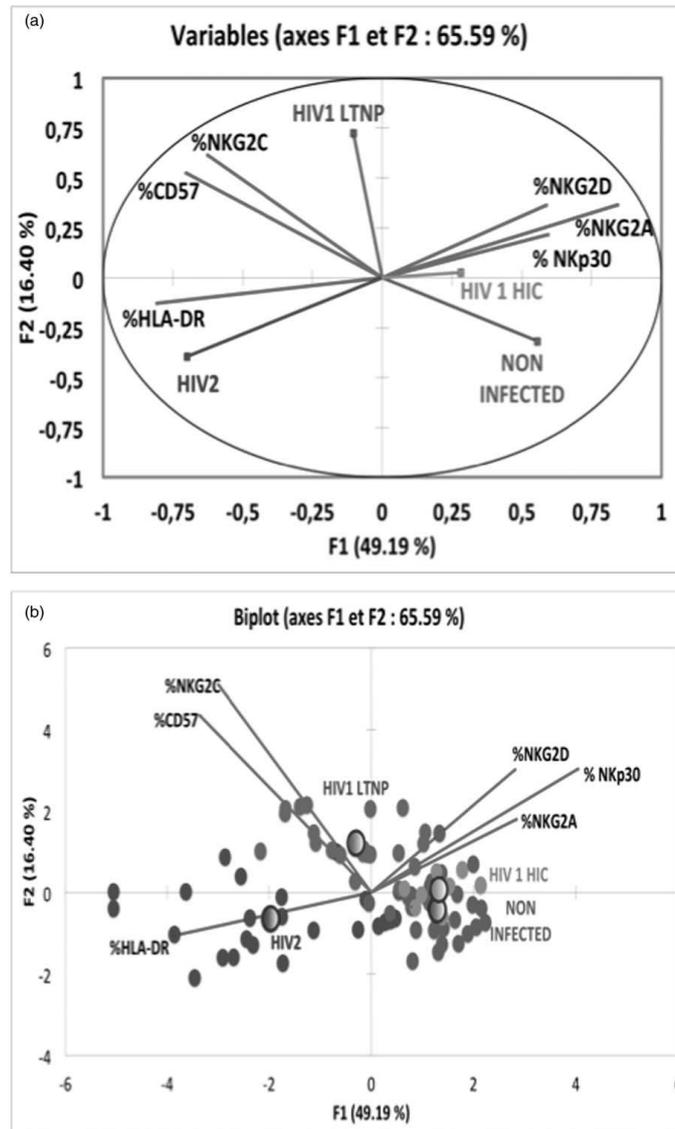


Fig. 2. Principal component analysis of natural killer cell markers from HIV-2⁺ patients. (a) Statistical proximity between different natural killer-cell markers tested. (b) Statistical distribution of the individuals according to the differential expression of natural killer cell markers. Analyses are performed for HIV-2⁺ patients (blue), HIV-1⁺ long-term nonprogressor (violet), HIV-1⁺ HIV controllers (orange), and healthy donors (green).

HIV-2⁺ patients, NKG2C and CD57 markers were mostly associated with LTNP HIV-1⁺ status, whereas HIC HIV-1⁺ patients and healthy controls were close together but not directly associated with any specific NK-cell marker (Fig. 2b). All together these data strongly suggested that HIV-2 induces a different NK-cell signature than that found in LTNP and HIC HIV-1⁺ patients.

NKp30 downmodulation in natural killer cells is associated with upregulation of B7-H6 on HIV-2⁺ target cells

The role of specific ligands of major NK receptors was assessed by infecting target cells *in vitro* by HIV-2_{ROD} or HIV-1_{JR-CSF} strains. The frequency (mean \pm SD) of infected cells was 25.2 \pm 8.1% and 27.5 \pm 7.9% for HIV-2 and HIV-1, respectively (data not shown). A specific and significant downmodulation of major histocompatibility complex (MHC) class-I molecules was observed in HIV-2-infected cells (mean \pm SD: 50.3 \pm 7.5%, compared with uninfected cells, mean \pm SD: 94.3 \pm 3.8%; $P < 0.0001$; Fig. 3a), as previously reported for HIV-1 [23,24]. To take into account the profound modulation of several activating NK receptors in HIV-2-infected patients (Fig. 1c), we tested the expression of their ligands on target cells. Figure 3b shows that both infected and uninfected bystander cells expressed ULBP-1 to ULBP-6 in both HIV-1 and HIV-2 infected cultures, whereas none of MHC class-I polypeptide-related sequence (MIC)-A, MIC-B, or ligands for NKp46 were induced after infection by HIV-1 or HIV-2 (Fig. 3b; data not shown). Ligands for NKp44 were not induced by HIV-2, but overexpressed on bystander HIV-1⁺ cells, as previously reported [22,23]. Inversely, ligands for NKp30 were not induced in HIV-1, but increased in cells infected by HIV-2, compared with bystander cells; significant difference was only reached with uninfected cells ($P = 0.0144$) (Fig. 3b). However, we cannot completely exclude that at least a fraction of bystander cells that upregulated B7-H6 were infected but did not express sufficient amounts of HIV antigens for detection. To more directly specify expression of NKp30 ligand on target cells infected by HIV-2, purified CD4⁺ T cells were IL-2-activated, infected by HIV_{ROD} and then tested for surface-expression of BAT-3 and B7-H6, two major cellular ligands of NKp30 [24,25]. Figure 3c shows that BAT-3 expression is not, or very slightly, modulated after HIV-2 infection, whereas B7-H6 seems to be mainly induced in CD4⁺ T cells *in-vitro* infected by HIV-2_{ROD}. Of note, soluble forms of B7-H6 and BAT-3 were not detectable in the serum of patients infected with either form of HIV or of healthy donors (data not shown).

NKp30 downmodulation in natural killer cells is associated with aberrant functional capacity in HIV-2⁺ patients

To determine the functional significance of these findings, we examined the overall functional capacity of NK-cell

subsets from HIV-2⁺ patients. Figure 4a shows that in untreated condition, a median of 22.6% of NK cells from HIV-2 patients produced IFN- γ , compared with less than 1.6% for healthy donors ($P < 0.0001$). After stimulation by IL-12/IL-18 (Fig. 4a), the level of IFN- γ was not significantly increased in NK cells from HIV-2 patients, compared with healthy donors (Fig. 4a). of note, level of TNF- α was similar in untreated NK cells from healthy and HIV-2⁺ individuals and not strongly increased after stimulation with IL-12/IL-18 (data not shown).

Next, NK cells were tested in degranulation assay against MHC-class I-negative K562 target cells. This cell line was previously shown to express high level of surface B7-H6. Figure 4b show that degranulation of NK cells was significantly less increased in HIV-2⁺ patients, compared with healthy donors (Mann-Whitney test, $P = 0.005$), whereas, similar expression of the different cytotoxic granule components (perforin, granzyme B, and granulysin) was observed in samples from HIV-2⁺ and healthy individuals (Supplementary Fig. 5, <http://links.lww.com/QAD/B388>). To more directly assess the role of NKp30 in the degranulation of NK cells from HIV-2⁺ patients, blocking experiments were performed with the 17B1.3 anti-B7-H6 blocking mAb, able of disrupting the recognition of NKp30. In the presence of anti-B7-H6 Ab, similar level of degranulation was observed in NK cells from HIV-2⁺ and healthy individuals (Fig. 4b).

Discussion

Our in-depth analysis revealed that HIV-2⁺ patients and healthy donors can be separated in two distinct groups of patients by their specific NK cell profiles. On the other hand, the difference between HIV-2⁺ and HIV-1⁺ (LTNP and HIC) patients, suggests that NK cells play distinct roles in these two infections. Specifically, we observed that HIV-2⁺ patients harbored an uncommon NK-cell signature, highlighted by a low expression of activating receptor associated with chronic cell-activation, suggesting that HIV-2 might sustain constitutive NK-cell activation, even in the absence of a detectable viral load. High level of HLA-DR expression is already considered as a hallmark of HIV-1⁺ infection [10], however in HIV-2, HLA-DR expression inversely correlated with NKp30. Expression of this activating receptor is also markedly impaired in HIV-1, but only in viremic HIV-1⁺ patients [26], and mainly among the CD56⁻ NK-cell-subset, which largely accounts for the highly defective NK-cell-mediated lysis of autologous dendritic cells [27,28], a subset of NK cells not over-presented in HIV-2⁺ patients. Decreases of NKp30 was previously reported in numerous other diseases, including hepatitis C virus (HCV) infection [29], papillomavirus-induced cervical cancer [30], acute myeloid leukemia [31], neuroblastoma [32], Sjögren syndrome [33], and anti-synthetase syndrome [34], suggesting a key role of this

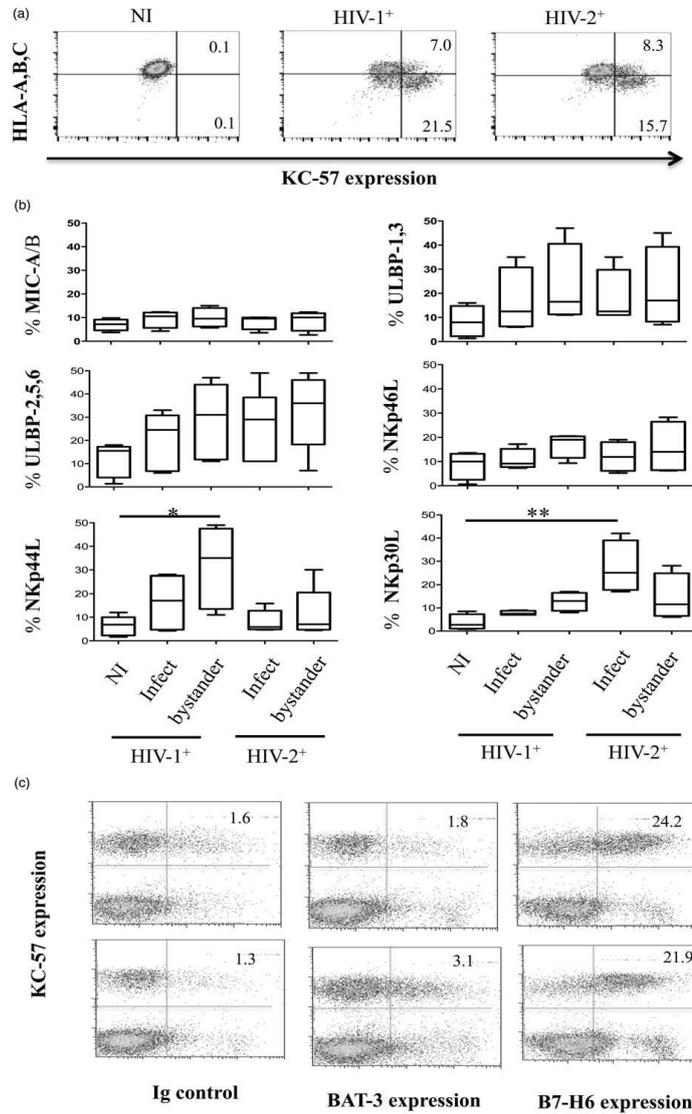


Fig. 3. Expression of ligands for natural killer cell receptors on target cells infected by HIV-2. (a) Representative flow cytometry expression of MHC class I molecules (HLA-A, B, and C) on uninfected (NI) or CEM infected by HIV-1_{JR-CSF} (CEM-HIV-1⁺) or HIV-2_{Rod} (CEM-HIV-2⁺) according to HIV infection (KC-57 expression). (b) Expression of ligands for NKG2D (MIC-A/B, ULBP1/3, and ULBP 2/5/6), and NCRs (Nkp30L, Nkp44L, and Nkp46) on uninfected (NI) or CEM infected by HIV-1_{JR-CSF} (HIV-1⁺) or HIV-2_{Rod} (HIV-2⁺). Data are shown for infected (infect; KC-57⁺) and uninfected bystander (bystander; KC-57⁻) CEM cells. Intergroup comparisons were assessed with the Kruskal–Wallis test and Dunn’s posttest. **P* < 0.05; ***P* < 0.01. (c) Expression of Nkp30 ligands (B7-H6 and BAT-3) on purified CD4⁺ T cells from two healthy donors infected by HIV-2_{Rod} strain. Percentage of HIV-2-infected cells (KC-57⁺) that expressed ligand of Nkp30 are shown. NI, non infected.

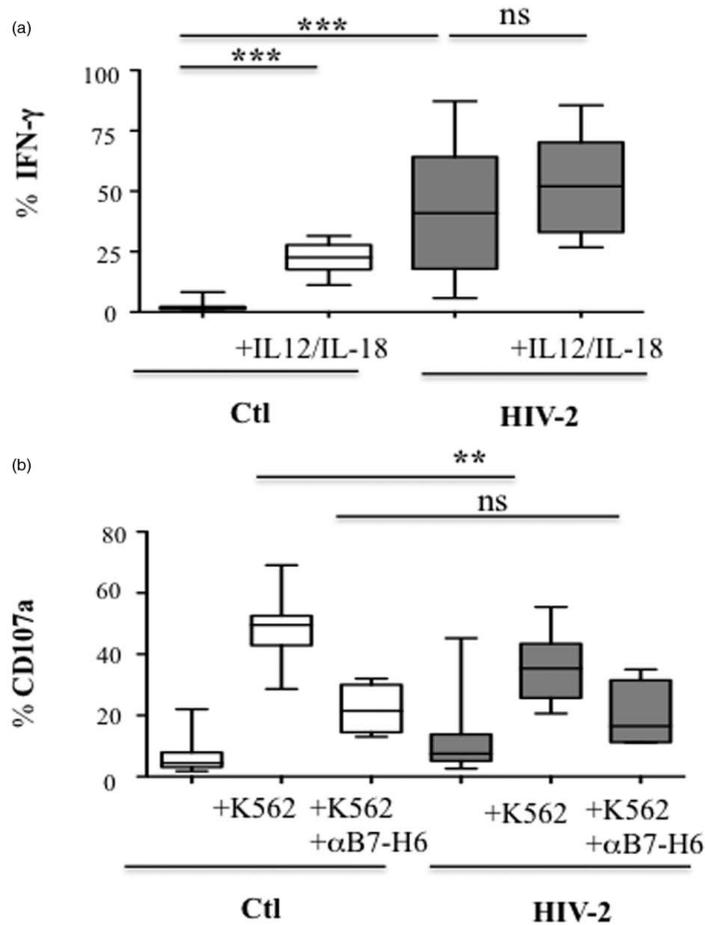


Fig. 4. Functional correlations with NKp30 in natural killer cells from HIV-2⁺ patients. (a) Intracellular expression of IFN- γ in natural killer cells from healthy donors (Ctl) and HIV-2⁺ patients. Cells were tested without treatment or after an overnight treatment with IL12 and IL18 (+IL12/IL18). (b) Degranulation assay by expression of CD107a on natural killer cells from healthy donors (controls) and HIV-2⁺ patients. Cells were untreated or tested in the presence of K562 target cells (+K562) treated or not by 10 mg/ml anti-B7-H6 blocking mAb (+ α B7-H6). Effector and target were used at a 1:1 ratio. Intergroup comparisons were assessed with the Kruskal–Wallis test and Dunn's posttest. *** P < 0.0001; ** P < 0.01. ns: nonsignificant.

activating NK receptor in pathology. Furthermore, in chimpanzees, which control infection transmitted by exposure to human-adapted HIV-1 variants, functionally competent NK cells were associated with NKp30 expression, during the course of infection [35]. It is however important to note that in contrast to HIV-1, cell ligands for NKp44 are not induced in HIV-2 [22], consistently with the absence of a 3S motif in the HIV-2 envelope protein [23,36].

Low expression of NKp30 on NK cells was mainly associated with the production of soluble forms of NKp30 ligands, including B7-H6 and BAT-3 [37,38]. In contrast, in this study we found that B7-H6 was not detectable as soluble forms in serum samples from HIV-2 infected patients but was expressed in large quantities as a membrane-bound form at the surface of infected target cells, whereas it was found on few, if any, HIV-1-infected cells as firstly described by Ward *et al.* [22]. These findings

support the hypothesis that decreased expression of NKp30 on NK cells from HIV-2⁺ patients is mediated by a chronic exposure to B7-H6 expressed on target cells, as previously reported in other settings [31,37,39].

Very little is known, however, about the possible mechanisms involved in the downmodulation of activating NK receptors, although it appears to depend on physical contact between NK effector cells and target cells expressing various specific ligands. Examples of chronic ligand exposure-induced downregulation of NK-cell-activating receptors, other than NKp30, include DNAM1, CD16, and NKG2D [40]. Thus, several lines of evidence indicate that NKG2D ligands induce receptor endocytosis and suggest that the rate of receptor internalization and degradation depends on the nature of the ligand. In addition, functional impairment is apparently associated with downmodulation of membrane-bound ligand-mediated NKG2D; for example, reduced receptor expression prevents NK cells from rejecting MICA-positive tumors in transgenic mice that overexpress MICA [41]. Similar data was reported for the downmodulation by NKp30 by cellular ligands in human cells infected by HCV [42] and in this study by HIV-2. Thus, a similar phenomenon may serve as a mechanism for evasion from NK-cell immune-surveillance in different situations, including HIV-2 infection. It seems however that in HIV-2, downmodulation of NK30 was independent of the expression of the CD3 ζ signaling NKp30 adaptor protein [20], whereas functional impairment of this coreceptor was shown after stimulation of CD3⁺ T and NK cells in a context of persistent ligand exposure for NKG2D [43]. Together, these data suggest that disruption of natural cytotoxicity receptor (NCR)/NCR-ligand expression is a significant event that must be considered in evaluating the balance between NK-cell activation and inhibition.

Another remarkable point is that NK cells from HIV-2⁺ patients produce very high amounts of IFN- γ , regardless of the environmental pressure. This could be explained by the sustain activation status of NK cells, in accordance with the 'discontinuity theory' [44], in which the immune system responds to sudden changes in antigenic stimulation and is rendered tolerant by slow or continuous stimulation. The recent study of Huot *et al.* [45] concerning the control of simian immunodeficiency virus (SIV) replication by NK cells in lymph node follicles of African green monkeys would encourage us to test this hypothesis.

In conclusion, we have shown that the decreased expression of the activating NKp30 NK-cell receptors in HIV-2 results in impaired function caused by a permanent exposure of B7-H6. This could represent a novel molecular mechanism of viral escape that may participate in immune subversion mediated by a chronic HIV-2 infection, or alternatively for a very efficient

control of HIV-2 replication through NKp30-mediated recognition and killing of infected cells by NK cells.

Acknowledgements

We wish to thank patients and all the members of the ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 Study Group composed of Victor Appay, Brigitte Autran, Amel Besseghir, Françoise Brun-Vezinet, Nathalie Chaghil, Charlotte Charpentier, Sandrine Couffin-Cardiergues, Rémi Cheynier, Diane Descamps, Anne Hosmalin, Gianfranco Pancino, Nicolas Manel, Lucie Marchand, Sophie Matheron, Fideline Colin, Livia Pedroza-Martins, Marie-Anne Rey-Cuille, Asier Sáez-Cirion, Assia Samri, Rodolphe Thiebaut, and Vincent Vieillard. We also thank Ioannis Theodorou, Sabine Canivet, and Marie-Line Moussalli for HLA typing.

The current work was supported in part by the ANRS (France Recherche Nord&Sud Sida-hiv Hépatites), the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, and the Université Pierre et Marie Curie, Paris, France. O.L. received a doctoral fellowship from Sidaction.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

1. Tienen CV, van der Loeff MS, Zaman SM, Vincent T, Sarge-Njie R, Peterson I, *et al.* **Two distinct epidemics: the rise of HIV-1 and decline of HIV-2 infection between 1990 and 2007 in rural Guinea-Bissau.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; **53**:640–647.
2. Nyamweya S, Hegedus A, Jaye A, Rowland-Jones S, Flanagan KL, Macallan DC. **Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: lessons for viral immunopathogenesis.** *Rev Med Virol* 2013; **23**:221–240.
3. Thiébaut R, Matheron S, Taieb A, Brun-Vezinet F, Chêne G, Autran B, Immunology Group of the ANRS CO5 HIV-2 Cohort. **Long-term nonprogressors and elite controllers in the ANRS CO5 HIV-2 cohort.** *AIDS* 2011; **25**:865–867.
4. Grabar S, Selinger-Leneman H, Abgrall S, Pialoux G, Weiss L, Costagliola D. **Prevalence and comparative characteristics of long-term nonprogressors and HIV controller patients in the French Hospital Database on HIV.** *AIDS* 2009; **23**:1163–1169.
5. Orange JS. **Natural killer cell deficiency.** *J Allergy Clin Immunol* 2013; **132**:515–525.
6. Gasser S, Raulet DH. **Activation and self-tolerance of natural killer cells.** *Immunol Rev* 2006; **214**:130–142.
7. Sun JC, Lanier LL. **NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8⁺ T cells.** *Nat Rev Immunol* 2011; **11**:645–657.
8. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, *et al.* **Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells.** *Science* 2011; **331**:44–49.
9. Fauci AS, Mavilio D, Kottlil S. **NK cells in HIV infection: paradigm for protection or targets for ambush.** *Nat Rev Immunol* 2005; **5**:835–843.
10. Vieillard V, Fausther-Bovendo H, Samri A, Debré P, French Asymptomatiques à Long Terme (ALT) ANRS-CO15 Study Group. **Specific phenotypic and functional features of natural killer cells from HIV-infected long-term nonprogressors and HIV controllers.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; **53**:564–573.

11. Jost S, Altfeld M. Evasion from NK cell-mediated immune responses by HIV-1. *Microbes Infect* 2012; **14**:904–915.
12. Nuvor SV, van der Sande M, Rowland-Jones S, Whittle H, Jaye A. Natural killer cell function is well preserved in asymptomatic human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection but similar to that of HIV-1 infection when CD4 T-cell counts fall. *J Virol* 2006; **80**:2529–2538.
13. Bächle SM, Malone DF, Buggert M, Karlsson AC, Isberg PE, Biague AJ, et al. Elevated levels of invariant natural killer T-cell and natural killer cell activation correlate with disease progression in HIV-1 and HIV-2 infections. *AIDS* 2016; **30**:1713–1722.
14. Angin M, Wong G, Papagno L, Vermisse P, David A, Bayard C, et al. Preservation of lymphopoietic potential and virus suppressive capacity by CD8+ T cells in HIV-2-infected controllers. *J Immunol* 2016; **197**:2787–2795.
15. Pettidémange C, Beccuqart P, Wauquier N, Béziat V, Debré P, Leroy EM, et al. Unconventional repertoire profile is imprinted during acute chikungunya infection for natural killer cells polarization toward cytotoxicity. *PLoS Pathog* 2011; **7**:e1002268.
16. Reeves JD, Hibbits S, Simmons G, McKnight A, Azevedo-Pereira JM, Moniz-Pereira J, et al. Primary human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) isolates infect CD4-negative cells via CCR5 and CXCR4: comparison with HIV-1 and simian immunodeficiency virus and relevance to cell tropism in vivo. *J Virol* 1999; **73**:7795–7804.
17. Pettidémange C, Achour A, Dispinseri S, Malet I, Sennepin A, Ho Tsong Fang R, et al. A single amino-acid change in a highly conserved motif of gp41 elicits HIV-1 neutralization and protects against CD4 depletion. *Clin Infect Dis* 2013; **57**:745–755.
18. Baychelier F, Sennepin A, Ermonval M, Dorgham K, Debré P, Vieillard V. Identification of a cellular ligand for the natural cytotoxicity receptor Nkp44. *Blood* 2013; **122**:2935–2942.
19. Mavilio D, Lombardo G, Benjamin J, Kim D, Follman D, Marcenaro E, et al. Characterization of CD56-/CD16+ natural killer (NK) cells: a highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**:2886–2891.
20. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2001; **19**:197–223.
21. Brunetta E, Fogli M, Varchetta S, Bozzo L, Hudspeth KL, Marcenaro E, et al. The decreased expression of Siglec-7 represents an early marker of dysfunctional natural killer-cell subsets associated with high levels of HIV-1 viremia. *Blood* 2009; **114**:3822–3830.
22. Ward J, Bonaparte M, Sacks J, Guterman J, Fogli M, Mavilio D, et al. HIV modulates the expression of ligands important in triggering natural killer cell cytotoxic responses on infected primary T-cell blasts. *Blood* 2007; **110**:1207–1214.
23. Fausther-Bovendo H, Sol-Foulon N, Candotti D, Agut H, Schwartz O, Debré P, et al. HIV escape from natural killer cytotoxicity: nef inhibits Nkp44L expression on CD4+ T cells. *AIDS* 2009; **23**:1077–1087.
24. Pogge von Strandmann E, Simhadri VR, von Tresckow B, Sasse S, Reiners KS, Hansen HP, et al. Human leukocyte antigen-B-associated transcript 3 is released from tumor cells and engages the Nkp30 receptor on natural killer cells. *Immunity* 2007; **27**:965–974.
25. Brandt CS, Baratin M, Yi EC, Kennedy J, Gao Z, Fox B, et al. The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor Nkp30 in humans. *J Exp Med* 2009; **206**:1495–1503.
26. Mavilio D, Benjamin J, Daucher M, Lombardo G, Kottlil S, Planta MA, et al. Natural killer cells in HIV-1 infection: dichotomous effects of viremia on inhibitory and activating receptors and their functional correlates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100**:15011–15016.
27. De Maria A, Fogli M, Costa P, Murdaca G, Puppo F, Mavilio D, et al. The impaired NK cell cytolytic function in viremic HIV-1 infection is associated with a reduced surface expression of natural cytotoxicity receptors (Nkp46, Nkp30 and Nkp44). *Eur J Immunol* 2003; **33**:2410–2418.
28. Mavilio D, Lombardo G, Kinter A, Ogli M, La Sala A, Ortolano S, et al. Characterization of the defective interaction between a subset of natural killer cells and dendritic cells in HIV-1 infection. *J Exp Med* 2006; **203**:2339–2350.
29. Alter G, Jost S, Rihn S, Reyor LL, Nolan BE, Ghebremichael M, et al. Reduced frequencies of Nkp30+Nkp46+, CD161+, and NKG2D+ NK cells in acute HCV infection may predict viral clearance. *J Hepatol* 2011; **55**:278–288.
30. Garcia-Iglesias T, Del Toro-Arreola A, Albarán-Somoza B, Del Toro-Arreola S, Sanchez-Hernandez PE, Ramirez-Dueñas MG, et al. Low Nkp30, Nkp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions. *BMC Cancer* 2009; **9**:186.
31. Fauriat C, Moretta A, Olive D, Costello RT. Defective killing of dendritic cells by autologous natural killer cells from acute myeloid leukemia patients. *Blood* 2005; **106**:2186–2188.
32. Semeraro M, Rusakiewicz S, Minard-Colin V, Delahaye NF, Enot D, Vély F, et al. Clinical impact of the Nkp30/B7-H6 axis in high-risk neuroblastoma patients. *Sci Transl Med* 2015; **7**:283ra55.
33. Rusakiewicz S, Nocturne G, Lazure T, Semeraro M, Flament C, Caillat-Zucman S, et al. NCR3/Nkp30 contributes to pathogenesis in primary Sjogren's syndrome. *Sci Transl Med* 2013; **5**:195ra96.
34. Hervier B, Perez M, Allenbach Y, Devilliers H, Cohen F, Uzunhan Y, et al. Involvement of NK cells and Nkp30 pathway in antisynthetase syndrome. *J Immunol* 2016; **197**:1621–1630.
35. Rutjens E, Mazza S, Biassoni R, Koopman G, Ugolotti E, Fogli M, et al. CD8+ NK cells are predominant in chimpanzees, characterized by high NCR expression and cytokine production, and preserved in chronic HIV-1 infection. *Eur J Immunol* 2010; **40**:1440–1450.
36. Vieillard V, Costagliola D, Simon A, Debré P, French Asymptomatics à Long Terme (ALT) Study Group. Specific adaptive humoral response against a gp41 motif inhibits CD4 T-cell sensitivity to NK lysis during HIV-1 infection. *AIDS* 2006; **20**:1795–1804.
37. Pesce S, Tabellini G, Cantoni C, Patrizi O, Coltrini D, Rampinelli F, et al. B7-H6-mediated downregulation of Nkp30 in NK cells contributes to ovarian carcinoma immune escape. *Oncotarget* 2015; **4**:e1001224.
38. Pazina T, Shemesh A, Brusilovsky M, Porgador A, Campbell KS. Regulation of the functions of natural cytotoxicity receptors by interactions with diverse ligands and alterations in splice variant expression. *Front Immunol* 2017; **8**:369.
39. Sanchez-Correa B, Gayoso I, Bergua JM, Casado JG, Morgado S, Solana R, et al. Decreased expression of DNAM-1 on NK cells from acute myeloid leukemia patients. *Immunol Cell Biol* 2012; **90**:109–115.
40. Carlsten M, Norell H, Bryceson YT, Poschke J, Schedvins K, Junggren HG, et al. Primary human tumor cells expressing CD155 impair tumor targeting by down-regulating DNAM-1 on NK cells. *J Immunol* 2009; **183**:4921–4930.
41. Wiemann K, Mitrücker HW, Feger U, Welte SA, Yokoyama WM, Spies T, et al. Systemic NKG2D down-regulation impairs NK and CD8 T cell responses in vivo. *J Immunol* 2005; **175**:720–729.
42. Holder KA, Stapleton SN, Gallant ME, Russell RS, Grant MD. Hepatitis C virus-infected cells downregulate Nkp30 and inhibit ex vivo NK cell functions. *J Immunol* 2013; **191**:3308–3318.
43. Hanaoka N, Jabri B, Dai Z, Ciszewski C, Stevens AM, Yee C, et al. NKG2D initiates caspase-mediated CD3zeta degradation and lymphocyte receptor impairments associated with human cancer and autoimmune disease. *J Immunol* 2010; **185**:5732–5742.
44. Pradeu T, Vivier E. The discontinuity theory of immunity. *Sci Immunol* 2016; **1**:AAG0479.
45. Huot N, Jacquelin B, Garcia-Tellez T, Rasclé P, Ploquin MJ, Madec Y, et al. Natural killer cells migrate into and control simian immunodeficiency virus replication in lymph node follicles in African green monkeys. *Nat Med* 2017; **23**:1277–1286.

Supplementary Table 1. Characteristics of HIV-2-infected patients

Patient #	Gender	Age (years)	CD4 count (cell/ul)	Nadir CD4 count (cell/ul)	Time since Diagnosis (years)	Viral load (copies/mL)	Viral DNA (copies/ 10 ⁶ PBMC)	Country of birth
1	M	44	707	444	20.5	1.3	187	Ivory Coast
2	F	54	1 118	539	27.3	2.4	10	Guinea Conakry
3	F	43	858	706	22.7	<1	10	France
4	M	52	891	602	11.3	<1	131	Ivory coast
5	F	50	1 776	971	8.8	<1	53	Ghana
6	M	70	502	390	7.4	58.0	127	Senegal
7	F	34	1 212	711	12.5	5.6	88	The Gambia
8	F	48	859	601	9.2	75.0	40	Guinea Conakry
9	M	59	1 300	712	8.8	<1	nd	Colombia
10	F	52	604	618	25.6	<1	10	Guinea Conakry
11	M	46	904	359	7.5	1.1	nd	Ivory coast
12	F	40	1 170	597	15.4	<1	484	Ivory coast
13	F	49	812	513	10.2	<1	nd	Guinea Conakry
14	F	49	895	528	11.3	<1	28	Ivory coast
15	M	55	927	588	9.0	<1	nd	Ivory coast
16	F	49	836	528	10.4	<1	nd	Ghana
17	F	39	1 036	800	12.7	<1	53	Ivory coast
18	M	53	1 228	1165	17.6	<1	170	Guinea Bissau
19	F	21	1125	465	nd	<1	nd	Ivory coast
20	F	59	1123	520	16.0	<1	nd	Ivory coast
21	F	50	887	485	16.2	<1	517	Ivory coast
22	M	48	399	434	14.4	<1	nd	France
23	M	52	413	314	18.2	5.7	342	France
24	M	57	1 090	562	23.0	<1	107	Ivory coast

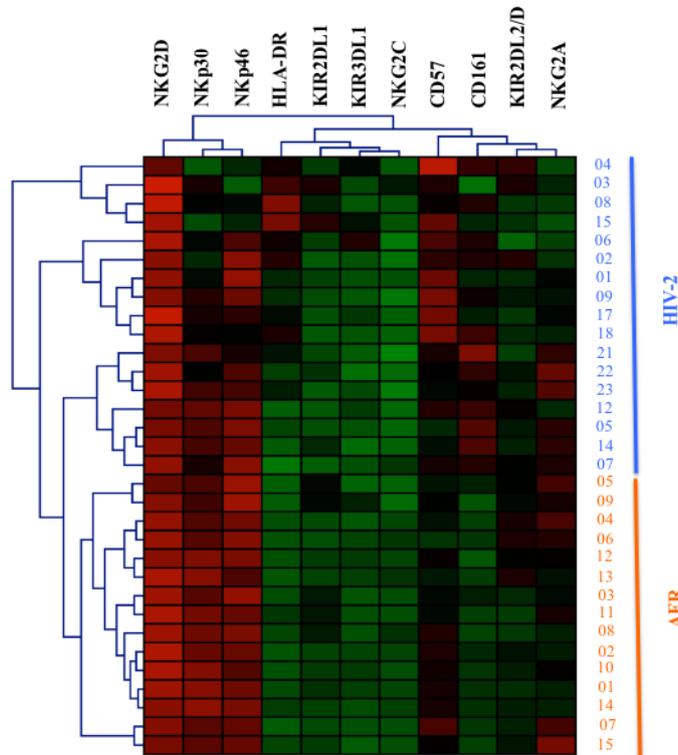
M: male; F: Female

Supplementary Table 2. HLA class I typing of HIV-2-infected patients

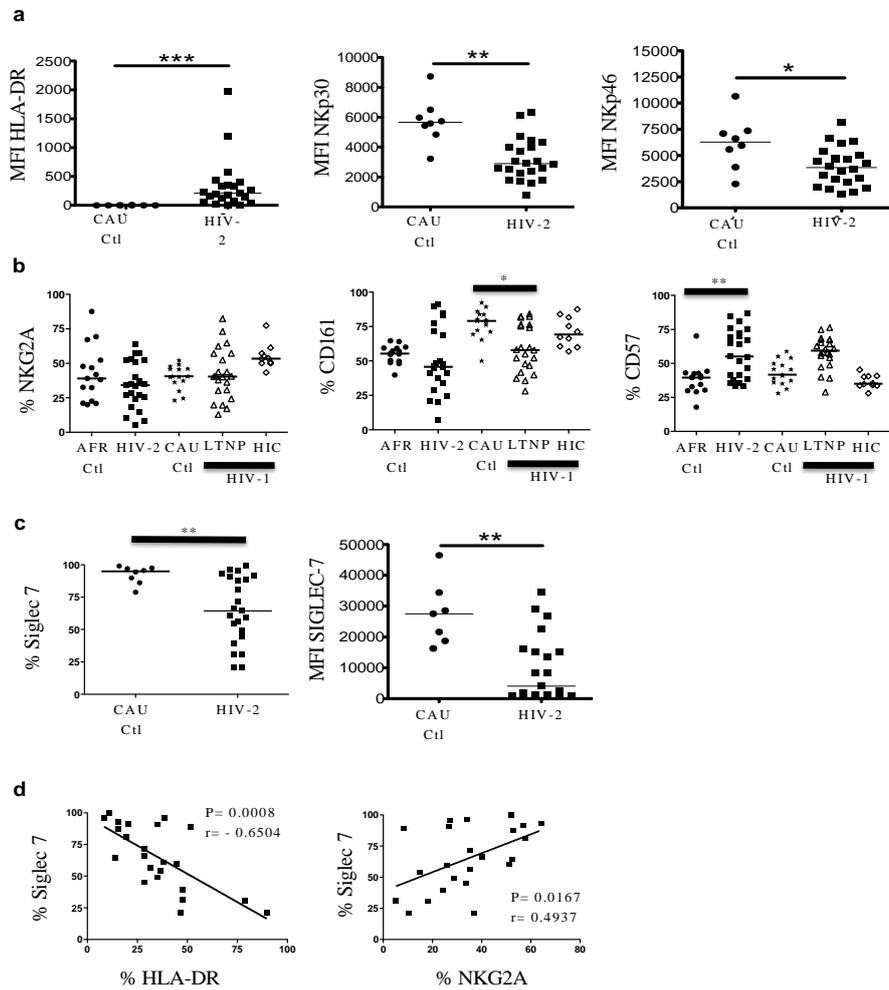
Patient #	HLA-A	Bw4	HLA-B	Bw4/Bw6	HLA-C	C1/C2
1	03:01:01/23:01:01		35:01:01/53:01:01	Bw6/Bw4	04:01:01/04:01:01	C2/C2
2	03:01:01/74:01		14:02:01/15:52	Bw6/Bw6	07:01:01/08:02:01	C1/C1
3	01:23/33:79		15:16:01/35:03:01	Bw4/Bw6	04:01:01/14:02:01	C2/C1
4	02:05:01/03:01:01		49:01:01/57:03:01	Bw4/Bw4	07:01:01/18:01	C1/C2
5	68:01:01/68:02:01		07:02:01/52:01:02	Bw6/Bw4	nd	
6	02:05:01/02:05:01		27:03/53:01:01	Bw4/Bw6	02:02:01/04:01:01	C2/C2
7	03:01:01/26:01:01		58:01:01/58:01:01	Bw4/Bw4	03:02:01/07:01:01	C1/C1
8	34:02:01/68:02:01		15:03:01/53:01:01	Bw6/Bw4	02:10/04:01:01	C2/C2
9	01:01:01/29:02:01		44:03:01/57:01:01	Bw4/Bw4	06:02:01/16:01:01	C2/C1
10	02:01:01/23:01:01	Bw4	15:03:01/52:01:02	Bw6/Bw4	02:03/16:01:01	C2/C1
12	33:03:01/68:02:01		53:01:01/53:01:01	Bw4/Bw4	04:01:01/04:01:01	C2/C2
13	34:02:01/34:02:01		07:05:01/53:01:01	Bw6/Bw4	04:01:01/07:02:01	C2/C1
14	02:01:01/68:01:01		15:16:01/51:01:01	Bw4/Bw4	14:02:01/16:01:01	C1/C1
17	03:01:01/03:01:01		35:01:01/53:01:01	Bw6/Bw4	04:01:01/04:01:01	C2/C2
18	23:01:01/23:01:01		07:02:01/14:02:01	Bw6/Bw6	07:02:01/08:02:01	C1/C1
21	33:03:01/33:03:01		53:01:01/53:01:01	Bw4/Bw4	04:01:01/04:01:01	C2/C2
22	02:01:01/29:02:01		39:01:01/44:03:01	Bw6/Bw4	07:02:01/16:01:01	C1/C1
23	24:01:01/25:01:01	Bw4/Bw4	35:01:01/44:02:01	Bw6/Bw4	nd	
24	23:01:01/34:02:01		53:01:01/53:01:01	Bw4/Bw4	04:01:01/04:01:01	C2/C2

Nd: not done

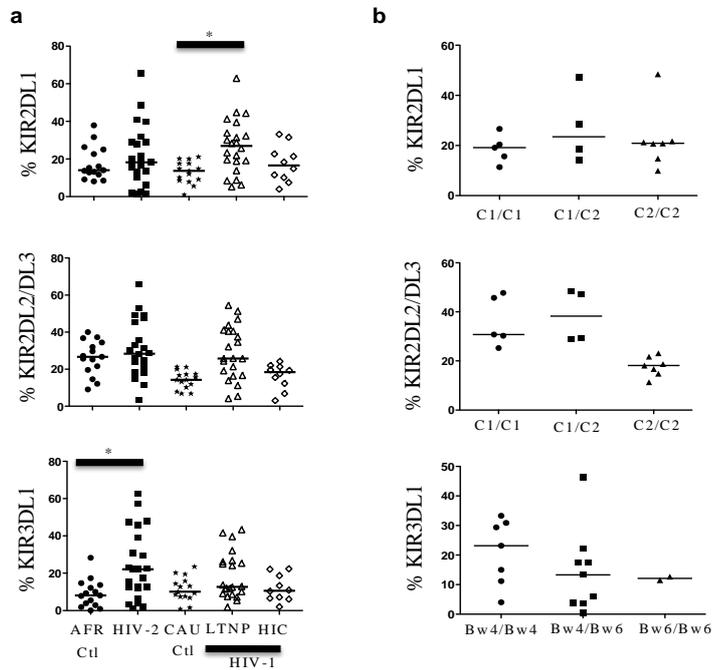
Supplementary Fig. 1



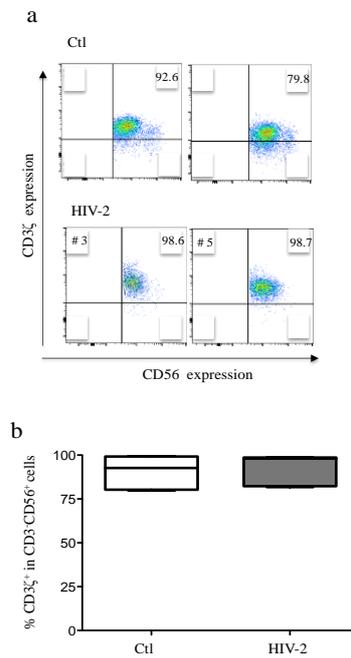
Supplementary Fig. 1. Hierarchical clustering of the 11 combinations of NK cell markers from HIV-2⁺ patients. Characteristics of each HIV-2⁺ patient are reported in Supplementary Table 1. This analysis was performed with 17 HIV-2-infected patients and 15 healthy controls of the same origin (AFR). Each horizontal line is dedicated to a definite NK marker, with the color of each square reflecting the percentage of expression of the corresponding marker in each NK sample. The values measured for samples are color displayed and rank ordered: green colors are inferior to median, and red superior to median. Analysis was performed with the Genesis program (available at www.genome.tugraz.at), as described (Vieillard et al., 2010).



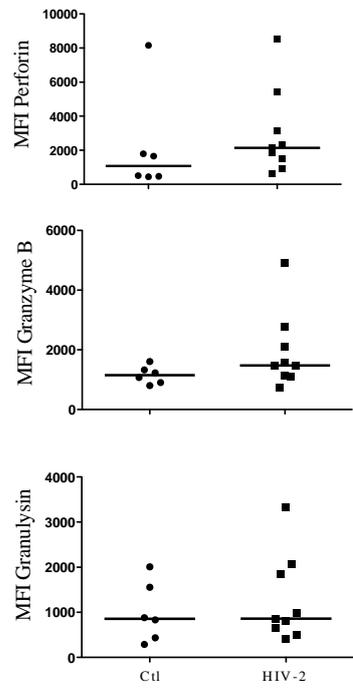
Supplementary Fig. 2. Complementary analysis of phenotypic NK cell markers from HIV-2⁺ patients. (a) Median fluorescence intensity (MFI) of HLA-DR, NKp30, and NKp46 on CD3⁺CD56⁺ NK cells. (b) Percentage of differentiation markers (NKG2A, CD161, and CD57) among the CD3⁺CD56⁺ NK cells. Data are shown for healthy African donors (AFR, solid circles), HIV-2⁺ patients (solid squares), LTNP HIV-1⁺ patients (open triangles), HIC HIV-1⁺ patients (open diamonds), and healthy Caucasian controls (CAU, stars). Horizontal bars represent the median. Intergroup comparisons were assessed with the Kruskal-Wallis test and Dunn's post-test. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. (c) Percentage and MFI of Siglec-7 expression among the CD3⁺CD56⁺ NK cells. Data are shown for HIV-2⁺ patients (solid squares) and healthy controls (solid circles). Unpaired comparison was assessed with the Mann-Whitney test; ** $p = 0.0072$. (d) Correlation of Siglec



Supplementary Fig. 3. Analysis of inhibitory KIR markers in NK cells from HIV-2⁺ patients. (a) Percentage of CD3⁺CD56⁺ NK cells expressing KIR2DL1, KIR2DL2/DL3, and KIR3DL1. Data are shown for healthy African donors (AFR, solid circles), HIV-2⁺ patients (solid squares), LTNP HIV-1⁺ patients (open triangles), HIC HIV-1⁺ patients (open diamonds) and healthy Caucasian controls (CAU, stars). Horizontal bars represent the median. Intergroup comparisons were assessed with the Kruskal-Wallis test and Dunn's post-test. * $p < 0.05$. (b) Analysis of the recognition of inhibitory KIR (KIR2DL1, KIR2DL2/DL3, and KIR3DL1) and their respective HLA class-1 group ligands (Supplementary Table 2).



Supplementary Fig. 4. Expression of CD3 ζ in NK cells from HIV-2⁺ patients. (a) Representative Dot-plots of intracellular CD3 ζ expression in NK cells from 2 HIV-2-infected patients (HIV-2; patients # 3, and 5) and 2 healthy donors (Ctl). Frequency of CD3 ζ ⁺ NK cells is noted for each sample. (b) Quantification of intracellular CD3 ζ frequency in NK cells from 5 HIV-2-infected patients and 5 healthy donors (Ctl). CD3⁺CD56⁺ NK cells were stained with the CD247 (CD3 zeta) monoclonal Ab (6B10.2), PercP-eFluor 710 from eBioscience.



Supplementary Fig. 5. Analysis of cytolytic markers in NK cells from HIV-2⁺ patients. Median fluorescence intensity (MFI) of intracellular expression of perforin, granzyme B, and granulysin, among the CD3⁺CD56⁺ NK cells. Data are shown for HIV-2⁺ patients (solid squares) and healthy controls (Ctl, solid circles). Horizontal bars represent the median.

Article n°3

A comparison of cell activation and exhaustion, expression of HIV co-receptors and restriction factors in HIV-1 infected and HIV-2 infected Non Progressors

Diallo MS^{1,2}, Samri A^{1,2}, Charpentier C³, Bertine M³, Cheynier R⁴, Thiébaud R⁵, Matheron S⁶, Collin F⁵, Brun-Vézinet F^{3,7}, Autran B^{1,8}; ANRS CO5 IMMUNOVIR-2 and ANRS CO15 ALT Study Groups.

Résumé :

L'infection par le VIH progresse le plus souvent vers le stade SIDA, cependant une faible proportion des patients infectés arrive à contrôler l'infection : ce sont les Long Term Non Progressor (LTNP). Le VIH-1 LTNP et le VIH-2 font tous deux partir d'un modèle de faible pathogénicité du VIH. Les LTNP expriment un HLA particulier (HLA B*27 et B*57) qui les protège et représente un frein au développement du virus. De même que le SIV et le VIH-2 le réservoir du VIH-1 LTNP a été localisé majoritairement dans les lymphocytes T CD4⁺ transitionnelle mémoire (TTM) et les centrale mémoire (TCM) mais aussi dans les monocytes. Les principaux corécepteurs du virus du VIH-1 en plus du récepteur CD4 sont le CCR5 et CXCR4 en fonction du tropisme viral, secondairement d'autres corécepteurs peuvent être utilisés tel que le CXCR6. Des facteurs de restriction capables de bloquer l'évolution du virus sont exprimées par les cellules à des degrés différents tels que : SAMHD-1, Blimp-1 et TRIM5 α qui n'aurait pas d'influence sur le VIH-1. Dans cette étude nous avons analysé des PBMC préalablement congelé de sujets VIH1 LTNP (cohorte ANRS CO15). Les résultats ont été comparés aux patients VIH-2⁺ (cohorte ANRS CO-05) et aux donneurs sains VIH⁻ (Établissement Français du Sang). Un marquage membranaire et intracellulaire a été réalisé pour évaluer l'expression de différents marqueurs PD1, CCR5, CXCR6, SAMHD1, Blimp1 et TRIM5a sur les différentes sous populations des cellules T CD4⁺. L'activation cellulaire a été évaluée par la présence HLA- DR, qui était plus forte dans les TTM des VIH-1 LTNP comparée aux sujets VIH-2⁺ et aux donneurs sains (VIH⁻). L'expression de PD1 quant à elle était plus élevée sur les sous-populations de cellules T CD4⁺

des LTNP par rapport aux groupes contrôles (VIH-2⁺ et Donneurs sains). L'analyse du corécepteur CCR5 a montré une légèrement augmentation (sans différence significative) dans les différentes sous populations alors que le niveau était plus faible sur les cellules T CD4⁺ CXCR5⁺PD1⁺ (Tfh) chez les HIV-1 LTNP comparé aux deux autres groupes ; à l'inverse, l'expression du CXCR6 était significativement plus faible chez les VIH-1 LTNP dans lymphocyte T CD4⁺ totaux, TN, TCM et TTM comparée aux donneurs sains (respectivement $p < 0.01$, $p < 0.05$ les TN, TCM et TTM). L'expression de SAMHD1 était significativement plus élevée dans toutes les sous-populations des cellules CD4 totaux, activés et resting des sujets VIH-1 LTNP comparée aux deux autres groupes. Cependant l'analyse de Blimp1 a montré des niveaux quasi identiques dans les différents groupes de même que pour TRIM5 α . Notre étude montre que le VIH-1 LTNP se caractérisent par une forte expression de PD1 et SAMHD1 dans les différentes sous-populations de CD4.

Introduction

The HIV infection can induce two types of attenuated diseases, both governed by immunity, whether intrinsic, innate or adaptive. One type due to the highly pathogenic HIV-1 is observed in exceptional genetically privileged persons with peculiar HLA class I genes able to drive major immune barriers against the virus (J. Blankson 2010; Casado et al. 2018). Another attenuated disease is due to HIV-2 which induces a milder infection along mechanisms which are not yet fully elucidated. A higher sensitivity of HIV-2 to hosts' immunity is associated to its lower pathogenicity (Santiago 2005; Alatrakchi et al. 2006; Leligdowicz et al. 2007, Angin et al. 2016;) but other molecular mechanisms seem at play. Both retroviruses are sensitive to antiretroviral drugs, albeit at a lesser degree for HIV-2, but cannot be eradicated from the HIV reservoirs. The HIV / SIV reservoirs are predominantly localized in lymphoid tissues among very heterogeneous CD4 T cell populations. The long-life subset of central-memory CD4 T cells (TCMs) is usually the main reservoir of HIV-1/SIV but the level of TCM infection appears to be a critical factor for functional cure and might reflect or influence differences in pathogenicity between HIV-1 and HIV-2 or SIVagm. Indeed, contrasting with the SIVmac239 in rhesus macaques the SIVagm infection in AGM monkeys predominates into the more differentiated, shorter life transitional-memory (TTM) and effector-memory (TEM) CD4 T cells (Paiardini et al. 2009). Similarly our group showed that the HIV-1 reservoirs were lower in TCM than in TTM from HIV-1 infected non-progressors expressing HLA-B*27 or B*57 and correlated with the anti-HIV CD8 T cell response (Descours et al. 2012). More recently we also showed that the HIV-2 reservoirs from Non-Progressors predominate among TTM (Samri et al. 2019).

The distinct pathogenic profiles of these two cousin viruses seem to involve several host's cells port of entry and restriction factors with distinct characteristics depending on host and viral species. First while the low SIVagm pathogenicity seems to be related to a lower CCR5 expression in TCM from AGM monkeys than from Rhesus macaques, this mechanism does not seem to be involved in the HIV-2 pathogenicity (Samri et al. 2019) nor in the LTNP process (Descours et al. 2012), although the CCR5 expression was not compared between CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs and HIV-2 NPs. In addition, a peculiar envelope sequence of HIV-2 confers the ability to use the alternative co-receptor CXCR6. Such a viral sequence and CXCR6 usage also appear to participate to the low pathogenicity of SIVagm in AGM monkeys and even to some slowly progressing HIV-1 diseases ((Wetzel et al. 2018). The

chemokine receptor CXCR6 is known to be expressed by small subsets of human T cells, but not by monocytes or dendritic cells (Unutmaz et al. 2000). SIV can penetrate cells in vitro through various alternative transmembrane receptors including CXCR6 (Wetzel et al. 2018). We recently showed that the CXCR6 gene and protein expression levels are significantly higher in TTM than in TCM from HIV-2 non progressors, thus correlating with the higher reservoir levels observed in TTM (Samri et al. 2019). However similar analysis has not yet been done in cells from HIV-1 infected LTNPs.

Second some restriction factors appear to play opposite roles in controlling pathogenicity of these viruses. Among others, SAMHD1, which interacts with the HIV-1 vpr but not with the HIV-2 vpx, limits HIV-1 replication in myeloid cells (Hrecka et al. 2011; Laguette et al. 2011) and in naïve CD4 T cells. The resting CD4 T cells express considerable levels of SAMD-1 which protects them against HIV-1 infection while the expression of SAMHD-1 decreases in activated cells as a function of cell divisions. It is not yet known however whether SAMHD1 expression in CD4 T cells from HIV-1 LTNPs differ from those observed in healthy uninfected individuals or even from HIV-2 Non-Progressors. A second factor, Blimp-1, which blocks transcription of Bcl-6, T-bet, IL-2, IFN- γ and IFN- β in lymphocytes (Cimmino et al. 2008, Iwasaki et al. 2013, Keller and Maniatis 1991, Martins et al. 2008), is also able to repress HIV transcription by binding the HIV-1 LTR (Michaels et al. 2015). Our group showed the levels of the gene transcripts encoding for Blimp-1 negatively correlated with the HIV-1 infection levels in TCM from aviremic and viremic LTNPs. As Blimp1 inhibits Tfh differentiation in which Bcl6 is highly expressed (Martins et al. 2008; Crotty et al. 2010), and (Crotty et al. 2010) the question of whether this Blimp-1 expression disequilibrium reveals a disbalance in Tfh cells among TCM remains unknown. However, HIV-2 should not be affected by Blimp-1 since its LTR sequence does not show any binding capacity to Blimp-1. Paradoxically Blimp-1 expression is increased in highly activated exhausted T cells from untreated HIV-1 infected patients together with immune check-points such as PD-1, LAG3 and CTLA-4 and T cell depletion and apoptosis (Che et al 2012, Seddiki et al 2013, Shankar et al 2011). Yet nothing is known about the levels of Blimp-1 expression in CD4 T cell subsets from non-progressors with low pathogenic HIV-1 and HIV-2 infection. Another restriction factor, Trim-5a (N-terminal tripartite motifs 5) might play distinct roles in the pathogenicity of HIV-1 and HIV-2/SIV. While Trim-5a has a very high anti-retroviral activity for SIV by degrading the SIV capsid proteins (Hatzioannou et al 2004, Stremlau et al 2004, 2005, Towers et al 2000; Towers, Collins, and Takeuchi 2002 Williams and Burdo 2009),

HIV-1 capsids are resistant to the potent Trim-5a restriction effect. The HIV-2 capsid might be more sensitive than the HIV-1 capsid to Trim-5a degradation. In our recent study on HIV-2 NPs we showed higher levels of TRIM5 α transcripts in TCM than in TTM, inversely correlating with the HIV-2 reservoir levels, suggesting a negative effect of TRIM5 α on HIV-2, but those differences were not confirmed at the protein level (Samri et al. 2019) and it is not known whether the Trim-5 α expression in CD4 T cell subsets differs between non progressors infected with HIV-1 or HIV-2.

In an effort to compare the characteristics of host cells harbouring the reservoirs of these two types of attenuated HIV-1 and HIV-2 diseases in infected non progressors, we compared the levels of cell activation and exhaustion, the expression of CXCR6, SAMHD1, Blimp-1, Trim-5a using a comprehensive multiplex phenotypic analysis of CD4 cells.

Methods

Patients samples :

Cryoreserved peripheral blood cells (PBMC) were obtained from 10 HIV-1 infected LTNPs from the ANRS-CO15 ALT cohort (de Masson et al. 2014; Vieillard et al. 2010); 14 HIV-2 infected Non Progressors from the ANRS-Co4 cohort who had been previously included in (Samri et al. 2019). Patients characteristics are shown in Table 1 and 2. Data were compared to those obtained from PBMCs of 12 healthy HIV-negative donors including 7 from Etablissement Français du Sang (Pitié-Salpêtrière Hospital France) and 5 African healthy donors recruited in the Immunovir study and matched for geographic origin, sex and age. An ethical approval had been obtained from CPP and all patients and controls gave a signed informed consent.

Flow cytometry analysis

All analyses were performed on 10 million thawed PBMCs with an at least 80% viability by trypan blue exclusion. Cells were stained using a panel of antibodies targeting cell surface molecules : CD3APC-H7, CD4BV510, CD45RAFITC, CD27PE-Cy7, CCR7APC-R700, CXCR5AF647, PD-1BB700, CXCR6BV421 (all from BD-Bioscience, San-Jose, California, USA as described (Samri et al. 2019)). The intra-cellular staining included the anti-Trim-5a and IgGPE (both from Santa-Cruz Biotechnology, CA, USA), the A488-conjugated anti-SAMHD-1, a kind gift of O. Schwartz and the BV421-conjugated anti-Blimp-1 (Becton-Dickinson). A viability dye FSV620 (Invitrogen : L34976CD32PE) was added. All staining procedures were performed as described in (Samri et al. 2019). The labelled and fixed cells were run on the LSRTFortessa [Becton-Dickinson] from the CyPS flow-cytometry facility. The FCS files were analysed using the software FacsDIVA version 6.1.3 and Flowjo V10.

Statistics :

Statistical analysis and graphs were performed using the Prism software version 5.02. For non-parametric analysis, we used an ANOVA (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) with the Wilcoxon test followed by a Bonferroni post-test, the data were considered as significant when $P < 0.05$.

Table 1 : HIV-2 Participants characteristics (ANRS Co-5)

Participants	Gender	Age (years)	CD4 T-cell Counts (cells/mm ³)	Time since diagnosis (years)	Ultra-Sensitive Viral Load (copies/mL plasma)	HIV-2 DNA (copies/10 ⁶ PBMC)	HIV-2 group	Geographic Origin
1	M	52	891	11.3	<1	131	B	Ivory Coast
2	M	53	1228	17.6	<1	170	A1	Guinea Bissau
3	F	52	604	25.6	19	139	B	Guinea Conakry
4	M	57	1090	23	ND	107	A1	Ivory Coast
5	F	34	1212	12.5	5.6	88	A1	Gambia
6	F	50	1776	8.8	<1	53	B	Ghana
7	F	39	1036	12.7	<1	53	B	Ivory Coast
8	F	48	859	9.2	ND	40	B	Guinea Conakry
9	F	49	895	11.3	<1	28	B	Ivory Coast
10	F	54	1118	27.2	2.4	10	B	Guinea Conakry
11	M	59	1300	8.8	<1	<7.5	NA	Colombia
12	M	44	707	20.5	1.3	187	A	Ivory Coast
13#	F	43	858	22.7	<1	10	NA	Ivory Coast
14#	M	70	502	7.4	58	127	A	Guinea Conakry
Median		51	966	12.6	1	70.5 (88*)		
[IQR 25–75%]		[44-55]	[820-1216]	{9.1-22.8}	{1-4}	[34-135] *		

Table 2 : HIV-1 LTNP's characteristics

Subjects	Gender	age	Time since 1st seropositivity	CD4 %	CD4 T cell counts (cells/mm³)	pVL (RNA copies/ml plasma)	pVL (RNA log₁₀ copies/ml plasma)	HIV-1 DNA (copies/10⁶ PBMC)
02.002/4	M	44	15	38	1428	622	1,7	152
04.002/3	M	26	13	42	818	1 960	2,0	48
04.030/5	F	36	14	35	1011	154	2,2	25
04.036/4	F	35	11	34	392	1075	2,8	117
04.046/2	M	66	10	44	728	101	2,5	55
04.054/2	M	57	7	38	642	357	2,6	51
05.002/3	M	31	14	24	949	54 000	2,9	481
06.002/2	M	40	11	39	828	299	3,0	5
08.005/1	M	37	9	31	790	60	3,3	85
11.024/3	F	42	10	35	861	194	4,7	20
Median	-	37	11	35	827	194	2,6	51
[IQR 25–75%]	-	[35-43]	[10-13,5]	[35-39]	[759-905]	[101-357]	[2,2-2,95]	[25-101]

Results

Higher levels of activation and PD1 expression on CD4 T cells from HIV-1 than HIV-2 patients

We first compared the distribution of various CD4 T cell subsets in the three groups of individuals. The proportions of subsets did not vary much except for TTM that were lower in HIV-1 than others ($p < 0.031$) (Figure S1A). There were no differences as well in Tfh proportions, as assessed by expression of CXCR5 or co-expression of CXCR5 and PD-1. Similar findings were observed among activated CD4 T cells, as defined by HLA-DR expression (Figure S1B), and resting HLA-DR⁻ CD4 T cells despite a higher proportion of resting PD1⁺CXCR5⁺ cells in HIV-1 LTNPs (Fig S1C). Proportions of activated HLA-DR CD4 T cells did not differ between the three groups (Figure 1A) although the three memory subsets (TCM, TTM and TEM) from HIV-1 LTNP significantly contained more activated HLA-DR⁺ cells compared to HIV-2 NPs, the latter did not differ from HD, and more activated TEM than in HD ones (Figure 1B). However, the activation levels on total CD4 T cells did not correlate with HIV-1 plasma loads. To investigate whether this higher memory subset activation was associated with some cell exhaustion, we analysed the PD-1 expression in parallel. The proportions of CD4 T cells displaying PD-1, though low, were significantly higher on CD4 T cells from HIV-1 LTNPs compared to those from HIV-2 or healthy donors, even on resting cells ($p < 0.01$) (Figure 1C), as well as on the distinct subsets from HIV-1 LTNPs, compared to HIV-2 NPs or HD cells (Figure 1D). However, neither the percentages nor the MFI of PD1 expression correlated with the HIV-1 plasma loads or with the CD4 counts.

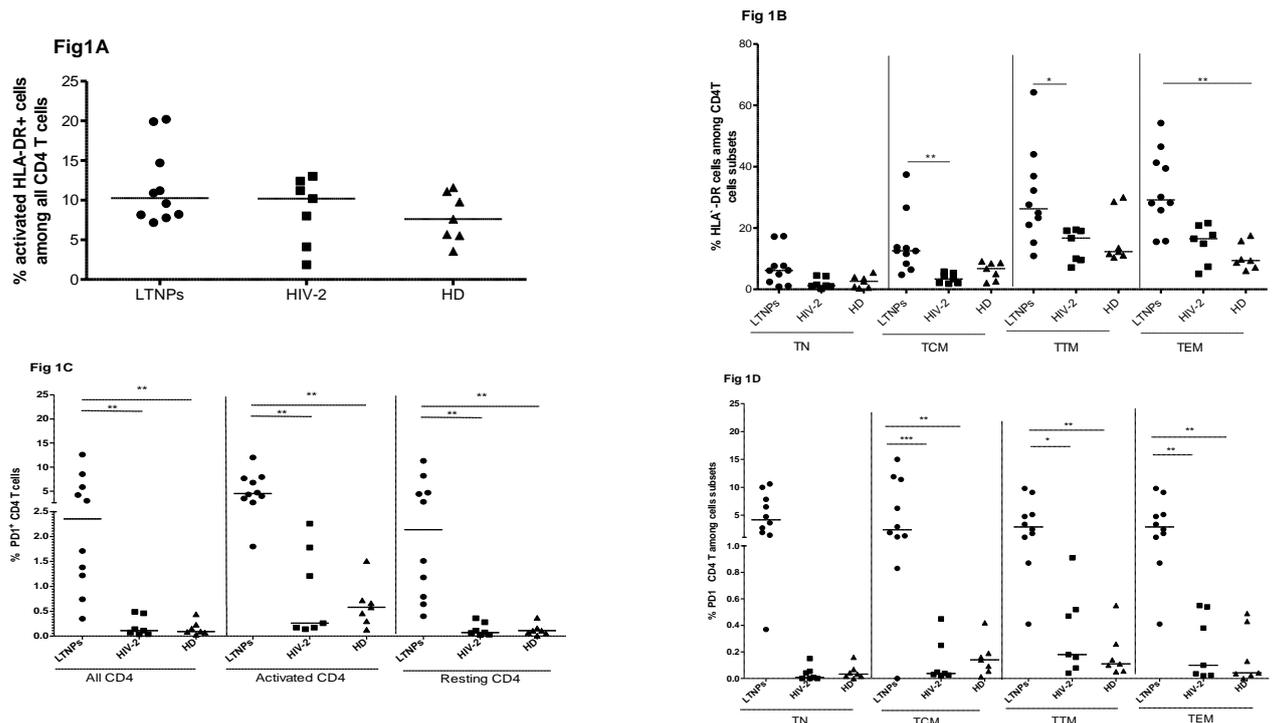


Figure 1 : Levels of cell activation and exhaustion in CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. A : Proportions of HLA-DR⁺ cells among total CD4 T cells; B : Proportions of HLA-DR⁺ cells among CD4 T cell subsets ; C : Proportions of PD1⁺ cells among total, activated (HLA-DR⁺) and resting (HLA-DR⁻) CD4 T cells ; D : Proportions of PD1⁺ cells among total CD4 T cell subsets from the three subjects groups. The p values *p<0.05 , **p<0.001 , ***p<0.0001.

Lower CXCR6 expression on CD4 T cells from HIV-1 than HIV-2 LTNPs

We then analyzed the proportions of co-receptors in total CD4 T cells as well as in the activated and resting sub-populations. We observed no differences in the CCR5 expression between HIV-1, HIV-2 Non Progressors or healthy donor cells except for TCM from HIV-1 LTNPs which displayed significantly higher CCR5 levels than TCM from HIV-2 NPs or HD (p=0,025). An inverse trend was observed in CXCR5⁺PD1⁺ Tfh cells, with a lower CCR5 expression from HIV-1 LTNPs cells compared to HIV-2 ones (though not significantly) and to healthy donors (p=0.034).

Conversely the levels of CXCR6 expression were significantly lower in total, naive, central- and transitional-memory CD4 T cells from HIV-1 LTNPs than in corresponding cells

from healthy subjects while this was true only for TN and TTM from HIV-2 individuals. An increasing gradient of CXCR6 expression was also observed from TN to the more differentiated TEM cells with higher proportions of CXCR6⁺ Tfh and PD1⁺ Tfh cells. As described for HIV-2 NPs and HDs (Samri et al. 2019) the proportions of TCM displaying CXCR6 were significantly lower than the TTM ones in HIV-1 infected LTNPs (p=0.031).

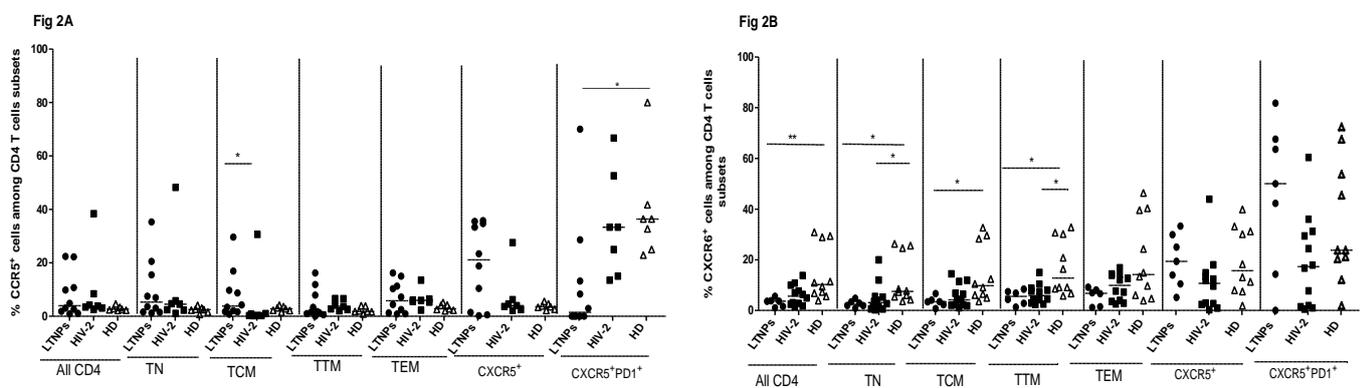


Figure 2 : Cell surface expression of the CCR5 and CXCR6 HIV co-receptors on CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. A : Proportions of CCR5⁺ cells among total CD4 T cells; **B :** Proportions of CXCR6⁺ cells among total CD4 T cells. The p values *p<0.05 , **p<0.001.

Higher SAMHD1 expression but not of Blimp-1 on CD4 T cells from HIV-1 LTNPs :

We then analyzed the levels of intra-cytoplasmic SAMHD1 expression in CD4 T cells from all subjects. We observed significantly higher proportions of SAMHD1⁺ cells among CD4 T cells from HIV-1 LTNP compared to HIV-2 NPs and healthy subjects, particularly in the less differentiated subsets of naive, TCM, TTM and Tfh cells, but not in the PD1⁺Tfh cells nor in

the most differentiated TEM cells (Figure 3A). These differences affected only the resting CD4 T cell subsets but not the activated ones (Figures 3B and 3C) while the low or high intensity of SAMHD1 expression did not differ between groups (Figure S2). There was no correlation between proportions of SAMHD1⁺ positive cells or its low or bright expressions and the HIV-1 viral loads.

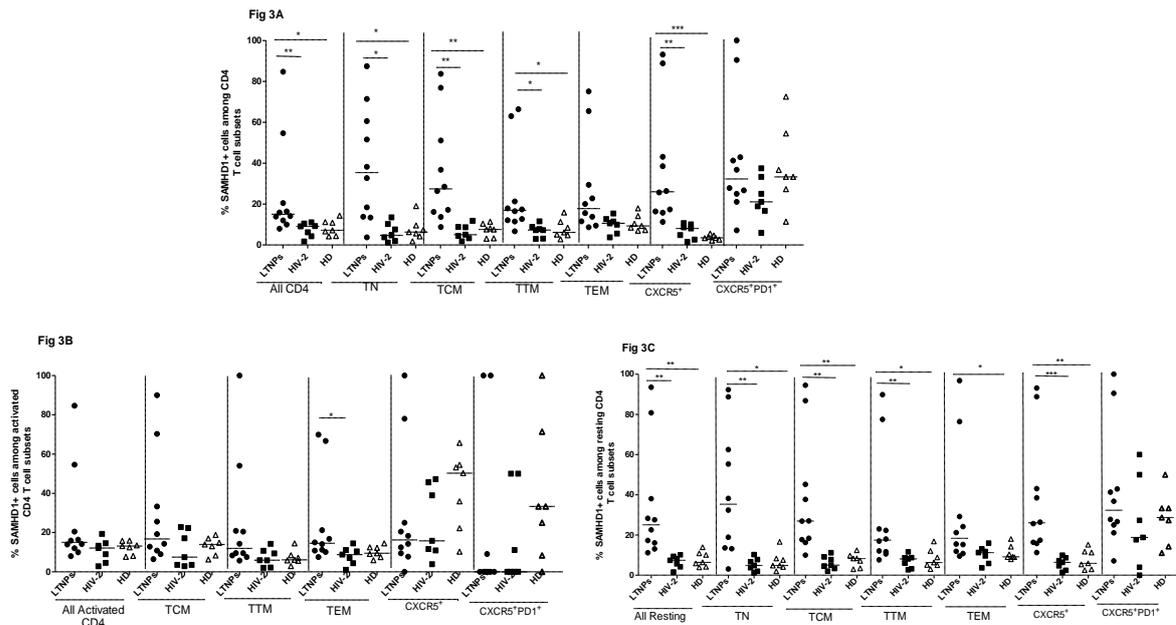


Figure 3 : Levels of SAMHD1 expression among CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. A : Proportions of SAMHD1⁺ cells among total CD4 T cells and their subsets; **B :** Proportions of SAMHD1⁺ cells among activated CD4 T cells and their subsets ; **C :** Proportions of SAMHD1⁺ cells among resting CD4 T cells and their subsets. The p values *p<0.05 , **p<0.001 , ***p<0.0001.

In contrast we did not observe differences in the Blimp1 expression in total CD4 T cells or in subsets from HIV-1, HIV-2 LTNPs and healthy subjects. A non-significant trend was observed toward a higher Blimp1 expression in TCM than in TTM from HIV-1 LTNPs (Fig 4 and S3A) without differences in proportions of Blimp1⁺ CD4 T cell subsets from the HIV-1 LTNPs. Activated CD4 T cells and subsets contained more Blimp1⁺ cells compared to resting ones (Fig. S3B, S3C), without differences between HIV-1 LTNPs, HIV-2 NPs and HDs (data not shown). However there were significantly less Blimp1⁺ cells among PD1⁺CXCR5⁺ Tfh cells from HIV-1⁺ LTNPs than from healthy donors but this was not the case for HIV-2 NP

ones (Figure 4B). Similarly there were more Blimp1⁺ cells among PD1⁺ than PD1⁻ total CD4 T cells from HIV-2 non progressors and healthy donors but not from HIV-1 LTNPs (Fig 4C).

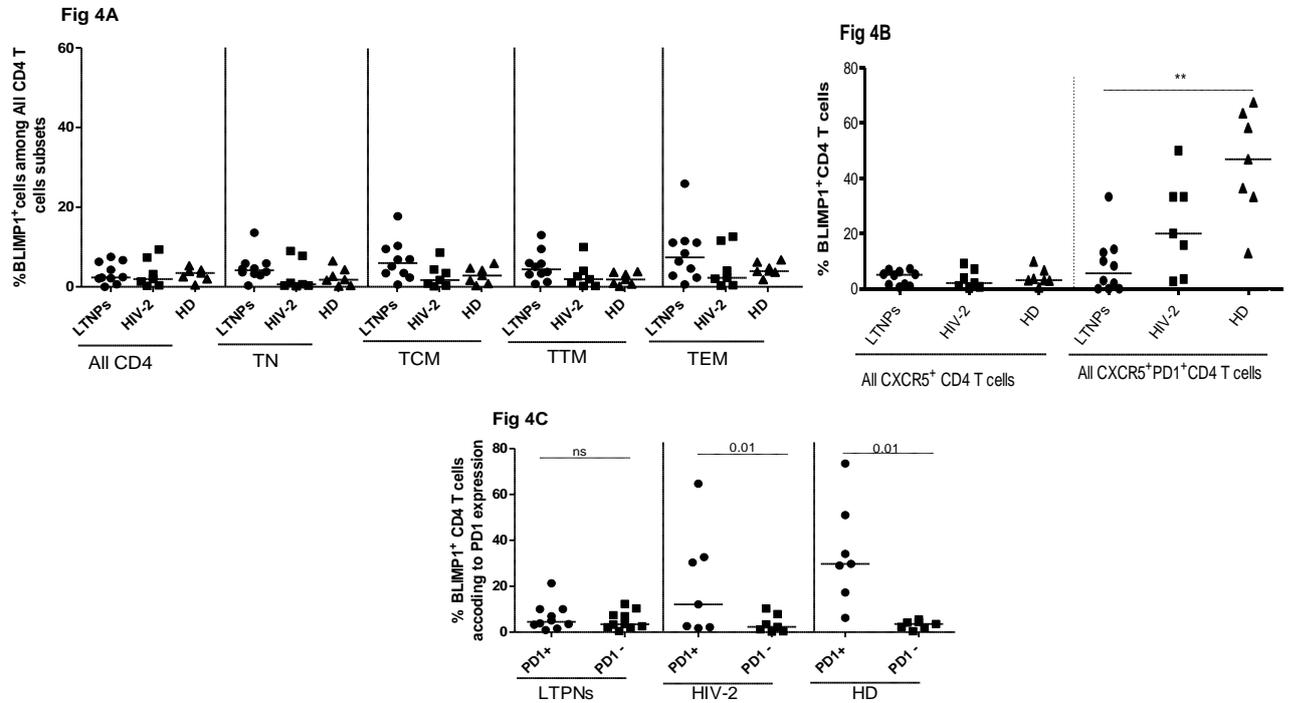


Figure 4 : Levels of Blimp1 expression among CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. A : Proportions of Blimp1⁺ cells among total CD4 T cells and their subsets; B : Proportions of Blimp1⁺ cells among total blood Tfh CXCR5⁺ CD4 T cells and their PD1⁺ subset; C : Proportions of Blimp1⁺ cells among the PD1⁺ and PD1⁻ fractions of total CD4 T cells. The p values **p<0.001

Finally when analyzing the intensity of Trim-5 α intra-cytoplasmic expression in total, resting and activated CD4 T cells and their subsets, we did not observe any difference between HIV-1, HIV-2 and healthy subjects (Fig 5). Unfortunately this was not evaluable in activated CD4 T cells or in Tfh because of the too low number of cells.

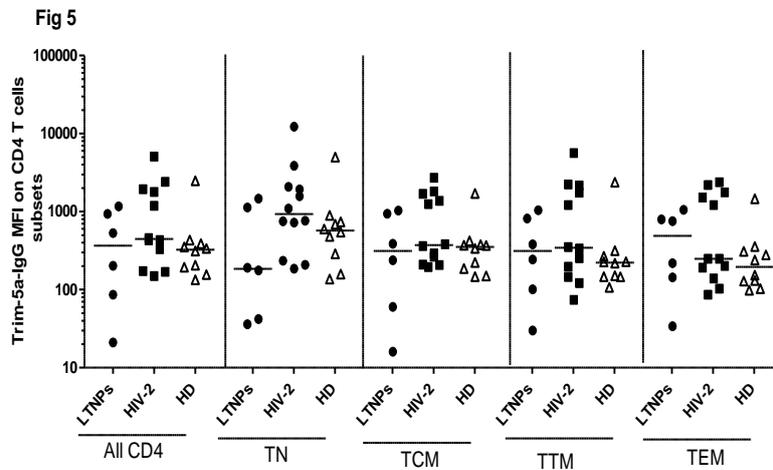


Figure 5 : Intensity of TRIM5 α expression among CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. Results expressed as Mean TRIM5 α Fluorescence Intensity (MFI) minus the corresponding MFI of the IgG negative control for each subject.

Discussion

Our comprehensive analysis of cell activation and exhaustion and of co-receptors and restriction factors on CD4 T cells from the two non-pathogenic models of HIV-1 infection in LTNPs and HIV-2 infection in NPs revealed some distinct profiles in accordance with the known relationships between these two viruses and these factors. The HIV-1 non progression model differed by a higher level of cell activation and PD1 expression, a higher level of SAMHD1 but not of Blimp-1, while the HIV-2 non progression model displayed a higher CXCR6 co-receptor expression.

The differences in CD4 T cell activation and levels of PD-1 expression observed here-in probably reveal the fact the HIV-1 LTNPs we studied were more viremic than the HIV-2 NPs. However neither the proportions of HLA-DR⁺ or PD1⁺ CD4 T cells nor the intensity of PD1 expression correlated with HIV-1 plasma loads or CD4 counts, suggesting that the low level viremia observed in the HIV-1 infected LTNPs induces a minimal level of memory cell activation and exhaustion that does not alter the CD4 T cell homeostasis. The subset distribution, particularly the Tfh one, did not show much differences between those two groups. While blood PD1⁺ Tfh cells from HIV-1 LTNPs were higher in the resting fraction of CD4 T cells than in normal donors, as described for normal HIV-1 infected progressors, we show here for the first time to our knowledge that these key cells do not differ between HIV-2 non progressors and normal donors. Various studies also showed the proportion of Tfh cells increased compared to other memory CD4⁺T cells in lymphoid tissues from viremic HIV-1 infected individuals even under ART (Ruffin et al. 2015; Klatt et al. 2011; Hong et al. 2012; Xu et al. 2013; Zaunders et al. 2016; Hey-Nguyen et al. 2017) but we could not have access to lymphoid tissues. Interestingly the lower proportions of CCR5⁺ PD1⁺ Tfh cells from HIV-1 LTNPs than in normal donors might help at limiting infection in those key cells and at preserving their numbers. In contrast the putative HIV-2 co-receptor, CXCR6, had a more limited expression in several CD4 cell subsets from HIV-1 LTNPs and HIV-2 NPs compared to normal donors cells, but not on Tfh cells. In addition TCM from HIV-1 infected LTNPs displayed lower proportions of CXCR6⁺ than TTM, a finding our group previously reported in HIV-2 NPs and normal donors. This latter characteristics had been related to a more limited HIV-2 infection in TCM as CXCR6 usage depends on a peculiar sequence of the HIV/SIV envelope V3 loop (Wetzel et al. 2018). Recent genetic findings suggest CXCR6 might also play a role in the LTNP process. (Limou et al. 2010). Altogether the increasing gradient of CCR5

and CXCR6 chemokine receptor expression on memory CD4 T cells makes also those cells well equipped to directly migrate to inflamed tissues and maintain a long term immunity to HIV-1 and -2 (Bromley et al. 2008; Kim et al. 2001; Sallusto et al. 1999).

In this work we found the different CD4 T cells subsets of LTNPs contained more SAMHD1⁺ cells compared to other groups, except in the activated subsets. As SAMHD1 is a host factor limiting HIV-1 but not HIV-2 replication in myeloid (Laguetta et al. 2011; Hrecka et al. 2011) and lymphoid CD4 T cells (Ryoo et al. 2014), these differences might be of interest for the control of HIV-1 in LTNPs although we did not find a significant correlation between SAMHD1 expression and HIV-1 plasma loads contrasting with the reported previously trend (Ruffin et al. 2015). The lower SAMHD1 expression we found in activated cells had also been (Ruffin et al. 2015) associated to a decrease in SAMHD1 mRNA in proliferating cells. However The higher levels of SAMHD1⁺ cells and the trend for SAMHD1^{low} cells we found in total and resting CD4 T cells from LTNPs compared to healthy donors and HIV-2 infected subjects have to be compared with other reports (Hani et al. 2019) of significant differences between healthy donors and HIV-1 infected patients even on ARV treatment.

The Blimp1 proteic expression was slightly higher in TCM from HIV-1 LTNPs compared to normal donors and HIV-2 NPs. A limitation of this analysis however is the very weak Blimp1 expression which is homogeneously distributed in all cells and did not show significant differences when analysing the MFI of this intra-cellular factor in TCM or in Tfh. Nevertheless this trend is in accordance with previous findings from our group of higher levels of Blimp1 mRNA in TCM from aviremic HIV-1 infected Elite Controllers compared to viremic LTNPs and is of interest given this transcriptional repressor acts on HIV-1 but not HIV-2 (de Masson et al. 2014; Kaczmarek et al. 2013; Michaels et al. 2015). The significantly lower proportions of Blimp1⁺ PD1⁺ Tfh cells from HIV-1 infected LTNPs than in corresponding cells from healthy donors, with a similar trend for HIV-2 infected NPs, has to be considered with caution given the low numbers of cells analyzed, but suggest Blimp-1 might not be active against HIV-1 in this key Tfh subset. This observation might also reflect the higher values of Blimp1⁺ cells in total PD1⁺ CD4 T cells compared to PD1-negative cells from HIV-2 infected NPs and HDs while this is not true in HIV-1 infected LTNPs. It suggests that the trend for higher Blimp1 expression in CD4 subsets from TLNPs does not reflect a cell exhaustion, contrasting with what reported in viremic HIV-1 infected progressors (Kallies et al. 2006; 2004).

Finally the TRIM5 α expression did not differ between subsets whether they were infected or not and whatever the virus, in line with our previous report (Samri et al. 2019). As the TRIM5a expression is also very weak among all cells with no clear positive subsets, the same limitation stressed out for Blimp1 expression is certainly valid here. In addition TRIM5 α certainly does not play a role in the HIV-1 infection while it might do so for HIV-2, which is closer to SIV.

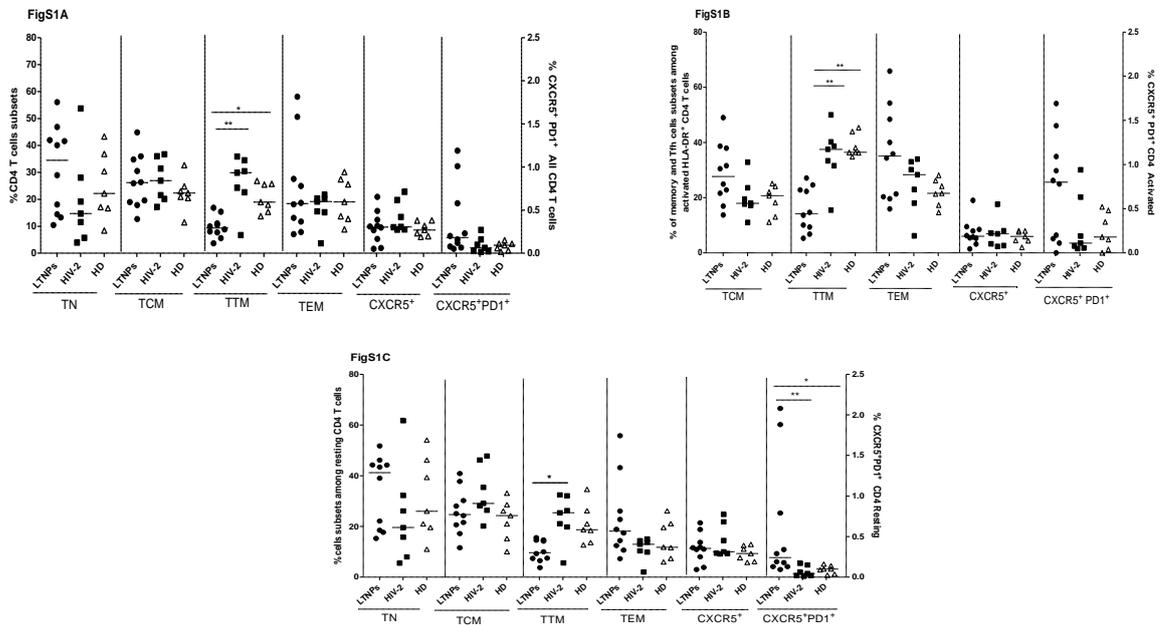
In conclusion, the HIV-1 non progression model we studied in slightly viremic LTNPs differs by a higher level of cell activation and PD1 expression, a higher level of SAMHD1 but not of Blimp-1, all parameters independent from the HIV-1 plasma loads, while the HIV-2 non progression model we studied in mainly aviremic HIV-2 non progressors displayed a higher CXCR6 co-receptor expression, suggesting distinct patterns of hosts factors are at play, in addition to robust immune responses, to contribute controlling these two lentiviruses in these models of non pathogenic infections.

Aknowledgements :

This work has been partially supported by ANRS (French agency of researches against HIV and Hepatitis) and by the SCOR Foundation for Life. Mariama Sadjo Diallo is a fellow of the Guinée Conakry (Gamal Abdel Nasser Univerity)

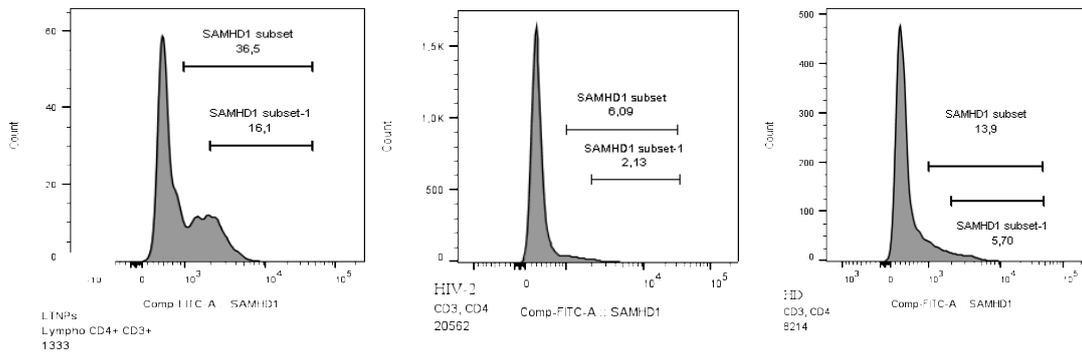
Supplementary data

Figure S1



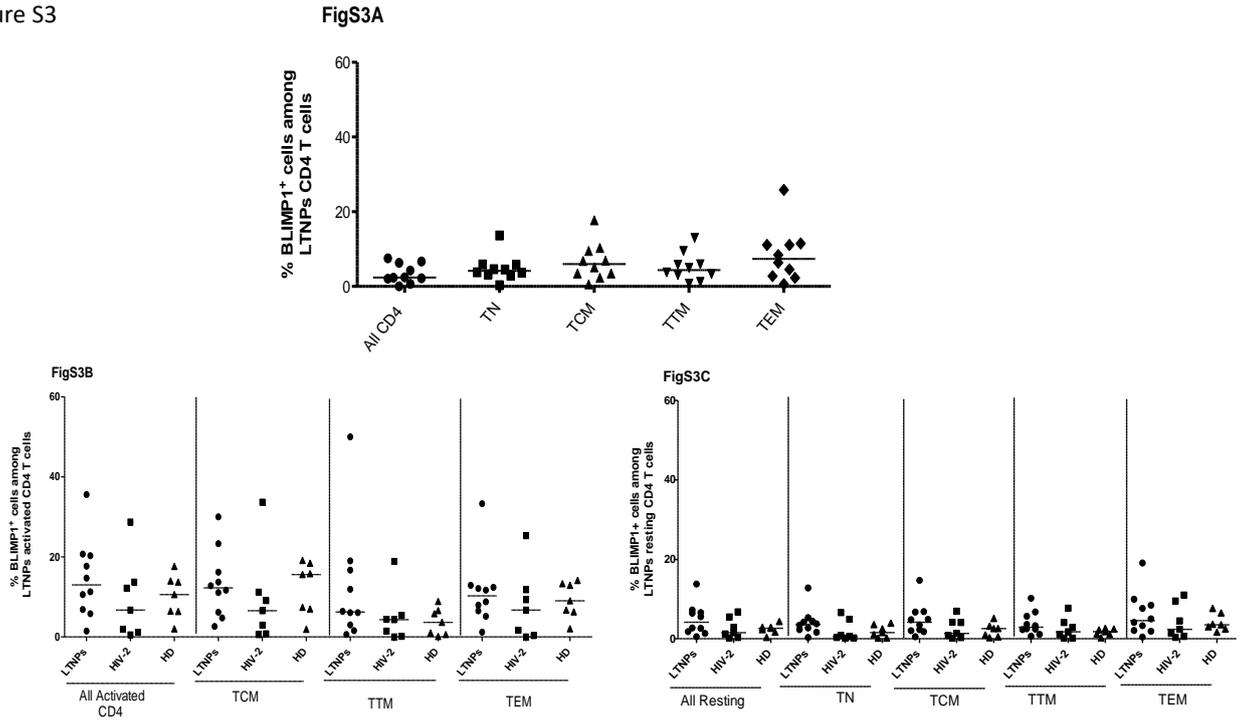
Supplementary Figure 1 : Distribution of CD4 T cell Subsets in peripheral blood CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. A : distribution of subsets (TN, TCM, TTM, TEM, CXCR5⁺ Tfh and CXCR5⁺PD1⁺ Tf) among total CD4 T cells ; **B :** proportions of memory and Tfh cells among activated CD4 T cells ; **C :** distribution of subsets (TN, TCM, TTM, TEM, CXCR5⁺ Tfh and CXCR5⁺PD1⁺ Tf) among resting CD4 T cells. The p values *p<0.05, **p<0.001.

Figure S2



Supplementary Figure 2 : profiles of SAMHD1 expression among CD4 T cells from HIV-1 infected LTNPs, HIV-2 infected NPs and Healthy donors. Histogram representation from a representative sample from each subject group.

Figure S3



Supplementary Figure 3 : Blimp1 expression in CD4 T cell subsets from HIV-1 infected LTNPs. A : among total CD4 T cells ; B : among activated HLA-DR⁺ CD4 T cells ; C : among resting (HLA-DR⁻) CD4 T cells.

Références

1. Blankson, Joel. « Control of HIV-1 Replication in Elite Suppressors ». *Discovery Medicine* 9, no 46 (24 mars 2010): 261-66.
2. Bromley, Shannon K., Thorsten R. Mempel, et Andrew D. Luster. « Orchestrating the Orchestrators: Chemokines in Control of T Cell Traffic ». *Nature Immunology* 9, no 9 (septembre 2008): 970-80. <https://doi.org/10.1038/ni.f.213>.
3. Casado, Concepción, Sara Marrero-Hernández, Daniel Márquez-Arce, María Pernas, Sílvia Marfil, Ferran Borràs-Grañana, Isabel Olivares, et al. « Viral Characteristics Associated with the Clinical Nonprogressor Phenotype Are Inherited by Viruses from a Cluster of HIV-1 Elite Controllers ». *mBio* 9, no 2 (10 avril 2018). <https://doi.org/10.1128/mBio.02338-17>.
4. Crotty, Shane, Robert J Johnston, et Stephen P Schoenberger. « Effectors and memories: Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte differentiation ». *Nature immunology* 11, no 2 (février 2010): 114-20. <https://doi.org/10.1038/ni.1837>.
5. Hani, Lylia, Antoine Chaillon, Marie-Laure Nere, Nicolas Ruffin, Joudy Alameddine, Maud Salmona, José-Luiz Lopez Zaragoza, et al. « Proliferative memory SAMHD1^{low} CD4⁺ T cells harbour high levels of HIV-1 with compartmentalized viral populations ». *PLoS Pathogens* 15, no 6 (20 juin 2019). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007868>.
6. Hey-Nguyen, William J., Yin Xu, Chester F. Pearson, Michelle Bailey, Kazuo Suzuki, Robyn Tantau, Solange Obeid, et al. « Quantification of Residual Germinal Center Activity and HIV-1 DNA and RNA Levels Using Fine Needle Biopsies of Lymph Nodes During Antiretroviral Therapy ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 33, no 7 (2017): 648-57. <https://doi.org/10.1089/aid.2016.0171>.
7. Hong, Jung Joo, Praveen K. Amancha, Kenneth Rogers, Aftab A. Ansari, et Francois Villinger. « Spatial Alterations between CD4(+) T Follicular Helper, B, and CD8(+) T Cells during Simian Immunodeficiency Virus Infection: T/B Cell Homeostasis, Activation, and Potential Mechanism for Viral Escape ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 188, no 7 (1 avril 2012): 3247-56. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103138>.
8. Hrecka, Kasia, Caili Hao, Magda Gierszewska, Selene K. Swanson, Malgorzata Kesik-Brodacka, Smita Srivastava, Laurence Florens, Michael P. Washburn, et Jacek Skowronski. «

Vpx relieves inhibition of HIV-1 infection of macrophages mediated by the SAMHD1 protein ». *Nature* 474, no 7353 (29 juin 2011): 658-61. <https://doi.org/10.1038/nature10195>.

9. Kaczmarek, Katarzyna, Ayana Morales, et Andrew J Henderson. « T Cell Transcription Factors and Their Impact on HIV Expression ». *Virology* 4 (24 septembre 2013): 41-47. <https://doi.org/10.4137/VRT.S12147>.

10. Kallies, Axel, Jhagvaral Hasbold, David M. Tarlinton, Wendy Dietrich, Lynn M. Corcoran, Philip D. Hodgkin, et Stephen L. Nutt. « Plasma Cell Ontogeny Defined by Quantitative Changes in Blimp-1 Expression ». *The Journal of Experimental Medicine* 200, no 8 (18 octobre 2004): 967-77. <https://doi.org/10.1084/jem.20040973>.

11. Kallies, Axel, Edwin D. Hawkins, Gabrielle T. Belz, Donald Metcalf, Mirja Hommel, Lynn M. Corcoran, Philip D. Hodgkin, et Stephen L. Nutt. « Transcriptional Repressor Blimp-1 Is Essential for T Cell Homeostasis and Self-Tolerance ». *Nature Immunology* 7, no 5 (mai 2006): 466-74. <https://doi.org/10.1038/ni1321>.

12. Kim, C. H., E. J. Kunkel, J. Boisvert, B. Johnston, J. J. Campbell, M. C. Genovese, H. B. Greenberg, et E. C. Butcher. « Bonzo/CXCR6 Expression Defines Type 1-Polarized T-Cell Subsets with Extralymphoid Tissue Homing Potential ». *The Journal of Clinical Investigation* 107, no 5 (mars 2001): 595-601. <https://doi.org/10.1172/JCI11902>.

13. Klatt, Nichole R., Carol L. Vinton, Rebecca M. Lynch, Lauren A. Canary, Jason Ho, Patricia A. Darrah, Jacob D. Estes, Robert A. Seder, Susan L. Moir, et Jason M. Brenchley. « SIV Infection of Rhesus Macaques Results in Dysfunctional T- and B-Cell Responses to Neo and Recall Leishmania Major Vaccination ». *Blood* 118, no 22 (24 novembre 2011): 5803-12. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-365874>.

14. Laguette, Nadine, Bijan Sobhian, Nicoletta Casartelli, Mathieu Ringiard, Christine Chable-Bessia, Emmanuel Ségéral, Ahmad Yatim, Stéphane Emiliani, Olivier Schwartz, et Moncef Benkirane. « SAMHD1 is the dendritic- and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx ». *Nature* 474, no 7353 (25 mai 2011): 654-57. <https://doi.org/10.1038/nature10117>.

15. Limou, Sophie, Cédric Coulonges, Joshua T. Herbeck, Daniëlle van Manen, Ping An, Sigrid Le Clerc, Olivier Delaneau, et al. « Multiple-cohort genetic association study reveals CXCR6 as a new chemokine receptor involved in long-term nonprogression to AIDS ». *The*

Journal of Infectious Diseases 202, no 6 (15 septembre 2010): 908-15.
<https://doi.org/10.1086/655782>.

16. Martins, Gislaine, et Kathryn Calame. « Regulation and Functions of Blimp-1 in T and B Lymphocytes ». *Annual Review of Immunology* 26, no 1 (2008): 133-69.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090241>.

17. Masson, Adèle de, Amos Kirilovsky, Rima Zoorob, Véronique Avettand-Fenoel, Véronique Morin, Anne Oudin, Benjamin Descours, Christine Rouzioux, et Brigitte Autran. « Blimp-1 overexpression is associated with low HIV-1 reservoir and transcription levels in central memory CD4+ T cells from elite controllers ». *AIDS* 28, no 11 (juillet 2014): 1567.
<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000295>.

18. Michaels, Katarzyna Kaczmarek, Malini Natarajan, Zelda Euler, Galit Alter, Gregory Viglianti, et Andrew J. Henderson. « Blimp-1, an Intrinsic Factor that Represses HIV-1 Proviral Transcription in Memory CD4+ T Cells ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 194, no 7 (1 avril 2015): 3267-74. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402581>.

19. Ruffin, Nicolas, Vedran Brezar, Diana Ayinde, Cécile Lefebvre, Julian Schulze Zur Wiesch, Jan van Lunzen, Maximilian Bockhorn, et al. « Low SAMHD1 expression following T-cell activation and proliferation renders CD4+ T cells susceptible to HIV-1 ». *AIDS (London, England)* 29, no 5 (13 mars 2015): 519-30. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000594>.

20. Ryoo, Jeongmin, Jongsu Choi, Changhoon Oh, Sungchul Kim, Minji Seo, Seokyoung Kim, Daekwan Seo, et al. « The ribonuclease activity of SAMHD1 is required for HIV-1 restriction ». *Nature medicine* 20, no 8 (août 2014): 936-41. <https://doi.org/10.1038/nm.3626>.

21. Sallusto, Federica, Danielle Lenig, Reinhold Förster, Martin Lipp, et Antonio Lanzavecchia. « Two Subsets of Memory T Lymphocytes with Distinct Homing

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION ET CONCLUSION

Mes travaux de thèse ont porté sur l'analyse des paramètres associés à la faible pathogénicité du VIH-2 avec un premier travail sur l'étude des cellules immunes hôtes des réservoirs immuns du VIH-2 et dans deux autres travaux l'étude des paramètres de l'immunité innée médiée par les cellules NK, et de l'immunité intrinsèque médiée par des facteurs d'entrée du virus et de restriction virale dans les cellules hôtes chez des sujets infectés par VIH-2 n'ayant montré aucun signe de progression vers le SIDA.

Les réservoirs VIH-2

Afin de mieux comprendre les phénomènes associés à la faible pathogénicité du VIH-2, notre premier travail a porté sur l'étude des cellules immunitaires hôtes des réservoirs immuns du VIH-2. En France, le VIH-2 représente 1 à 2 % des nouveaux diagnostics de VIH pour plus de 1000 patients inclus (Cazein et al. 2015). Nous avons étudié le profil des sous-populations lymphocytaires de sujets non progresseurs de la cohorte française de l'ANRS VIH-2. Il s'agissait de sujets infectés depuis plus de 10 ans en moyenne, avirémiques ou faiblement virémiques et asymptomatiques, ce qui confirme le caractère de moindre pathogénicité lié au VIH-2, mais la date précise de l'infection de ces patients reste inconnue (Visseaux et al. 2016). Les sujets étaient principalement infectés par le sous type B de VIH-2 alors que dans une vaste étude réalisée sur la distribution phylo-géographique, le sous-groupe A était plus répandu (Faria et al. 2012). Cependant le sous-groupe VIH-2 B moins répandu étant surtout limité à la Côte d'Ivoire et au Ghana (Takehisa et al. 1997; Pieniazek et al. 1999), ces données confirment le profil géographique de nos patients qui étaient originaires de ces deux pays. Néanmoins le sous-type viral n'est pas connu pour influencer la pathogénicité du VIH-2. Le VIH-2, principalement localisé en Afrique l'ouest (De Cock et al. 1993) est caractérisé par une faible répllication virale par rapport au VIH-1 (Berry et al. 1998; Ariyoshi et al. 2000), une diminution très lente du taux de CD4 et une faible progression de la maladie (Marlink et al. 1994; Matheron et al. 2003). Le VIH-2 n'a pas souvent été étudié car régulièrement ignoré au profit du VIH-1 qui infecte un nombre beaucoup plus important de patients et qui évolue beaucoup plus rapidement vers le stade SIDA en l'absence d'un traitement efficace.

Les mécanismes qui régissent la pathogénicité du VIH-2 sont toujours en cours d'analyse; les études menées jusqu'à aujourd'hui ont permis d'identifier à la fois des facteurs liés à l'hôte et d'autres liés au virus concourant à la fois à un meilleur contrôle immunitaire exercé notamment par l'immunité adaptative médiée par les cellules T anti-VIH-2 (Leligdowicz et al. 2007) et à

une réplication virale atténuée (Visseaux et al. 2019). Afin d'étudier les caractéristiques de cette faible pathogénicité, nous avons sélectionnés pour notre étude des sujets de la cohorte française VIH-2 qui avaient une charge virale plasmatique indétectable et une absence de progression vers le SIDA, en l'absence de traitement. Ces sujets sont représentatifs de 71% des sujets de la cohorte nationale française qui ont une charge virale en dessous de 100 copies (Visseaux et al. 2016). A titre de comparaison, moins de 1% des sujets infectés par le VIH-1 ne progressent pas vers le SIDA sur une période de 10 ans (Martinez et al. 2008).

Notre premier travail a concerné la caractérisation des réservoirs au niveau des cellules du sang périphérique chez des sujets infectés par le VIH-2. En effet les deux virus, VIH-1 et 2, ont développé des mécanismes d'échappement pour maintenir leur persistance chez l'hôte dans des réservoirs viraux, dans des sites cellulaires ou anatomiques dans lesquels le virus peut persister malgré la mise en place de réponses immunitaires antivirales (Barton et al. 2016). Certains virus établissent un état d'infection réversiblement non productif (ou latent), majoritairement dans des cellules T CD4 au repos, ce qui permet d'échapper aux mécanismes immunitaires de l'hôte. Pour le VIH-1, les mécanismes de persistance et de latence ont récemment fait l'objet de très nombreuses études (Vansant et al. 2020; Khoury et al. 2018; Romani et al. 2017; Dahabieh et al. 2015) mais ceux-ci ne sont pas connus pour le VIH-2. De plus la distribution cellulaire des réservoirs de VIH-1 est assez bien connue mais on ignore tout de celle du VIH-2.

Dans un premier temps, nous avons mis en évidence que la proportion de cellules T CD4⁺ activées des sujets VIH-2 était similaire à celle des donneurs sains et aux Elite Controller (EC). Puis, nous avons recherché le réservoir viral dans les 7 sous-populations T CD4⁺ majoritaires qui ont été triées (TN, TCM, TTM, TEM, CD4⁺ Activés, CD4⁺ Resting) ainsi que dans les monocytes. Au cours de l'infection par le VIH-1, il a été montré que le virus se trouvait majoritairement dans les TCM suivi des TTM (Chomont et al. 2009; Sáez-Ciri3n et al. 2013; Bacchus et al. 2013; Sáez-Ciri3n et al. 2013). De plus, les réservoirs de VIH-1 dans les monocytes/macrophages sont mis en place dans les premiers jours (Koppensteiner et al. 2012; Bacchus et al. 2013) et sont maintenus tout au long de l'infection, y compris pendant le stade asymptomatique de la maladie, au cours duquel il peut encore diriger la pathogénèse (Wong et al. 2019).

Chez ces sujets non ou peu virémiques la production virale in vitro en culture cellulaire a été très faible malgré des techniques enrichies (une durée de 30 jours en présence de cellules

feeders). Le seuil de détection n'a été dépassé que chez 3 des 14 patients infectés par VIH-2 analysés. Ces données contrastent avec celles rapportées dans d'autres études portant sur le VIH-1 (Descours et al. 2012; Autran et al. 2013). Cette faible production virale pourrait être liée à la faible pathogénicité du VIH-2. Cela pourrait aussi s'expliquer par le fait que la majorité de nos patients infectés par le VIH-2 étaient non progressseurs et avaient une très faible réplication virale *in vivo*.

L'une des grandes particularités de l'infection par le VIH-2 que nous avons observée est l'absence d'infection dans les monocytes, malgré le très grand nombre de cellules que nous avons pu trier (1×10^6 cellules), alors que l'infection par le VIH-1 est toujours présente dans les monocytes et détectable à partir de quantités beaucoup plus faibles (Wong et al. 2019; Bacchus et al. 2013; Descours et al. 2012) et plus particulièrement dans certains tissus tels que le tissu pénién de personnes infectées par le VIH-1 sous traitement antirétroviral combiné suppressif, où les macrophages urétraux contiennent de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des virions intacts du VIH-1 intégrés (Ganor et al. 2019). Par ailleurs de l'ADN viral a été découvert également dans des macrophages alvéolaires présents chez des individus infectés de façon chronique et naïfs de traitement antirétroviral (Jambo et al. 2014; Plata et al. 1987). En outre la détection d'une population de macrophages infectés a été associée à une altération de l'activité phagocytaire, bien que celle-ci puisse ne pas être limitée aux cellules infectées, car on a décrit des mécanismes directs (Mazzolini et al. 2010; Azzam et al. 2006). De même, chez les macaques infectés par le SIV, une production virale a été mesurée dans les monocytes et dans les tissus (rate, poumon, liquide de lavage broncho-alvéolaire) *in vitro* (Avalos et al. 2016). Cette absence de VIH-2 dans les monocytes pourrait refléter la très faible charge virale en ADN de ces patients, mais notre interprétation est qu'il s'agit d'un élément majeur de la faible pathogénicité de ce virus et de la faible activation immune observée chez ces patients non- progressseurs.

Par ailleurs, la distribution du réservoir dans les cellules T mémoire chez les patients VIH-2⁺ est différente de celle retrouvée dans le cas du VIH-1, où elle prédomine dans les TCM. En effet, la persistance du VIH-1 dans les TCM semble être soutenue par la capacité accrue de ces cellules à proliférer de façon homéostatique, notamment en réponse à la stimulation par l'IL-7 qui augmente le nombre de cellules infectées par le VIH-1 par un mécanisme indépendant de l'activation par la voie du TCR et n'induit pas ou peu de réplication virale (Vandergeeten et al. 2013; Visseaux et al. 2019). La distribution privilégiée dans les TTM chez les sujets VIH-2

est semblable à celle retrouvée chez les sujets LTNP infectés par le VIH-1, porteurs des HLA B*27 et B*57, alors qu'elle était similaire dans les TTM et les TCM chez ceux qui n'exprimaient pas ces HLA particuliers (Descours, et al. 2012). Une autre étude a rapporté les mêmes tendances avec une contribution plus importante des TTM par rapport aux TCM chez les EC infectés par le VIH-1 (Sáez-Cirión et al. 2013). Enfin nos résultats sur les réservoirs du VIH-2 se rapprochent également de ceux rapportés chez les Sooty Mangabey, hôtes naturels du SIV, où l'infection était plus importante dans les cellules TEM (les TTM ne sont pas individualisables chez les Macaques) par rapport aux TCM. Ces données suggèrent que les TCM ont développé une résistance au SIVsm, qui pourrait être associée à la plus faible expression du CCR5 dans les TCM de SM par rapport à ceux des Macaques rhésus (Paiardini et al. 2011), même si de forts niveaux de réplication SIVsm sont observés (Cartwright et al. 2014).

Dans notre étude, la charge virale ADN VIH-2 était positivement corrélée entre les TTM et les TCM mais nous avons aussi observé une relation entre l'ADN PBMC et les TTM et, à un moindre degré, les TCM. Ce résultat signe l'existence d'une relation étroite entre la taille du réservoir et la sous-population qui l'héberge. Ces résultats se rapprochent aussi de ceux observés chez les LTNP (Descours et al. 2012) où une corrélation significative entre la charge virale et les TCM avait été observée. L'analyse des sous-populations de T CD4⁺ au repos a donc révélé que les TTM avaient une plus forte implication dans le maintien du réservoir VIH-2 que les TCM. La faible contribution des TCM au réservoir pourrait refléter la faible pathogénicité de l'infection par VIH-2 et être liée à des facteurs de l'hôte limitant cette infection dans ces sous-populations.

Nous avons donc cherché à comprendre les facteurs de l'hôte qui pourraient expliquer cette distribution particulière des réservoirs VIH-2 et la faible inductibilité. Nous avons montré que l'expression du corécepteur CCR5 n'est pas responsable du faible niveau d'infection des cellules ni de cette faible inductibilité car tous les VIH-2 testés avaient un tropisme R5 de même que 75% des sujets de la CO-05 (Visseaux et al. 2016). De plus l'expression du CCR5 à J0 et après culture était plus élevée sur les CD4 activés des sujets VIH-2, comparée aux donneurs sains, et suivait une tendance croissante en culture entre J0 et J14. Cependant, chez le Sooty mangabey, un faible niveau d'expression de CCR5 a été noté dans les PBMC et les TCM, ce qui pourrait être lié à une possible adaptation du rétrovirus à son hôte (Paiardini et al. 2009). Plusieurs autres corécepteurs d'entrée ont été décrits pour le VIH-2, dont le CXCR6, qui est

exprimé par les sous-populations de cellules T effectrices et mémoires (Unutmaz et al. 2000; Kim et al. 2001) mais aussi par les NK (Kim et al. 2002). Le ligand de CXCR6 est exprimé sur les cellules présentatrices d'antigène, les cellules dendritiques, les lymphocytes B, les monocytes/macrophages, les cellules endothéliales et épithéliales (Latta et al. 2007). L'expression de CXCR6 a été décrite comme un corécepteur alternatif pour l'infection SIV, surtout chez le singe vert d'Afrique et le macaque rhésus, qui ont un déficit de CCR5 mais également une forte expression de l'ARNm de CXCR6 dans les cellules mémoires (Riddick et al. 2015). Dans les cellules des Sooty mangabey, le CXCR6 est fortement exprimé sur les TEM suivi des TCM mais plus faiblement dans les TN (Wetzel et al. 2018). Contrairement au VIH-2 et au SIV, le VIH-1 n'utiliserait pas le CXCR6 comme corécepteur, la raison pourrait être en lien avec la composition de la boucle V3 de l'enveloppe (Nyamweya et al. 2013) bien que certains auteurs l'aient suggéré également chez les sujets non-progresseurs de l'infection VIH-2 (Wetzel et al. 2018).

Grace à notre étude transcriptomique en multiplex de 96 gènes (incluant des facteurs de transcription, de restriction et les corécepteurs), réalisée dans les 7 sous-populations triées, nous avons mis en évidence 4 gènes différentiellement exprimés entre les TCM et TTM, dont CXCR6, qui était significativement plus élevé dans les TTM, par rapport aux autres sous-populations en accord avec nos travaux décrits ci-dessus. Cette surexpression de CXCR6 sur les TTM a été retrouvée au niveau protéique et pourrait expliquer qu'il y ait plus de virus dans cette sous-population. Une étude récente (Wetzel et al. 2018) a montré que l'utilisation de CXCR6 était liée à une séquence particulière de l'enveloppe, séquence qui s'est révélée présente dans tous les VIH-2 séquencés de la cohorte CO-05 (C Charpentier, communication personnelle) renforçant ainsi l'hypothèse du lien entre CXCR6 et le tropisme préférentiel du VIH-2 pour les TTM, et la limitation de l'infection dans les TCM.

Par ailleurs l'IL-22, était plus exprimée dans les TTM par rapport aux TCM et TP53 significativement plus exprimée dans les TCM que dans les TTM, sans que nous trouvions de facteur reliant ces observations à la moindre pathogénicité du VIH-2. Par ailleurs, TRIM5 α était significativement plus exprimé dans les TCM comparé aux TTM. Il s'agit d'un facteur de restriction qui bloque l'infection rétrovirale par fixation à la capsid. La plus forte expression des transcrits de TRIM5 α dans les TCM pourrait expliquer la plus faible infection de cette sous population. La susceptibilité des différents rétrovirus à la restriction liée à TRIM5 dépend des variants qui semblent être déterminés par le niveau de reconnaissance de la capsid (Li et al.

2016). Des études sur les macaques rhésus d'origine indienne suggèrent que le polymorphisme de TRIM5 α affecte la réplication du SIV ou du VIH-2 mais pas du VIH-1 (Zhang et al. 2016; Li et al. 2016). Cette plus forte expression de TRIM5 α a été retrouvée avec une forte susceptibilité du VIH-2 (Takeuchi et al. 2013). Pour étudier ce phénomène, nous avons mis en place une technique d'analyse protéique de TRIM5 α par cytométrie en flux pour valider les résultats du transcriptome ; l'intensité moyenne de fluorescence qui a montré des niveaux identiques dans les TCM et les TTM n'a donc pas confirmé les données d'analyse transcriptionnelle.

Malgré la taille limitée des échantillons, notre étude démontre clairement que les réservoirs du VIH-2 ont des caractéristiques différentes des réservoirs du VIH-1 par une absence totale d'infection des monocytes et une forte tendance à l'infection prédominante des cellules TTM à la place des cellules TCM utilisées principalement par le VIH-1. Celle-ci pourrait être associée à une expression différentielle de CXCR6, un corécepteur alternatif du VIH-2 dans les cellules mémoires CD4 (Samri et al. 2019). Nos résultats renforcent le concept qu'une infection faiblement pathogène VIH/SIV est associée à une certaine limitation des réservoirs dans les TCM.

Cellules et expression de marqueurs de l'immunité innée

Dans un second travail, l'exploration de la réponse immunitaire innée a été réalisée à travers l'exploration fonctionnelle des cellules NK, qui ont la même origine que les cellules CD4 et par conséquent partagent certains marqueurs de lignée. Les cellules NK sont des acteurs incontournables de la réponse cytotoxique anti-tumorale et anti-infectieuse (Alter et al. 2004). Les cellules NK jouent un rôle important dans la mise en place et la régulation de la réponse immunitaire adaptative grâce à leur mobilisation précoce en réponse à l'inflammation et à la production de chimiokines et de cytokines (Vivier et al. 2004).

La découverte de récepteurs comme les NCR (natural cytotoxicity receptor) (NKp30, NKp46 et NKp44), NKG2D ou encore DNAM-1 (DNAX accessory molecule-1) a montré que l'activité des cellules NK dépendait également de l'intégration des signaux activateurs (Bottino et al. 2005). Par ailleurs cette expression est corrélée à l'intensité d'activation des cellules NK.

B7-H6, un nouveau ligand de NKp30, induit par la réponse au stress cellulaire, dans les cas de transformation tumorale par exemple, fournirait alors un système d'alarme pour les cellules NK (Baratin et al. 2010). Le B7-H6 est membre de la famille B7 et de la même manière que les autres membres de cette famille B7, la forme soluble est détectable et capable de se fixer à l'Ac anti-NKp30 bloquant la réponse des cellules NK médiée par le NKp30 (Matta et al. 2013; Schlecker et al. 2014). La protéine membranaire associée au lysosome (LAMP-1 : lysosomal-associated membrane protein-1), ou CD107a, a été décrite comme marqueur de dégranulation des cellules cytotoxiques (NK et CD8⁺) lié à la stimulation (Alter et al. 2004).

Les cellules NK peuvent également moduler la réponse adaptative par une diaphonie avec des DC (Quaranta et al. 2007), et façonner l'induction d'anticorps par l'élimination des cellules T folliculaires (Tfh) (Rydzynski et al. 2015).

Dans l'analyse fonctionnelle des cellules NK, nous avons utilisé des sujets sains (Ouest Africains et Caucasiens), et des sujets infectés par le VIH-1 (Elite Controller « EC » et long Term Non Progressor « LTNP »).

Dans cette étude sur l'analyse du profil des cellules NK, nous avons pu observer que la distribution des NK était quasi identique dans les différents groupes d'étude, suggérant qu'il n'y aurait pas de déficit lié à la baisse du nombre de cellules qui pourrait expliquer un déficit fonctionnel. Cependant l'activation des cellules qui a été évaluée par l'expression du HLA-DR nous a montré qu'elle était plus forte chez les sujets infectés par le VIH-2 versus contrôles Ouest Africains et Caucasiens et les sujets infectés par le VIH-1 LTNP ; cette forte activation par expression de HLA-DR suggèrerait une fonction effectrice des cellules NK dans le contrôle de la réplication virale. Ces résultats sont semblables à ceux retrouvés dans d'autres études même si elles ont toutes été réalisées chez les sujets VIH-1 (Marras et al. 2013; Naluyima et al. 2014). Cette importante activation pourrait être une spécificité liée au VIH. Nous avons noté que l'expression de HLA-DR était négativement corrélée, et de façon significative, avec l'expression de NKp30. Le NKp30 était fortement exprimé chez les sujets VIH-1 alors qu'il était plus faible chez les patients VIH-2. L'expression de NKp30 dans notre étude était contraire à celle retrouvée par Marras (Marras et al. 2013), qui rapporte une faible expression chez les LTNP et EC par rapport aux contrôles sains. L'expression de ce récepteur d'activation est fortement altérée chez les patients VIH-1 virémiques (Mavilio et al. 2003), et principalement dans la sous-population de cellules NK CD56⁻, ce qui explique en grande partie l'altération de l'élimination des cellules dendritiques par les cellules NK (De Maria et al. 2003; Mavilio et al.

2006). Il s'agit d'une sous-population de cellules NK faiblement présentes chez les patients VIH- 2. Des diminutions de NKp30 ont déjà été rapportées dans de nombreuses autres maladies, y compris l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) (Alter, Jost, et al. 2011), ou le cancer du col de l'utérus induit par le papillomavirus (Garcia-Iglesias et al. 2009). Ce qui suggère le rôle important joué par les récepteurs activateurs des cellules NK. Les cellules dendritiques sont très sensibles à la lyse médiée par les cellules NK, cependant cette élimination est fortement dépendante de l'expression et de l'engagement de NKp30 (Della Chiesa et al. 2003; Ferlazzo et al. 2002). La faible expression de NKp30 a été associée également à une production de forme soluble de ligands incluant B7-H6 et BAT-3 (Pesce et al. 2015; Pazina et al. 2017).

L'inductibilité de NKp46 et de NKp30 sur les cellules NK, serait inversement corrélée à la quantité d'ADN du VIH. Des corrélations similaires ont été détectées pour l'ADN total du VIH, mais pas pour l'ADN non intégré (Marras et al. 2017).

La taille du réservoir d'ADN du VIH est étroitement associée à la capacité des cellules NK à produire de l'IFN, en réponse à de multiples signaux de déclenchement tel que l'interaction B7-H6 et NKp30 ou la signalisation par les cellules dendritiques (p. ex. DNAM-NKp30) (Marras et al. 2017). En outre dans cette étude, nous n'avons pas détecté la présence de la forme soluble de B7-H6 chez les sujets VIH-2 mais la forme membranaire était suffisamment exprimée par les cellules cibles alors qu'il était peu présent sur les cellules infectées par le VIH-1, voire aucune, comme l'ont décrit Ward et al (Ward et al. 2007). La diminution de l'expression de NKp30 serait également impliquée dans la progression de l'infection. L'infection chronique par le VIH-1 est significativement associée à une diminution de l'expression de Nkp30 et Nkp46, et concomitamment à une baisse de l'activité cytolytique des cellules NK (De Maria et al. 2007). L'activation des cellules NK est étroitement régulée par un équilibre entre les signaux d'activation et d'inhibition qui sont intégrés dans un réseau complexe de récepteurs exprimés à la surface de la cellule (Lanier 2005). Cependant, peu de données existent sur la compréhension des mécanismes possibles liées à la baisse de l'expression des récepteurs activateurs NK, bien qu'ils semblent liés à l'interaction entre les cellules effectrices NK et les cellules cibles exprimant divers ligands spécifiques. Par exemple dans l'infection par le VHC, les sujets chez lesquels on retrouve une faible proportion de cellules NK exprimant NKG2D étaient capables d'éliminer l'infection. Il n'est pas exclu que des cellules NK portant le NKp46 et le NKp30 et/ou le NKG2D puissent être efficacement recrutées dans le foie afin d'éliminer les cellules infectées (Alter et al. 2011). Dans le cancer du

col de l'utérus liée au HPV-16, la diminution de l'expression de NKp30, NKp46 et NKG2D est liée au mécanisme d'évasion associé à une faible activité des cellules NK (Garcia-Iglesias et al. 2009). En outre, chez la souris transgénique, la réduction de l'expression des récepteurs activateurs empêche les NK d'éliminer les tumeurs fortement positives au MICA (Wiemann et al. 2005). Ainsi, la compréhension des différents mécanismes d'évasion permettrait de mettre en place une immuno-surveillance des cellules NK dans différentes situations, y compris l'infection par le VIH-2. Les récepteurs activateurs exprimés par les cellules NK s'associent à différents polypeptides membranaires portant des Motifs d'Activation Immuns basé sur la Tyrosine (ITAM) tels que CD3z, Fc3RIg ou DAP12 (DNAX-activation protein 12) (Augugliaro et al. 2003; Pende et al. 1999; Bottino et al. 2004). Cependant, il semble que dans l'infection par le VIH-2, la diminution de NK30 était indépendante de l'expression de la protéine adaptatrice CD3ζ signalant la NKp30 (Moretta et al. 2001), alors que le déficit fonctionnel de ce corécepteur a été démontré après stimulation des cellules T CD3⁺ et NK dans un contexte d'interaction persistante avec le ligand d'NKG2D (Hanaoka et al. 2010).

L'ensemble des données obtenues suggère :

D'une part, que les perturbations de l'expression des récepteurs naturels de la cytotoxicité (NCR) des NK et leurs ligands, sont des données significatives qui doivent être prises en compte pour évaluer l'équilibre entre les récepteurs d'activation et d'inhibition des cellules NK.

D'autre part, les cellules NK de patients atteints du VIH-2⁺ produisent des quantités très élevées d'IFN-γ, indépendamment du microenvironnement cellulaire. Ces résultats sont similaires à ceux de Naluyima et al. qui trouve que la production d'IFNγ dans les cellules NK CD56^{dim} des personnes infectées par le VIH n'a pas été altérée après la stimulation de la lignée cellulaire K562 (Naluyima et al. 2014).

L'évaluation de la dégranulation des cellules NK a été réalisée par analyse de l'expression du CD107a et a montré qu'il y avait une diminution de la dégranulation chez les sujets VIH-2⁺ comparés aux donneurs sains. Ce qui pourrait expliquer la diminution de l'expression de NKp30 et de l'altération de la fonction effectrice de cellules NK.

Analyse comparative de l'expression de certains corécepteurs et facteurs de restriction associés à la non-progression des infections à VIH-2 et VIH-1

Dans un 3^e travail, nous avons effectué une analyse comparative de l'activation, de l'épuisement des cellules T CD4 ainsi que des corécepteurs et facteurs de restriction chez des sujets non- progressseurs infectés par le VIH-1 comparés à des sujets infectés par le VIH-2 et à des donneurs sains. Dans ce travail les sujets VIH-1 LTNP ont été les mêmes que dans l'analyse comparative des marqueurs NK et les VIH-2 sont les sujets analysés dans l'étude du réservoir.

L'évolution de l'infection par le VIH-1 et la durée de la phase asymptomatique varient souvent en fonction de l'hôte. Il existe trois types de progression (Fauci 1996) : standard (entre 8-18 ans) (Costagliola et al. 1987), rapide (2-3 ans) et lente (plus de 10 ans) (Buchbinder et al. 1994) ; une autre catégorie de patients, capables de contrôler leur infection VIH durablement et spontanément sans traitement a été identifiée et a reçu plusieurs dénominations : HIV controllers, elite controllers, elite suppressors, ou natural viral suppressors (Lambotte et al. 2005). Ces patients asymptomatiques LTNP maintenaient leur taux de CD4 très haut au-dessus de 500/mm³ pendant plus de 10 ans, sans traitement antirétroviral et sans évolution vers le stade SIDA malgré une virémie modérée : ils ont été nommés asymptomatiques à long terme (ALT), ou non-progressseurs à long terme (LTNP) (Martinez et al. 2008). Ces sujets ALT de la cohorte ANRS CO15 inclus n'étaient pas enrichis en HLA-B*27 ou B*57 et la distribution de leurs réservoirs étudiée précédemment prédominait légèrement dans les TCM (de Masson et al. 2014; Descours et al. 2012) différant ainsi des réservoirs de VIH-2.

La distribution des sous-populations de cellules CD4 est assez similaire chez les VIH-1 LTNP, sujets infectés par le VIH-2 et les donneurs sains. Par contre nous avons noté une plus forte expression de PD1 comparée aux donneurs sains et au sujets VIH-2⁺. La molécule PD-1 joue un rôle important d'épuisement des cellules T CD8⁺ spécifiques au VIH-1 (Okazaki et al. 2007; Chachques et al. 2004). Dans l'infection aiguë la molécule PD-1 est induite sur les cellules T lors de la stimulation via le TCR. La voie PD-1-PD-L est centrale dans l'interaction entre les défenses de l'hôte visant à éradiquer les pathogènes qui ont développé des stratégies pour résister aux réponses immunitaires (Velu et al. 2015). Cependant dans l'infection chronique la molécule PD-1 est induite par la force et la durée de l'interaction TCR- CMH et la molécule de co-stimulation CD28, et soutenue par la stimulation chronique de l'antigène (André et al. 2008). Ces données particulières aux LTNP VIH-1 sont sans doute à mettre en regard avec

une virémie VIH-1 plus importante, bien que modeste, dans le groupe de sujets analysés. Néanmoins nous n'avons pas observé, dans la limite de nos faibles échantillons, de corrélations avec la charge virale VIH-1 suggérant que ces caractéristiques soient inhérentes à la plus forte pathogénicité du VIH-1.

L'expression de SAMHD1, facteur de restriction du VIH-1 mais non du VIH-2, était plus élevée chez les LTNP par rapport aux sujets VIH-2 et aux donneurs sains. Cette forte expression de SAMHD-1 chez ces VIH-1 LTNP virémiques et non traités montrait une faible corrélation positive avec la charge virale plasmatique. Ces données sont contraires à celles retrouvées chez les patients infectés par le VIH-1 sous traitement ARV, chez lesquels on trouve une expression plus faible de SAMHD-1 par rapport aux donneurs sains (Hani et al. 2019).

L'expression de Blimp-1, impliqué comme facteur de restriction du VIH-1 mais non du VIH-2 (de Masson et al. 2014; Samri et al. 2019; Michaels et al. 2015), et de TRIM5 α , possible facteur de restriction du VIH-2 mais non du VIH-1, ne montraient aucune différence significative dans les sous-populations de lymphocytes CD4 chez LTNP comparés aux donneurs sains et patients infectés par le VIH-2. Nous avons observé comme dans la littérature une expression préférentielle de Blimp-1 dans les cellules co-exprimant PD1 (Kallies et al. 2004; 2006).

Dans l'ensemble, les résultats de ce 3^e travail qui va être soumis à publication, montrent que les non-progressions du VIH-1 et du VIH-2 sont associées essentiellement à une plus forte activation T CD4 et un épuisement plus important de ces cellules vraisemblablement en lien avec la faible réplication virale observée chez ces sujets ALT de la cohorte ANRS CO15 non enrichis en HLA-B*27 ou B*57 et dont la distribution du réservoir prédominait légèrement dans les TCM.

Conclusion :

Ces différents résultats sur la caractérisation du réservoir et de l'immunité innée et intrinsèque dans l'infection faiblement pathogène par le VIH-2, nous ont permis de montrer la forte similitude entre la distribution du réservoir du VIH-2 et celles observées dans les autres infections faiblement pathogènes telles que l'infection naturelle à SIVsm chez le singe Sooty-mangabey et l'infection VIH-1 chez les LTNP porteurs d'allèles HLA protecteurs. La distribution particulière du réservoir prédominant dans les TTM et épargnant relativement les TCM confirme qu'il s'agit d'un paramètre caractéristique de la faible pathogénicité dans plusieurs modèles d'infection VIH/SIV. Vraisemblablement la faible pathogénicité du VIH-2 répond à des causes multifactorielles, combinaison de facteurs de l'hôte et du virus et pourrait refléter la sensibilité particulière de ces virus à des facteurs de l'immunité innée telles que le corécepteur CXCR6, également proposé en sus de l'expression différentielle du CCR5 chez le singe SM et peut-être chez les VIH1⁺ LTNP. De plus, outre les fortes réponses immunes adaptatives associées au VIH-2, la sensibilité différentielle des virus VIH-1 et VIH-2 aux facteurs de restriction de l'immunité intrinsèque ne semble pas liée à la distribution particulière des réservoirs, qu'il s'agisse de SAMHD1, de Blimp-1 ou de TRIM5 α . Par ailleurs, l'anomalie de surexpression de B7-H6 dans les cellules NK des sujets VIH-2 entraîne une diminution de l'expression de NKp30 donc une baisse de l'activation des cellules NK, influençant ainsi l'activité cytotoxique des NK et leur rôle potentiel dans le contrôle de l'infection VIH-2.

Cependant, d'autres études seront nécessaires portant sur plus de sujets infectés par le VIH-2, progressseurs et non-progressseurs, et de contrôles VIH négatifs pour confirmer encore mieux ces caractéristiques.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. Abbas, Wasim, et Georges Herbein. 2014. « Plasma Membrane Signaling in HIV-1 Infection ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, Viral Membrane Proteins - Channels for Cellular Networking*, 1838 (4) : 1132-42. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.06.020>.
2. Adis International Ltd. 2003. « HIV Gp120 Vaccine - VaxGen : AIDSVAX, AIDSVAX B/B, AIDSVAX B/E, HIV Gp120 Vaccine - Genentech, HIV Gp120 Vaccine AIDSVAX - VaxGen, HIV Vaccine AIDSVAX - VaxGen ». *Drugs in R&D* 4 (4) : 249-53. <https://doi.org/10.2165/00126839-200304040-00007>.
3. Adjorlolo-Johnson, G., K. M. De Cock, E. Ekpini, K. M. Vetter, T. Sibailly, K. Brattegaard, D. Yavo, R. Doorly, J. P. Whitaker, et L. Kestens. 1994. « Prospective Comparison of Mother-to-Child Transmission of HIV-1 and HIV-2 in Abidjan, Ivory Coast ». *JAMA* 272 (6) : 462-66.
4. Agosto, Luis M., et Andrew J. Henderson. 2018. « CD4+ T Cell Subsets and Pathways to HIV Latency ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 34 (9) : 780. <https://doi.org/10.1089/aid.2018.0105>.
5. Ahmed, Rafi, et David Gray. 1996. « Immunological Memory and Protective Immunity : Understanding Their Relation ». *Science* 272 (5258) : 54-60. <https://doi.org/10.1126/science.272.5258.54>.
6. Ahn, Jinwoo, Caili Hao, Junpeng Yan, Maria DeLucia, Jennifer Mehrens, Chuanping Wang, Angela M. Gronenborn, et Jacek Skowronski. 2012. « HIV/Simian Immunodeficiency Virus (SIV) Accessory Virulence Factor Vpx Loads the Host Cell Restriction Factor SAMHD1 onto the E3 Ubiquitin Ligase Complex CRL4DCAF1 ». *The Journal of Biological Chemistry* 287 (15) : 12550-58. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.340711>.
7. Alatrakchi, Nadia, Florence Damond, Sophie Matheron, Sophie Beretta-Tempelhoff, Pauline Campa, Guislaine Carcelain, Françoise Brun-Vezinet, Brigitte Autran, et French HIV-2 study group. 2006. « Proliferative, IFN γ and IL-2-Producing T-

- Cell Responses to HIV-2 in Untreated HIV-2 Infection ». *AIDS* (London, England) 20 (1) : 29-34.
8. Alter, Galit, David Heckerman, Arne Schneidewind, Lena Fadda, Carl M. Kadie, Jonathan M. Carlson, Cesar Oniangue-Ndza, et al. 2011. « HIV-1 Adaptation to NK-Cell-Mediated Immune Pressure ». *Nature* 476 (7358) : 96-100. <https://doi.org/10.1038/nature10237>.
 9. Alter, Galit, Stephanie Jost, Suzannah Rihn, Laura L. Reyor, Brian E. Nolan, Musie Ghebremichael, Ronald Bosch, Marcus Altfeld, et Georg M. Lauer. 2011. « Reduced Frequencies of NKp30+NKp46+, CD161+, and NKG2D+ NK Cells in Acute HCV Infection May Predict Viral Clearance ». *Journal of Hepatology* 55 (2) : 278-88. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.11.030>.
 10. Alter, Galit, Jessica M. Malenfant, et Marcus Altfeld. 2004. « CD107a as a Functional Marker for the Identification of Natural Killer Cell Activity ». *Journal of Immunological Methods* 294 (1) : 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>.
 11. Altfeld, Marcus, Lena Fadda, Davor Frleta, et Nina Bhardwaj. 2011. « DCs and NK cells : critical effectors in the immune response to HIV-1 ». *Nature Reviews. Immunology* 11 (3) : 176-86. <https://doi.org/10.1038/nri2935>.
 12. Ancuta, Petronela, Laurence Weiss, et Nicole Haeffner-Cavaillon. 2000. « CD14+CD16++ Cells Derived in Vitro from Peripheral Blood Monocytes Exhibit Phenotypic and Functional Dendritic Cell-like Characteristics ». *European Journal of Immunology* 30 (7) : 1872-83. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200007\)30:7<1872::AID-IMMU1872>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200007)30:7<1872::AID-IMMU1872>3.0.CO;2-2).
 13. Anderson, Jeffrey A., Nancie M. Archin, William Ince, Daniel Parker, Ann Wiegand, John M. Coffin, Joann Kuruc, Joseph Eron, Ronald Swanstrom, et David M. Margolis. 2011. « Clonal Sequences Recovered from Plasma from Patients with Residual HIV-1 Viremia and on Intensified Antiretroviral Therapy Are Identical to Replicating Viral RNAs Recovered from Circulating Resting CD4+ T Cells ». *Journal of Virology* 85 (10) : 5220-23. <https://doi.org/10.1128/JVI.00284-11>.

14. Andersson, S., H. Norrgren, Z. da Silva, A. Biague, S. Bamba, S. Kwok, C. Christopherson, G. Biberfeld, et J. Albert. 2000. « Plasma Viral Load in HIV-1 and HIV-2 Singly and Dually Infected Individuals in Guinea-Bissau, West Africa : Significantly Lower Plasma Virus Set Point in HIV-2 Infection than in HIV-1 Infection ». *Archives of Internal Medicine* 160 (21) : 3286-93. <https://doi.org/10.1001/archinte.160.21.3286>.
15. André, Nicolas, Alexandre Fabre, Cécile Colavolpe, Thierry Jacob, Jean Gaudart, Carole Coze, Marie Paris, et al. 2008. « FDG PET and Evaluation of Posttherapeutic Residual Tumors in Pediatric Oncology : Preliminary Experience ». *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 30 (5) : 343-46. <https://doi.org/10.1097/MPH.0b013e3181647c27>.
16. Andreasson, P. A., F. Dias, A. Naclér, S. Andersson, et G. Biberfeld. 1993. « A Prospective Study of Vertical Transmission of HIV-2 in Bissau, Guinea-Bissau ». *AIDS (London, England)* 7 (7) : 989-93.
17. Angin, Mathieu, Glenn Wong, Laura Papagno, Pierre Versmisse, Annie David, Charles Bayard, Bénédicte Charmeteau-De Muylde, et al. 2016. « Preservation of Lymphopoietic Potential and Virus Suppressive Capacity by CD8+ T Cells in HIV-2-Infected Controllers ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 197 (7) : 2787-95. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600693>.
18. Ansari, A. Wahid, Dirk Meyer-Olson, et Reinhold E. Schmidt. 2013. « Selective Expansion of Pro-Inflammatory Chemokine CCL2-Loaded CD14+CD16+ Monocytes Subset in HIV-Infected Therapy Naïve Individuals ». *Journal of Clinical Immunology* 33 (1) : 302-6. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9790-0>.
19. Ansari, Abdul W., Hans Heiken, Dirk Meyer-Olson, et Reinhold E. Schmidt. 2011. « CCL2 : A Potential Prognostic Marker and Target of Anti-Inflammatory Strategy in HIV/AIDS Pathogenesis ». *European Journal of Immunology* 41 (12) : 3412-18. <https://doi.org/10.1002/eji.201141676>.
20. Archin, N. M., A. L. Liberty, A. D. Kashuba, S. K. Choudhary, J. D. Kuruc, A. M. Crooks, D. C. Parker, et al. 2012. « Administration of Vorinostat Disrupts HIV-1

Latency in Patients on Antiretroviral Therapy ». *Nature* 487 (7408) : 482-85.
<https://doi.org/10.1038/nature11286>.

21. Archin, Nancie M., Ann Wiegand, Mary F. Kearney, Myron S. Cohen, John M. Coffin, Ronald J. Bosch, Cynthia L. Gay, Joseph J. Eron, David M. Margolis, et Alan S. Perelson. 2012. Review of Immediate antiviral therapy appears to restrict resting CD4+ cell HIV-1 infection without accelerating the decay of latent infection, par Naveen K. Vaidya, JoAnn D. Kuruc, et Abigail L. Liberty. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (24) : 9523-28.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1120248109>.
22. Ariyoshi, K., S. Jaffar, A. S. Alabi, N. Berry, M. Schim van der Loeff, S. Sabally, P. T. N'Gom, T. Corrah, R. Tedder, et H. Whittle. 2000. « Plasma RNA Viral Load Predicts the Rate of CD4 T Cell Decline and Death in HIV-2-Infected Patients in West Africa ». *AIDS (London, England)* 14 (4) : 339-44. <https://doi.org/10.1097/00002030-200003100-00006>.
23. Augugliaro, Raffaella, Silvia Parolini, Roberta Castriconi, Emanuela Marcenaro, Claudia Cantoni, Marina Nanni, Lorenzo Moretta, Alessandro Moretta, et Cristina Bottino. 2003. « Selective Cross-Talk among Natural Cytotoxicity Receptors in Human Natural Killer Cells ». *European Journal of Immunology* 33 (5) : 1235-41.
<https://doi.org/10.1002/eji.200323896>.
24. Autran, B., G. Carcelain, T. S. Li, C. Blanc, D. Mathez, R. Tubiana, C. Katlama, P. Debré, et J. Leibowitch. 1997. « Positive Effects of Combined Antiretroviral Therapy on CD4+ T Cell Homeostasis and Function in Advanced HIV Disease ». *Science* 277 (5322) : 112-16. <https://doi.org/10.1126/science.277.5322.112>.
25. Autran, Brigitte, Benjamin Descours, et Charline Bacchus. 2013. « Immune Control of HIV-1 Reservoirs ». *Current Opinion in HIV and AIDS* 8 (3) : 204-10.
<https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32835fe6d2>.
26. Avalos, Claudia R., Sarah L. Price, Ellen R. Forsyth, Julia N. Pin, Erin N. Shirk, Brandon T. Bullock, Suzanne E. Queen, et al. 2016. « Quantitation of Productively Infected Monocytes and Macrophages of Simian Immunodeficiency Virus-Infected

- Macaques ». *Journal of Virology* 90 (12) : 5643-56. <https://doi.org/10.1128/JVI.00290-16>.
27. Avettand-Fènoël, Véronique, Faroudy Boufassa, Julie Galimand, Laurence Meyer, et Christine Rouzioux. 2008. « HIV-1 DNA for the Measurement of the HIV Reservoir Is Predictive of Disease Progression in Seroconverters Whatever the Mode of Result Expression Is ». *Journal of Clinical Virology* 42 (4) : 399-404. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.03.013>.
28. Avettand-Fènoël, Véronique, Marie-Laure Chaix, Stéphane Blanche, Marianne Burgard, Corinne Floch, Kadidia Toure, Marie-Christine Allemon, Josiane Warszawski, Christine Rouzioux, et French Pediatric Cohort Study ANRS-CO 01 Group. 2009. « LTR Real-Time PCR for HIV-1 DNA Quantitation in Blood Cells for Early Diagnosis in Infants Born to Seropositive Mothers Treated in HAART Area (ANRS CO 01) ». *Journal of Medical Virology* 81 (2) : 217-23. <https://doi.org/10.1002/jmv.21390>.
29. Avettand-Fenoel, Véronique, Florence Damond, Marie Gueudin, Sophie Matheron, Adeline Mélard, Gilles Collin, Diane Descamps, et al. 2014. « New Sensitive One-Step Real-Time Duplex PCR Method for Group A and B HIV-2 RNA Load ». *Journal of Clinical Microbiology* 52 (8) : 3017-22. <https://doi.org/10.1128/JCM.00724-14>.
30. Ayinde, Diana, Claire Maudet, Catherine Transy, et Florence Margottin-Goguet. 2010. « Limelight on two HIV/SIV accessory proteins in macrophage infection : Is Vpx overshadowing Vpr? » *Retrovirology* 7 (avril) : 35. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-35>.
31. Ayouba, Ahidjo, Chantal Akoua-Koffi, Sébastien Calvignac-Spencer, Amandine Esteban, Sabrina Locatelli, Hui Li, Yingying Li, et al. 2013. « Evidence for continuing cross-species transmission of SIVsmm to humans : characterization of a new HIV-2 lineage in rural Côte d'Ivoire ». *AIDS (London, England)* 27 (15). <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000432443.22684.50>.
32. Azevedo-Pereira, José Miguel, et 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.

33. Azzam, Rula, Katherine Kedzierska, Edwin Leeansyah, Hiutat Chan, Daniel Doischer, Paul R. Gorry, Anthony L. Cunningham, Suzanne M. Crowe, et Anthony Jaworowski. 2006. « Impaired Complement-Mediated Phagocytosis by HIV Type-1-Infected Human Monocyte-Derived Macrophages Involves a CAMP-Dependent Mechanism ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 22 (7) : 619-29. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.22.619>.
34. Bacchus, Charline, Antoine Cheret, Véronique Avettand-Fenoël, Georges Nembot, Adeline Mélard, Catherine Blanc, Caroline Lascoux-Combe, et al. 2013. « A Single HIV-1 Cluster and a Skewed Immune Homeostasis Drive the Early Spread of HIV among Resting CD4+ Cell Subsets within One Month Post-Infection ». *PloS One* 8 (5) : e64219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064219>.
35. Bächle, Susanna M., David F. G. Malone, Marcus Buggert, Annika C. Karlsson, Per-Erik Isberg, Antonio J. Biague, Hans Norrgren, et al. 2016. « Elevated Levels of Invariant Natural Killer T-Cell and Natural Killer Cell Activation Correlate with Disease Progression in HIV-1 and HIV-2 Infections ». *AIDS (London, England)* 30 (11) : 1713-22. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001147>.
36. Bailey, Justin R., Ahmad R. Sedaghat, Tara Kieffer, Timothy Brennan, Patricia K. Lee, Megan Wind-Rotolo, Christine M. Haggerty, et al. 2006. « Residual Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viremia in Some Patients on Antiretroviral Therapy Is Dominated by a Small Number of Invariant Clones Rarely Found in Circulating CD4+ T Cells ». *Journal of Virology* 80 (13) : 6441-57. <https://doi.org/10.1128/JVI.00591-06>.
37. Baldauf, Hanna-Mari, Xiaoyu Pan, Elina Erikson, Sarah Schmidt, Waaqo Daddacha, Manja Burggraf, Kristina Schenkova, et al. 2012. « SAMHD1 restricts HIV-1 infection in resting CD4+ T cells ». *Nature medicine* 18 (11). <https://doi.org/10.1038/nm.2964>.
38. Banchereau, Jacques, et Ralph M. Steinman. 1998. « Dendritic Cells and the Control of Immunity ». *Nature* 392 (6673) : 245. <https://doi.org/10.1038/32588>.
39. Banga, Riddhima, Francesco Andrea Procopio, Alessandra Noto, Georgios Pollakis, Matthias Cavassini, Khalid Ohmiti, Jean-Marc Corpataux, Laurence de Leval, Giuseppe Pantaleo, et Matthieu Perreau. 2016. « PD-1+ and follicular helper T cells are

responsible for persistent HIV-1 transcription in treated aviremic individuals ». *Nature Medicine* 22 (7) : 754-61. <https://doi.org/10.1038/nm.4113>.

40. Baratin, Myriam, et Éric Vivier. 2010. « B7-H6 : un nouveau signal d'alarme pour les cellules natural killer ». *M/S. Médecine sciences* [ISSN papier : 0767-0974 ; ISSN numérique : 1958-5381], 2010, Vol. 26, N° 2; p. 119-120. <https://doi.org/10.1051/medsci/2010262119>.
41. Barin, F., F. Denis, J. S. Allan, S. M'Boup, P. Kanki, T. H. Lee, et M. Essex. 1985. « SEROLOGICAL EVIDENCE FOR VIRUS RELATED TO SIMIAN T-LYMPHOTROPIC RETROVIRUS III IN RESIDENTS OF WEST AFRICA ». *The Lancet* 326 (8469) : 1387-89. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)92556-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)92556-5).
42. Barouch, Dan H. 2010. « Novel Adenovirus Vector-Based Vaccines for HIV-1 ». *Current opinion in HIV and AIDS* 5 (5) : 386-90. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833cfe4c>.
43. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, et al. 1983. « Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) ». *Science* 220 (4599) : 868-71. <https://doi.org/10.1126/science.6189183>.
44. Barré-Sinoussi, Françoise, Anna Laura Ross, et Jean-François Delfraissy. 2013. « Past, Present and Future : 30 Years of HIV Research ». *Nature Reviews Microbiology* 11 (12) : 877-83. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3132>.
45. Barton, Kirston, Anni Winckelmann, et Sarah Palmer. 2016. « HIV-1 Reservoirs During Suppressive Therapy ». *Trends in microbiology* 24 (5) : 345-55. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.006>.
46. Battivelli, Emilie, Julie Migraine, Denise Lecossier, Saori Matsuoka, Danielle Perez-Bercoff, Sentob Saragosti, François Clavel, et Allan J. Hance. 2011. « Modulation of TRIM5 α Activity in Human Cells by Alternatively Spliced TRIM5 Isoforms ». *Journal of Virology* 85 (15) : 7828-35. <https://doi.org/10.1128/JVI.00648-11>.
47. Baychelier, Florence, Alexis Sennepin, Myriam Ermonval, Karim Dorgham, Patrice Debré, et Vincent Vieillard. 2013. « Identification of a Cellular Ligand for the Natural

Cytotoxicity Receptor NKp44 ». *Blood* 122 (17) : 2935-42.
<https://doi.org/10.1182/blood-2013-03-489054>.

48. Beebe, A. M., N. Dua, T. G. Faith, P. F. Moore, N. C. Pedersen, et S. Dandekar. 1994. « Primary Stage of Feline Immunodeficiency Virus Infection : Viral Dissemination and Cellular Targets ». *Journal of Virology* 68 (5) : 3080-91.
49. Beer, Brigitte E., Brian T. Foley, Carla L. Kuiken, Zena Tooze, Robert M. Goeken, Charles R. Brown, Jinjie Hu, Marisa St Claire, Bette T. Korber, et Vanessa M. Hirsch. 2001. « Characterization of Novel Simian Immunodeficiency Viruses from Red-Capped Mangabeys from Nigeria (SIVrcmNG409 and -NG411) ». *Journal of Virology* 75 (24) : 12014-27. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.24.12014-12027.2001>.
50. Beloglazova, Natalia, Robert Flick, Anatoli Tchigvintsev, Greg Brown, Ana Popovic, Boguslaw Nocek, et Alexander F. Yakunin. 2013. « Nuclease Activity of the Human SAMHD1 Protein Implicated in the Aicardi-Goutières Syndrome and HIV-1 Restriction ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (12) : 8101-10. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.431148>.
51. Berrih-Aknin, Sonia, et Bruno Eymard. 1999. « Thymus et pathologies ». *Médecine thérapeutique* 5 (7) : 579-86.
52. Berry, N., K. Ariyoshi, S. Jaffar, S. Sabally, T. Corrah, R. Tedder, et H. Whittle. 1998. « Low Peripheral Blood Viral HIV-2 RNA in Individuals with High CD4 Percentage Differentiates HIV-2 from HIV-1 Infection ». *Journal of Human Virology* 1 (7) : 457-68.
53. Berry, Neil, Shabbar Jaffar, Maarten Schim van der Loeff, Koya Ariyoshi, Elizabeth Harding, Pa Tamba N'Gom, Francisco Dias, et al. 2002. « Low Level Viremia and High CD4% Predict Normal Survival in a Cohort of HIV Type-2-Infected Villagers ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 18 (16) : 1167-73. <https://doi.org/10.1089/08892220260387904>.
54. Bertine, Mélanie, Marie Gueudin, Adeline Mélard, Florence Damond, Diane Descamps, Sophie Matheron, Fideline Collin, Christine Rouzioux, Jean-Christophe Plantier, et Véronique Avettand-Fenoel. 2017. « New Highly Sensitive Real-Time PCR Assay for

HIV-2 Group A and Group B DNA Quantification ». *Journal of Clinical Microbiology* 55 (9) : 2850-57. <https://doi.org/10.1128/JCM.00755-17>.

55. Bertoletti, A., F. Cham, S. McAdam, T. Rostron, S. Rowland-Jones, S. Sabally, T. Corrah, K. Ariyoshi, et H. Whittle. 1998. « Cytotoxic T Cells from Human Immunodeficiency Virus Type 2-Infected Patients Frequently Cross-React with Different Human Immunodeficiency Virus Type 1 Clades ». *Journal of Virology* 72 (3) : 2439-48.
56. Bertram, Kirstie M., Rachel A. Botting, Heeva Baharlou, Jake W. Rhodes, Hafsa Rana, J. Dinny Graham, Ellis Patrick, et al. 2019. « Identification of HIV Transmitting CD11c+ Human Epidermal Dendritic Cells ». *Nature Communications* 10 (1) : 2759. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10697-w>.
57. Biron, Christine A., Kevin S. Byron, et John L. Sullivan. 1989. « Severe Herpesvirus Infections in an Adolescent without Natural Killer Cells ». *New England Journal of Medicine* 320 (26) : 1731-35. <https://doi.org/10.1056/NEJM198906293202605>.
58. Blaak, H., P. H. M. Boers, R. A. Gruters, H. Schuitemaker, M. E. van der Ende, et A. D. M. E. Osterhaus. 2005. « CCR5, GPR15, and CXCR6 Are Major Coreceptors of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Variants Isolated from Individuals with and without Plasma Viremia ». *Journal of Virology* 79 (3) : 1686-1700. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.3.1686-1700.2005>.
59. Blaak, Hetty, Marchina E. van der Ende, Patrick H. M. Boers, Hanneke Schuitemaker, et Albert D. M. E. Osterhaus. 2006. « In vitro replication capacity of HIV-2 variants from long-term aviremic individuals ». *Virology* 353 (1) : 144-54. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.05.029>.
60. Blaak, Hetty, Angélique B. van't Wout, Margreet Brouwer, Berend Hooibrink, Egbert Hovenkamp, et Hanneke Schuitemaker. 2000. « In vivo HIV-1 infection of CD45RA+CD4+ T cells is established primarily by syncytium-inducing variants and correlates with the rate of CD4+ T cell decline ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (3) : 1269-74.

61. Blankson, Joel. 2010. « Control of HIV-1 Replication in Elite Suppressors ». *Discovery Medicine* 9 (46) : 261-66.
62. Blankson, Joel N., Deborah Persaud, et Robert F. Siliciano. 2002. « The Challenge of Viral Reservoirs in HIV-1 Infection ». *Annual Review of Medicine* 53 (1) : 557-93. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.53.082901.104024>.
63. Boily, Marie-Claude, Rebecca F Baggaley, Lei Wang, Benoit Masse, Richard G White, Richard J Hayes, et Michel Alary. 2009. « Heterosexual risk of HIV-1 infection per sexual act : systematic review and meta-analysis of observational studies ». *The Lancet Infectious Diseases* 9 (2) : 118-29. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70021-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70021-0).
64. Borrow, P., H. Lewicki, X. Wei, M. S. Horwitz, N. Pfeffer, H. Meyers, J. A. Nelson, et al. 1997. « Antiviral Pressure Exerted by HIV-1-Specific Cytotoxic T Lymphocytes (CTLs) during Primary Infection Demonstrated by Rapid Selection of CTL Escape Virus ». *Nature Medicine* 3 (2) : 205-11.
65. Bosque, Alberto, Marylinda Famiglietti, Andrew S. Weyrich, Claudia Goulston, et Vicente Planelles. 2011. « Homeostatic Proliferation Fails to Efficiently Reactivate HIV-1 Latently Infected Central Memory CD4+ T Cells ». *PLoS Pathogens* 7 (10) : e1002288. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002288>.
66. Bosque, Alberto, et Vicente Planelles. 2009. « Induction of HIV-1 Latency and Reactivation in Primary Memory CD4+ T Cells ». *Blood* 113 (1) : 58-65. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-168393>.
67. Bottino, Cristina, Roberta Castriconi, Lorenzo Moretta, et Alessandro Moretta. 2005. « Cellular Ligands of Activating NK Receptors ». *Trends in Immunology* 26 (4) : 221-26. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.02.007>.
68. Bottino, Cristina, Lorenzo Moretta, Daniela Pende, Massimo Vitale, et Alessandro Moretta. 2004. « Learning How to Discriminate between Friends and Enemies, a Lesson from Natural Killer Cells ». *Molecular Immunology* 41 (6-7) : 569-75. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.04.004>.
69. Boulet, Salix, Marianna Kleyman, Jenice Yj Kim, Philomena Kanya, Saeid Sharafi, Nancy Simic, Julie Bruneau, Jean-Pierre Routy, Christos M. Tsoukas, et Nicole F.

- Bernard. 2008. « A Combined Genotype of KIR3DL1 High Expressing Alleles and HLA-B*57 Is Associated with a Reduced Risk of HIV Infection ». *AIDS* (London, England) 22 (12) : 1487-91. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282ffde7e>.
70. Boulet, Salix, Saeid Sharafi, Nancy Simic, Julie Bruneau, Jean-Pierre Routy, Christos M. Tsoukas, et Nicole F. Bernard. 2008. « Increased Proportion of KIR3DS1 Homozygotes in HIV-Exposed Uninfected Individuals ». *AIDS* (London, England) 22 (5) : 595-99. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282f56b23>.
71. Brandt, Cameron S., Myriam Baratin, Eugene C. Yi, Jacob Kennedy, Zeren Gao, Brian Fox, Betty Haldeman, et al. 2009. « The B7 Family Member B7-H6 Is a Tumor Cell Ligand for the Activating Natural Killer Cell Receptor NKp30 in Humans ». *The Journal of Experimental Medicine* 206 (7) : 1495-1503. <https://doi.org/10.1084/jem.20090681>.
72. Bredenkamp, Nicholas, Craig S. Nowell, et C. Clare Blackburn. 2014. « Regeneration of the Aged Thymus by a Single Transcription Factor ». *Development* (Cambridge, England) 141 (8) : 1627-37. <https://doi.org/10.1242/dev.103614>.
73. Brenchley, Jason M., Brenna J. Hill, David R. Ambrozak, David A. Price, Francisco J. Guenaga, Joseph P. Casazza, Janaki Kuruppu, et al. 2004. « T-Cell Subsets That Harbor Human Immunodeficiency Virus (HIV) In Vivo : Implications for HIV Pathogenesis ». *Journal of Virology* 78 (3) : 1160-68. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.3.1160-1168.2004>.
74. Brenchley, Jason M., David A. Price, Timothy W. Schacker, Tedi E. Asher, Guido Silvestri, Srinivas Rao, Zachary Kazzaz, et al. 2006. « Microbial Translocation Is a Cause of Systemic Immune Activation in Chronic HIV Infection ». *Nature Medicine* 12 (12) : 1365-71. <https://doi.org/10.1038/nm1511>.
75. Brenchley, Jason M., Timothy W. Schacker, Laura E. Ruff, David A. Price, Jodie H. Taylor, Gregory J. Beilman, Phuong L. Nguyen, 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. <https://doi.org/10.1084/jem.20040874>.

76. Brennan, Timothy P., John O. Woods, Ahmad R. Sedaghat, Janet D. Siliciano, Robert F. Siliciano, et Claus O. Wilke. 2009. « Analysis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viremia and Provirus in Resting CD4+ T Cells Reveals a Novel Source of Residual Viremia in Patients on Antiretroviral Therapy ». *Journal of Virology* 83 (17) : 8470-81. <https://doi.org/10.1128/JVI.02568-08>.
77. Broder, C. C., et E. A. Berger. 1995. « Fusogenic Selectivity of the Envelope Glycoprotein Is a Major Determinant of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Tropism for CD4+ T-Cell Lines vs. Primary Macrophages ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (19) : 9004-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.9004>.
78. Bromley, Shannon K., Thorsten R. Mempel, et Andrew D. Luster. 2008. « Orchestrating the Orchestrators : Chemokines in Control of T Cell Traffic ». *Nature Immunology* 9 (9) : 970-80. <https://doi.org/10.1038/ni.f.213>.
79. Brunetta, Enrico, Manuela Fogli, Stefania Varchetta, Luisa Bozzo, Kelly L. Hudspeth, Emanuela Marcenaro, Alessandro Moretta, et Domenico Mavilio. 2009. « The Decreased Expression of Siglec-7 Represents an Early Marker of Dysfunctional Natural Killer-Cell Subsets Associated with High Levels of HIV-1 Viremia ». *Blood* 114 (18) : 3822-30. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-226332>.
80. Buchbinder SP, Katz MH, Hessol NA, O'Malley PM, et Holmberg SD. 1994. « Long-term HIV-1 infection without immunologic progression. - PubMed - NCBI ». 1994. <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pubmed/?term=Long-term+HIV1+infection+without+immunologic+progression.+AIDS+1994+%3B+8+%3A+1123-8>.
81. Bui, John K., Michele D. Sobolewski, Brandon F. Keele, Jonathan Spindler, Andrew Musick, Ann Wiegand, Brian T. Luke, et al. 2017. « Proviruses with Identical Sequences Comprise a Large Fraction of the Replication-Competent HIV Reservoir ». *PLoS Pathogens* 13 (3) : e1006283. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006283>.
82. Bukrinsky, M. I., T. L. Stanwick, M. P. Dempsey, et M. Stevenson. 1991. « Quiescent T Lymphocytes as an Inducible Virus Reservoir in HIV-1 Infection ». *Science (New York, N.Y.)* 254 (5030) : 423-27. <https://doi.org/10.1126/science.1925601>.

83. Bullen, C. Korin, Gregory M. Laird, Christine M. Durand, Janet D. Siliciano, et Robert F. Siliciano. 2014. « New Ex Vivo Approaches Distinguish Effective and Ineffective Single Agents for Reversing HIV-1 Latency in Vivo ». *Nature Medicine* 20 (4) : 425-29. <https://doi.org/10.1038/nm.3489>.
84. Burel, Julie G., Yu Qian, Cecilia Lindestam Arlehamn, Daniela Weiskopf, Jose Zapardiel-Gonzalo, Randy Taplitz, Robert H. Gilman, et al. 2017. « An Integrated Workflow To Assess Technical and Biological Variability of Cell Population Frequencies in Human Peripheral Blood by Flow Cytometry ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 198 (4) : 1748-58. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601750>.
85. Buzon, Maria J., Enrique Martin-Gayo, Florencia Pereyra, Zhengyu Ouyang, Hong Sun, Jonathan Z. Li, Michael Piovoso, et al. 2014. « Long-Term Antiretroviral Treatment Initiated at Primary HIV-1 Infection Affects the Size, Composition, and Decay Kinetics of the Reservoir of HIV-1-Infected CD4 T Cells ». *Journal of Virology* 88 (17) : 10056-65. <https://doi.org/10.1128/JVI.01046-14>.
86. Buzon, Maria J., Hong Sun, Chun Li, Amy Shaw, Katherine Seiss, Zhengyu Ouyang, Enrique Martin-Gayo, et al. 2014. « HIV-1 persistence in CD4+ T cells with stem cell-like properties ». *Nature medicine* 20 (2) : 139-42. <https://doi.org/10.1038/nm.3445>.
87. Buzon, Victor, Ganesh Natrajan, David Schibli, Felix Campelo, Michael M. Kozlov, et Winfried Weissenhorn. 2010. « Crystal Structure of HIV-1 Gp41 Including Both Fusion Peptide and Membrane Proximal External Regions ». *PLoS Pathogens* 6 (5) : e1000880. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000880>.
88. Caligiuri, Michael A. 2008. « Human Natural Killer Cells ». *Blood* 112 (3) : 461-69. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>.
89. Calin, Ruxandra, Chiraz Hamimi, Sidonie Lambert-Niclot, Guislaine Carcelain, Jonathan Bellet, Lambert Assoumou, Roland Tubiana, et al. 2016. « Treatment Interruption in Chronically HIV-Infected Patients with an Ultralow HIV Reservoir ». *AIDS* (London, England) 30 (5) : 761-69. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000987>.

90. Campbell-Yesufu, Omobolaji T., et Rajesh T. Gandhi. 2011. « Update on Human Immunodeficiency Virus (HIV)-2 Infection ». *Clinical Infectious Diseases* 52 (6) : 780-87. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq248>.
91. Carcelain, Guislaine, et Brigitte Autran. 2013. « Immune Interventions in HIV Infection ». *Immunological Reviews* 254 (1) : 355-71. <https://doi.org/10.1111/imr.12083>.
92. Carlsten, Mattias, Håkan Norell, Yenan T. Bryceson, Isabel Poschke, Kjell Schedvins, Hans-Gustaf Ljunggren, Rolf Kiessling, et Karl-Johan Malmberg. 2009. « Primary Human Tumor Cells Expressing CD155 Impair Tumor Targeting by Down-Regulating DNAM-1 on NK Cells ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 183 (8) : 4921-30. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901226>.
93. Carrega, Paolo, et Guido Ferlazzo. 2012. « Natural Killer Cell Distribution and Trafficking in Human Tissues ». *Frontiers in Immunology* 3 : 347. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00347>.
94. Cartwright, Emily K., Colleen S. McGary, Barbara Cervasi, Luca Micci, Benton Lawson, Sarah T. C. Elliott, Ronald G. Collman, et al. 2014. « Divergent CD4+ T Memory Stem Cell Dynamics in Pathogenic and Nonpathogenic Simian Immunodeficiency Virus Infections ». *The Journal of Immunology* 192 (10) : 4666-73. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303193>.
95. Casado, Concepción, Sara Marrero-Hernández, Daniel Márquez-Arce, María Pernas, Sílvia Marfil, Ferran Borràs-Grañana, Isabel Olivares, et al. 2018. « Viral Characteristics Associated with the Clinical Nonprogressor Phenotype Are Inherited by Viruses from a Cluster of HIV-1 Elite Controllers ». *mBio* 9 (2). <https://doi.org/10.1128/mBio.02338-17>.
96. Casati, Anna, Azam Varghaei-Nahvi, Steven Alexander Feldman, Mario Assenmacher, Steven Aaron Rosenberg, Mark Edward Dudley, et Alexander Scheffold. 2013. « Clinical-Scale Selection and Viral Transduction of Human Naïve and Central Memory CD8+ T Cells for Adoptive Cell Therapy of Cancer Patients ». *Cancer Immunology, Immunotherapy* 62 (10) : 1563-73. <https://doi.org/10.1007/s00262-013-1459-x>.

97. Cassol, Edana, Luca Cassetta, Massimo Alfano, et Guido Poli. 2010. « Macrophage Polarization and HIV-1 Infection ». *Journal of Leukocyte Biology* 87 (4) : 599-608. <https://doi.org/10.1189/jlb.1009673>.
98. Centers for Disease Control (CDC). 1981. « Pneumocystis Pneumonia--Los Angeles ». *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 30 (21) : 250-52.
99. « Centers for Disease Control. Factsheet HIV Type 2. Available at : <http://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/m0038078/m0038078.asp>. Accessed 24 June 2010 ». s. d. Consulté le 15 février 2019. <https://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/m0038078/m0038078.asp>.
100. Chachques, Juan C, Christophe Acar, Jesus Herreros, Jorge C Trainini, Felipe Prosper, Nicola D'Attellis, Jean-Noel Fabiani, et Alain F Carpentier. 2004. « Cellular Cardiomyoplasty : Clinical Application ». *The Annals of Thoracic Surgery* 77 (3) : 1121-30. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2003.09.081>.
101. Chan, D. C., D. Fass, J. M. Berger, et P. S. Kim. 1997. « Core Structure of Gp41 from the HIV Envelope Glycoprotein ». *Cell* 89 (2) : 263-73. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80205-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80205-6).
102. Chattopadhyay, Pratip K., Daniel C. Douek, Stephen J. Gange, Karen R. Chadwick, Marc Hellerstein, et Joseph B. Margolick. 2006. « Longitudinal Assessment of de Novo T Cell Production in Relation to HIV-Associated T Cell Homeostasis Failure ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 22 (6) : 501-7. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.22.501>.
103. Che, Karlhans Fru, Esaki Muthu Shankar, Sundaram Muthu, Sasan Zandi, Mikael Sigvardsson, Jorma Hinkula, Davorika Messmer, et Marie Larsson. 2012. « p38 Mitogen-Activated Protein Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription-3 Pathway Signaling Regulates Expression of Inhibitory Molecules in T Cells Activated by HIV-1-Exposed Dendritic Cells ». *Molecular Medicine* 18 (1) : 1169-82. <https://doi.org/10.2119/molmed.2012.00103>.

104. Chen, Bing, Erik M. Vogan, Haiyun Gong, John J. Skehel, Don C. Wiley, et Stephen C. Harrison. 2005. « Structure of an Unliganded Simian Immunodeficiency Virus Gp120 Core ». *Nature* 433 (7028) : 834-41. <https://doi.org/10.1038/nature03327>.
105. Chen, Z., P. Zhou, D. D. Ho, N. R. Landau, et P. A. Marx. 1997. « Genetically Divergent Strains of Simian Immunodeficiency Virus Use CCR5 as a Coreceptor for Entry ». *Journal of Virology* 71 (4) : 2705-14.
106. Chen, Zhiwei, Agegnehu Gettie, David D. Ho, et Preston A. Marx. 1998. « Primary SIVsm Isolates Use the CCR5 Coreceptor from Sooty Mangabeys Naturally Infected in West Africa : A Comparison of Coreceptor Usage of Primary SIVsm, HIV-2, and SIVmac ». *Virology* 246 (1) : 113-24. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9174>.
107. Chen, Zhiwei, Douglas Kwon, Zhanqun Jin, Simon Monard, Paul Telfer, Morris S. Jones, Chang Y. Lu, Roberto F. Aguilar, David D. Ho, et Preston A. Marx. 1998. « Natural Infection of a Homozygous $\Delta 24$ CCR5 Red-Capped Mangabey with an R2b-Tropic Simian Immunodeficiency Virus ». *Journal of Experimental Medicine* 188 (11) : 2057-65. <https://doi.org/10.1084/jem.188.11.2057>.
108. Chew, Glen M., Tsuyoshi Fujita, Gabriela M. Webb, Benjamin J. Burwitz, Helen L. Wu, Jason S. Reed, Katherine B. Hammond, et al. 2016. « TIGIT Marks Exhausted T Cells, Correlates with Disease Progression, and Serves as a Target for Immune Restoration in HIV and SIV Infection ». *PLoS Pathogens* 12 (1) : e1005349. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005349>.
109. Choe, Hyeryun, Michael Farzan, Miriam Konkel, Kathleen Martin, Ying Sun, Luisa Marcon, Mark Cayabyab, et al. 1998. « The Orphan Seven-Transmembrane Receptor Apj Supports the Entry of Primary T-Cell-Line-Tropic and Dualtropic Human Immunodeficiency Virus Type 1 ». *Journal of Virology* 72 (7) : 6113-18.
110. Choe, Hyeryun, Michael Farzan, Ying Sun, Nancy Sullivan, Barrett Rollins, Paul D Ponath, Lijun Wu, et al. 1996. « The β -Chemokine Receptors CCR3 and CCR5 Facilitate Infection by Primary HIV-1 Isolates ». *Cell* 85 (7) : 1135-48. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81313-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81313-6).

111. Choi, Jongsu, Jeongmin Ryoo, Changhoon Oh, Sungyeon Hwang, et Kwangseog Ahn. 2015. « SAMHD1 specifically restricts retroviruses through its RNase activity ». *Retrovirology* 12 (juin). <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0174-4>.
112. Chomont, Nicolas, Mohamed El-Far, Petronela Ancuta, Lydie Trautmann, Francesco A Procopio, Bader Yassine-Diab, Geneviève Boucher, et al. 2009. « HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation ». *Nature medicine* 15 (8) : 893-900. <https://doi.org/10.1038/nm.1972>.
113. Chun, T. W., L. Carruth, D. Finzi, X. Shen, J. A. DiGiuseppe, H. Taylor, M. Hermankova, et al. 1997. « Quantification of Latent Tissue Reservoirs and Total Body Viral Load in HIV-1 Infection ». *Nature* 387 (6629) : 183-88. <https://doi.org/10.1038/387183a0>.
114. Chun, T W, K Chadwick, J Margolick, et R F Siliciano. 1997. « Differential susceptibility of naive and memory CD4+ T cells to the cytopathic effects of infection with human immunodeficiency virus type 1 strain LAI. » *Journal of Virology* 71 (6) : 4436-44.
115. Chun, T. W., R. T. Davey, D. Engel, H. C. Lane, et A. S. Fauci. 1999. « Re-Emergence of HIV after Stopping Therapy ». *Nature* 401 (6756) : 874-75. <https://doi.org/10.1038/44755>.
116. Chun, T. W., D. Finzi, J. Margolick, K. Chadwick, D. Schwartz, et R. F. Siliciano. 1995. « In Vivo Fate of HIV-1-Infected T Cells : Quantitative Analysis of the Transition to Stable Latency ». *Nature Medicine* 1 (12) : 1284-90.
117. Chun, Tae-Wook, Delphine Engel, M. Michelle Berrey, Theresa Shea, Lawrence Corey, et Anthony S. Fauci. 1998. « Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4+ T cells during primary HIV-1 infection ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (15) : 8869-73.
118. Cieri, Nicoletta, Barbara Camisa, Fabienne Cocchiarella, Mattia Forcato, Giacomo Oliveira, Elena Provasi, Attilio Bondanza, et al. 2013. « IL-7 and IL-15 Instruct the Generation of Human Memory Stem T Cells from Naive Precursors ». *Blood* 121 (4) : 573-84. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-431718>.

119. Cillo, Anthony R., Michele D. Sobolewski, Ronald J. Bosch, Elizabeth Fyne, Michael Piatak, John M. Coffin, et John W. Mellors. 2014. « Quantification of HIV-1 latency reversal in resting CD4+ T cells from patients on suppressive antiretroviral therapy ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (19) : 7078-83. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402873111>.
120. Cimmino, Luisa, Gislaine A. Martins, Jerry Liao, Erna Magnusdottir, Gabriele Grunig, Rocio K. Perez, et Kathryn L. Calame. 2008. « Blimp-1 Attenuates Th1 Differentiation by Repression of Ifng, Tbx21, and Bcl6 Gene Expression ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 181 (4) : 2338-47.
121. Cinque, Paola, Luca Vago, Manuela Mengozzi, Valter Torri, Daniela Ceresa, Elisa Vicenzi, Pietro Transidico, et al. 1998. « Elevated Cerebrospinal Fluid Levels of Monocyte Chemotactic Protein-1 Correlate with HIV-1 Encephalitis and Local Viral Replication ». *Aids* 12 (11) : 1327-32.
122. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, et al. 1986. « Isolation of a New Human Retrovirus from West African Patients with AIDS ». *Science* 233 (4761) : 343-46. <https://doi.org/10.1126/science.2425430>.
123. Clayton, F., et C. H. Clayton. 1997. « Gastrointestinal Pathology in HIV-Infected Patients ». *Gastroenterology Clinics of North America* 26 (2) : 191-240. [https://doi.org/10.1016/s0889-8553\(05\)70293-4](https://doi.org/10.1016/s0889-8553(05)70293-4).
124. Coakley, Eoin, Christos J. Petropoulos, et Jeannette M. Whitcomb. 2005. « Assessing Chemokine Co-Receptor Usage in HIV ». *Current Opinion in Infectious Diseases* 18 (1) : 9-15. <https://doi.org/10.1097/00001432-200502000-00003>.
125. Coleman, Christopher M., et Li Wu. 2009. « HIV interactions with monocytes and dendritic cells : viral latency and reservoirs ». *Retrovirology* 6 (1) : 51. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-51>.
126. Combadiere, Christophe, Karl Salzwedel, Erica D. Smith, H. Lee Tiffany, Edward A. Berger, et Philip M. Murphy. 1998. « Identification of CX 3CR1 A CHEMOTACTIC RECEPTOR FOR THE HUMAN CX 3C CHEMOKINE

- FRACTALKINE AND A FUSION CORECEPTOR FOR HIV-1 ». *Journal of Biological Chemistry* 273 (37) : 23799-804. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.37.23799>.
127. Connor, E. M., R. S. Sperling, R. Gelber, P. Kiselev, G. Scott, M. J. O'Sullivan, R. VanDyke, M. Bey, W. Shearer, et R. L. Jacobson. 1994. « Reduction of Maternal-Infant Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Zidovudine Treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group ». *The New England Journal of Medicine* 331 (18) : 1173-80. <https://doi.org/10.1056/NEJM199411033311801>.
128. Connor, R. I., K. E. Sheridan, D. Ceradini, S. Choe, et N. R. Landau. 1997. « Change in Coreceptor Use Correlates with Disease Progression in HIV-1--Infected Individuals ». *The Journal of Experimental Medicine* 185 (4) : 621-28. <https://doi.org/10.1084/jem.185.4.621>.
129. Cooper, Megan A, Todd A Fehniger, et Michael A Caligiuri. 2001. « The Biology of Human Natural Killer-Cell Subsets ». *Trends in Immunology* 22 (11) : 633-40. [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)02060-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)02060-9).
130. Costagliola, Dominique, et Angela M. Downs. 1987. « Incubation Time for AIDS ». *Nature* 328 (6131) : 582-582. <https://doi.org/10.1038/328582a0>.
131. Crooks, Amanda M., Rosalie Bateson, Anna B. Cope, Noelle P. Dahl, Morgan K. Griggs, JoAnn D. Kuruc, Cynthia L. Gay, et al. 2015. « Precise Quantitation of the Latent HIV-1 Reservoir : Implications for Eradication Strategies ». *The Journal of Infectious Diseases* 212 (9) : 1361-65. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv218>.
132. Crotty, Shane, Robert J Johnston, et Stephen P Schoenberger. 2010. « Effectors and memories : Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte differentiation ». *Nature immunology* 11 (2) : 114-20. <https://doi.org/10.1038/ni.1837>.
133. Crowe, Suzanne M., et Loems Ziegler-Heitbrock. 2010. « Editorial : Monocyte Subpopulations and Lentiviral Infection ». *Journal of Leukocyte Biology* 87 (4) : 541-43. <https://doi.org/10.1189/jlb.0909637>.

134. Cui, Weiguo, et Susan M. Kaech. 2010. « Generation of Effector CD8+ T Cells and Their Conversion to Memory T Cells ». *Immunological Reviews* 236 (1) : 151-66. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00926.x>.
135. Dahabieh, Matthew S., Emilie Battivelli, et Eric Verdin. 2015. « Understanding HIV Latency : The Road to an HIV Cure ». *Annual Review of Medicine* 66 : 407-21. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-092112-152941>.
136. Dahl, Viktor, Lina Josefsson, et Sarah Palmer. 2010. « HIV Reservoirs, Latency, and Reactivation : Prospects for Eradication ». *Antiviral Research, Twenty-five Years of Antiretroviral Drug Development : Progress and Prospects*, 85 (1) : 286-94. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.09.016>.
137. Damond, Florence, Cristian Apetrei, David L Robertson, Sandrine Souquière, Annie Leprêtre, Sophie Matheron, JC Plantier, Françoise Brun-Vézinet, et François Simon. 2001. « Variability of Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Infecting Patients Living in France ». *Virology* 280 (1) : 19-30. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0685>.
138. Damond, Florence, Michael Worobey, Pauline Campa, Isabelle Farfara, Gilles Colin, Sophie Matheron, Françoise Brun-Vézinet, David L. Robertson, et François Simon. 2004. « Identification of a highly divergent HIV type 2 and proposal for a change in HIV type 2 classification ». *AIDS research and human retroviruses* 20 (6) : 666–672.
139. Davey, Richard T., Niranjan Bhat, Christian Yoder, Tae-Wook Chun, Julia A. Metcalf, Robin Dewar, Ven Natarajan, et al. 1999. « HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (26) : 15109-14.
140. Davis, A. E. 1984. « The Histopathological Changes in the Thymus Gland in the Acquired Immune Deficiency Syndrome ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 437 : 493-502. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1984.tb37173.x>.
141. De Cock, K. M., G. Adjarlolo, E. Ekpini, T. Sibailly, J. Kouadio, M. Maran, K. Brattegaard, K. M. Vetter, R. Doorly, et H. D. Gayle. 1993. « Epidemiology and

Transmission of HIV-2. Why There Is No HIV-2 Pandemic ». *JAMA* 270 (17) : 2083-86.

142. De Maria, Andrea, Federica Bozzano, Claudia Cantoni, et Lorenzo Moretta. 2011. « Revisiting Human Natural Killer Cell Subset Function Revealed Cytolytic CD56(Dim)CD16+ NK Cells as Rapid Producers of Abundant IFN-Gamma on Activation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (2) : 728-32. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012356108>.
143. De Maria, Andrea, Manuela Fogli, Paola Costa, Giuseppe Murdaca, Francesco Pupo, Domenico Mavilio, Alessandro Moretta, et Lorenzo Moretta. 2003. « The Impaired NK Cell Cytolytic Function in Viremic HIV-1 Infection Is Associated with a Reduced Surface Expression of Natural Cytotoxicity Receptors (NKp46, NKp30 and NKp44) ». *European Journal of Immunology* 33 (9) : 2410-18. <https://doi.org/10.1002/eji.200324141>.
144. De Maria, Andrea, Manuela Fogli, Stefania Mazza, Monica Basso, Antonio Picciotto, Paola Costa, Sonia Congia, Maria Cristina Mingari, et Lorenzo Moretta. 2007. « Increased Natural Cytotoxicity Receptor Expression and Relevant IL-10 Production in NK Cells from Chronically Infected Viremic HCV Patients ». *European Journal of Immunology* 37 (2) : 445-55. <https://doi.org/10.1002/eji.200635989>.
145. Deeks, Steven G., Sharon R. Lewin, Anna Laura Ross, Jintanat Ananworanich, Monsef Benkirane, Paula Cannon, Nicolas Chomont, et al. 2016. « International AIDS Society Global Scientific Strategy : Towards an HIV Cure 2016 ». *Nature Medicine* 22 (8) : 839-50. <https://doi.org/10.1038/nm.4108>.
146. DeHart, Jason L., Erik S. Zimmerman, Orly Ardon, Carlos M. R. Monteiro-Filho, Enrique R. Argañaraz, et Vicente Planelles. 2007. « HIV-1 Vpr Activates the G2 Checkpoint through Manipulation of the Ubiquitin Proteasome System ». *Virology Journal* 4 (juin) : 57. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-57>.
147. Dehee, A., C. Asselot, T. Piolot, C. Jacomet, W. Rozenbaum, M. Vidaud, A. Garbarg-Chenon, et J. C. Nicolas. 2001. « Quantification of Epstein-Barr Virus Load in Peripheral Blood of Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients Using Real-Time PCR ». *Journal of Medical Virology* 65 (3) : 543-52.

148. Della Chiesa, Mariella, Massimo Vitale, Simona Carlomagno, Guido Ferlazzo, Lorenzo Moretta, et Alessandro Moretta. 2003. « The Natural Killer Cell-Mediated Killing of Autologous Dendritic Cells Is Confined to a Cell Subset Expressing CD94/NKG2A, but Lacking Inhibitory Killer Ig-like Receptors ». *European Journal of Immunology* 33 (6) : 1657-66. <https://doi.org/10.1002/eji.200323986>.
149. Deng, H., R. Liu, W. Ellmeier, S. Choe, D. Unutmaz, M. Burkhart, P. Di Marzio, et al. 1996. « Identification of a Major Co-Receptor for Primary Isolates of HIV-1 ». *Nature* 381 (6584) : 661-66. <https://doi.org/10.1038/381661a0>.
150. Deng, HongKui, Derya Unutmaz, Vineet N. KewalRamani, et Dan R. Littman. 1997. « Expression Cloning of New Receptors Used by Simian and Human Immunodeficiency Viruses ». *Nature* 388 (6639) : 296-300. <https://doi.org/10.1038/40894>.
151. Descours, Benjamin, Veronique Avettand-Fenoel, Catherine Blanc, Assia Samri, Adeline Mélard, Virginie Supervie, Ioannis Theodorou, Guislaine Carcelain, Christine Rouzioux, et Brigitte Autran. 2012. « Immune Responses Driven by Protective Human Leukocyte Antigen Alleles From Long-Term Nonprogressors Are Associated With Low HIV Reservoir in Central Memory CD4 T Cells ». *Clinical Infectious Diseases* 54 (10) : 1495-1503. <https://doi.org/10.1093/cid/cis188>.
152. Descours, Benjamin, Alexandra Cribier, Christine Chable-Bessia, Diana Ayinde, Gillian Rice, Yanick Crow, Ahmad Yatim, Olivier Schwartz, Nadine Laguette, et Moncef Benkirane. 2012. « SAMHD1 restricts HIV-1 reverse transcription in quiescent CD4+ T-cells ». *Retrovirology* 9 (octobre) : 87. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-87>.
153. Descours, Benjamin, Gaël Petitjean, José-Luis López-Zaragoza, Timothée Bruel, Raoul Raffel, Christina Psomas, Jacques Reynes, et al. 2017. « CD32a Is a Marker of a CD4 T-Cell HIV Reservoir Harbouring Replication-Competent Proviruses ». *Nature* 543 (7646) : 564-67. <https://doi.org/10.1038/nature21710>.
154. Desjardins, Sonia F., Yamina A. Berchiche, Elie Haddad, et Nikolaus Heveker. 2007. « CXCR4, un récepteur de chimiokine aux multiples talents ». *médecine/sciences* 23 (11) : 980-84. <https://doi.org/10.1051/medsci/20072311980>.

155. Diaz-Griffero, Felipe, Xu-rong Qin, Fumiaki Hayashi, Takanori Kigawa, Andres Finzi, Zoe Sarnak, Maritza Lienlaf, Shigeyuki Yokoyama, et Joseph Sodroski. 2009. « A B-Box 2 Surface Patch Important for TRIM5 α Self-Association, Capsid Binding Avidity, and Retrovirus Restriction ». *Journal of Virology* 83 (20) : 10737-51. <https://doi.org/10.1128/JVI.01307-09>.
156. Dib, C., S. Fauré, C. Fizames, D. Samson, N. Drouot, A. Vignat, P. Millasseau, et al. 1996. « A Comprehensive Genetic Map of the Human Genome Based on 5,264 Microsatellites ». *Nature* 380 (6570) : 152-54. <https://doi.org/10.1038/380152a0>.
157. Doitsh, Gilad, Marielle Cavrois, Kara G. Lassen, Orlando Zepeda, Zhiyuan Yang, Mario L. Santiago, Andrew M. Hebbeler, et Warner C. Greene. 2010. « Abortive HIV Infection Mediates CD4 T-Cell Depletion and Inflammation in Human Lymphoid Tissue ». *Cell* 143 (5) : 789-801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.001>.
158. Doitsh, Gilad, Nicole L. K. Galloway, Xin Geng, Zhiyuan Yang, Kathryn M. Monroe, Orlando Zepeda, Peter W. Hunt, et al. 2014. « Cell Death by Pyroptosis Drives CD4 T-Cell Depletion in HIV-1 Infection ». *Nature* 505 (7484) : 509-14. <https://doi.org/10.1038/nature12940>.
159. Doitsh, Gilad, et Warner C. Greene. 2016. « Dissecting How CD4 T Cells Are Lost During HIV Infection ». *Cell Host & Microbe* 19 (3) : 280-91. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.02.012>.
160. Doranz, Benjamin J, Joseph Rucker, Yanjie Yi, Robert J Smyth, Michel Samson, Stephen C Peiper, Marc Parmentier, Ronald G Collman, et Robert W Doms. 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. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81314-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81314-8).
161. Döring Yvonne, Noels Heidi, van der Vorst Emiel P.C., Neideck Carlos, Egea Virginia, Drechsler Maik, Mandl Manuela, et al. 2017. « Vascular CXCR4 Limits Atherosclerosis by Maintaining Arterial Integrity ». *Circulation* 136 (4) : 388-403. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027646>.

162. Douek, Daniel C., Richard D. McFarland, Philip H. Keiser, Earl A. Gage, Janice M. Massey, Barton F. Haynes, Michael A. Polis, et al. 1998. « Changes in Thymic Function with Age and during the Treatment of HIV Infection ». *Nature* 396 (6712) : 690-95. <https://doi.org/10.1038/25374>.
163. Doyle, Tomas, Caroline Goujon, et Michael H. Malim. 2015. « HIV-1 and Interferons : Who's Interfering with Whom? » *Nature Reviews Microbiology* 13 (7) : 403-13. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3449>.
164. Dr Véronique Avettand-Fenoel, Dr Charlotte Charpentier, et Dr Benoit Visseaux. 2017. « VIRUS_VIH.pdf ». 2017. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/VIRUS_VIH.pdf.
165. Dragic, T., V. Litwin, G. P. Allaway, S. R. Martin, Y. Huang, K. A. Nagashima, C. Cayanan, et al. 1996. « HIV-1 Entry into CD4+ Cells Is Mediated by the Chemokine Receptor CC-CKR-5 ». *Nature* 381 (6584) : 667-73. <https://doi.org/10.1038/381667a0>.
166. Dragin, Loic, Laura Anh Nguyen, Hichem Lahouassa, Adèle Sourisce, Baek Kim, Bertha Cecilia Ramirez, et Florence Margottin-Goguet. 2013. « Interferon Block to HIV-1 Transduction in Macrophages despite SAMHD1 Degradation and High Deoxynucleoside Triphosphates Supply ». *Retrovirology* 10 (mars) : 30. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-30>.
167. Duvall, Melody G., Assan Jaye, Tao Dong, Jason M. Brenchley, Abraham S. Alabi, David J. Jeffries, Marianne van der Sande, et al. 2006. « Maintenance of HIV-Specific CD4+ T Cell Help Distinguishes HIV-2 from HIV-1 Infection ». *The Journal of Immunology* 176 (11) : 6973-81. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.11.6973>.
168. Duvall, Melody G., Melissa L. Precopio, David A. Ambrozak, Assan Jaye, Andrew J. McMichael, Hilton C. Whittle, Mario Roederer, Sarah L. Rowland-Jones, et Richard A. Koup. 2008. « Polyfunctional T Cell Responses Are a Hallmark of HIV-2 Infection ». *European Journal of Immunology* 38 (2) : 350-63. <https://doi.org/10.1002/eji.200737768>.

169. Eisele, Evelyn, et Robert F. Siliciano. 2012. « Redefining the Viral Reservoirs That Prevent HIV-1 Eradication ». *Immunity* 37 (3) : 377-88. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.08.010>.
170. Ellery, Philip J., Emma Tippett, Ya-Lin Chiu, Geza Paukovics, Paul U. Cameron, Ajantha Solomon, Sharon R. Lewin, et al. 2007. « The CD16+ Monocyte Subset Is More Permissive to Infection and Preferentially Harbors HIV-1 In Vivo ». *The Journal of Immunology* 178 (10) : 6581-89. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.10.6581>.
171. Elliott, Julian H., Fiona Wightman, Ajantha Solomon, Khader Ghneim, Jeffrey Ahlers, Mark J. Cameron, Miranda Z. Smith, et al. 2014. « Activation of HIV Transcription with Short-Course Vorinostat in HIV-Infected Patients on Suppressive Antiretroviral Therapy ». *PLoS Pathogens* 10 (10) : e1004473. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004473>.
172. Elliott, Sarah T. C., Nadeene E. Riddick, Nicholas Francella, Mirko Paiardini, Thomas H. Vanderford, Bing Li, Cristian Apetrei, et al. 2012. « Cloning and Analysis of Sooty Mangabey Alternative Coreceptors That Support Simian Immunodeficiency Virus SIVsmm Entry Independently of CCR5 ». *Journal of Virology* 86 (2) : 898-908. <https://doi.org/10.1128/JVI.06415-11>.
173. Emerman, Michael, et Michael H. Malim. 1998. « HIV-1 Regulatory/Accessory Genes : Keys to Unraveling Viral and Host Cell Biology ». *Science* 280 (5371) : 1880-84. <https://doi.org/10.1126/science.280.5371.1880>.
174. Estes, Jacob D., Cissy Kityo, Francis Ssali, Louise Swainson, Krystelle Nganou Makamdop, Gregory Q. Del Prete, Steven G. Deeks, et al. 2017. « Defining Total-Body AIDS-Virus Burden with Implications for Curative Strategies ». *Nature Medicine* 23 (11) : 1271-76. <https://doi.org/10.1038/nm.4411>.
175. Evans, Vanessa A., Nitasha Kumar, Ali Filali, Francesco A. Procopio, Oleg Yegorov, Jean-Philippe Goulet, Suha Saleh, et al. 2013. « Myeloid Dendritic Cells Induce HIV-1 Latency in Non-Proliferating CD4+ T Cells ». *PLoS Pathogens* 9 (12) : e1003799. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003799>.

176. Fan, Xiyang, et Alexander Y. Rudensky. 2016. « Hallmarks of Tissue-Resident Lymphocytes ». *Cell* 164 (6) : 1198-1211. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.048>.
177. Fanales-Belasio, Emanuele, Mariangela Raimondo, Barbara Suligoi, et Stefano Buttò. 2010. « HIV Virology and Pathogenetic Mechanisms of Infection : A Brief Overview ». *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita* 46 (1) : 5-14. https://doi.org/10.4415/ANN_10_01_02.
178. Farber, Donna L., Naomi A. Yudanin, et Nicholas P. Restifo. 2014. « Human Memory T Cells : Generation, Compartmentalization and Homeostasis ». *Nature Reviews. Immunology* 14 (1) : 24-35. <https://doi.org/10.1038/nri3567>.
179. Faria, Nuno R., Ioannis Hodges-Mameletzis, Joana C. Silva, Berta Rodés, Smit Erasmus, Stefania Paolucci, Jean Ruelle, et al. 2012. « Phylogeographical footprint of colonial history in the global dispersal of human immunodeficiency virus type 2 group A ». *The Journal of General Virology* 93 (Pt 4) : 889-99. <https://doi.org/10.1099/vir.0.038638-0>.
180. Farzan, Michael, Hyeryun Choe, Kathleen Martin, Luisa Marcon, Wolfgang Hofmann, Gunilla Karlsson, Ying Sun, et al. 1997. « Two Orphan Seven-Transmembrane Segment Receptors Which Are Expressed in CD4-Positive Cells Support Simian Immunodeficiency Virus Infection ». *Journal of Experimental Medicine* 186 (3) : 405-11. <https://doi.org/10.1084/jem.186.3.405>.
181. Fauci, A. S. 1984. « Immunologic Abnormalities in the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) ». *Clinical Research* 32 (5) : 491-99.
182. Fauci, Anthony S. 1996. « Host Factors and the Pathogenesis of HIV-Induced Disease ». *Nature* 384 (6609) : 529-34. <https://doi.org/10.1038/384529a0>.
183. Fauci, Anthony S., Domenico Mavilio, et Shyam Kottlilil. 2005. « NK Cells in HIV Infection : Paradigm for Protection or Targets for Ambush ». *Nature Reviews. Immunology* 5 (11) : 835-43. <https://doi.org/10.1038/nri1711>.
184. Fauriat, Cyril, Alessandro Moretta, Daniel Olive, et Régis T. Costello. 2005. « Defective Killing of Dendritic Cells by Autologous Natural Killer Cells from Acute

Myeloid Leukemia Patients ». *Blood* 106 (6) : 2186-88. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1270>.

185. Fausther-Bovendo, Hugues, Nathalie Sol-Foulon, Daniel Candotti, Henri Agut, Olivier Schwartz, Patrice Debré, et Vincent Vieillard. 2009. « HIV Escape from Natural Killer Cytotoxicity : Nef Inhibits NKp44L Expression on CD4+ T Cells ». *AIDS* (London, England) 23 (9) : 1077-87. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32832cb26b>.
186. Feng, Yu, Christopher C. Broder, Paul E. Kennedy, et Edward A. Berger. 1996. « HIV-1 Entry Cofactor : Functional CDNA Cloning of a Seven-Transmembrane, G Protein-Coupled Receptor ». *Science* 272 (5263) : 872-77. <https://doi.org/10.1126/science.272.5263.872>.
187. Ferlazzo, Guido, Maggi Pack, Dolca Thomas, Casper Paludan, Dorothee Schmid, Till Strowig, Gwenola Bougras, William A. Muller, Lorenzo Moretta, et Christian Münz. 2004. « Distinct Roles of IL-12 and IL-15 in Human Natural Killer Cell Activation by Dendritic Cells from Secondary Lymphoid Organs ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (47) : 16606-11. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407522101>.
188. Ferlazzo, Guido, Ming L. Tsang, Lorenzo Moretta, Giovanni Melioli, Ralph M. Steinman, et Christian Münz. 2002. « Human Dendritic Cells Activate Resting Natural Killer (NK) Cells and Are Recognized via the NKp30 Receptor by Activated NK Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 195 (3) : 343-51. <https://doi.org/10.1084/jem.20011149>.
189. Finzi, D., J. Blankson, J. D. Siliciano, J. B. Margolick, K. Chadwick, T. Pierson, K. Smith, et al. 1999. « Latent Infection of CD4+ T Cells Provides a Mechanism for Lifelong Persistence of HIV-1, Even in Patients on Effective Combination Therapy ». *Nature Medicine* 5 (5) : 512-17. <https://doi.org/10.1038/8394>.
190. Finzi, Diana, Monika Hermankova, Theodore Pierson, Lucy M. Carruth, Christopher Buck, Richard E. Chaisson, Thomas C. Quinn, et al. 1997. « Identification of a Reservoir for HIV-1 in Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy ». *Science* 278 (5341) : 1295-1300. <https://doi.org/10.1126/science.278.5341.1295>.

191. Fleisher, Gary, Stuart Starr, Norman Koven, Hitoshi Kamiya, Steven D. Douglas, et Werner Henle. 1982. « A Non-X-Linked Syndrome with Susceptibility to Severe Epstein-Barr Virus Infections ». *The Journal of Pediatrics* 100 (5) : 727-30. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(82\)80572-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(82)80572-6).
192. Fletcher, Courtney V., Kathryn Staskus, Stephen W. Wietgreffe, Meghan Rothenberger, Cavan Reilly, Jeffrey G. Chipman, Greg J. Beilman, et al. 2014. « Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (6) : 2307-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318249111>.
193. Flórez-Álvarez, Lizdany, Juan C. Hernandez, et Wildeman Zapata. 2018. « NK Cells in HIV-1 Infection : From Basic Science to Vaccine Strategies ». *Frontiers in Immunology* 9 : 2290. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02290>.
194. Flynn, Jacqueline K, et Paul R Gorry. 2014. « Stem memory T cells (TSCM)—their role in cancer and HIV immunotherapies ». *Clinical & Translational Immunology* 3 (7) : e20. <https://doi.org/10.1038/cti.2014.16>.
195. Foxall, Russell B., Catarina S. Cortesão, Adriana S. Albuquerque, Rui S. Soares, Rui M. M. Victorino, et Ana E. Sousa. 2008. « Gag-Specific CD4+ T-Cell Frequency Is Inversely Correlated with Proviral Load and Directly Correlated with Immune Activation in Infection with Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) but Not HIV-1 ». *Journal of Virology* 82 (19) : 9795-99. <https://doi.org/10.1128/JVI.01217-08>.
196. Françoise Cazein, Josiane Pillonel, Yann Le Strat, Roselyne Pinget, Stéphane Le Vu, Sylvie Brunet, Damien Thierry, et al. 2015. « NEW HIV AND AIDS DIAGNOSES, FRANCE, 2003-2013 ». http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2015/9-10/pdf/2015_9-10.pdf. 2015. http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2015/9-10/pdf/2015_9-10.pdf.
197. Fritsch, Ruth D., Xinglei Shen, Gary P. Sims, Karen S. Hathcock, Richard J. Hodes, et Peter E. Lipsky. 2005. « Stepwise Differentiation of CD4 Memory T Cells Defined by Expression of CCR7 and CD27 ». *The Journal of Immunology* 175 (10) : 6489-97. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.10.6489>.
198. Fromentin, Rémi, Wendy Bakeman, Mariam B. Lawani, Gabriela Khoury, Wendy Hartogensis, Sandrina DaFonseca, Marisela Killian, Lorrie Epling, Rebecca

- Hoh, et Elizabeth Sinclair. 2016. « CD4+ T cells expressing PD-1, TIGIT and LAG-3 contribute to HIV persistence during ART ». *PLoS pathogens* 12 (7) : e1005761.
199. Gaardbo, Julie C., Hans J. Hartling, Jan Gerstoft, et Susanne D. Nielsen. 2012. « Incomplete Immune Recovery in HIV Infection : Mechanisms, Relevance for Clinical Care, and Possible Solutions ». Research article. *Journal of Immunology Research*. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/670957>.
200. Galy, A., S. Verma, A. Bárcena, et H. Spits. 1993. « Precursors of CD3+CD4+CD8+ Cells in the Human Thymus Are Defined by Expression of CD34. Delineation of Early Events in Human Thymic Development ». *The Journal of Experimental Medicine* 178 (2) : 391-401. <https://doi.org/10.1084/jem.178.2.391>.
201. Ganesan, Anuradha, Pratip K. Chattopadhyay, Tess M. Brodie, Jing Qin, Wenjuan Gu, John R. Mascola, Nelson L. Michael, Dean A. Follmann, et Mario Roederer. 2010. « Immunologic and Virologic Events in Early HIV Infection Predict Subsequent Rate of Progression ». *The Journal of Infectious Diseases* 201 (2) : 272-84. <https://doi.org/10.1086/649430>.
202. Ganor, Y., Z. Zhou, D. Tudor, A. Schmitt, M.-C. Vacher-Lavenu, L. Gibault, N. Thiounn, J. Tomasini, J.-P. Wolf, et M. Bomsel. 2010. « Within 1 h, HIV-1 Uses Viral Synapses to Enter Efficiently the Inner, but Not Outer, Foreskin Mucosa and Engages Langerhans-T Cell Conjugates ». *Mucosal Immunology* 3 (5) : 506-22. <https://doi.org/10.1038/mi.2010.32>.
203. Ganor, Yonatan, Fernando Real, Alexis Sennepin, Charles-Antoine Dutertre, Lisa Prevedel, Lin Xu, Daniela Tudor, et al. 2019. « HIV-1 Reservoirs in Urethral Macrophages of Patients under Suppressive Antiretroviral Therapy ». *Nature Microbiology* 4 (4) : 633-44. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0335-z>.
204. Gao, F, L Yue, D L Robertson, S C Hill, H Hui, R J Biggar, A E Neequaye, T M Whelan, D D Ho, et G M Shaw. 1994. « Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2: evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. » *Journal of Virology* 68 (11) : 7433-47.
205. Garcia-Iglesias, Trinidad, Alicia Del Toro-Arreola, Benibelks Albarran-Somoza, Susana Del Toro-Arreola, Pedro E. Sanchez-Hernandez, Maria Guadalupe

- Ramirez-Dueñas, Luz Ma Adriana Balderas-Peña, Alejandro Bravo-Cuellar, Pablo C. Ortiz-Lazareno, et Adrian Daneri-Navarro. 2009. « Low NKp30, NKp46 and NKG2D Expression and Reduced Cytotoxic Activity on NK Cells in Cervical Cancer and Precursor Lesions ». *BMC Cancer* 9 (juin) : 186. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-186>.
206. Garzino-Demo, Alfredo. 2006. « Chemokines and Defensins as HIV Suppressive Factors : An Evolving Story ». *Current Pharmaceutical Design*. 31 décembre 2006. <http://www.eurekaselect.com/58514/article>.
207. Gasser, Stephan, et David H. Raulet. 2006. « Activation and Self-Tolerance of Natural Killer Cells ». *Immunological Reviews* 214 (décembre) : 130-42. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00460.x>.
208. Gattinoni, Luca, Enrico Lugli, Yun Ji, Zoltan Pos, Chrystal M. Paulos, Máire F. Quigley, Jorge R. Almeida, et al. 2011. « A human memory T-cell subset with stem cell-like properties ». *Nature medicine* 17 (10) : 1290-97. <https://doi.org/10.1038/nm.2446>.
209. Gattinoni, Luca, et Nicholas P. Restifo. 2013. « Moving T Memory Stem Cells to the Clinic ». *Blood* 121 (4) : 567-68. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-11-468660>.
210. Gattinoni, Luca, Daniel E. Speiser, Mathias Lichterfeld, et Chiara Bonini. 2017. « T Memory Stem Cells in Health and Disease ». *Nature Medicine* 23 (1) : 18-27. <https://doi.org/10.1038/nm.4241>.
211. Geginat, J., F. Sallusto, et A. Lanzavecchia. 2001. « Cytokine-Driven Proliferation and Differentiation of Human Naive, Central Memory, and Effector Memory CD4(+) T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 194 (12) : 1711-19. <https://doi.org/10.1084/jem.194.12.1711>.
212. Gelderblom, H. R., M. Özel, et G. Pauli. 1989. « Morphogenesis and Morphology of HIV Structure-Function Relations ». *Archives of Virology* 106 (1) : 1-13. <https://doi.org/10.1007/BF01311033>.

213. Ghosn, Jade, Babafemi Taiwo, Soraya Seedat, Brigitte Autran, et Christine Katlama. 2018. « HIV ». *The Lancet* 392 (10148) : 685-97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31311-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31311-4).
214. Gillespie, Geraldine M. A., Susana Pinheiro, Mohammad Sayeid-Al-Jamee, Abraham Alabi, Steve Kaye, Sehu Sabally, Ramu Sarge-Njie, et al. 2005. « CD8+ T Cell Responses to Human Immunodeficiency Viruses Type 2 (HIV-2) and Type 1 (HIV-1) Gag Proteins Are Distinguishable by Magnitude and Breadth but Not Cellular Phenotype ». *European Journal of Immunology* 35 (5) : 1445-53. <https://doi.org/10.1002/eji.200526007>.
215. Glatzová, Daniela, et Marek Cebecauer. 2019. « Dual Role of CD4 in Peripheral T Lymphocytes ». *Frontiers in Immunology* 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00618>.
216. « Global AIDS Monitoring 2018, Indicators for Monitoring the 2016 United Nations Political Declaration on Ending AIDS ». s. d., 160.
217. « Global AIDS Update 2016 ». s. d., 16.
218. « Global AIDS Update 2019 — Communities at the Centre ». s. d., 316.
219. Goldstone, David C., Valerie Ennis-Adeniran, Joseph J. Hedden, Harriet C. T. Groom, Gillian I. Rice, Evangelos Christodoulou, Philip A. Walker, et al. 2011. « HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase ». *Nature* 480 (novembre) : 379.
220. Goncalves, Adriana, Evren Karayel, Gillian I. Rice, Keiryn L. Bennett, Yanick J. Crow, Giulio Superti-Furga, et Tilmann Bürckstümmer. 2012. « SAMHD1 Is a Nucleic-Acid Binding Protein That Is Mislocalized Due to Aicardi–Goutières Syndrome-Associated Mutations ». *Human Mutation* 33 (7) : 1116-22. <https://doi.org/10.1002/humu.22087>.
221. Gotch, F., S. N. McAdam, C. E. Allsopp, A. Gallimore, J. Elvin, M. P. Kienny, A. V. Hill, A. J. McMichael, et H. C. Whittle. 1993. « Cytotoxic T Cells in HIV2 Seropositive Gambians. Identification of a Virus-Specific MHC-Restricted Peptide Epitope ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 151 (6) : 3361-69.

222. Gottlieb, Geoffrey S., Serge-Paul Eholié, John N. Nkengasong, Sabelle Jallow, Sarah Rowland-Jones, Hilton C. Whittle, et Papa Salif Sow. 2008. « A Call for Randomized Controlled Trials of Antiretroviral Therapy for HIV-2 Infection in West Africa ». *AIDS* (London, England) 22 (16) : 2069-74. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32830edd44>.
223. Grabar, Sophie, Hana Selinger-Leneman, Sophie Abgrall, Gilles Pialoux, Laurence Weiss, et Dominique Costagliola. 2009. « Prevalence and Comparative Characteristics of Long-Term Nonprogressors and HIV Controller Patients in the French Hospital Database on HIV ». *Aids* 23 (9) : 1163-69. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32832b44c8>.
224. Grégoire, Claude, Lionel Chasson, Carmelo Luci, Elena Tomasello, Frédéric Geissmann, Eric Vivier, et Thierry Walzer. 2007. « The Trafficking of Natural Killer Cells ». *Immunological Reviews* 220 (1) : 169-82. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2007.00563.x>.
225. Guyader, M., M. Emerman, P. Sonigo, F. Clavel, L. Montagnier, et M. Alizon. 1987. « Genome Organization and Transactivation of the Human Immunodeficiency Virus Type 2 ». *Nature* 326 (6114) : 662-69. <https://doi.org/10.1038/326662a0>.
226. Haase, Ashley T. 2011. « Early Events in Sexual Transmission of HIV and SIV and Opportunities for Interventions ». *Annual Review of Medicine* 62 (1) : 127-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-080709-124959>.
227. Hahn, B. H., G. M. Shaw, S. K. Arya, M. Popovic, R. C. Gallo, et F. Wong-Staal. 1984. « Molecular Cloning and Characterization of the HTLV-III Virus Associated with AIDS ». *Nature* 312 (5990) : 166-69. <https://doi.org/10.1038/312166a0>.
228. Hahn, Beatrice H., George M. Shaw, Kevin M. De Cock, et Paul M. Sharp. 2000. « AIDS as a Zoonosis : Scientific and Public Health Implications ». *Science* 287 (5453) : 607-14. <https://doi.org/10.1126/science.287.5453.607>.
229. Hanaoka, Nobuyoshi, Bana Jabri, Zhenpeng Dai, Cezary Ciszewski, Anne M. Stevens, Cassian Yee, Hideki Nakakuma, Thomas Spies, et Veronika Groh. 2010. «

NKG2D Initiates Caspase-Mediated CD3zeta Degradation and Lymphocyte Receptor Impairments Associated with Human Cancer and Autoimmune Disease ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 185 (10) : 5732-42. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002092>.

230. Hani, Lyliya, Antoine Chaillon, Marie-Laure Nere, Nicolas Ruffin, Joudy Alameddine, Maud Salmona, José-Luiz Lopez Zaragoza, et al. 2019. « Proliferative memory SAMHD1low CD4+ T cells harbour high levels of HIV-1 with compartmentalized viral populations ». *PLoS Pathogens* 15 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007868>.
231. Harari, Alexandre, Florence Vallelian, et Giuseppe Pantaleo. 2004. « Phenotypic Heterogeneity of Antigen-Specific CD4 T Cells under Different Conditions of Antigen Persistence and Antigen Load ». *European Journal of Immunology* 34 (12) : 3525-33. <https://doi.org/10.1002/eji.200425324>.
232. Hatziioannou, Theodora, Simone Cowan, Stephen P. Goff, Paul D. Bieniasz, et Greg J. Towers. 2003. « Restriction of Multiple Divergent Retroviruses by Lv1 and Ref1 ». *The EMBO Journal* 22 (3) : 385-94. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg042>.
233. Hatziioannou, Theodora, David Perez-Caballero, Annie Yang, Simone Cowan, et Paul D. Bieniasz. 2004. « Retrovirus resistance factors Ref1 and Lv1 are species-specific variants of TRIM5 α ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (29) : 10774-79. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402361101>.
234. Haynes, Barton F., Peter B. Gilbert, M. Juliana McElrath, Susan Zolla-Pazner, Georgia D. Tomaras, S. Munir Alam, David T. Evans, et al. 2012. « Immune-Correlates Analysis of an HIV-1 Vaccine Efficacy Trial ». *The New England Journal of Medicine* 366 (14) : 1275-86. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1113425>.
235. Hazra, Rohan, George K. Siberry, et Lynne M. Mofenson. 2010. « Growing Up with HIV : Children, Adolescents, and Young Adults with Perinatally Acquired HIV Infection ». *Annual Review of Medicine* 61 (1) : 169-85. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.050108.151127>.

236. Herbein, Georges, et Kashif Aziz Khan. 2008. « Is HIV Infection a TNF Receptor Signalling-Driven Disease? » *Trends in Immunology* 29 (2) : 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.it.2007.10.008>.
237. Herbein, Georges, et Audrey Varin. 2010. « The Macrophage in HIV-1 Infection : From Activation to Deactivation? » *Retrovirology* 7 (avril) : 33. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-33>.
238. Heredia, A., A. Vallejo, V. Soriano, M. Gutierrez, S. Puente, J. S. Epstein, et I. K. Hewlett. 1997. « Evidence of HIV-2 Infection in Equatorial Guinea (Central Africa) : Partial Genetic Analysis of a B Subtype Virus ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 13 (5) : 439-40. <https://doi.org/10.1089/aid.1997.13.439>.
239. Hervier, Baptiste, Mikael Perez, Yves Allenbach, Hervé Devilliers, Fleur Cohen, Yurdagül Uzunhan, Hanane Ouakrim, et al. 2016. « Involvement of NK Cells and NKp30 Pathway in Antisynthetase Syndrome ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 197 (5) : 1621-30. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501902>.
240. Hey-Nguyen, William J., Yin Xu, Chester F. Pearson, Michelle Bailey, Kazuo Suzuki, Robyn Tantau, Solange Obeid, et al. 2017. « Quantification of Residual Germinal Center Activity and HIV-1 DNA and RNA Levels Using Fine Needle Biopsies of Lymph Nodes During Antiretroviral Therapy ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 33 (7) : 648-57. <https://doi.org/10.1089/aid.2016.0171>.
241. Hill, Alison L., Daniel I. S. Rosenbloom, Feng Fu, Martin A. Nowak, et Robert F. Siliciano. 2014. « Predicting the outcomes of treatment to eradicate the latent reservoir for HIV-1 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (37) : 13475-80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1406663111>.
242. Hinrichs, Christian S., Zachary A. Borman, Luca Gattinoni, Zhiya Yu, William R. Burns, Jianping Huang, Christopher A. Klebanoff, et al. 2011. « Human Effector CD8+ T Cells Derived from Naive Rather than Memory Subsets Possess Superior Traits for Adoptive Immunotherapy ». *Blood* 117 (3) : 808-14. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-286286>.

243. Hirsch, Vanessa M., Robert A. Olmsted, Michael Murphey-Corb, Robert H. Purcell, et Philip R. Johnson. 1989. « An African Primate Lentivirus (SIV Sm Closely Related to HIV-2 ». *Nature* 339 (6223) : 389. <https://doi.org/10.1038/339389a0>.
244. Hizi, A, R Tal, M Shaharabany, M J Currens, M R Boyd, S H Hughes, et J B McMahon. 1993. « Specific inhibition of the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 and the chimeric enzymes of human immunodeficiency virus type 1 and type 2 by nonnucleoside inhibitors. » *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37 (5) : 1037-42.
245. Hladik, Florian, Polachai Sakchalathorn, Lamar Ballweber, Gretchen Lentz, Michael Fialkow, David Eschenbach, et M. Juliana McElrath. 2007. « Initial Events in Establishing Vaginal Entry and Infection by Human Immunodeficiency Virus Type-1 ». *Immunity* 26 (2) : 257-70. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.01.007>.
246. Ho, D. D. 1997. « Perspectives Series : Host/Pathogen Interactions. Dynamics of HIV-1 Replication in Vivo. » *The Journal of Clinical Investigation* 99 (11) : 2565-67. <https://doi.org/10.1172/JCI119443>.
247. Ho, David D., Avidan U. Neumann, Alan S. Perelson, Wen Chen, John M. Leonard, et Martin Markowitz. 1995. « Rapid Turnover of Plasma Virions and CD4 Lymphocytes in HIV-1 Infection ». *Nature* 373 (6510) : 123. <https://doi.org/10.1038/373123a0>.
248. Ho, Ya-Chi, Liang Shan, Nina N. Hosmane, Jeffrey Wang, Sarah B. Laskey, Daniel I. S. Rosenbloom, Jun Lai, Joel N. Blankson, Janet D. Siliciano, et Robert F. Siliciano. 2013. « Replication-competent non-induced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure ». *Cell* 155 (3) : 540-51. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.020>.
249. Hong, Jung Joo, Praveen K. Amancha, Kenneth Rogers, Aftab A. Ansari, et Francois Villinger. 2012. « Spatial Alterations between CD4(+) T Follicular Helper, B, and CD8(+) T Cells during Simian Immunodeficiency Virus Infection : T/B Cell Homeostasis, Activation, and Potential Mechanism for Viral Escape ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 188 (7) : 3247-56. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103138>.

250. Horowitz, Amir, Dara M. Strauss-Albee, Michael Leipold, Jessica Kubo, Neda Nemat-Gorgani, Ozge C. Dogan, Cornelia L. Dekker, et al. 2013. « Genetic and Environmental Determinants of Human NK Cell Diversity Revealed by Mass Cytometry ». *Science Translational Medicine* 5 (208) : 208ra145-208ra145. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006702>.
251. Hosmane, Nina N., Kyungyoon J. Kwon, Katherine M. Bruner, Adam A. Capoferri, Subul Beg, Daniel I. S. Rosenbloom, Brandon F. Keele, Ya-Chi Ho, Janet D. Siliciano, et Robert F. Siliciano. 2017. « Proliferation of Latently Infected CD4+ T Cells Carrying Replication-Competent HIV-1 : Potential Role in Latent Reservoir Dynamics ». *The Journal of Experimental Medicine* 214 (4) : 959-72. <https://doi.org/10.1084/jem.20170193>.
252. Hrecka, Kasia, Magdalena Gierszewska, Smita Srivastava, Lukasz Kozaczekiewicz, Selene K. Swanson, Laurence Florens, Michael P. Washburn, et Jacek Skowronski. 2007. « Lentiviral Vpr Usurps Cul4-DDB1[VprBP] E3 Ubiquitin Ligase to Modulate Cell Cycle ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (28) : 11778-83. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702102104>.
253. Hrecka, Kasia, Caili Hao, Magda Gierszewska, Selene K. Swanson, Malgorzata Kesik-Brodacka, Smita Srivastava, Laurence Florens, Michael P. Washburn, et Jacek Skowronski. 2011. « Vpx relieves inhibition of HIV-1 infection of macrophages mediated by the SAMHD1 protein ». *Nature* 474 (7353) : 658-61. <https://doi.org/10.1038/nature10195>.
254. Huang, Yaoxing, William A. Paxton, Steven M. Wolinsky, Avidan U. Neumann, Linqi Zhang, Tian He, Stanley Kang, et al. 1996. « The Role of a Mutant CCR5 Allele in HIV-1 Transmission and Disease Progression ». *Nature Medicine* 2 (11) : 1240-43. <https://doi.org/10.1038/nm1196-1240>.
255. Hudspeth, Kelly, Matteo Donadon, Matteo Cimino, Elena Pontarini, Paolo Tentorio, Max Preti, Michelle Hong, et al. 2016. « Human Liver-Resident CD56(Bright)/CD16(Neg) NK Cells Are Retained within Hepatic Sinusoids via the Engagement of CCR5 and CXCR6 Pathways ». *Journal of Autoimmunity* 66 (janvier) : 40-50. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.08.011>.

256. Huot, Nicolas, Beatrice Jacquelin, Thalia Garcia-Tellez, Philippe Rascle, Mickaël J. Ploquin, Yoann Madec, R. Keith Reeves, Nathalie Derreudre-Bosquet, et Michaela Müller-Trutwin. 2017. « Natural Killer Cells Migrate into and Control Simian Immunodeficiency Virus Replication in Lymph Node Follicles in African Green Monkeys ». *Nature Medicine* 23 (11) : 1277-86. <https://doi.org/10.1038/nm.4421>.
257. International AIDS Society Scientific Working Group on HIV Cure, Steven G. Deeks, Brigitte Autran, Ben Berkhout, Monsef Benkirane, Scott Cairns, Nicolas Chomont, et al. 2012. « Towards an HIV Cure : A Global Scientific Strategy ». *Nature Reviews. Immunology* 12 (8) : 607-14. <https://doi.org/10.1038/nri3262>.
258. Italiani, Paola, et Diana Boraschi. 2014. « From Monocytes to M1/M2 Macrophages : Phenotypical vs. Functional Differentiation ». *Frontiers in Immunology* 5 : 514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>.
259. Iwasaki, Yukiko, Keishi Fujio, Tomohisa Okamura, Atsushi Yanai, Shuji Sumitomo, Hirofumi Shoda, Tomohiko Tamura, Hiroki Yoshida, Patrick Charnay, et Kazuhiko Yamamoto. 2013. « Egr-2 Transcription Factor Is Required for Blimp-1-Mediated IL-10 Production in IL-27-Stimulated CD4+ T Cells ». *European Journal of Immunology* 43 (4) : 1063-73. <https://doi.org/10.1002/eji.201242942>.
260. Jambo, K. C., D. H. Banda, A. M. Kankwatira, N. Sukumar, T. J. Allain, R. S. Heyderman, D. G. Russell, et H. C. Mwandumba. 2014. « Small Alveolar Macrophages Are Infected Preferentially by HIV and Exhibit Impaired Phagocytic Function ». *Mucosal Immunology* 7 (5) : 1116-26. <https://doi.org/10.1038/mi.2013.127>.
261. Jaye, Assan, Ramu Sarge-Njie, Maarten Schim van der Loeff, Jim Todd, Abraham Alabi, Shehu Sabally, Tumani Corrah, et Hilton Whittle. 2004. « No Differences in Cellular Immune Responses between Asymptomatic HIV Type 1- and Type 2-Infected Gambian Patients ». *The Journal of Infectious Diseases* 189 (3) : 498-505. <https://doi.org/10.1086/381185>.
262. Johnston, Robert J., Amanda C. Poholek, Daniel DiToro, Isharat Yusuf, Danelle Eto, Burton Barnett, Alexander L. Dent, Joe Craft, et Shane Crotty. 2009. « Bcl6 and Blimp-1 Are Reciprocal and Antagonistic Regulators of T Follicular Helper Cell

- Differentiation ». *Science* (New York, N.Y.) 325 (5943) : 1006-10.
<https://doi.org/10.1126/science.1175870>.
263. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. 2008. Report on the Global AIDS Epidemic : 2008. Geneva : UNAIDS.
264. Joshi, V. V., et J. M. Oleske. 1985. « Pathologic Appraisal of the Thymus Gland in Acquired Immunodeficiency Syndrome in Children. A Study of Four Cases and a Review of the Literature ». *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 109 (2) : 142-46.
265. Jost, Stephanie, et Marcus Altfeld. 2012. « Evasion from NK Cell-Mediated Immune Responses by HIV-1 ». *Microbes and Infection* 14 (11) : 904-15.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2012.05.001>.
266. Jowett, J. B., V. Planelles, B. Poon, N. P. Shah, M. L. Chen, et I. S. Chen. 1995. « The Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vpr Gene Arrests Infected T Cells in the G2 + M Phase of the Cell Cycle ». *Journal of Virology* 69 (10) : 6304-13.
267. Kaczmarek, Katarzyna, Ayana Morales, et Andrew J Henderson. 2013. « T Cell Transcription Factors and Their Impact on HIV Expression ». *Virology* 4 (septembre) : 41-47. <https://doi.org/10.4137/VRT.S12147>.
268. Kallies, Axel, Jhagvaral Hasbold, David M. Tarlinton, Wendy Dietrich, Lynn M. Corcoran, Philip D. Hodgkin, et Stephen L. Nutt. 2004. « Plasma Cell Ontogeny Defined by Quantitative Changes in Blimp-1 Expression ». *The Journal of Experimental Medicine* 200 (8) : 967-77. <https://doi.org/10.1084/jem.20040973>.
269. Kallies, Axel, Edwin D. Hawkins, Gabrielle T. Belz, Donald Metcalf, Mirja Hommel, Lynn M. Corcoran, Philip D. Hodgkin, et Stephen L. Nutt. 2006. « Transcriptional Repressor Blimp-1 Is Essential for T Cell Homeostasis and Self-Tolerance ». *Nature Immunology* 7 (5) : 466-74. <https://doi.org/10.1038/ni1321>.
270. Kanbe, Katsuaki, Nobuaki Shimizu, Yasushi Soda, Kenji Takagishi, et Hiroo Hoshino. 1999. « A CXC Chemokine Receptor, CXCR5/BLR1, Is a Novel and Specific Coreceptor for Human Immunodeficiency Virus Type 2 ». *Virology* 265 (2) : 264-73.
<https://doi.org/10.1006/viro.1999.0036>.

271. Kanki, P. J., K. U. Travers, R. G. Marlink, M. E. Essex, S. MBoup, A. Gueye-NDiaye, T. Siby, et al. 1994. « Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1 ». *The Lancet*, Originally published as Volume 1, Issue 8903, 343 (8903) : 943-46. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90065-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90065-5).
272. Katlama, Christine, Steven G. Deeks, Brigitte Autran, Javier Martinez-Picado, Jan van Lunzen, Christine Rouzioux, Michael Miller, et al. 2013. « Barriers to a Cure : New concepts in targeting and eradicating HIV-1 reservoirs ». *Lancet* 381 (9883). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60104-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60104-X).
273. Keller, A. D., et T. Maniatis. 1991. « Identification and Characterization of a Novel Repressor of Beta-Interferon Gene Expression ». *Genes & Development* 5 (5) : 868-79.
274. Khoury, Georges, Gilles Darcis, Michelle Y. Lee, Sophie Bouchat, Benoit Van Driessche, Damian F. J. Purcell, et Carine Van Lint. 2018. « The Molecular Biology of HIV Latency ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1075 : 187-212. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0484-2_8.
275. Kim, C. H., E. J. Kunkel, J. Boisvert, B. Johnston, J. J. Campbell, M. C. Genovese, H. B. Greenberg, et E. C. Butcher. 2001. « Bonzo/CXCR6 Expression Defines Type 1-Polarized T-Cell Subsets with Extralymphoid Tissue Homing Potential ». *The Journal of Clinical Investigation* 107 (5) : 595-601. <https://doi.org/10.1172/JCI11902>.
276. Kim, Chang H., Brent Johnston, et Eugene C. Butcher. 2002. « Trafficking Machinery of NKT Cells : Shared and Differential Chemokine Receptor Expression among V α 24+V β 11+ NKT Cell Subsets with Distinct Cytokine-Producing Capacity ». *Blood* 100 (1) : 11-16. <https://doi.org/10.1182/blood-2001-12-0196>.
277. Kim, Chang H., Eric J. Kunkel, Judie Boisvert, Brent Johnston, James J. Campbell, Mark C. Genovese, Harry B. Greenberg, et Eugene C. Butcher. 2001. « Bonzo/CXCR6 expression defines type 1-polarized T-cell subsets with extralymphoid tissue homing potential ». *Journal of Clinical Investigation* 107 (5) : 595-601.

278. Kim, Woong-Ki, Yue Sun, Hien Do, Patrick Autissier, Elkan F. Halpern, Michael Piatak, Jeffrey D. Lifson, Tricia H. Burdo, Michael S. McGrath, et Kenneth Williams. 2010. « Monocyte Heterogeneity Underlying Phenotypic Changes in Monocytes According to SIV Disease Stage ». *Journal of Leukocyte Biology* 87 (4) : 557-67. <https://doi.org/10.1189/jlb.0209082>.
279. Klatt, Nichole R., Carol L. Vinton, Rebecca M. Lynch, Lauren A. Canary, Jason Ho, Patricia A. Darrah, Jacob D. Estes, Robert A. Seder, Susan L. Moir, et Jason M. Brenchley. 2011. « SIV Infection of Rhesus Macaques Results in Dysfunctional T- and B-Cell Responses to Neo and Recall Leishmania Major Vaccination ». *Blood* 118 (22) : 5803-12. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-365874>.
280. Klatzmann, D., E. Champagne, S. Chamaret, J. Gruest, D. Guetard, T. Hercend, J. C. Gluckman, et L. Montagnier. 1984. « T-Lymphocyte T4 Molecule Behaves as the Receptor for Human Retrovirus LAV ». *Nature* 312 (5996) : 767-68. <https://doi.org/10.1038/312767a0>.
281. Koenig, S., H. E. Gendelman, J. M. Orenstein, MC Dal Canto, G. H. Pezeshkpour, M. Yungbluth, F. Janotta, A. Aksamit, M. A. Martin, et A. S. Fauci. 1986. « Detection of AIDS Virus in Macrophages in Brain Tissue from AIDS Patients with Encephalopathy ». *Science* 233 (4768) : 1089-93. <https://doi.org/10.1126/science.3016903>.
282. Koppensteiner, Herwig, Ruth Brack-Werner, et Michael Schindler. 2012. « Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus Type I infection ». *Retrovirology* 9 (1) : 82. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-82>.
283. Korber, B., M. Muldoon, J. Theiler, F. Gao, R. Gupta, A. Lapedes, B. H. Hahn, S. Wolinsky, et T. Bhattacharya. 2000. « Timing the Ancestor of the HIV-1 Pandemic Strains ». *Science* 288 (5472) : 1789-96. <https://doi.org/10.1126/science.288.5472.1789>.
284. Korin, Yael D., et Jerome A. Zack. 1998. « Progression to the G1b Phase of the Cell Cycle Is Required for Completion of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcription in T Cells ». *Journal of Virology* 72 (4) : 3161-68.

285. Korin, Yael D., et Jerome A. Zack 1999. « Nonproductive Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Nucleoside-Treated G0 Lymphocytes ». *Journal of Virology* 73 (8) : 6526-32.
286. Kourtis, A. P., C. Ibegbu, A. J. Nahmias, F. K. Lee, W. S. Clark, M. K. Sawyer, et S. Nesheim. 1996. « Early Progression of Disease in HIV-Infected Infants with Thymus Dysfunction ». *The New England Journal of Medicine* 335 (19) : 1431-36. <https://doi.org/10.1056/NEJM199611073351904>.
287. Kraft, D. L., I. L. Weissman, et E. K. Waller. 1993. « Differentiation of CD3-4-8- Human Fetal Thymocytes in Vivo : Characterization of a CD3-4+8- Intermediate ». *The Journal of Experimental Medicine* 178 (1) : 265-77. <https://doi.org/10.1084/jem.178.1.265>.
288. Kwong, P. D., R. Wyatt, J. Robinson, R. W. Sweet, J. Sodroski, et W. A. Hendrickson. 1998. « Structure of an HIV Gp120 Envelope Glycoprotein in Complex with the CD4 Receptor and a Neutralizing Human Antibody ». *Nature* 393 (6686) : 648-59. <https://doi.org/10.1038/31405>.
289. Kwong, Peter D., Michael L. Doyle, David J. Casper, Claudia Cicala, Stephanie A. Leavitt, Shahzad Majeed, Tavis D. Steenbeke, et al. 2002. « HIV-1 Evades Antibody-Mediated Neutralization through Conformational Masking of Receptor-Binding Sites ». *Nature* 420 (6916) : 678. <https://doi.org/10.1038/nature01188>.
290. Lackner, A. A., P. Vogel, R. A. Ramos, J. D. Kluge, et M. Marthas. 1994. « Early Events in Tissues during Infection with Pathogenic (SIVmac239) and Nonpathogenic (SIVmac1A11) Molecular Clones of Simian Immunodeficiency Virus ». *The American Journal of Pathology* 145 (2) : 428-39.
291. Laguette, Nadine, Nadia Rahm, Bijan Sobhian, Christine Chable-Bessia, Jan Münch, Joke Snoeck, Daniel Sauter, et al. 2012. « Evolutionary and Functional Analyses of the Interaction between the Myeloid Restriction Factor SAMHD1 and the Lentiviral Vpx Protein ». *Cell Host & Microbe* 11 (2) : 205-17. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.01.007>.

292. Laguette, Nadine, Bijan Sobhian, Nicoletta Casartelli, Mathieu Ringiard, Christine Chable-Bessia, Emmanuel Ségéral, Ahmad Yatim, Stéphane Emiliani, Olivier Schwartz, et Monsef Benkirane. 2011. « SAMHD1 is the dendritic– and myeloid–cell–specific HIV–1 restriction factor counteracted by Vpx ». *Nature* 474 (7353) : 654-57. <https://doi.org/10.1038/nature10117>.
293. Lambotte, O., F. Boufassa, Y. Madec, A. Nguyen, C. Goujard, L. Meyer, C. Rouzioux, A. Venet, J.-F. Delfraissy, et SEROCO-HEMOCO Study Group. 2005. « HIV Controllers : A Homogeneous Group of HIV-1--Infected Patients with Spontaneous Control of Viral Replication ». *Clinical Infectious Diseases* 41 (7) : 1053-56. <https://doi.org/10.1086/433188>.
294. Lambotte, O., Y. Taoufik, M. Goër, C. Wallon, C. Goujard, et J. Delfraissy. 2000. « Detection of Infectious HIV in Circulating Monocytes From Patients on Prolonged Highly Active Antiretroviral Therapy ». *J AIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 23 (2) : 114-19.
295. Lambotte, Olivier, Audrey Demoustier, Marie Ghislaine de Goër, Christine Wallon, Jacques Gasnault, Cécile Goujard, Jean François Delfraissy, et Yassine Taoufik. 2002. « Persistence of Replication-Competent HIV in Both Memory and Naive CD4 T Cell Subsets in Patients on Prolonged and Effective HAART ». *AIDS (London, England)* 16 (16) : 2151-57. <https://doi.org/10.1097/00002030-200211080-00007>.
296. Lange, Christoph G., Hernan Valdez, Kathy Medvik, Robert Asaad, et Michael M. Lederman. 2002. « CD4+ T-Lymphocyte Nadir and the Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy on Phenotypic and Functional Immune Restoration in HIV-1 Infection ». *Clinical Immunology* 102 (2) : 154-61. <https://doi.org/10.1006/clim.2001.5164>.
297. Langer, Robert. 2001. « Drugs on Target ». *Science* 293 (5527) : 58-59. <https://doi.org/10.1126/science.1063273>.
298. Lanier, Lewis. 2008. « Up on the Tightrope : Natural Killer Cell Activation and Inhibition ». *Nature Immunology* 9 (5) : 495-502. <https://doi.org/10.1038/ni1581>.

299. Lanier, Lewis L. 2005. « NKG2D in Innate and Adaptive Immunity ». In *Mechanisms of Lymphocyte Activation and Immune Regulation X*, édité par Sudhir Gupta, William E. Paul, et Ralph Steinman, 51-56. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Boston, MA : Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-24180-9_7.
300. Lanzavecchia, Antonio, et Federica Sallusto. 2005. « Understanding the Generation and Function of Memory T Cell Subsets ». *Current Opinion in Immunology, Lymphocyte activation / Lymphocyte effector functions*, 17 (3) : 326-32. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.04.010>.
301. Larbi, Anis, et Tamas Fulop. 2014. « From “Truly Naïve” to “Exhausted Senescent” T Cells : When Markers Predict Functionality ». *Cytometry. Part A : The Journal of the International Society for Analytical Cytology* 85 (1) : 25-35. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22351>.
302. Larder, B. A., et S. D. Kemp. 1989. « Multiple Mutations in HIV-1 Reverse Transcriptase Confer High-Level Resistance to Zidovudine (AZT) ». *Science* 246 (4934) : 1155-58. <https://doi.org/10.1126/science.2479983>.
303. Lassen, Kara G., Andrew M. Hebbeler, Darshana Bhattacharyya, Michael A. Lobritz, et Warner C. Greene. 2012. « A Flexible Model of HIV-1 Latency Permitting Evaluation of Many Primary CD4 T-Cell Reservoirs ». *PLoS ONE* 7 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030176>.
304. Latta, Markus, Karkada Mohan, et Thomas B Issekutz. 2007. « CXCR6 is expressed on T cells in both T helper type 1 (Th1) inflammation and allergen-induced Th2 lung inflammation but is only a weak mediator of chemotaxis ». *Immunology* 121 (4) : 555-64. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02603.x>.
305. Laurendeau, I., M. Bahuau, N. Vodovar, C. Larramendy, M. Olivi, I. Bieche, M. Vidaud, et D. Vidaud. 1999. « TaqMan PCR-Based Gene Dosage Assay for Predictive Testing in Individuals from a Cancer Family with INK4 Locus Haploinsufficiency ». *Clinical Chemistry* 45 (7) : 982-86.

306. Le Douce, Valentin, Georges Herbein, Olivier Rohr, et Christian Schwartz. 2010. « Molecular Mechanisms of HIV-1 Persistence in the Monocyte-Macrophage Lineage ». *Retrovirology* 7 (avril) : 32. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-32>.
307. Lederman, Michael. 2001. « Immune Restoration and CD4+ T-Cell Function with Antiretroviral Therapies ». *Aids* 15 (février). insights.ovid.com.
308. Lee, B., M. Sharron, L. J. Montaner, D. Weissman, et R. W. Doms. 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.9.5215>.
309. Lee, Guinevere Q., Nina Orlova-Fink, Kevin Einkauf, Fatema Z. Chowdhury, Xiaoming Sun, Sean Harrington, Hsiao-Hsuan Kuo, et al. 2017. « Clonal Expansion of Genome-Intact HIV-1 in Functionally Polarized Th1 CD4+ T Cells ». *The Journal of Clinical Investigation* 127 (7) : 2689-96. <https://doi.org/10.1172/JCI93289>.
310. Leligdowicz, Aleksandra, Louis-Marie Yindom, Clayton Onyango, Ramu Sarge-Njie, Abraham Alabi, Matthew Cotten, Tim Vincent, et al. 2007. « Robust Gag-specific T cell responses characterize viremia control in HIV-2 infection ». *The Journal of Clinical Investigation* 117 (10) : 3067-74. <https://doi.org/10.1172/JCI32380>.
311. Lemey, Philippe, Oliver G. Pybus, Bin Wang, Nitin K. Saxena, Marco Salemi, et Anne-Mieke Vandamme. 2003. « Tracing the Origin and History of the HIV-2 Epidemic ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (11) : 6588-92. <https://doi.org/10.1073/pnas.0936469100>.
312. Li, Jian, Fengwen Xu, Siqi Hu, Jinming Zhou, Shan Mei, Xiaoxiao Zhao, Shan Cen, Qi Jin, Chen Liang, et Fei Guo. 2015. « Characterization of the Interactions between SIVrcm Vpx and Red-Capped Mangabey SAMHD1 ». *Biochemical Journal* 468 (2) : 303-13. <https://doi.org/10.1042/BJ20141331>.
313. Li, Nan, Weiping Zhang, et Xuetao Cao. 2000. « Identification of human homologue of mouse IFN- γ induced protein from human dendritic cells ». *Immunology Letters* 74 (3) : 221-24. [https://doi.org/10.1016/S0165-2478\(00\)00276-5](https://doi.org/10.1016/S0165-2478(00)00276-5).

314. Li, Xing, Byeongwoon Song, Shi-Hua Xiang, et Joseph Sodroski. 2007. « Functional Interplay between the B-Box 2 and the B30.2(SPRY) Domains of TRIM5 α ». *Virology* 366 (2) : 234-44. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.04.022>.
315. Li, Yen-Li, Viswanathan Chandrasekaran, Stephen D Carter, Cora L Woodward, Devin E Christensen, Kelly A Dryden, Owen Pornillos, et al. 2016. « Primate TRIM5 proteins form hexagonal nets on HIV-1 capsids ». *eLife* 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.16269>.
316. Liao, Fang, Ghalib Alkhatib, Keith W.C. Peden, Geetika Sharma, Edward A. Berger, et Joshua M. Farber. 1997. « STRL33, A Novel Chemokine Receptor-like Protein, Functions as a Fusion Cofactor for Both Macrophage-tropic and T Cell Line-tropic HIV-1 ». *The Journal of Experimental Medicine* 185 (11) : 2015-23.
317. Lienlaf, Maritza, Fumiaki Hayashi, Francesca Di Nunzio, Naoya Tochio, Takanori Kigawa, Shigeyuki Yokoyama, et Felipe Diaz-Griffero. 2011. « Contribution of E3-Ubiquitin Ligase Activity to HIV-1 Restriction by TRIM5 α rh : Structure of the RING Domain of TRIM5 α ». *Journal of Virology* 85 (17) : 8725-37. <https://doi.org/10.1128/JVI.00497-11>.
318. Limou, Sophie, Cédric Coulonges, Joshua T. Herbeck, Daniëlle van Manen, Ping An, Sigrid Le Clerc, Olivier Delaneau, et al. 2010. « Multiple-cohort genetic association study reveals CXCR6 as a new chemokine receptor involved in long-term nonprogression to AIDS ». *The Journal of Infectious Diseases* 202 (6) : 908-15. <https://doi.org/10.1086/655782>.
319. Linterman, Michelle A., Wim Pierson, Sau K. Lee, Axel Kallies, Shimpei Kawamoto, Tim F. Rayner, Monika Srivastava, et al. 2011. « Foxp3+ Follicular Regulatory T Cells Control the Germinal Center Response ». *Nature Medicine* 17 (8) : 975-82. <https://doi.org/10.1038/nm.2425>.
320. Loeff, Maarten F. Schim van der, Akum Aveika Awasana, Ramu Sarge-Njie, Marianne van der Sande, Assan Jaye, Saihou Sabally, Tumani Corrah, Samuel J. McConkey, et Hilton C. Whittle. 2006. « Sixteen Years of HIV Surveillance in a West African Research Clinic Reveals Divergent Epidemic Trends of HIV-1 and HIV-2 ».

International Journal of Epidemiology 35 (5) : 1322-28.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyl037>.

321. Long, Eric O., Hun Sik Kim, Dongfang Liu, Mary E. Peterson, et Sumati Rajagopalan. 2013. « Controlling Natural Killer Cell Responses : Integration of Signals for Activation and Inhibition ». *Annual Review of Immunology* 31 : 227-58. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075005>.
322. Lugli, Enrico, Luca Gattinoni, Alessandra Roberto, Domenico Mavilio, David A Price, Nicholas P Restifo, et Mario Roederer. 2013. « Identification, isolation and in vitro expansion of human and nonhuman primate T stem cell memory cells ». *Nature protocols* 8 (1) : 33-42. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.143>.
323. Lugli, Enrico, Emanuela Marcenaro, et Domenico Mavilio. 2014. « NK Cell Subset Redistribution during the Course of Viral Infections ». *Frontiers in Immunology* 5 : 390. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00390>.
324. Luo, Xiaoyu, Eytan Herzig, Gilad Doitsh, Zachary W. Grimmer, Isa Muñoz-Arias, et Warner C. Greene. 2019. « HIV-2 Depletes CD4 T Cells through Pyroptosis despite Vpx-Dependent Degradation of SAMHD1 ». *Journal of Virology*, octobre. <https://doi.org/10.1128/JVI.00666-19>.
325. Maddon, Paul Jay, Dan R. Littman, Maurice Godfrey, Douglas E. Maddon, Leonard Chess, et Richard Axel. 1985. « The Isolation and Nucleotide Sequence of a cDNA Encoding the T Cell Surface Protein T4 : A New Member of the Immunoglobulin Gene Family ». *Cell* 42 (1) : 93-104. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(85\)80105-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(85)80105-7).
326. Mahnke, Yolanda D., Tess M. Brodie, Federica Sallusto, Mario Roederer, et Enrico Lugli. 2013. « The Who's Who of T-Cell Differentiation : Human Memory T-Cell Subsets ». *European Journal of Immunology* 43 (11) : 2797-2809. <https://doi.org/10.1002/eji.201343751>.
327. Mamede, João I., Florence Damond, Ariel de Bernardo, Sophie Matheron, Diane Descamps, Jean-Luc Battini, Marc Sitbon, et Valérie Courgnaud. 2017. « Cyclophilins and Nucleoporins Are Required for Infection Mediated by Capsids from Circulating

- HIV-2 Primary Isolates ». *Scientific Reports* 7 (1) : 1-12.
<https://doi.org/10.1038/srep45214>.
328. Mandai, Yasushi, Daisuke Takahashi, Koji Hase, Yuuki Obata, Yukihiro Furusawa, Masashi Ebisawa, Tomoo Nakagawa, et al. 2013. « Distinct Roles for CXCR6⁺ and CXCR6⁻ CD4⁺ T Cells in the Pathogenesis of Chronic Colitis ». *PLoS ONE* 8 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065488>.
329. Mano, H., et J. C. Chermann. 1991. « Fetal Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Different Organs in the Second Trimester ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 7 (1) : 83-88. <https://doi.org/10.1089/aid.1991.7.83>.
330. Marchetti, G., A. Riva, M. Cesari, G. M. Bellistri, E. Gianelli, A. Casabianca, C. Orlandi, et al. 2009. « HIV-Infected Long-Term Nonprogressors Display a Unique Correlative Pattern between the Interleukin-7/Interleukin-7 Receptor Circuit and T-Cell Homeostasis ». *HIV Medicine* 10 (7) : 422-31. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2009.00710.x>.
331. Margolick, J. B., A. Muñoz, A. D. Donnenberg, L. P. Park, N. Galai, J. V. Giorgi, M. R. O’Gorman, et J. Ferbas. 1995. « Failure of T-Cell Homeostasis Preceding AIDS in HIV-1 Infection. The Multicenter AIDS Cohort Study ». *Nature Medicine* 1 (7) : 674-80. <https://doi.org/10.1038/nm0795-674>.
332. Marini, Alessandra, Jill M. Harper, et Fabio Romerio. 2008. « An in Vitro System to Model the Establishment and Reactivation of HIV-1 Latency ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 181 (11) : 7713-20. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.7713>.
333. Marlink, R., P. Kanki, I. Thior, K. Travers, G. Eisen, T. Siby, I. Traore, et al. 1994. « Reduced Rate of Disease Development after HIV-2 Infection as Compared to HIV-1 ». *Science* 265 (5178) : 1587-90. <https://doi.org/10.1126/science.7915856>.
334. Marras, Francesco, Anna Casabianca, Federica Bozzano, Maria Libera Ascierio, Chiara Orlandi, Antonio Di Biagio, Emanuele Pontali, et al. 2017. « Control of the HIV-1 DNA Reservoir Is Associated In Vivo and In Vitro with NKp46/NKp30 (CD335

- CD337) Inducibility and Interferon Gamma Production by Transcriptionally Unique NK Cells ». *Journal of Virology* 91 (23). <https://doi.org/10.1128/JVI.00647-17>.
335. Marras, Francesco, Elena Nicco, Federica Bozzano, Antonio Di Biagio, Chiara Dentone, Emanuele Pontali, Silvia Boni, 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302090110>.
336. Martin, Maureen P., Xiaojiang Gao, Jeong-Hee Lee, George W. Nelson, Roger Detels, James J. Goedert, Susan Buchbinder, et al. 2002. « Epistatic Interaction between KIR3DS1 and HLA-B Delays the Progression to AIDS ». *Nature Genetics* 31 (4) : 429-34. <https://doi.org/10.1038/ng934>.
337. Martin, Maureen P., Ying Qi, Xiaojiang Gao, Eriko Yamada, Jeffrey N. Martin, Florencia Pereyra, Sara Colombo, et al. 2007. « Innate Partnership of HLA-B and KIR3DL1 Subtypes against HIV-1 ». *Nature Genetics* 39 (6) : 733-40. <https://doi.org/10.1038/ng2035>.
338. Martinez, Valérie, et Brigitte Autran. 2008. « Les HIV controllers - Une nouvelle entité évolutive de l'infection par le VIH ? » *médecine/sciences* 24 (1) : 7-9. <https://doi.org/10.1051/medsci/20082417>.
339. Martins, Gislâine A., Luisa Cimmino, Jerry Liao, Erna Magnusdottir, et Kathryn Calame. 2008. « Blimp-1 directly represses Il2 and the Il2 activator Fos, attenuating T cell proliferation and survival ». *The Journal of Experimental Medicine* 205 (9) : 1959-65. <https://doi.org/10.1084/jem.20080526>.
340. Martins, Gislâine, et Kathryn Calame. 2008. « Regulation and Functions of Blimp-1 in T and B Lymphocytes ». *Annual Review of Immunology* 26 (1) : 133-69. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090241>.
341. Marx, P A, P G Alcabes, et E Drucker. 2001. « Serial human passage of simian immunodeficiency virus by unsterile injections and the emergence of epidemic human

immunodeficiency virus in Africa. » *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 356 (1410) : 911-20. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0867>.

342. Masson, Adèle de, Amos Kirilovsky, Rima Zoorob, Véronique Avettand-Fenoel, Véronique Morin, Anne Oudin, Benjamin Descours, Christine Rouzioux, et Brigitte Autran. 2014. « Blimp-1 overexpression is associated with low HIV-1 reservoir and transcription levels in central memory CD4+ T cells from elite controllers ». *AIDS* 28 (11) : 1567. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000295>.
343. Matheron, Sophie, Sophie Pueyo, Florence Damond, François Simon, Annie Leprêtre, Pauline Campa, Roger Salamon, Genevieve Chêne, Françoise Brun-Vezinet, et French HIV-2 Cohort Study Group. 2003. « Factors Associated with Clinical Progression in HIV-2 Infected-Patients : The French ANRS Cohort ». *AIDS (London, England)* 17 (18) : 2593-2601. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000096907.73209.b9>.
344. Matta, Jessica, Myriam Baratin, Laurent Chiche, Jean-Marie Forel, Céline Cognet, Guillemette Thomas, Catherine Farnarier, et al. 2013. « Induction of B7-H6, a Ligand for the Natural Killer Cell-Activating Receptor NKp30, in Inflammatory Conditions ». *Blood* 122 (3) : 394-404. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-01-481705>.
345. Mattioli, Irene, Matthieu Pesant, Paolo F. Tentorio, Martina Molgora, Emanuela Marcenaro, Enrico Lugli, Massimo Locati, et Domenico Mavilio. 2015. « Priming of Human Resting NK Cells by Autologous M1 Macrophages via the Engagement of IL-1 β , IFN- β , and IL-15 Pathways ». *The Journal of Immunology* 195 (6) : 2818-28. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500325>.
346. Mavilio, Domenico, Janet Benjamin, Marybeth Daucher, Gabriella Lombardo, Shyam Kottlil, Marie A. Planta, Emanuela Marcenaro, et al. 2003. « Natural Killer Cells in HIV-1 Infection : Dichotomous Effects of Viremia on Inhibitory and Activating Receptors and Their Functional Correlates ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (25) : 15011-16. <https://doi.org/10.1073/pnas.2336091100>.
347. Mavilio, Domenico, Gabriella Lombardo, Janet Benjamin, Diana Kim, Dean Follman, Emanuela Marcenaro, M. Angeline O'Shea, et al. 2005. « Characterization of CD56-/CD16+ Natural Killer (NK) Cells : A Highly Dysfunctional NK Subset

Expanded in HIV-Infected Viremic Individuals ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (8) : 2886-91. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409872102>.

348. Mavilio, Domenico, Gabriella Lombardo, Audrey Kinter, Manuela Fogli, Andrea La Sala, Saida Ortolano, Annahita Farschi, et al. 2006. « Characterization of the Defective Interaction between a Subset of Natural Killer Cells and Dendritic Cells in HIV-1 Infection ». *The Journal of Experimental Medicine* 203 (10) : 2339-50. <https://doi.org/10.1084/jem.20060894>.
349. Mazzolini, Julie, Floriane Herit, Jérôme Bouchet, Alexandre Benmerah, Serge Benichou, et Florence Niedergang. 2010. « Inhibition of Phagocytosis in HIV-1-Infected Macrophages Relies on Nef-Dependent Alteration of Focal Delivery of Recycling Compartments ». *Blood* 115 (21) : 4226-36. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-259473>.
350. McCune, J. M., R. Loftus, D. K. Schmidt, P. Carroll, D. Webster, L. B. Swor-Yim, I. R. Francis, B. H. Gross, et R. M. Grant. 1998. « High Prevalence of Thymic Tissue in Adults with Human Immunodeficiency Virus-1 Infection ». *The Journal of Clinical Investigation* 101 (11) : 2301-8. <https://doi.org/10.1172/JCI2834>.
351. McCune, Joseph M. 2001. « The Dynamics of CD4 + T-Cell Depletion in HIV Disease ». *Nature* 410 (6831) : 974-79. <https://doi.org/10.1038/35073648>.
352. McElrath, M. J., R. M. Steinman, et Z. A. Cohn. 1991. « Latent HIV-1 Infection in Enriched Populations of Blood Monocytes and T Cells from Seropositive Patients ». *The Journal of Clinical Investigation* 87 (1) : 27-30. <https://doi.org/10.1172/JCI114981>.
353. McKnight, Aine, Paul R. Clapham, et Robin A. Weiss. 1994. « HIV-2 and SIV Infection of Nonprimate Cell Lines Expressing Human CD4 : Restrictions to Replication at Distinct Stages ». *Virology* 201 (1) : 8-18. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1260>.
354. McMichael, Andrew J., Persephone Borrow, Georgia D. Tomaras, Nilu Goonetilleke, et Barton F. Haynes. 2010. « The Immune Response during Acute HIV-

- 1 Infection : Clues for Vaccine Development ». *Nature Reviews Immunology* 10 (1) : 11-23. <https://doi.org/10.1038/nri2674>.
355. Mendoza, Carmen de, Teresa Cabezas, Estrella Caballero, Silvia Requena, María J. Amengual, María Peñaranda, Ana Sáez, et al. 2017. « HIV Type 2 Epidemic in Spain : Challenges and Missing Opportunities ». *AIDS (London, England)* 31 (10) : 1353-64. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001485>.
356. Menéndez-Arias, Luis, et Mar Álvarez. 2014. « Antiretroviral therapy and drug resistance in human immunodeficiency virus type 2 infection ». *Antiviral Research* 102 (février) : 70-86. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.12.001>.
357. Miceli, M. C., et J. R. Parnes. 1993. « Role of CD4 and CD8 in T Cell Activation and Differentiation ». *Advances in Immunology* 53 : 59-122. [https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(08\)60498-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(08)60498-8).
358. Michaels, Katarzyna Kaczmarek, Malini Natarajan, Zelda Euler, Galit Alter, Gregory Viglianti, et Andrew J. Henderson. 2015. « Blimp-1, an Intrinsic Factor that Represses HIV-1 Proviral Transcription in Memory CD4+ T Cells ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 194 (7) : 3267-74. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402581>.
359. Mills, Charles D., et Klaus Ley. 2014. « M1 and M2 Macrophages : The Chicken and the Egg of Immunity ». *Journal of Innate Immunity* 6 (6) : 716-26. <https://doi.org/10.1159/000364945>.
360. Mirza, Ayesha, et Mobeen H. Rathore. 2012. « Pediatric HIV Infection ». *Advances in Pediatrics, Advances in Pediatrics*, 59 (1) : 9-26. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2012.04.012>.
361. Mo, H., S. Monard, H. Pollack, J. Ip, G. Rochford, L. Wu, J. Hoxie, W. Borkowsky, D. D. Ho, et J. P. Moore. 1998. « Expression Patterns of the HIV Type 1 Coreceptors CCR5 and CXCR4 on CD4+ T Cells and Monocytes from Cord and Adult Blood ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 14 (7) : 607-17. <https://doi.org/10.1089/aid.1998.14.607>.

362. Moir, Susan, Tae-Wook Chun, et Anthony S. Fauci. 2011. « Pathogenic Mechanisms of HIV Disease ». *Annual Review of Pathology : Mechanisms of Disease* 6 (1) : 223-48. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130254>.
363. Moore, Richard D., et Jeanne C. Keruly. 2007. « CD4+ Cell Count 6 Years after Commencement of Highly Active Antiretroviral Therapy in Persons with Sustained Virologic Suppression ». *Clinical Infectious Diseases* 44 (3) : 441-46. <https://doi.org/10.1086/510746>.
364. Moretta, A., C. Bottino, M. Vitale, D. Pende, C. Cantoni, M. C. Mingari, R. Biassoni, et L. Moretta. 2001. « Activating Receptors and Coreceptors Involved in Human Natural Killer Cell-Mediated Cytolysis ». *Annual Review of Immunology* 19 : 197-223. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.197>.
365. Moretta, Alessandro, Cristina Bottino, Maria Cristina Mingari, Roberto Biassoni, et Lorenzo Moretta. 2002. « What Is a Natural Killer Cell? ». *Nature Immunology* 3 (1) : 6-8. <https://doi.org/10.1038/ni0102-6>.
366. Moretta, Alessandro, Emanuela Marcenaro, Simona Sivori, Mariella Della Chiesa, Massimo Vitale, et Lorenzo Moretta. 2005. « Early Liaisons between Cells of the Innate Immune System in Inflamed Peripheral Tissues ». *Trends in Immunology* 26 (12) : 668-75. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.09.008>.
367. Müller, Michaela C., et Françoise Barré-Sinoussi. 2003. « SIVagm : Genetic and Biological Features Associated with Replication ». *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library* 8 (septembre) : d1170-1185. <https://doi.org/10.2741/1130>.
368. Murray, Alexandra J., Kyungyoon J. Kwon, Donna L. Farber, et Robert F. Siliciano. 2016. « The Latent Reservoir for HIV-1 : How Immunologic Memory and Clonal Expansion Contribute to HIV-1 Persistence ». *The Journal of Immunology* 197 (2) : 407-17. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600343>.
369. Nakayama, Takashi, Kunio Hieshima, Dai Izawa, Youichi Tatsumi, Akihisa Kanamaru, et Osamu Yoshie. 2003. « Cutting Edge : Profile of Chemokine Receptor Expression on Human Plasma Cells Accounts for Their Efficient Recruitment to Target

- Tissues ». *The Journal of Immunology* 170 (3) : 1136-40.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.3.1136>.
370. Naluyima, Prossy, Michael A. Eller, Oliver Laeyendecker, Thomas C. Quinn, David Serwadda, Nelson K. Sewankambo, Ronald H. Gray, et al. 2014. « Impaired Natural Killer Cell Responses Are Associated with Loss of the Highly Activated NKG2A(+)CD57(+)CD56(Dim) Subset in HIV-1 Subtype D Infection in Uganda ». *AIDS* (London, England) 28 (9) : 1273-78.
<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000286>.
371. Nasr, Najla, Joey Lai, Rachel A. Botting, Sarah K. Mercier, Andrew N. Harman, Min Kim, Stuart Turville, et al. 2014. « Inhibition of Two Temporal Phases of HIV-1 Transfer from Primary Langerhans Cells to T Cells : The Role of Langerin ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 193 (5) : 2554-64.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400630>.
372. Neuenhahn, Michael, et Dirk H. Busch. 2013. « Whole-Body Anatomy of Human T Cells ». *Immunity* 38 (1) : 10-12.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.01.006>.
373. Novis, Camille L., Nancie M. Archin, Maria J. Buzon, Eric Verdin, June L. Round, Mathias Lichterfeld, David M. Margolis, Vicente Planelles, et Alberto Bosque. 2013. « Reactivation of Latent HIV-1 in Central Memory CD4+ T Cells through TLR-1/2 Stimulation ». *Retrovirology* 10 (octobre) : 119. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-119>.
374. Nunes-Cabaço, Helena, Paula Matoso, Russell B. Foxall, Rita Tendeiro, Ana R. Pires, Tânia Carvalho, Ana I. Pinheiro, Rui S. Soares, et Ana E. Sousa. 2015. « Thymic HIV-2 Infection Uncovers Posttranscriptional Control of Viral Replication in Human Thymocytes ». *Journal of Virology* 89 (4) : 2201-8. <https://doi.org/10.1128/JVI.03047-14>.
375. Nuvor, Samuel Victor, Marianne van der Sande, Sarah Rowland-Jones, Hilton Whittle, et Assan Jaye. 2006. « Natural Killer Cell Function Is Well Preserved in Asymptomatic Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Infection but Similar

to That of HIV-1 Infection When CD4 T-Cell Counts Fall ». *Journal of Virology* 80 (5) : 2529-38. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2529-2538.2006>.

376. Nyamweya, Samuel, Andrea Hegedus, Assan Jaye, Sarah Rowland-Jones, Katie L. Flanagan, et Derek C. Macallan. 2013. « Comparing HIV-1 and HIV-2 Infection : Lessons for Viral Immunopathogenesis ». *Reviews in Medical Virology* 23 (4) : 221-40. <https://doi.org/10.1002/rmv.1739>.
377. Oberlin, Estelle, Ali Amara, Françoise Bachelier, Christine Bessia, Jean-Louis Virelizier, Fernando Arenzana-Seisdedos, Olivier Schwartz, et al. 1996. « The CXC Chemokine SDF-1 Is the Ligand for LESTR/Fusin and Prevents Infection by T-Cell-Line-Adapted HIV-1 ». *Nature* 382 (6594) : 833-35. <https://doi.org/10.1038/382833a0>.
378. Ohmine, Seiga, Ryuta Sakuma, Toshie Sakuma, Tayaramma Thatava, Hiroaki Takeuchi, et Yasuhiro Ikeda. 2011. « The Antiviral Spectra of TRIM5 α Orthologues and Human TRIM Family Proteins against Lentiviral Production ». *PLOS ONE* 6 (1) : e16121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016121>.
379. Okazaki, Taku, et Tasuku Honjo. 2007. « PD-1 and PD-1 Ligands : From Discovery to Clinical Application ». *International Immunology* 19 (7) : 813-24. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxm057>.
380. Orange, Jordan S. 2013. « Natural Killer Cell Deficiency ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 132 (3) : 515-25. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.07.020>.
381. Owen, S. M., D. Ellenberger, M. Rayfield, S. Wiktor, P. Michel, M. H. Grieco, F. Gao, B. H. Hahn, et R. B. Lal. 1998. « Genetically Divergent Strains of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Use Multiple Coreceptors for Viral Entry ». *Journal of Virology* 72 (7) : 5425-32.
382. Pahl, Jens, et Adelheid Cerwenka. 2017. « Tricking the Balance : NK Cells in Anti-Cancer Immunity ». *Immunobiology, INNATE IMMUNITY & CANCER*, 222 (1) : 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2015.07.012>.
383. Paiardini, Mirko, Barbara Cervasi, Elane Reyes-Aviles, Luca Micci, Alexandra M. Ortiz, Ann Chahroudi, Carol Vinton, et al. 2011. « Low levels of SIV infection in

sooty mangabey central-memory CD4+ T-cells is associated with limited CCR5 expression ». *Nature medicine* 17 (7) : 830-36. <https://doi.org/10.1038/nm.2395>.

384. Paiardini, Mirko, Ivona Pandrea, Cristian Apetrei, et Guido Silvestri. 2009. « Lessons Learned from the Natural Hosts of HIV-Related Viruses ». *Annual Review of Medicine* 60 (1) : 485-95. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.041807.123753>.
385. Pakker, Nadine G., Daan W. Notermans, Rob J. De Boer, Marijke T. L. Roos, Frank De Wolf, Andrew Hill, John M. Leonard, Sven A. Danner, Frank Miedema, et Peter T. A. Schellekens. 1998. « Biphasic Kinetics of Peripheral Blood T Cells after Triple Combination Therapy in HIV-1 Infection : A Composite of Redistribution and Proliferation ». *Nature Medicine* 4 (2) : 208-14. <https://doi.org/10.1038/nm0298-208>.
386. Pallikkuth, Suresh, Mark Sharkey, Dunja Z. Babic, Sachin Gupta, Geoffrey W. Stone, Margaret A. Fischl, Mario Stevenson, et Savita Pahwa. 2016. « Peripheral T Follicular Helper Cells Are the Major HIV Reservoir within Central Memory CD4 T Cells in Peripheral Blood from Chronically HIV-Infected Individuals on Combination Antiretroviral Therapy ». *Journal of Virology* 90 (6) : 2718-28. <https://doi.org/10.1128/JVI.02883-15>.
387. Palmer, Sarah, Ann P. Wiegand, Frank Maldarelli, Holly Bazmi, JoAnn M. Mican, Michael Polis, Robin L. Dewar, et al. 2003. « New Real-Time Reverse Transcriptase-Initiated PCR Assay with Single-Copy Sensitivity for Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA in Plasma ». *Journal of Clinical Microbiology* 41 (10) : 4531-36. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4531-4536.2003>.
388. Pandrea, Ivona, Cristian Apetrei, Shari Gordon, Joseph Barbercheck, Jason Dufour, Rudolf Bohm, Beth Sumpter, et al. 2007. « Paucity of CD4+CCR5+ T Cells Is a Typical Feature of Natural SIV Hosts ». *Blood* 109 (3) : 1069-76. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-024364>.
389. Pandrea, Ivona, Donald L. Sodora, Guido Silvestri, et Cristian Apetrei. 2008. « Into the Wild : Simian Immunodeficiency Virus (SIV) Infection in Natural Hosts ». *Trends in immunology* 29 (9) : 419-28. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.05.004>.

390. Paoletti, Audrey, Awatef Allouch, Marina Caillet, Hela Saïdi, Frédéric Subra, Roberta Nardacci, Qiuji Wu, et al. 2019. « HIV-1 Envelope Overcomes NLRP3-Mediated Inhibition of F-Actin Polymerization for Viral Entry ». *Cell Reports* 28 (13) : 3381-3394.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.095>.
391. Papiernik, Martine, Yves Brossard, Nicole Mulliez, Joelle Roume, Christian Brechot, Francis Barin, Alain Goudeau, et al. 1992. « Thymic Abnormalities in Fetuses Aborted From Human Immunodeficiency Virus Type 1 Seropositive Women ». *Pediatrics* 89 (2) : 297-301.
392. Pazina, Tatiana, Avishai Shemesh, Michael Brusilovsky, Angel Porgador, et Kerry S. Campbell. 2017. « Regulation of the Functions of Natural Cytotoxicity Receptors by Interactions with Diverse Ligands and Alterations in Splice Variant Expression ». *Frontiers in Immunology* 8 : 369. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00369>.
393. Peeters, M. 2000. « Genetic diversity of HIV-1 : the moving target. » *Aids* (london, England) 14 Suppl 3 (janvier). [insights.ovid.com](https://www.insights.ovid.com).
394. Pekovic, Drasko D., Mervyn Gornitsky, Djordje Ajdukovic, Jean-Marie Dupuy, Jean-Paul Chausseau, Jean Michaud, Normand Lapointe, et al. 1987. « Pathogenicity of HIV in Lymphatic Organs of Patients with AIDS ». *The Journal of Pathology* 152 (1) : 31-35. <https://doi.org/10.1002/path.1711520105>.
395. Pende, D., S. Parolini, A. Pessino, S. Sivori, R. Augugliaro, L. Morelli, E. Marcenaro, et al. 1999. « Identification and Molecular Characterization of NKp30, a Novel Triggering Receptor Involved in Natural Cytotoxicity Mediated by Human Natural Killer Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 190 (10) : 1505-16. <https://doi.org/10.1084/jem.190.10.1505>.
396. Perelson, Alan S., Paulina Essunger, Yunzhen Cao, Mika Vesanen, Arlene Hurley, Kalle Saksela, Martin Markowitz, et David D. Ho. 1997. « Decay Characteristics of HIV-1-Infected Compartments during Combination Therapy ». *Nature* 387 (6629) : 188. <https://doi.org/10.1038/387188a0>.

397. Perno, Carlo Federico, Valentina Svicher, et Francesca Ceccherini-Silberstein. 2006. « Novel Drug Resistance Mutations in HIV : Recognition and Clinical Relevance ». *AIDS Reviews* 8 (4) : 179-90.
398. Perreau, Matthieu, Anne-Laure Savoye, Elisa De Crignis, Jean-Marc Corpataux, Rafael Cubas, Elias K. Haddad, Laurence De Leval, Cecilia Graziosi, et Giuseppe Pantaleo. 2013. « Follicular helper T cells serve as the major CD4 T cell compartment for HIV-1 infection, replication, and production ». *The Journal of Experimental Medicine* 210 (1) : 143-56. <https://doi.org/10.1084/jem.20121932>.
399. Pesce, Silvia, Giovanna Tabellini, Claudia Cantoni, Ornella Patrizi, Daniela Coltrini, Fabio Rampinelli, Jessica Matta, et al. 2015. « B7-H6-Mediated Downregulation of NKp30 in NK Cells Contributes to Ovarian Carcinoma Immune Escape ». *Oncoimmunology* 4 (4) : e1001224. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2014.1001224>.
400. Petitedemange, Caroline, Abla Achour, Stefania Dispinseri, Isabelle Malet, Alexis Sennepin, Raphaël Ho Tsong Fang, Joël Crouzet, et al. 2013. « A Single Amino-Acid Change in a Highly Conserved Motif of Gp41 Elicits HIV-1 Neutralization and Protects against CD4 Depletion ». *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 57 (5) : 745-55. <https://doi.org/10.1093/cid/cit335>.
401. Petitedemange, Caroline, Pierre Becquart, Nadia Wauquier, Vivien Béziat, Patrice Debré, Eric M. Leroy, et Vincent Vieillard. 2011. « Unconventional Repertoire Profile Is Imprinted during Acute Chikungunya Infection for Natural Killer Cells Polarization toward Cytotoxicity ». *PLoS Pathogens* 7 (9) : e1002268. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002268>.
402. Petrovas, Constantinos, Takuya Yamamoto, Michael Y. Gerner, Kristin L. Boswell, Kaska Wloka, Emily C. Smith, David R. Ambrozak, et al. 2012. « CD4 T Follicular Helper Cell Dynamics during SIV Infection ». *The Journal of Clinical Investigation* 122 (9) : 3281-94. <https://doi.org/10.1172/JCI63039>.
403. Piatak, M., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, et J. D. Lifson. 1993. « High Levels of HIV-1 in Plasma during All

Stages of Infection Determined by Competitive PCR ». *Science* 259 (5102) : 1749-54.
<https://doi.org/10.1126/science.8096089>.

404. Pieniazek, D., D. Ellenberger, L. M. Janini, A. C. Ramos, J. Nkengasong, M. Sassan-Morokro, D. J. Hu, et al. 1999. « Predominance of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Subtype B in Abidjan, Ivory Coast ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 15 (6) : 603-8. <https://doi.org/10.1089/088922299311132>.
405. Pierson, T., J. McArthur, et R. F. Siliciano. 2000. « Reservoirs for HIV-1 : Mechanisms for Viral Persistence in the Presence of Antiviral Immune Responses and Antiretroviral Therapy ». *Annual Review of Immunology* 18 : 665-708.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.665>.
406. Pierson, Theodore, Trevor L. Hoffman, Joel Blankson, Diana Finzi, Karen Chadwick, Joseph B. Margolick, Christopher Buck, Janet D. Siliciano, Robert W. Doms, et Robert F. Siliciano. 2000. « Characterization of Chemokine Receptor Utilization of Viruses in the Latent Reservoir for Human Immunodeficiency Virus Type 1 ». *Journal of Virology* 74 (17) : 7824-33.
407. Pitisuttithum, Punnee, Supachai Rerks-Ngarm, Valai Bussaratid, Jittima Dhitavat, Wirach Maekanantawat, Swangjai Pungpak, Pravan Suntharasamai, et al. 2011. « Safety and Reactogenicity of Canarypox ALVAC-HIV (VCP1521) and HIV-1 Gp120 AIDSVAX B/E Vaccination in an Efficacy Trial in Thailand ». *PloS One* 6 (12) : e27837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027837>.
408. Plaeger-Marshall, S., P. Hultin, J. Bertolli, S. O'Rourke, R. Kobayashi, A. L. Kobayashi, J. V. Giorgi, Y. Bryson, et E. R. Stiehm. 1993. « Activation and Differentiation Antigens on T Cells of Healthy, at-Risk, and HIV-Infected Children ». *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 6 (9) : 984-93.
409. Plata, Fernando, Brigitte Autran, Livia Pedroza Martins, Simon Wain-Hobson, Martine Raphaël, Charles Mayaud, Michel Denis, Jean-Marc Guillon, et Patrice Debré. 1987. « AIDS Virus-Specific Cytotoxic T Lymphocytes in Lung Disorders ». *Nature* 328 (6128) : 348-51. <https://doi.org/10.1038/328348a0>.

410. Pogge von Strandmann, Elke, Venkateswara Rao Simhadri, Bastian von Tresckow, Stephanie Sasse, Katrin S. Reiners, Hinrich P. Hansen, Achim Rothe, et al. 2007. « Human Leukocyte Antigen-B-Associated Transcript 3 Is Released from Tumor Cells and Engages the NKp30 Receptor on Natural Killer Cells ». *Immunity* 27 (6) : 965-74. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.10.010>.
411. Poon, Betty, Kathie Grovit-Ferbas, Sheila A. Stewart, et Irvin S. Y. Chen. 1998. « Cell Cycle Arrest by Vpr in HIV-1 Virions and Insensitivity to Antiretroviral Agents ». *Science* 281 (5374) : 266-69. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.266>.
412. Popper, Stephen J., Abdoulaye Dieng Sarr, Aïssatou Guèye-Ndiaye, Souleymane Mboup, Myron E. Essex, et Phyllis J. Kanki. 2000. « Low Plasma Human Immunodeficiency Virus Type 2 Viral Load Is Independent of Proviral Load : Low Virus Production In Vivo ». *Journal of Virology* 74 (3) : 1554-57.
413. Popper, Stephen J., Abdoulaye Dieng Sarr, Karin U. Travers, Aïssatou Guèye-Ndiaye, Souleymane Mboup, Myron E. Essex, et Phyllis J. Kanki. 1999. « Lower Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 2 Viral Load Reflects the Difference in Pathogenicity of HIV-1 and HIV-2 ». *The Journal of Infectious Diseases* 180 (4) : 1116-21. <https://doi.org/10.1086/315010>.
414. Potter, Simon J., Christine Lacabaratz, Olivier Lambotte, Santiago Perez-Patrigeon, Benoît Vingert, Martine Sinet, Jean-Hervé Colle, et al. 2007. « Preserved Central Memory and Activated Effector Memory CD4+ T-Cell Subsets in Human Immunodeficiency Virus Controllers : An ANRS EP36 Study ». *Journal of Virology* 81 (24) : 13904-15. <https://doi.org/10.1128/JVI.01401-07>.
415. Poulsen, A. G., P. Aaby, H. Jensen, et F. Dias. 2000. « Risk Factors for HIV-2 Seropositivity among Older People in Guinea-Bissau. A Search for the Early History of HIV-2 Infection ». *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 32 (2) : 169-75.
416. Poulsen, Anne Grethe, Peter Aaby, Olav Larsen, Henrik Jensen, Anders Naucér, Ida M Lisse, Claus Bohn Christiansen, Francisco Dias, et Mads Melbye. 1997. « 9-Year HIV-2-Associated Mortality in an Urban Community in Bissau, West Africa ». *The Lancet* 349 (9056) : 911-14. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)04402-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)04402-9).

417. Powell, Rebecca D., Paul J. Holland, Thomas Hollis, et Fred W. Perrino. 2011. « Aicardi-Goutières Syndrome Gene and HIV-1 Restriction Factor SAMHD1 Is a dGTP-regulated Deoxynucleotide Triphosphohydrolase ». *The Journal of Biological Chemistry* 286 (51) : 43596-600. <https://doi.org/10.1074/jbc.C111.317628>.
418. Powers, Kimberly A, Charles Poole, Audrey E Pettifor, et Myron S Cohen. 2008. « Rethinking the heterosexual infectivity of HIV-1 : a systematic review and meta-analysis ». *The Lancet Infectious Diseases* 8 (9) : 553-63. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70156-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70156-7).
419. Pradeu, Thomas, et Eric Vivier. 2016. « The Discontinuity Theory of Immunity ». *Science Immunology* 1 (1). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aag0479>.
420. Price, David A., Philip J. R. Goulder, Paul Klenerman, Andrew K. Sewell, Philippa J. Easterbrook, Maxine Troop, Charles R. M. Bangham, et Rodney E. Phillips. 1997. « Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (5) : 1890-95.
421. Proust, Alizé. 2013. « Study of HIV-1 transfer from antigen presenting cells to primary CD4 T lymphocytes and inhibition by neutralizing antibodies ».
422. Quaranta, Maria Giovanna, Alfonso Napolitano, Massimo Sanchez, Luciana Giordani, Benedetta Mattioli, et Marina Viora. 2007. « HIV-1 Nef Impairs the Dynamic of DC/NK Crosstalk : Different Outcome of CD56(Dim) and CD56(Bright) NK Cell Subsets ». *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 21 (10) : 2323-34. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7883com>.
423. Rabin, R. L., M. Roederer, Y. Maldonado, A. Petru, L. A. Herzenberg, et L. A. Herzenberg. 1995. « Altered Representation of Naive and Memory CD8 T Cell Subsets in HIV-Infected Children. » *The Journal of Clinical Investigation* 95 (5) : 2054-60. <https://doi.org/10.1172/JCI117891>.
424. Redel, Laetitia, Valentin Le Douce, Thomas Cherrier, Céline Marban, Andrea Janossy, Dominique Aunis, Carine Van Lint, Olivier Rohr, et Christian Schwartz. 2010.

« HIV-1 Regulation of Latency in the Monocyte-Macrophage Lineage and in CD4+ T Lymphocytes ». *Journal of Leukocyte Biology* 87 (4) : 575-88. <https://doi.org/10.1189/jlb.0409264>.

425. Reeves, J. D., S. Hibbitts, G. Simmons, A. McKnight, J. M. Azevedo-Pereira, J. Moniz-Pereira, et P. R. Clapham. 1999. « Primary Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Isolates Infect CD4-Negative Cells via CCR5 and CXCR4 : Comparison with HIV-1 and Simian Immunodeficiency Virus and Relevance to Cell Tropism in Vivo ». *Journal of Virology* 73 (9) : 7795-7804.
426. Requejo, Henry I Z. 2006. « Worldwide Molecular Epidemiology of HIV ». *Revista de Saúde Pública* 40 (2) : 331-45. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102006000200023>.
427. Rerks-Ngarm, Supachai, Punnee Pitisuttithum, Sorachai Nitayaphan, Jaranit Kaewkungwal, Joseph Chiu, Robert Paris, Nakorn Prensri, et al. 2009. « Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to Prevent HIV-1 Infection in Thailand ». Research-article. <Http://Dx.Doi.Org.Proxy.Insermbiblio.Inist.Fr/10.1056/NEJMoa0908492>. 16 décembre 2009. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0908492>.
428. Rice, Gillian I, Jacquelyn Bond, Aruna Asipu, Rebecca L Brunette, Iain W Manfield, Ian M Carr, Jonathan C Fuller, et al. 2009. « Mutations involved in Aicardi-Goutières syndrome implicate SAMHD1 as regulator of the innate immune response ». *Nature genetics* 41 (7) : 829-32. <https://doi.org/10.1038/ng.373>.
429. Riddick, Nadeene E., Emilia A. Hermann, Lamorris M. Loftin, Sarah T. Elliott, Winston C. Wey, Barbara Cervasi, Jessica Taaffe, et al. 2010. « A Novel CCR5 Mutation Common in Sooty Mangabeys Reveals SIVsmm Infection of CCR5-Null Natural Hosts and Efficient Alternative Coreceptor Use in Vivo ». *PLoS Pathogens* 6 (8) : e1001064. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001064>.
430. Riddick, Nadeene E., Fan Wu, Kenta Matsuda, Sonya Whitted, Inour Ourmanov, Simoy Goldstein, Robert M. Goeken, et al. 2015. « Simian Immunodeficiency Virus SIVagm Efficiently Utilizes Non-CCR5 Entry Pathways in African Green Monkey Lymphocytes : Potential Role for GPR15 and CXCR6 as Viral

Coreceptors ». *Journal of Virology* 90 (5) : 2316-31.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02529-15>.

431. Riou, Catherine, Bader Yassine-Diab, Julien Van grevenynghe, Roland Somogyi, Larry D. Greller, Dominic Gagnon, Sylvain Gimmig, et al. 2007. « Convergence of TCR and Cytokine Signaling Leads to FOXO3a Phosphorylation and Drives the Survival of CD4+ Central Memory T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 204 (1) : 79-91. <https://doi.org/10.1084/jem.20061681>.
432. Rizzuto, C. D., R. Wyatt, N. Hernández-Ramos, Y. Sun, P. D. Kwong, W. A. Hendrickson, et J. Sodroski. 1998. « A Conserved HIV Gp120 Glycoprotein Structure Involved in Chemokine Receptor Binding ». *Science (New York, N.Y.)* 280 (5371) : 1949-53. <https://doi.org/10.1126/science.280.5371.1949>.
433. Robbins, Gregory K., John G. Spritzler, Ellen S. Chan, David M. Asmuth, Rajesh T. Gandhi, Benigno A. Rodriguez, Gail Skowron, Paul R. Skolnik, Robert W. Shafer, et Richard B. Pollard. 2009. « Incomplete Reconstitution of T Cell Subsets on Combination Antiretroviral Therapy in the AIDS Clinical Trials Group Protocol 384 ». *Clinical Infectious Diseases* 48 (3) : 350-61. <https://doi.org/10.1086/595888>.
434. Roederer, M., J. G. Dubs, M. T. Anderson, P. A. Raju, L. A. Herzenberg, et L. A. Herzenberg. 1995. « CD8 Naive T Cell Counts Decrease Progressively in HIV-Infected Adults ». *The Journal of Clinical Investigation* 95 (5) : 2061-66. <https://doi.org/10.1172/JCI117892>.
435. Romani, Bizhan, et Elham Allahbakhshi. 2017. « Underlying Mechanisms of HIV-1 Latency ». *Virus Genes* 53 (3) : 329-39. <https://doi.org/10.1007/s11262-017-1443-1>.
436. Romani, Bizhan, et Eric A. Cohen. 2012. « Lentivirus Vpr and Vpx Accessory Proteins Usurp the Cullin4-DDB1 (DCAF1) E3 Ubiquitin Ligase ». *Current Opinion in Virology* 2 (6) : 755-63. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.09.010>.
437. Rong, Libin, et Alan S. Perelson. 2009a. « Modeling HIV Persistence, the Latent Reservoir, and Viral Blips ». *Journal of Theoretical Biology* 260 (2) : 308-31. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2009.06.011>.

438. Rong, Libin, et Alan S. Perelson. 2009b. « Modeling Latently Infected Cell Activation : Viral and Latent Reservoir Persistence, and Viral Blips in HIV-Infected Patients on Potent Therapy ». *PLoS Computational Biology* 5 (10) : e1000533. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000533>.
439. Rottman, J. B., K. P. Ganley, K. Williams, L. Wu, C. R. Mackay, et D. J. Ringler. 1997. « Cellular localization of the chemokine receptor CCR5. Correlation to cellular targets of HIV-1 infection. » *The American Journal of Pathology* 151 (5) : 1341-51.
440. Rowland-Jones, Sarah L., et Hilton C. Whittle. 2007. « Out of Africa : What Can We Learn from HIV-2 about Protective Immunity to HIV-1? » *Nature Immunology* 8 (4) : 329-31. <https://doi.org/10.1038/ni0407-329>.
441. Rucker, J, A L Edinger, M Sharron, M Samson, B Lee, J F Berson, Y Yi, et al. 1997. « Utilization of chemokine receptors, orphan receptors, and herpesvirus-encoded receptors by diverse human and simian immunodeficiency viruses. » *Journal of Virology* 71 (12) : 8999-9007.
442. Ruffin, Nicolas, Vedran Brezar, Diana Ayinde, Cécile Lefebvre, Julian Schulze Zur Wiesch, Jan van Lunzen, Maximilian Bockhorn, et al. 2015. « Low SAMHD1 expression following T-cell activation and proliferation renders CD4+ T cells susceptible to HIV-1 ». *AIDS (London, England)* 29 (5) : 519-30. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000594>.
443. Rusakiewicz, Sylvie, Gaetane Nocturne, Thierry Lazure, Michaela Semeraro, Caroline Flament, Sophie Caillat-Zucman, Damien Sène, et al. 2013. « NCR3/NKp30 Contributes to Pathogenesis in Primary Sjogren's Syndrome ». *Science Translational Medicine* 5 (195) : 195ra96. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005727>.
444. Rutjens, Erik, Stefania Mazza, Roberto Biassoni, Gerrit Koopman, Elisabetta Ugolotti, Manuela Fogli, Rob Dubbes, et al. 2010. « CD8+ NK Cells Are Predominant in Chimpanzees, Characterized by High NCR Expression and Cytokine Production, and Preserved in Chronic HIV-1 Infection ». *European Journal of Immunology* 40 (5) : 1440-50. <https://doi.org/10.1002/eji.200940062>.
445. Rydyznski, Carolyn, Keith A. Daniels, Erik P. Karmele, Taylor R. Brooks, Sarah E. Mahl, Michael T. Moran, Caimei Li, Rujapak Sutiwisesak, Raymond M. Welsh, et

- Stephen N. Waggoner. 2015. « Generation of Cellular Immune Memory and B-Cell Immunity Is Impaired by Natural Killer Cells ». *Nature Communications* 6 (février) : 6375. <https://doi.org/10.1038/ncomms7375>.
446. Ryoo, Jeongmin, Jongsu Choi, Changhoon Oh, Sungchul Kim, Minji Seo, Seokyoung Kim, Daekwan Seo, et al. 2014. « The ribonuclease activity of SAMHD1 is required for HIV-1 restriction ». *Nature medicine* 20 (8) : 936-41. <https://doi.org/10.1038/nm.3626>.
447. Sáez-Cirión, Asier, Charline Bacchus, Laurent Hocqueloux, Véronique Avettand-Fenoel, Isabelle Girault, Camille Lecuroux, Valerie Potard, et al. 2013. « Post-Treatment HIV-1 Controllers with a Long-Term Virological Remission after the Interruption of Early Initiated Antiretroviral Therapy ANRS VISCONTI Study ». *PLOS Pathogens* 9 (3) : e1003211. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003211>.
448. Sahu, Gautam K., David Paar, Simon D. W. Frost, Melissa M. Smith, Scott Weaver, et Miles W. Cloyd. 2009. « Low-Level Plasma HIVs in Patients on Prolonged Suppressive Highly Active Antiretroviral Therapy Are Produced Mostly by Cells Other than CD4 T-Cells ». *Journal of Medical Virology* 81 (1) : 9-15. <https://doi.org/10.1002/jmv.21366>.
449. Sakai, Keiko, Joseph Dimas, et Michael J. Lenardo. 2006. « The Vif and Vpr Accessory Proteins Independently Cause HIV-1-Induced T Cell Cytopathicity and Cell Cycle Arrest ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (9) : 3369-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509417103>.
450. Saleh, Suha, Ajantha Solomon, Fiona Wightman, Miranda Xhilaga, Paul U. Cameron, et Sharon R. Lewin. 2007. « CCR7 Ligands CCL19 and CCL21 Increase Permissiveness of Resting Memory CD4+ T Cells to HIV-1 Infection : A Novel Model of HIV-1 Latency ». *Blood* 110 (13) : 4161-64. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-097907>.
451. Saleh, Suha, Fiona Wightman, Saumya Ramanayake, Marina Alexander, Nitasha Kumar, Gabriela Khoury, Cândida Pereira, Damian Purcell, Paul U. Cameron, et Sharon R. Lewin. 2011. « Expression and Reactivation of HIV in a Chemokine

Induced Model of HIV Latency in Primary Resting CD4+ T Cells ». *Retrovirology* 8 (octobre) : 80. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-80>.

452. Salemi, Marco, Korbinian Strimmer, William W. Hall, Margaret Duffy, Eric Delaporte, Souleymane Mboup, Martine Peeters, et Anne-Mieke Vandamme. 2000. « Dating the common ancestor of SIVcpz and HIV-1 group M and the origin of HIV-1 subtypes using a new method to uncover clock-like molecular evolution ». *The FASEB Journal* 15 (2) : 276-78. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0449fje>.
453. Sallusto, Federica, Jens Geginat, et Antonio Lanzavecchia. 2004. « Central Memory and Effector Memory T Cell Subsets : Function, Generation, and Maintenance ». *Annual Review of Immunology* 22 (1) : 745-63. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104702>.
454. Sallusto, Federica, Danielle Lenig, Reinhold Förster, Martin Lipp, et Antonio Lanzavecchia. 1999. « Two Subsets of Memory T Lymphocytes with Distinct Homing Potentials and Effector Functions ». *Nature* 401 (6754) : 708-12. <https://doi.org/10.1038/44385>.
455. Salwe, S., V. Padwal, V. Nagar, P. Patil, et V. Patel. 2019. « T Cell Functionality in HIV-1, HIV-2 and Dually Infected Individuals : Correlates of Disease Progression and Immune Restoration ». *Clinical & Experimental Immunology* 198 (2) : 233-50. <https://doi.org/10.1111/cei.13342>.
456. Samri, Assia, Charlotte Charpentier, Mariama Sadjo Diallo, Mélanie Bertine, Sophie Even, Véronique Morin, Anne Oudin, et al. 2019. « Limited HIV-2 reservoirs in central-memory CD4 T-cells associated to CXCR6 co-receptor expression in attenuated HIV-2 infection ». *PLoS Pathogens* 15 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007758>.
457. Samson, Michel, Frédérick Libert, Benjamin J. Doranz, Joseph Rucker, Corinne Liesnard, Claire-Michèle Farber, Sentob Saragosti, et al. 1996. « Resistance to HIV-1 Infection in Caucasian Individuals Bearing Mutant Alleles of the CCR-5 Chemokine Receptor Gene ». *Nature* 382 (6593) : 722-25. <https://doi.org/10.1038/382722a0>.
458. Sanchez-Correa, Beatriz, Inmaculada Gayoso, Juan M. Bergua, Javier G. Casado, Sara Morgado, Rafael Solana, et Raquel Tarazona. 2012. « Decreased

Expression of DNAM-1 on NK Cells from Acute Myeloid Leukemia Patients ». *Immunology and Cell Biology* 90 (1) : 109-15. <https://doi.org/10.1038/icb.2011.15>.

459. Santiago, Mario L., Friederike Range, Brandon F. Keele, Yingying Li, Elizabeth Bailes, Frederic Bibollet-Ruche, Cecile Fruteau, et al. 2005. « Simian Immunodeficiency Virus Infection in Free-Ranging Sooty Mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Taï Forest, Côte d'Ivoire : Implications for the Origin of Epidemic Human Immunodeficiency Virus Type 2 ». *Journal of Virology* 79 (19) : 12515-27. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.19.12515-12527.2005>.
460. Sarafianos, Stefan G., Bruno Marchand, Kalyan Das, Daniel M. Himmel, Michael A. Parniak, Stephen H. Hughes, et Eddy Arnold. 2009. « Structure and Function of HIV-1 Reverse Transcriptase : Molecular Mechanisms of Polymerization and Inhibition ». *Journal of Molecular Biology* 385 (3) : 693-713. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.10.071>.
461. Scarlatti, Gabriella, Eleonora Tresoldi, Åsa Björndal, Robert Fredriksson, Claudia Colognesi, Hong Kui Deng, Mauro S. Malnati, et al. 1997. « In Vivo Evolution of HIV-1 Co-Receptor Usage and Sensitivity to Chemokine-Mediated Suppression ». *Nature Medicine* 3 (11) : 1259-65. <https://doi.org/10.1038/nm1197-1259>.
462. Schenkel, Jason M., et David Masopust. 2014. « Tissue-Resident Memory T Cells ». *Immunity* 41 (6) : 886-97. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.007>.
463. Schlecker, Eva, Nathalie Fiegler, Annette Arnold, Peter Altevogt, Stefan Rose-John, Gerhard Moldenhauer, Antje Sucker, et al. 2014. « Metalloprotease-Mediated Tumor Cell Shedding of B7-H6, the Ligand of the Natural Killer Cell-Activating Receptor NKp30 ». *Cancer Research* 74 (13) : 3429-40. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3017>.
464. Schneider, Johann W., et Dirk P. Dittmer. 2017. « Diagnosis and Treatment of Kaposi Sarcoma ». *American journal of clinical dermatology* 18 (4) : 529-39. <https://doi.org/10.1007/s40257-017-0270-4>.
465. Schnittman, S. M., S. M. Denning, J. J. Greenhouse, J. S. Justement, M. Baseler, J. Kurtzberg, B. F. Haynes, et A. S. Fauci. 1990. « Evidence for Susceptibility of

Intrathymic T-Cell Precursors and Their Progeny Carrying T-Cell Antigen Receptor Phenotypes TCR Alpha Beta + and TCR Gamma Delta + to Human Immunodeficiency Virus Infection : A Mechanism for CD4+ (T4) Lymphocyte Depletion ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (19) : 7727-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.19.7727>.

466. Schröfelbauer, Bärbel, Yoshiyuki Hakata, et Nathaniel R. Landau. 2007. « HIV-1 Vpr Function Is Mediated by Interaction with the Damage-Specific DNA-Binding Protein DDB1 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (10) : 4130-35. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610167104>.
467. Schuurman, H. J., W. J. Krone, R. Broekhuizen, J. van Baarlen, P. van Veen, A. L. Golstein, J. Huber, et J. Goudsmit. 1989. « The thymus in acquired immune deficiency syndrome. Comparison with other types of immunodeficiency diseases, and presence of components of human immunodeficiency virus type 1. » *The American Journal of Pathology* 134 (6) : 1329-38.
468. Scripture-Adams, Deirdre D., David G. Brooks, Yael D. Korin, et Jerome A. Zack. 2002. « Interleukin-7 Induces Expression of Latent Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Minimal Effects on T-Cell Phenotype ». *Journal of Virology* 76 (24) : 13077-82. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.24.13077-13082.2002>.
469. Scully, Eileen, et Galit Alter. 2016. « NK Cells in HIV Disease ». *Current HIV/AIDS Reports* 13 (2) : 85-94. <https://doi.org/10.1007/s11904-016-0310-3>.
470. Seddiki, Nabila, Chansavath Phetsouphanh, Sanjay Swaminathan, Yin Xu, Sudha Rao, Jasmine Li, Elissa L. Sutcliffe, et al. 2013. « The MicroRNA-9/B-Lymphocyte-Induced Maturation Protein-1/IL-2 Axis Is Differentially Regulated in Progressive HIV Infection ». *European Journal of Immunology* 43 (2) : 510-20. <https://doi.org/10.1002/eji.201242695>.
471. Semeraro, Michaela, Sylvie Rusakiewicz, Véronique Minard-Colin, Nicolas F. Delahaye, David Enot, Frédéric Vély, Aurélien Marabelle, et al. 2015. « Clinical Impact of the NKp30/B7-H6 Axis in High-Risk Neuroblastoma Patients ». *Science Translational Medicine* 7 (283) : 283ra55. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa2327>.

472. Shan, Liang, Kai Deng, Hongbo Gao, Sifei Xing, Adam A. Capoferri, Christine M. Durand, S. Alireza Rabi, et al. 2017. « Transcriptional Reprogramming during Effector-to-Memory Transition Renders CD4+ T Cells Permissive for Latent HIV-1 Infection ». *Immunity* 47 (4) : 766-775.e3. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.014>.
473. Shankar, Esaki Muthu, Karlhans Fru Che, Davorka Messmer, Jeffrey D Lifson, et Marie Larsson. 2011. « Expression of a Broad Array of Negative Costimulatory Molecules and Blimp-1 in T Cells following Priming by HIV-1 Pulsed Dendritic Cells ». *Molecular Medicine* 17 (3-4) : 229-40. <https://doi.org/10.2119/molmed.2010.00175>.
474. Sharp, P M, E Bailes, R R Chaudhuri, C M Rodenburg, M O Santiago, et B H Hahn. 2001. « The origins of acquired immune deficiency syndrome viruses : where and when? » *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 356 (1410) : 867-76. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0863>.
475. Shimizu, Nobuaki, Yasushi Soda, Katsuaki Kanbe, Hui-yu Liu, Ryozauro Mukai, Toshio Kitamura, et Hiroo Hoshino. 2000. « A Putative G Protein-Coupled Receptor, RDC1, Is a Novel Coreceptor for Human and Simian Immunodeficiency Viruses ». *Journal of Virology* 74 (2) : 619-26.
476. Shingai, Masashi, Sarah Welbourn, Jason M. Brenchley, Priyamvada Acharya, Eri Miyagi, Ronald J. Plishka, Alicia Buckler-White, et al. 2015. « The Expression of Functional Vpx during Pathogenic SIVmac Infections of Rhesus Macaques Suppresses SAMHD1 in CD4+ Memory T Cells ». *PLOS Pathogens* 11 (5) : e1004928. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004928>.
477. Siliciano, Janet D., Joleen Kajdas, Diana Finzi, Thomas C. Quinn, Karen Chadwick, Joseph B. Margolick, Colin Kovacs, Stephen J. Gange, et Robert F. Siliciano. 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. <https://doi.org/10.1038/nm880>.
478. Siliciano, Robert F., et Warner C. Greene. 2011. « HIV Latency ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 1 (1) : a007096. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007096>.

479. Silva, Thushan I. de, Matthew Cotten, et Sarah L. Rowland-Jones. 2008. « HIV-2: The Forgotten AIDS Virus ». *Trends in Microbiology* 16 (12): 588-95. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.003>.
480. Silvestri, Guido, Mirko Paiardini, Ivona Pandrea, Michael M. Lederman, et Donald L. Sodora. 2007. « Understanding the Benign Nature of SIV Infection in Natural Hosts ». *The Journal of Clinical Investigation* 117 (11): 3148-54. <https://doi.org/10.1172/JCI33034>.
481. Silvestri, Guido, Donald L. Sodora, Richard A. Koup, Mirko Paiardini, Shawn P. O'Neil, Harold M. McClure, Silvija I. Staprans, et Mark B. Feinberg. 2003. « Nonpathogenic SIV Infection of Sooty Mangabeys Is Characterized by Limited Bystander Immunopathology despite Chronic High-Level Viremia ». *Immunity* 18 (3): 441-52. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(03\)00060-8](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00060-8).
482. Simon, F., S. Matheron, C. Tamalet, I. Loussert-Ajaka, S. Bartczak, J. M. Pépin, C. Dhiver, E. Gamba, C. Elbim, et J. A. Gastaut. 1993. « Cellular and Plasma Viral Load in Patients Infected with HIV-2 ». *AIDS (London, England)* 7 (11): 1411-17. <https://doi.org/10.1097/00002030-199311000-00002>.
483. Simonetti, Francesco R., Michele D. Sobolewski, Elizabeth Fyne, Wei Shao, Jonathan Spindler, Junko Hattori, Elizabeth M. Anderson, et al. 2016. « Clonally Expanded CD4+ T Cells Can Produce Infectious HIV-1 in Vivo ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (7): 1883-88. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522675113>.
484. Sluis, Renée M. van der, Thijs van Montfort, Georgios Pollakis, Rogier W. Sanders, Dave Speijer, Ben Berkhout, et Rienk E. Jeeninga. 2013. « Dendritic Cell-Induced Activation of Latent HIV-1 Provirus in Actively Proliferating Primary T Lymphocytes ». *PLoS Pathogens* 9 (3): e1003259. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003259>.
485. Smith, Kimberly Y., H. Valdez, A. Landay, J. Spritzler, H. A. Kessler, E. Connick, D. Kuritzkes, et al. 2000. « Thymic Size and Lymphocyte Restoration in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection after 48 Weeks of Zidovudine,

- Lamivudine, and Ritonavir Therapy ». *The Journal of Infectious Diseases* 181 (1) : 141-47. <https://doi.org/10.1086/315169>.
486. Søggaard, Ole S., Mette E. Graversen, Steffen Leth, Rikke Olesen, Christel R. Brinkmann, Sara K. Nissen, Anne Sofie Kjaer, et al. 2015. « The Depsipeptide Romidepsin Reverses HIV-1 Latency In Vivo ». *PLoS Pathogens* 11 (9) : e1005142. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005142>.
487. Soliman, Mary, Geetha Srikrishna, et Ashwin Balagopal. 2017. « Mechanisms of HIV Control ». *Current HIV/AIDS reports* 14 (3) : 101-9. <https://doi.org/10.1007/s11904-017-0357-9>.
488. Soriano-Sarabia, Natalia, Rosalie E. Bateson, Noelle P. Dahl, Amanda M. Crooks, JoAnn D. Kuruc, David M. Margolis, et Nancie M. Archin. 2014. « Quantitation of Replication-Competent HIV-1 in Populations of Resting CD4+ T Cells ». *Journal of Virology* 88 (24) : 14070-77. <https://doi.org/10.1128/JVI.01900-14>.
489. Spina, Celsa A., Jenny Anderson, Nancie M. Archin, Alberto Bosque, Jonathan Chan, Marylinda Famiglietti, Warner C. Greene, et al. 2013. « An In-Depth Comparison of Latent HIV-1 Reactivation in Multiple Cell Model Systems and Resting CD4+ T Cells from Aviremic Patients ». *PLoS Pathogens* 9 (12) : e1003834. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003834>.
490. Sprent, Jonathan, et Charles D. Surh. 2011. « Normal T Cell Homeostasis : The Conversion of Naive Cells into Memory-Phenotype Cells ». *Nature Immunology* 12 (6) : 478-84. <https://doi.org/10.1038/ni.2018>.
491. Stankovic, K., C. Guillon, et B. Verrier. 2004. « Échappement moléculaire à la réponse immune T cytotoxique : le cas des protéines non structurales du virus de l'immunodéficience humaine et simienne ». *Virologie* 8 (2) : 143-51.
492. Starr, Timothy K., Stephen C. Jameson, et Kristin A. Hogquist. 2003. « Positive and Negative Selection of T Cells ». *Annual Review of Immunology* 21 (1) : 139-76. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141107>.

493. Steinman, Ralph M., et Juliana Idoyaga. 2010. « Features of the Dendritic Cell Lineage ». *Immunological Reviews* 234 (1) : 5-17. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00888.x>.
494. Stemberger, Christian, Michael Neuenhahn, Friedemann E. Gebhardt, Matthias Schiemann, Veit R. Buchholz, et Dirk H. Busch. 2009. « Stem Cell-like Plasticity of Naïve and Distinct Memory CD8+ T Cell Subsets ». *Seminars in Immunology, T Cell Memory*, 21 (2) : 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.02.004>.
495. Stewart, S A, B Poon, J B Jowett, et I S Chen. 1997. « Human immunodeficiency virus type 1 Vpr induces apoptosis following cell cycle arrest. » *Journal of Virology* 71 (7) : 5579-92.
496. Stewart, Sheila A., Betty Poon, Joo Y. Song, et Irvin S. Y. Chen. 2000. « Human Immunodeficiency Virus Type 1 Vpr Induces Apoptosis through Caspase Activation ». *Journal of Virology* 74 (7) : 3105-11.
497. Strain, M. C., H. F. Günthard, D. V. Havlir, C. C. Ignacio, D. M. Smith, A. J. Leigh-Brown, T. R. Macaranas, et al. 2003. « Heterogeneous clearance rates of long-lived lymphocytes infected with HIV : Intrinsic stability predicts lifelong persistence ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (8) : 4819-24. <https://doi.org/10.1073/pnas.0736332100>.
498. Stremlau, Matthew, Christopher M. Owens, Michel J. Perron, Michael Kiessling, Patrick Autissier, et Joseph Sodroski. 2004. « The Cytoplasmic Body Component TRIM5 α Restricts HIV-1 Infection in Old World Monkeys ». *Nature* 427 (6977) : 848-53. <https://doi.org/10.1038/nature02343>.
499. Stremlau, Matthew, Michel Perron, Mark Lee, Yuan Li, Byeongwoon Song, Hassan Javanbakht, Felipe Diaz-Griffero, Donovan J. Anderson, Wesley I. Sundquist, et Joseph Sodroski. 2006. « Specific recognition and accelerated uncoating of retroviral capsids by the TRIM5 α restriction factor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (14) : 5514-19. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509996103>.

500. Stremlau, Matthew, Michel Perron, Sohanya Welikala, et Joseph Sodroski. 2005. « Species-Specific Variation in the B30.2(SPRY) Domain of TRIM5 α Determines the Potency of Human Immunodeficiency Virus Restriction ». *Journal of Virology* 79 (5) : 3139-45. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.5.3139-3145.2005>.
501. Su, L., H. Kaneshima, M. Bonyhadi, S. Salimi, D. Kraft, L. Rabin, et J. M. McCune. 1995. « HIV-1-Induced Thymocyte Depletion Is Associated with Indirect Cytopathicity and Infection of Progenitor Cells in Vivo ». *Immunity* 2 (1) : 25-36. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90076-4](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90076-4).
502. Sun, Joseph C., et Lewis L. Lanier. 2011. « NK Cell Development, Homeostasis and Function : Parallels with CD8+ T Cells ». *Nature Reviews. Immunology* 11 (10) : 645-57. <https://doi.org/10.1038/nri3044>.
503. Surh, Charles D., et Jonathan Sprent. 2008. « Homeostasis of Naive and Memory T Cells ». *Immunity* 29 (6) : 848-62. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.11.002>.
504. Swiggard, William J., Clifford Baytop, Jianqing J. Yu, Jihong Dai, Chuanzhao Li, Richard Schretzenmair, Ted Theodosopoulos, et Una O'Doherty. 2005. « Human Immunodeficiency Virus Type 1 Can Establish Latent Infection in Resting CD4+ T Cells in the Absence of Activating Stimuli ». *Journal of Virology* 79 (22) : 14179-88. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.14179-14188.2005>.
505. Szabo, G., C. L. Miller, et K. Kodys. 1990. « Antigen Presentation by the CD4 Positive Monocyte Subset ». *Journal of Leukocyte Biology* 47 (2) : 111-20. <https://doi.org/10.1002/jlb.47.2.111>.
506. Takada, Kensuke, et Stephen C. Jameson. 2009. « Naive T Cell Homeostasis : From Awareness of Space to a Sense of Place ». *Nature Reviews Immunology* 9 (12) : 823-32. <https://doi.org/10.1038/nri2657>.
507. Takehisa, J., M. Osei-Kwasi, N. K. Ayisi, O. Hishida, T. Miura, T. Igarashi, J. Brandful, et al. 1997. « Phylogenetic Analysis of HIV Type 2 in Ghana and Intrasubtype Recombination in HIV Type 2 ». *AIDS Research and Human Retroviruses* 13 (7) : 621-23. <https://doi.org/10.1089/aid.1997.13.621>.

508. Takeuchi, Junko S, Benjamin Perche, Julie Migraine, Séverine Mercier-Delarue, Diane Ponscarne, François Simon, François Clavel, et Béatrice Labrosse. 2013. « High level of susceptibility to human TRIM5 α conferred by HIV-2 capsid sequences ». *Retrovirology* 10 (mai) : 50. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-50>.
509. Tchounga, Boris K., Bo L. Hønge, Serge P. Eholie, Patrick A. Coffie, Sanne Jespersen, Christian Wejse, François Dabis, Gottlieb S. Geoffrey, Didier K. Ekouevi, et IeDEA West Africa collaboration. 2016. « Effect of Sex and Age on Outcomes among HIV-2-Infected Patients Starting Antiretroviral Therapy in West Africa ». *AIDS* (London, England) 30 (17) : 2707-14. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001232>.
510. Tebit, Denis M, et Eric J Arts. 2011. « Tracking a Century of Global Expansion and Evolution of HIV to Drive Understanding and to Combat Disease ». *The Lancet Infectious Diseases* 11 (1) : 45-56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70186-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70186-9).
511. Thapa, Puspa, et Donna L. Farber. 2019. « The Role of the Thymus in the Immune Response ». *Thoracic Surgery Clinics* 29 (2) : 123-31. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2018.12.001>.
512. Thiébaud, Rodolphe, Sophie Matheron, Audrey Taieb, Françoise Brun-Vezinet, Geneviève Chêne, et Brigitte Autran. 2011. « Long-Term Nonprogressors and Elite Controllers in the ANRS CO5 HIV-2 Cohort ». *Aids* 25 (6) : 865-67. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328344892e>.
513. Thieblemont, Nathalie, Laurence Weiss, Hoss M. Sadeghi, Claudia Estcourt, et Nicole Haeffner-Cavaillon. 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. <https://doi.org/10.1002/eji.1830251232>.
514. Tian, Yuan, Mariana Babor, Jerome Lane, Veronique Schulten, Veena S. Patil, Grégory Seumois, Sandy L. Rosales, et al. 2017. « Unique Phenotypes and Clonal Expansions of Human CD4 Effector Memory T Cells Re-Expressing CD45RA ». *Nature Communications* 8 (1) : 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01728-5>.

515. Tienen, Carla van, Maarten Schim van der Loeff, Syed M. A. Zaman, Tim Vincent, Ramu Sarge-Njie, Ingrid Peterson, Aleksandra Leligdowicz, et al. 2010. « Two Distinct Epidemics : The Rise of HIV-1 and Decline of HIV-2 Infection between 1990 and 2007 in Rural Guinea-Bissau ». *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (1999) 53 (5) : 640-47. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181bf1a25>.
516. Tobin, Nicole H., et Grace M. Aldrovandi. 2013. « Immunology of Pediatric HIV Infection ». *Immunological Reviews* 254 (1) : 143-69. <https://doi.org/10.1111/imr.12074>.
517. Towers, Greg, Michael Bock, Samia Martin, Yasuhiro Takeuchi, Jonathan P. Stoye, et Olivier Danos. 2000. « A conserved mechanism of retrovirus restriction in mammals ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (22) : 12295-99.
518. Towers, Greg, Mary Collins, et Yasuhiro Takeuchi. 2002. « Abrogation of Ref1 Retrovirus Restriction in Human Cells ». *Journal of Virology* 76 (5) : 2548-50.
519. Tsunetsugu-Yokota, Yasuko, et Mahmud Muhsen. 2013. « Development of human dendritic cells and their role in HIV infection : antiviral immunity versus HIV transmission ». *Frontiers in Microbiology* 4 (juillet). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00178>.
520. Tyagi, Mudit, et Michael Bukrinsky. 2012. « Human Immunodeficiency Virus (HIV) Latency : The Major Hurdle in HIV Eradication ». *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)* 18 (septembre) : 1096-1108. <https://doi.org/10.2119/molmed.2012.00194>.
521. « UNAIDS DATA 2016 ». s. d. Consulté le 15 mars 2019. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-AIDS-data_en.pdf.
522. « UNAIDS_Global_Report_2013_en_1.pdf ». s. d. Consulté le 10 mai 2019. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Global_Report_2013_en_1.pdf.
523. Unutmaz, Derya, Wenkai Xiang, Mary Jean Sunshine, Jim Campbell, Eugene Butcher, et Dan R. Littman. 2000. « The Primate Lentiviral Receptor Bonzo/STRL33

Is Coordinately Regulated with CCR5 and Its Expression Pattern Is Conserved Between Human and Mouse ». *The Journal of Immunology* 165 (6) : 3284-92. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.6.3284>.

524. Van Lint, Carine. 2013. Review of HIV-1 transcription and latency : an update, par Sophie Bouchat et Alessandro Marcello. *Retrovirology* 10 (juin) : 67. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-67>.

525. Vandergeeten, Claire, Rémi Fromentin, Sandrina DaFonseca, Mariam B. Lawani, Irini Sereti, Michael M. Lederman, Moti Ramgopal, Jean-Pierre Routy, Rafick-Pierre Sékaly, et Nicolas Chomont. 2013. « Interleukin-7 Promotes HIV Persistence during Antiretroviral Therapy ». *Blood* 121 (21) : 4321-29. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-11-465625>.

526. Vansant, Gerlinde, Anne Bruggemans, Julie Janssens, et Zeger Debyser. 2020. « Block-And-Lock Strategies to Cure HIV Infection ». *Viruses* 12 (1). <https://doi.org/10.3390/v12010084>.

527. Velu, Vijayakumar, Ravi Dyavar Shetty, Marie Larsson, et Esaki M. Shankar. 2015. « Role of PD-1 Co-Inhibitory Pathway in HIV Infection and Potential Therapeutic Options ». *Retrovirology* 12 (février) : 14. <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0144-x>.

528. Versteeg, Gijs A., Ricardo Rajsbaum, Maria Teresa Sánchez-Aparicio, Ana M. Maestre, Julio Valdiviezo, Mude Shi, Kyung-Soo Inn, Ana Fernandez-Sesma, Jae Jung, et Adolfo García-Sastre. 2013. « The E3-Ligase TRIM Family of Proteins Regulates Signaling Pathways Triggered by Innate Immune Pattern-Recognition Receptors ». *Immunity* 38 (2) : 384-98. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.11.013>.

529. Vicenzi, Elisa, Massimo Alfano, Silvia Ghezzi, Alessandra Gatti, Fabrizio Veglia, Adriano Lazzarin, Silvano Sozzani, Alberto Mantovani, et Guido Poli. 2000. « Divergent Regulation of HIV-1 Replication in PBMC of Infected Individuals by CC Chemokines : Suppression by RANTES, MIP-1 α , and MCP-3, and Enhancement by MCP-1 ». *Journal of Leukocyte Biology* 68 (3) : 405-12. <https://doi.org/10.1189/jlb.68.3.405>.

530. Vieillard, Vincent, Hugues Fausther-Bovendo, Assia Samri, et Patrice Debré. 2010. « Specific Phenotypic and Functional Features of Natural Killer Cells From HIV-

Infected Long-Term Nonprogressors and HIV Controllers ». *J AIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 53 (5) : 564-73.
<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181d0c5b4>.

531. Visseaux, Benoit, Florence Damond, Sophie Matheron, Diane Descamps, et Charlotte Charpentier. 2016. « Hiv-2 Molecular Epidemiology ». *Infection, Genetics and Evolution : Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 46 : 233-40. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.010>.
532. Visseaux, Benoît, Quentin Le Hingrat, Florence Damond, Charlotte Charpentier, et Diane Descamps. 2019. « Physiopathology of HIV-2 Infection ». *Virologie (Montrouge, France)* 23 (5) : 277-91. <https://doi.org/10.1684/vir.2019.0789>.
533. Vivier, Eric, Jacques A. Nunès, et Frédéric Vély. 2004. « Natural Killer Cell Signaling Pathways ». *Science (New York, N.Y.)* 306 (5701) : 1517-19. <https://doi.org/10.1126/science.1103478>.
534. Vivier, Eric, David H. Raulet, Alessandro Moretta, Michael A. Caligiuri, Laurence Zitvogel, Lewis L. Lanier, Wayne M. Yokoyama, et Sophie Ugolini. 2011. « Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 331 (6013) : 44-49. <https://doi.org/10.1126/science.1198687>.
535. Waggoner, Stephen N, Seth D Reighard, Ivayla E Gyurova, Stacey A Cranert, Sarah E Mahl, Erik P Karme, Jonathan P McNally, et al. 2016. « Roles of Natural Killer Cells in Antiviral Immunity ». *Current Opinion in Virology, Emerging viruses • Viral immunology*, 16 (février) : 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.10.008>.
536. Wagner, Jonathan M, Marcin D Roganowicz, Katarzyna Skorupka, Steven L Alam, Devin Christensen, Ginna Doss, Yueping Wan, et al. 2016. « Mechanism of B-box 2 domain-mediated higher-order assembly of the retroviral restriction factor TRIM5 α ». Édité par Stephen P Goff. *eLife* 5 (juin) : e16309. <https://doi.org/10.7554/eLife.16309>.
537. Wang, Chuanwu, Peter Hillsamer, et Chang H. Kim. 2011. « Phenotype, Effector Function, and Tissue Localization of PD-1-Expressing Human Follicular Helper T Cell

- Subsets ». *BMC Immunology* 12 (septembre) : 53. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-12-53>.
538. Wang, Feng-Xiang, Yan Xu, Julie Sullivan, Emily Souder, Elias G. Argyris, Edward A. Acheampong, Jaime Fisher, et al. 2005. « IL-7 Is a Potent and Proviral Strain-Specific Inducer of Latent HIV-1 Cellular Reservoirs of Infected Individuals on Virally Suppressive HAART ». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (1) : 128-37. <https://doi.org/10.1172/JCI22574>.
539. Ward, Jeffrey, Matthew Bonaparte, Jennifer Sacks, Jacqueline Guterman, Manuela Fogli, Domenico Mavilio, et Edward Barker. 2007. « HIV Modulates the Expression of Ligands Important in Triggering Natural Killer Cell Cytotoxic Responses on Infected Primary T-Cell Blasts ». *Blood* 110 (4) : 1207-14. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-06-028175>.
540. Wei, Wei, Haoran Guo, Xue Han, Xianjun Liu, Xiaohong Zhou, Wenyan Zhang, et Xiao-Fang Yu. 2012. « A Novel DCAF1-Binding Motif Required for Vpx-Mediated Degradation of Nuclear SAMHD1 and Vpr-Induced G2 Arrest ». *Cellular Microbiology* 14 (11) : 1745-56. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01835.x>.
541. Wei, Xiping, Julie M. Decker, Hongmei Liu, Zee Zhang, Ramin B. Arani, J. Michael Kilby, Michael S. Saag, Xiaoyun Wu, George M. Shaw, et John C. Kappes. 2002. « Emergence of Resistant Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Patients Receiving Fusion Inhibitor (T-20) Monotherapy ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (6) : 1896-1905. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1896-1905.2002>.
542. Wei, Xiping, Sajal K. Ghosh, Maria E. Taylor, Victoria A. Johnson, Emilio A. Emini, Paul Deutsch, Jeffrey D. Lifson, et al. 1995. « Viral Dynamics in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection ». *Nature* 373 (6510) : 117. <https://doi.org/10.1038/373117a0>.
543. Weiskopf, Daniela, Derek J. Bangs, John Sidney, Ravi V. Kolla, Aruna D. De Silva, Aravinda M. de Silva, Shane Crotty, Bjoern Peters, et Alessandro Sette. 2015. « Dengue Virus Infection Elicits Highly Polarized CX3CR1+ Cytotoxic CD4+ T Cells Associated with Protective Immunity ». *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America 112 (31) : E4256-4263.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1505956112>.

544. Weissenhorn, W., A. Dessen, S. C. Harrison, J. J. Skehel, et D. C. Wiley. 1997. « Atomic Structure of the Ectodomain from HIV-1 Gp41 ». *Nature* 387 (6631) : 426-30.
<https://doi.org/10.1038/387426a0>.
545. Wertheim, Joel O., et Michael Worobey. 2009. « Dating the Age of the SIV Lineages That Gave Rise to HIV-1 and HIV-2 ». *PLoS Computational Biology* 5 (5).
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000377>.
546. Wetzel, Katherine S., Yanjie Yi, Sarah T. C. Elliott, Dino Romero, Beatrice Jacquelin, Beatrice H. Hahn, Michaela Muller-Trutwin, Cristian Apetrei, Ivona Pandrea, et Ronald G. Collman. 2017. « CXCR6-Mediated Simian Immunodeficiency Virus SIV_{agmSab} Entry into Sabaeus African Green Monkey Lymphocytes Implicates Widespread Use of Non-CCR5 Pathways in Natural Host Infections ». *Journal of Virology* 91 (4). <https://doi.org/10.1128/JVI.01626-16>.
547. Wetzel, Katherine S., Yanjie Yi, Anjana Yadav, Anya M. Bauer, Ezekiel A. Bello, Dino C. Romero, Frederic Bibollet-Ruche, et al. 2018. « Loss of CXCR6 coreceptor usage characterizes pathogenic lentiviruses ». *PLoS Pathogens* 14 (4).
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007003>.
548. Whitelaw, D. M. 1972. « Observations on Human Monocyte Kinetics after Pulse Labeling ». *Cell and Tissue Kinetics* 5 (4) : 311-17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1972.tb00369.x>.
549. Whittle, H., J. Morris, J. Todd, T. Corrah, S. Sabally, J. Bangali, P. T. Ngom, M. Rolfe, et A. Wilkins. 1994. « HIV-2-Infected Patients Survive Longer than HIV-1-Infected Patients ». *AIDS (London, England)* 8 (11) : 1617-20.
550. Whittle, Hilton C, Koya Ariyoshi, et Sarah Rowland-Jones. 1998. « HIV-2 and T Cell Recognition ». *Current Opinion in Immunology* 10 (4) : 382-87.
[https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(98\)80108-8](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(98)80108-8).
551. Wiemann, Katrin, Hans-Willi Mittrücker, Ute Feger, Stefan A. Welte, Wayne M. Yokoyama, Thomas Spies, Hans-Georg Rammensee, et Alexander Steinle. 2005. «

Systemic NKG2D Down-Regulation Impairs NK and CD8 T Cell Responses in Vivo ». *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 175 (2) : 720-29. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.2.720>.

552. Wightman, Fiona, Ajantha Solomon, Gabriela Khoury, Justin A. Green, Lachlan Gray, Paul R. Gorry, Yung Shwen Ho, et al. 2010. « Both CD31(+) and CD31- Naive CD4(+) T Cells Are Persistent HIV Type 1-Infected Reservoirs in Individuals Receiving Antiretroviral Therapy ». *The Journal of Infectious Diseases* 202 (11) : 1738-48. <https://doi.org/10.1086/656721>.
553. Wilson, Sam J., Benjamin L. J. Webb, Charlotte Maplanka, Ruchi M. Newman, Ernst J. Verschoor, Jonathan L. Heeney, et Greg J. Towers. 2008. « Rhesus Macaque TRIM5 Alleles Have Divergent Antiretroviral Specificities ». *Journal of Virology* 82 (14) : 7243-47. <https://doi.org/10.1128/JVI.00307-08>.
554. Witvrouw, Myriam, Christophe Pannecouque, William M. Switzer, Thomas M. Folks, Erik De Clercq, et Walid Heneine. 2004. « Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to Various Anti-HIV-1 Compounds : Implications for Treatment and Postexposure Prophylaxis ». *Antiviral Therapy* 9 (1) : 57-65.
555. Wong, Joseph K., Marjan Hezareh, Huldrych F. Günthard, Diane V. Havlir, Caroline C. Ignacio, Celsa A. Spina, et Douglas D. Richman. 1997. « Recovery of Replication-Competent HIV Despite Prolonged Suppression of Plasma Viremia ». *Science* 278 (5341) : 1291-95. <https://doi.org/10.1126/science.278.5341.1291>.
556. Wong, Michelle E., Anthony Jaworowski, et Anna C. Hearps. 2019. « The HIV Reservoir in Monocytes and Macrophages ». *Frontiers in Immunology* 10 (juin). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01435>.
557. Wu, Li. 2012. « SAMHD1 : a new contributor to HIV-1 restriction in resting CD4+ T-cells ». *Retrovirology* 9 (octobre) : 88. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-88>.
558. Xu, Yang, Ming Zhang, Carlos A. Ramos, April Durett, Enli Liu, Olga Dakhova, Hao Liu, et al. 2014. « Closely Related T-Memory Stem Cells Correlate with in Vivo

Expansion of CAR.CD19-T Cells and Are Preserved by IL-7 and IL-15 ». *Blood* 123 (24) : 3750-59. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-01-552174>.

559. Xu, Yin, Chansavath Phetsouphanh, Kazuo Suzuki, Anu Aggrawal, Stephanie Graff-Dubois, Michael Roche, Michelle Bailey, et al. 2017. « HIV-1 and SIV Predominantly Use CCR5 Expressed on a Precursor Population to Establish Infection in T Follicular Helper Cells ». *Frontiers in Immunology* 8 : 376. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00376>.
560. Xu, Yin, Chris Weatherall, Michelle Bailey, Sheilajen Alcantara, Robert De Rose, Jerome Estaquier, Kim Wilson, et al. 2013. « Simian Immunodeficiency Virus Infects Follicular Helper CD4 T Cells in Lymphoid Tissues during Pathogenic Infection of Pigtail Macaques ». *Journal of Virology* 87 (7) : 3760-73. <https://doi.org/10.1128/JVI.02497-12>.
561. Xuan, Wenjuan, Qing Qu, Biao Zheng, Sidong Xiong, et Guo-Huang Fan. 2015. « The Chemotaxis of M1 and M2 Macrophages Is Regulated by Different Chemokines ». *Journal of Leukocyte Biology* 97 (1) : 61-69. <https://doi.org/10.1189/jlb.1A0314-170R>.
562. Ylinen, Laura M. J., Zuzana Keckesova, Sam J. Wilson, Srinika Ranasinghe, et Greg J. Towers. 2005. « Differential Restriction of Human Immunodeficiency Virus Type 2 and Simian Immunodeficiency Virus SIVmac by TRIM5 α Alleles ». *Journal of Virology* 79 (18) : 11580-87. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.18.11580-11587.2005>.
563. Yu, Xiao-Fang, Susumu Ito, Max Essex, et Tun-Hou Lee. 1988. « A Naturally Immunogenic Virion-Associated Protein Specific for HIV-2 and SIV ». *Nature* 335 (6187) : 262-65. <https://doi.org/10.1038/335262a0>.
564. Yuan, Joan, Rowena B. Crittenden, et Timothy P. Bender. 2010. « C-Myb Promotes the Survival of CD4+CD8+ Double-Positive Thymocytes through Upregulation of Bcl-XL ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 184 (6) : 2793-2804. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902846>.
565. Zack, J A, A M Haislip, P Krogstad, et I S Chen. 1992. « Incompletely reverse-transcribed human immunodeficiency virus type 1 genomes in quiescent cells can

function as intermediates in the retroviral life cycle. » *Journal of Virology* 66 (3) : 1717-25.

566. Zack, Jerome A., Salvatore J. Arrigo, Stacy R. Weitsman, Alan S. Go, Allyson Haislip, et Irvin S. Y. Chen. 1990. « HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes : Molecular analysis reveals a labile, latent viral structure ». *Cell* 61 (2) : 213-22. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90802-L](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90802-L).
567. Zaunders, John, Mark Danta, Michelle Bailey, Gerald Mak, Katherine Marks, Nabila Seddiki, Yin Xu, et al. 2016. « CD4+ T Follicular Helper and IgA+ B Cell Numbers in Gut Biopsies from HIV-Infected Subjects on Antiretroviral Therapy Are Similar to HIV-Uninfected Individuals ». *Frontiers in Immunology* 7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00438>.
568. Zerbato, Jennifer M., Erik Serrao, Gina Lenzi, Baek Kim, Zandrea Ambrose, Simon C. Watkins, Alan N. Engelman, et Nicolas Sluis-Cremer. 2016. « Establishment and Reversal of HIV-1 Latency in Naive and Central Memory CD4+ T Cells In Vitro ». *Journal of Virology* 90 (18) : 8059-73. <https://doi.org/10.1128/JVI.00553-16>.
569. Zhang, Hui-Ling, Feng-Liang Liu, Ya-Bin Jin, Qing Deng, Bei-Lei Liu, Min Zhuo, Xiao-Hui Liu, Yong-Tang Zheng, et Fei Ling. 2016. « The Effects of TRIM5 α Polymorphism on HIV-2ROD and SIVmac239 Replication in PBMCs from Chinese Rhesus Macaques and Vietnamese-Origin Cynomolgus Macaques ». *Virology* 487 (janvier) : 222-29. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.10.018>.
570. Zhang, Qianqian, et Fadi G. Lakkis. 2015. « Memory T Cell Migration ». *Frontiers in Immunology* 6 : 504. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00504>.
571. Zhang, Yi, Gerard Joe, Elizabeth Hexner, Jiang Zhu, et Stephen G. Emerson. 2005. « Host-Reactive CD8 + Memory Stem Cells in Graft-versus-Host Disease ». *Nature Medicine* 11 (12) : 1299-1305. <https://doi.org/10.1038/nm1326>.
572. Zheng, N. N., N. B. Kiviat, P. S. Sow, S. E. Hawes, A. Wilson, H. Diallo-Agne, C. W. Critchlow, G. S. Gottlieb, L. Musey, et M. J. McElrath. 2004. « Comparison of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Specific T-Cell Responses in HIV-1- and HIV-

2-Infected Individuals in Senegal ». *Journal of Virology* 78 (24) : 13934-42.
<https://doi.org/10.1128/JVI.78.24.13934-13942.2004>.

573. Zhu, Tuofu. 2002. « HIV-1 in Peripheral Blood Monocytes : An Underrated Viral Source ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50 (3) : 309-11.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkf143>.

574. Zhu, Tuofu, David Muthui, Sarah Holte, David Nickle, Feng Feng, Scott Brodie, Yon Hwangbo, James I. Mullins, et Lawrence Corey. 2002. « Evidence for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in Vivo in CD14(+) Monocytes and Its Potential Role as a Source of Virus in Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy ». *Journal of Virology* 76 (2) : 707-16. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.2.707-716.2002>.

ANNEXES

METHODOLOGIE

Matériels et Méthodes

1 Patients et donneurs

Patients infectés par VIH-2 : Nous avons étudié les cellules sanguines périphériques de 14 patients de la cohorte nationale (ANRS CO-05) infectés par le VIH-2, dans le cadre de l'étude Immunovir-2 soutenue par l'ANRS, validée par le CPP.

Tableau 1 : Caractéristiques des patients VIH-2 pour l'étude du réservoir

Patients	Sexe	Age (ans)	Nombre de CD4 (cells/mm ³)	Nbre d'années depuis le diagnostic	CV ARN (copies/ml plasma)	CV ADN (copies/10 ⁶ PBMC)	Groupe VIH-2	Origine Géographique
1	M	52	891	11.3	<1	131	B	Cote d'Ivoire
2	M	53	1228	17.6	<1	170	A1	Guinée Bissau
3	F	52	604	25.6	19	139	B	Guinée (Conakry)
4	M	57	1090	23	ND	107	A1	Cote d'Ivoire
5	F	34	1212	12.5	5.6	88	A1	Gambie
6	F	50	1776	8.8	<1	53	B	Ghana
7	F	39	1036	12.7	<1	53	B	Cote d'Ivoire
8	F	48	859	9.2	ND	40	B	Guinée (Conakry)
9	F	49	895	11.3	<1	28	B	Cote d'Ivoire
10	F	54	1118	27.2	2.4	10	B	Guinée Conakry
11	M	59	1300	8.8	<1	<7.5	NA	Colombie
12	M	44	707	20.5	1.3	187	A	Cote d'Ivoire
13#	F	43	858	22.7	<1	10	NA	Cote d'Ivoire
14#	M	70	502	7.4	58	127	A	Guinée (Conakry)
Médiane		51	966	12.6	1	70.5 (88*)		
[IQR 25–75%]		[44-55]	[820-1216]	[9.1-22.8]	[1-4]	[34-135] *		

Tableau 2 : Caractéristiques des patients VIH-2 pour l'étude NK

Patients	Sexe	Age (ans)	Nombre de CD4 (cells/mm ³)	Nadir CD4 count (cell/ul)	Nbre d'année depuis le diagnostic	CV ARN (copies/ml plasma)	CV ADN (copies/10 ⁶ PBMC)	Origine Géographique
1	M	44	707	444	20.5	1.3	187	Cote d'Ivoire
2	F	54	1 118	539	27.3	2.4	10	Guinée (Conakry)
3	F	43	858	706	22.7	<1	10	France
4	M	52	891	602	11.3	<1	131	Cote d'Ivoire
5	F	50	1 776	971	8.8	<1	53	Ghana
6	M	70	502	390	7.4	58.0	127	Sénégal
7	F	34	1 212	711	12.5	5.6	88	Gambie
8	F	48	859	601	9.2	75.0	40	Guinée (Conakry)
9	M	59	1 300	712	8.8	<1	nd	Colombia
10	M	46	nd	359	7.5	nd	nd	Cote d'Ivoire
11	F	40	1 170	597	15.4	nd	484	Cote d'Ivoire
12	F	49	812	513	10.2	<1	nd	Guinée (Conakry)
13	F	49	895	528	11.3	<1	28	Cote d'Ivoire
14	M	55	927	588	9.0	<1	nd	Cote d'Ivoire
15	F	49	836	528	10.4	<1	nd	Ghana
16	F	39	1 036	800	12.7	<1	53	Cote d'Ivoire
17	M	53	1 228	1165	17.6	<1	170	Guinée Bissau
18	F	21	nd	465	nd	nd	nd	Cote d'Ivoire
19	F	59	1123	520	16.0	nd	nd	Cote d'Ivoire
20	F	50	nd	485	16.2	nd	517	Cote d'Ivoire
21	M	48	399	434	14.4	<1	nd	France
22	M	52	413	314	18.2	5.7	342	France
23	M	57	1 090	562	23.0	nd	107	Cote d'Ivoire
Médiane		49	847	539	12,5	1	40	
[IQR 25–75%]		46-54	413-891	485-706	9,2-17,6	1-1,3	1-135	

Donneurs sains :

A titre de contrôles, nous avons étudié les échantillons sanguins de 7 donneurs sains pour l'analyse de corécepteurs et de 5 donneurs sains pour l'étude des facteurs de transcription. Ces échantillons ont été obtenus anonymement auprès de l'établissement français du sang (EFS- site Pitié-Salpêtrière) sous forme de résidus de couches leuco-plaquettaire (CLP) dans le cadre d'un protocole avec le CIMI et validé par le CPP.

Nous avons également étudié les échantillons sanguins de 5 sujets sains Ouest-Africains non infectés par le VIH-1 ou 2 recrutés dans le cadre de l'étude Immunovir-2 de l'ANRS, de même origine géographique que les patients infectés par VIH-2.

Patients infectés par le VIH-1.

Nous avons étudié les échantillons sanguins d'adultes infectés par le VIH-1 Asymptomatiques à Long Terme (ALT) ou Elite Controllers (EC) de la cohorte ANRS CO15 se définissant comme des patients infectés par le VIH-1 mais asymptomatiques depuis au moins 8 ans, avec une stabilité du taux de CD4 ($\geq 600/\text{mm}^3$) sans traitement antirétroviral (Candotti et al. 1999 ; Magierowska et al. 1999 ; Martinez et al. 2005 ; Descours et al. 2012). Nous avons sélectionné dans cette cohorte des patients ayant une charge virale plasmatique basse (< 200 copies ARN VIH-1/ml) ou modérée, comprise entre 1000 et 50000 copies d'ARN VIH-1/ml ; ces données nous ont servies pour comparer les résultats de la distribution du réservoir des patients VIH-2. Les cellules de 7 sujets ALT/EC VIH-1 ont été analysées pour l'expression des corécepteurs (CXCR6) et 10 sujets pour les autres corécepteurs et les facteurs de restriction.

Tableau 3 : Caractéristiques des patients ALT-VIH-1

Patients	Sexe	Date de recueil de l'échantillon	Date de naissance	% de CD4	Nombre de CD4 (cells/mm ³)	Nbre d'année depuis le diagnostic (ans)	CV ARN (copies/ml plasma)	CV ADN VIH-1 (copies/10 ⁶ PBMC)	HLA-A	HLA-B
1	M	15/11/2000	05/06/1956	38	1428	29	ND	152	2/19	50/57
2	M	12/11/1996	16/02/1970	42	818	13	1 960	48	1/10	55/81
3	F	07/05/1997	30/06/1963	35	827	22	46	25	2/19	51/44
4	F	24/11/1999	30/06/1963	35	1011	22	154	25	2/19	51/44
5	F	23/11/1998	23/02/1963	34	392	24	1075	117	1/19	5/8
6	M	17/12/1996	24/05/1930	44	728	56	101	55	19/28	44/14
7	M	13/11/1996	03/07/1939	38	642	50	357	51	3/19	1401/2702
8	M	19/02/1997	13/02/1966	24	949	17	54 000	481	3/19	35/14
9	M	06/05/1996	20/05/1956	39	828	29	299	5	3/11	2705 or 2713/3801
10	M	24/10/1995	11/04/1958	31	790	28,5	60	85	1/11	8/35
11	F	23/02/1999	20/11/1957	35	861	32	194	20	11/19	14/40
Median	-	-	-	35	827	28,5 year	174	51	-	-
[IQR 25–75%]	-	-	-	[34,5-38,5]	[759-905]	[22-30,5]	[90,75-313,5]	[25-101]	-	-

2 Méthodes

Cellules sanguines :

Les cellules mononucléées sanguines (PBMC) avaient été préalablement congelées de façon viable au laboratoire (dans 90% de sérum de veau fœtal et 10% de DMSO) et conservées à -150°C.

Travaux N° 1 et 3 :

Tri cellulaire pour l'étude des réservoirs de VIH-2 :

Le tri cellulaire a été réalisé sur des PBMC décongelés, avec des PBMC de patients VIH-2 (en moyenne 70 millions et une viabilité de 99,6% ; déterminée au Bleu trypan) et d'enfants VIH-1 (42 millions et une viabilité de 51,5%). Les cellules décongelées ont été déplétées en cellules CD8⁺ avec un anticorps monoclonal anti-CD8 couplé à des microbilles magnétiques (**Kit et procédure Miltenyi CD8 microbeads human – réf. 130-045-201**) à +4°C pendant 15mn. Après plusieurs lavages avec autoMACS Running Buffer – MACS Separation Buffer (**Miltenyi Ref 130-091-221**), les cellules ont été passées sur colonne placée dans un champ magnétique afin de récupérer les deux populations cellulaires : CD8⁻ et CD8⁺. Les cellules CD8⁺ ont été congelées à d'autres fins de recherche. Les cellules CD8⁻ ont été marquées avec le panel d'anticorps suivant : Ac anti CD3 PercP5.5 (5µl) [BD : 332771], Ac anti CD4 APC (5µl) [BD : 555349], Ac anti CD8 APC Cy7 [BD : 641400] pour 0,1.10⁶ cellules CD8⁻ pour vérifier la pureté de la déplétion par cytométrie en flux (FACSCanto II de Becton-Dickinson). Les cellules CD8⁻ ont été ensuite marquées par le panel d'anticorps suivant pour le Tri.

Tableau 4 : Liste des anticorps pour les PBMC triés

Nom	Fluorochrome	Clone	Marque	Références
LIVE/DEAD 405nm	-	-	Invitrogene	L34957
CD197 = CCR7	PE-Cy7	3D12	Becton Dickinson	557648
CD3-	Pacific Blue	UCHT1	Becton Dickinson	558117
CD4	AF700	RPA-T4	Becton Dickinson	557922
CD14	BV711	MoP9	Becton Dickinson	563372
CD45 RA	ECD	2H4LDH11LDB9	Beckman Coulter	IM2711
CD8	APC H7	SK1	Becton Dickinson	641400
CD27	APC	L128	Becton Dickinson	337169
CD25	FITC	B1.49.9	Beckman Coulter	IM0478
CD69	FITC	L78	Becton Dickinson	347823
HLA-DR	FITC	L243	Becton Dickinson	347400

Après marquage, les cellules ont été triées à l'aide du cytomètre FACS Aria II de Becton-Dickinson, équipé de 5 lasers et placé en condition L3 dans la Plateforme universitaire de Cytométrie CyPS. Les sous-populations cellulaires T CD3⁺CD4⁺ suivantes ont été isolées : les lymphocytes T naïfs (TN), à mémoire centrale (TCM), transitionnels-mémoire (TTM), effecteurs-mémoire (TEM), les lymphocytes T CD4⁺ au repos (Resting), les lymphocytes T Activés, ainsi que les Monocytes. Cependant les sous populations de cellules T activés (TN, TCM, TTM, TEM) n'ont pas été triées. Les sous populations activées et les monocytes ont été analysés à l'aide du logiciel d'analyse FacsDIVA version 6.1.3

% Monocytes : CD3⁻CD4⁺, CD3⁻ CD14⁺, CD3⁻ CD14⁺CD4⁺

% Lymphocytes : CD3⁺ CD4⁺ :

* **Activés** : CD3⁺ CD4⁺CD25⁺CD69⁺HLA-DR⁺ ou

* **Non Activés (au repos /Resting)** : CD3⁺ CD4⁺CD25⁻CD69⁻ HLA-DR⁻

composées de :

- TN : CD3⁺ CD4⁺ CD45⁺CCR7⁺CD27⁺

- TCM : CD3⁺ CD4⁺ CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺

- TTM : CD3⁺ CD4⁺ CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁺

- TEM : CD3⁺ CD4⁺ CD45RA⁻CCR7⁻CD27⁻

- TEMRA : CD3⁺ CD4⁺ CD45RA⁺CCR7⁻CD27⁺*

Pour chacune des sous-populations ci-dessus triées, des culots secs de cellules ont été réalisés pour une étude du transcriptome en fonction du nombre de cellules obtenu lors du tri (en moyenne 5000 cellules). La majorité des tris a permis de réaliser des aliquots qui ont été envoyés en virologie pour l'étude de l'ADN viral dans les différentes sous-populations.

Analyses phénotypiques des corécepteurs et des facteurs de restriction par cytométrie en flux

Pour l'étude VIH-2, nous avons utilisé 10×10^6 de PBMC décongelées de 12 sujets VIH-2, cinq EFS et cinq donneurs sains Ouest Africains dont les cellules CD8⁺ avaient été triées au préalable comme décrit précédemment. Pour les sujets donneurs sains Ouest Africains après déplétion, $1,5 \times 10^6$ de cellules ont été utilisés pour le marquage, selon le panel d'anticorps décrit dans Samri et al (2019) . Le marquage intracellulaire a été complété avec des anticorps anti-SAMHD-1 A488 [O. Schwartz] et anti-Blimp-1 BV421 [réf. BD : 565276]. La même technique a été utilisée pour 7 ALT-EC VIH-1.

Nous avons effectué le marquage membranaire après incubation avec un marqueur de viabilité (Fixable Viability Stain 780, BD). Les cellules ont été incubées pendant 15mn à température ambiante dans l'obscurité, puis lavées avec du PBS 1X, suivi du marquage au CCR7 PE-Cy7 et d'une incubation de 10mn à température ambiante dans l'obscurité, avant de rajouter le cocktail des autres anticorps membranaires pour 15mn à température ambiante dans l'obscurité. Après 2 lavages avec du Buffer 1X [Affimetryx : 00-8333], nous avons perméabilisé les cellules pour effectuer le marquage intracellulaire en utilisant le kit Foxp3 (Fixation/Permeabilization Concentrate and Diluent) [eBioscience : 00-5521-00] pendant 45mn à +4°C suivi de 2 lavages et du marquage avec les anti-SAMHD-1 A488, et anti-Blimp-1 BV421 pendant 45mn [protocole O. Schwartz]. Après ce dernier marquage, les cellules ont été lavées 2 fois avec du Buffer 1X puis fixées avec du Cellfix [BD : 340181]. Les cellules marquées et fixées ont été analysées au cytomètre en flux [LSRFortessa – BD] pour le phénotypage.

Tableau 5 : Liste des anticorps pour l'analyse des corécepteurs et facteurs de restriction

Anticorps	Fluorochrome	clone	fabriquant	références
CD3	BV510	UCHT1	BD	563109
CD4	BUV395	SK3	BD	563550
CD45RA	PE	HI100	BD	555489
CD27	BUV737	L128	BD	564301
CCR7	PE-Cy7	3D12	BD	557648-
PD1	APC	MIH4	BD	558694
CCR5	PE	2D7	BD	555993
CCR5	BV650	3A9	BD	564999
CXCR5	APC-R700	RF8B2	BD	565191
SAMHD1	A 488	-	BD	-
Blimp1	BV 421	6D3	BD	565276
CD25	BV786	M-A251	BD	563701
CD69	BV786	FN50	BD	563834
HLA-DR	BV786	G46-6	BD	564041

Nous avons également étudié l'expression des corécepteurs et des facteurs de restriction après culture des cellules pendant 14 jours : 4 points de culture (J3, J7, J10, J14) ont été étudiés par des marquages membranaires et intracellulaires effectués sur 2 tubes (1 tube avec CCR5 PE et 1 tube sans CCR5)

Tableau 6 : Marquage à J3, 7, 10, 14 des patients VIH-2 et des contrôles (EFS)

Anticorps	Vol 1-10 ⁶ M de Cell	Tube 1 CCR5PE + 1M	Tube 2 CCR5PE – 1M
CD4 BUV395	5 µl	5 µl	5 µl
CCR5 PE	5 µl	5 µl	-
SAMHD1A 488	1 µl	-	1 µl
Blimp1 BV 421	5 µl	-	5 µl
FVS 780	1 µl	1 µl	1 µl
HLA-DR BV786	5 µl	5 µl	5 µl

L'analyse des résultats de J0-J14 a permis d'étudier la répartition des différentes sous populations cellulaires CD4⁺ et l'évolution de l'expression des marqueurs pendant la culture :

Cellules activées : CD69⁺CD25⁺HLA-DR⁺ :

TN : CD3⁺ CD4⁺ CCR7⁺ CD27⁺ CD45RA⁺

TCM : CD3⁺ CD4⁺CCR7⁺ CD27⁺CD45RA⁻

TTM : CD3⁺ CD4⁺CCR7⁻ CD27⁺ CD45RA⁻

TEM : CD3⁺CD4⁺CCR7⁻CD27⁻CD45RA⁻

TEMRA : CD3⁺ CD4⁺CCR7⁻CD27⁻ CD45RA⁺

Tfh : CXCR5⁺ et CXCR5⁺ PD1⁺

Étude de la co-expression de Trim-5 : La 1ere étape a consisté en un marquage intracellulaire indirect : les cellules, après déplétion, ont été lavées 2 fois avec 2 ml de Perm Buffer 1X, centrifugées à 1500 rpm/5', puis perméabilisées (perméabilisation des tubes IgG et TRIM5α) avec du CytoFix/CytoPerm (BD : 554722) (250µl/tube) incubé pendant 20min à +4°C, suivi de 2 lavages. Les cellules ont été remises en suspension dans 100 µl/10⁶ cellules de PBS 1X, dans chaque tube 2 µl (0,2µg) de TRIM5α/10⁶ cellules ((D6) sc373864), vortexées et

incubées pendant 30mn à +4°C puis lavées avec le Buffer 1X BD et centrifugées. Les cellules ont ensuite été reprises dans 100µl/10⁶ cellules de Buffer 1X puis marquées avec 2,5µl (1µg) m-IgGk BP PE/10⁶cellules (sc-516141), vortexées et incubées pendant 30mn à +4°C, suivi de 2 derniers lavages en Buffer 1X avant le marquage membranaire. Les cellules ont été reprises avec du PBS 1X. Un marquage de viabilité a été réalisé sur les cellules (FSV620), puis elles ont été incubées pendant 15 mn à température ambiante (TA) dans l'obscurité, lavées puis ré-suspendues dans 100µl de R10 (RPMI supplémenté+10% SVF) /10⁶ cellules. Les cellules ont ensuite été marquées avec l'anti-CCR7APC-R700 (5µl/10⁶ cellules) pendant 10 min à TA dans l'obscurité, avant de rajouter le cocktail d'anticorps suivant : anti-CD3APC-H7 (5µl/10⁶ cellules), anti-CD4 BV510 (5µl/10⁶ cellules), anti-CD45RA FITC (20µl/10⁶ cellules), anti-CD27 PE-Cy (5µl/10⁶ cellules), anti-PD-1 BB700 (5µl/10⁶ cellules), anti-CXCR5 AF647(2.5µl/10⁶cellules), CXCR6 BV421 (2.5µl/10⁶ cellules) pour les trois tubes ; l'anti-CD32 PE (20µl/10⁶ cellules) a été ajouté seulement dans le tube 1. Les cellules ont été vortexées puis incubées pendant 15 min à TA dans l'obscurité, lavées 2 fois, fixées dans du Cellfix (BD : 340181), puis analysées par cytométrie en flux (Gallios 10 Colors, 3 Lasers). Pour 5 patients (4 sujets VIH-2 et 1 sujet EFS), l'anti-CD32 PE a été remplacé par de l'anti-CCR5 PE (BD : 555993)

Tableau 7 : Liste anticorps des marquages de co-expression avec TRIM5

Anticorps	Fluorochrome	clone	fabriquant	références
FSV620	750 /775		Invitrogen	L34976
CCR7	APC-R700	3D12	BD	565868
CD3	APC-H7	SK7	BD	560275
CD4	BV510	SK3	BD	562971
CD45RA	FITC	HI100	BD	561882
CD27	PE-Cy7	M-T271	BD	560609
PD-1	BB700	EH12-1	BD	566461
CXCR5	AF647	RF8B2	BD	558113
CXCR6	BV421	13B1E5	BD	566008
CD32	PE	FLI8-26	BD	550586
TRIM5α((D6)	-	-	Santa Cruz Biotechnology INC	373864
m-IgGk BP	PE	-	Santa Cruz Biotechnology INC	516141

L'analyse des fichiers FCS bruts obtenus au niveau des cytomètres a été réalisée avec les logiciels FacsDIVA version 6.1.3, Kaluza C et Flowjo V10.

Culture cellulaire et détection du VIH-2 :

La veille de chaque tri cellulaire des plaques de culture de 12 puits ont été incubées avec 5µl d'anti-CD3 [BC : IM1304] dans du PBS à +4°C pendant 24h. Après déplétion des CD8 et avant le marquage pour le tri, 5x10⁶ cellules CD8⁻ ont été mises en culture, dans la plaque

préalablement rincée avec du PBS 1X afin de retirer l'anti-CD3 en excès, dans du R10 (RPMI 1640 + 1% antibiotique +1% acide aminé non essentiel + 1% de sulfate de Sodium + 1% Glutamine + 10% Sérum de vœu fœtal décomplémenté) auquel de l'anti-CD28 soluble (10µg/ml) [BC : IM1376], de l'IL2 (10U/ml) [réf : 11011, Roche] et de l'IL7 (1ng/ml) [réf : 207-IL, R&D] ont été ajoutés pour la co-stimulation. Les plaques ont été incubées à 37°C avec 5% CO₂ pendant les 30 jours de culture (pour les patients VIH-2 qui ont été triés). Des aliquots de surnageant de culture ont été récoltés tous les 3 jours pendant les 30 jours et les cellules ont été ré-nourries avec du milieu R10%SVF et restimulées avec de l'IL2 et de l'IL7 ajoutés en quantité égale. Les aliquots de surnageant ont été congelés à -20°C pour être envoyés en virologie. A la fin des 30 jours de culture un culot sec de cellules a été réalisé pour chaque patient et stocké à -20°C.

Pour le projet CLEAC : les cellules CD8⁺, préparées comme ci-dessus, ont été mises en culture pendant 30 jours dans les mêmes conditions que dans le projet IMMUNIVIR II VIH-2.

Analyses statistiques

L'analyse statistique et les graphes ont été réalisés à l'aide du logiciel Prism version 5.02 (GraphPad, CA, USA) ; pour les analyses non-paramétriques nous avons utilisé une ANOVA avec le test de Wilcoxon suivi d'un post-test de Bonferroni. Les données ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

Travail N°2 : Analyse des caractéristiques des cellules NK

Analyse en cytométrie en flux

Le marquage a été réalisé sur les PBMC préalablement décongelées, avec un cocktail d'anticorps monoclonaux : des Anti-CD56-PC7 (#N901), anti-CD-45-Krome Orange, anti-CD159a/NKG2A-PE (#Z199), anti-NKp46-PE, anti-CD57-Pacific Blue, KIRDL2/DL3-PE, Siglec-7-PE, NKG2D-APC provenant de Coulter ; l'anti-CD3-efluoro780 (#UCHT1) provenant de eBioscience ; Les anti-CD161-FITC (#DX12), KIRDL1-FITC et DNAM-1-FITC de BD Pharmingen ; L'anti-NKG2C-APC de chez R&D System; Les anti-HLA-DR-AlexaFluor 700 (#Immu-357) et anti-KIR3DL1 AlexaFluor700 de chez BioLegend; et l'anti-NKp30-APC de chez Miltenyi Biotech. L'acquisition des cellules (20 000 cellules CD45⁺) marquées a été

effectuée sur le Gallios (Cytomètre en flux de Beckman Coulter) et les fichiers ont été analysés avec FlowJo version 9 (TreeStar).

Analyse polyfonctionnelle des cellules NK

Les cellules NK ont été incubées avec des cellules cibles standards (K562), qui sont négatives pour les HLA de classe I (ATCC CCL243), avec un ratio de cellules effectrices (E :T) de 1 :1 cibles de 1 :1, en présence d'un anticorps anti-CD107a (#H4A3 ; Becton Dickinson). Ce marquage permet de mesurer la dégranulation. Les cellules ont été ensuite incubées pendant 5h dans une solution de Golgi « Stop et Plug » (BD Biosciences), puis marquées avec des anticorps anti-CD3, anti-CD56, anti-CD45 et anti-NKp30. Après incubation, les cellules ont été perméabilisées avec le kit cytofix/cytoperm (Becton Dickinson), puis marquées intracellulairement avec de l'anti-IFN- γ (#B27 ; Becton Dickinson) et anti-TNF- α (#Mab11 ; eBiosciences) (Vieillard et al. 2010)

Les données de polyfonction ont été analysées avec Flow Jo version 9 (TreeStar), avec l'algorithme " Boolean gate ".

Le logiciel Pestle a été utilisé pour supprimer le fond, et les graphes ont été générés avec le logiciel Spice (logiciel gratuit NIAI) (Vieillard et al. 2010) afin de présenter la fréquence des cellules NK positives pour 0, 1, 2 ou 3 réponses. Les arcs de chaque graphe représentant la fréquence des cellules positives pour CD107a, IFN- γ , ou TNF- α .

Analyse des ligands des récepteurs de cellules NK sur les cellules cibles non infectées et infectées par le VIH-2.

Les cellules CEM ont été infectées avec 10^3 doses infectieuses à 50 % en culture tissulaire (DICT₅₀) des souches VIH-1_{JR-CSF} (souche de VIH-1) ou VIH-2_{ROD} (Souche de VIH-2) ou avec du milieu de culture comme témoin non infecté (Petitdemange DICT 2013). Sept à neuf jours après l'infection, les cellules ont été préparées pour une analyse par cytométrie en flux. Les cellules CEM non-infectées et infectées par le VIH ont été lavées 3 fois puis colorées avec 10 μ g/ml de protéines de fusion solubles (NKp30-Ig, NKp44-Ig et NKp46-Ig : R&D system) ou d'Ac monoclonaux anti-ULBP-1, -3 ou -2,5,6 (R&D system) pendant 2 heures à 4°C. Les cellules ont été incubées avec des fragments F(ab')₂ d'IgG de chèvre anti-humaine

(1/50 ; Jackson ImmunoResearch), puis de rat anti-Ab de souris (1/50) PE (Baychelier, Blood 2013). Pour analyser l'expression des molécules du CMH de classe 1, l'anticorps anti-HLA-ABC (BD) a été incubé pendant 30 minutes à 4°C. Les cellules ont été fixées puis perméabilisées avec du cytofix/cytoperm (Becton Dickinson), puis un marquage intracellulaire du virus a été réalisé avec un anti KC-57 (Beckman Coulter) afin de mesurer le taux de protéine virale du VIH-1 et du VIH-2. Les données ont été analysées avec Flow Jo version 9 (TreeStar).

Considérations éthiques

Les projets Immunovir-2, Cleac et Co-15 ont reçu l'approbation de l'ANRS et des comités d'éthique CPP.

Table des illustrations

Figure 1 : Estimation de l'évolution et de la propagation mondiale des types, groupes et sous-types de VIH. La chronologie indique les événements clés de l'évolution des groupes VIH-1, M, N et O, avant l'apparition du groupe P (Afrique centrale) et du VIH-2. CRF (forme recombinante circulante)	14
Figure 2 : Fréquence du VIH dans la population mondiale.	15
Figure 3 : Les différents sous types du VIH.....	16
Figure 4. Représentation des génomes du VIH-1 et du VIH-2. Les cases grises représentent les gènes structuraux, les cases bleues les gènes régulateurs et les cases roses les gènes accessoires.	18
Figure 5 : les différentes étapes de la réplication virale	22
Figure 6 : Phases de l'infection après l'exposition au VIH. La propagation, la dissémination et l'établissement des réservoirs viraux. La réponse immunitaire (retard, CTL, lymphocyte T cytotoxique, PD-1, mort programmée 1), pic virémique (réplication virale).	24
Figure 7 : Cinétique des marqueurs immunologiques et virologiques associés à l'infection à VIH pendant les phases aiguë et chronique	27
Figure 9 : les différentes facettes de la biologie et des mécanismes d'action des cellules NK VIH.....	35
Figures 10 : Reconnaissance et élimination de la cellules infectée (Stankovic, Guillon, et Verrier 2004).....	35
Figure 11 : Structure du thymus	37
Figure 12 : Expression et structure protéique des TCR associés aux corécepteurs	38
Figure 13 : Schéma de différenciation des sous-populations des cellules mémoire.....	40
Figure 14 : Différenciation des TN après rencontre avec l'antigène via la CPA	42

Figure 15 : Schéma de l'hétérogénéité des cellules T mémoire dans le sang et les tissus périphériques	43
Figure 16 : Schéma d'interaction entre le récepteur CD4 et les corécepteurs.	44
Figure 17 : Principaux récepteurs d'entrée du VIH.	48
Figure 18 : Interaction entre les facteurs de restriction et le VIH-1 au cours de son cycle de réplication.....	53
Figure 19 : Principaux mécanismes de la mise en place de la latence.	56
Figure 20 : Établissement et entretien du réservoir de lymphocytes T CD4+ au repos.....	59

Table des tableaux

Tableau 1 : Classification des cytokines suivant les caractères biochimiques et structuraux ..	47
Tableau 1 : Caractéristiques des patients infectés par le VIH-2	74
Tableau 1 : Caractéristiques des patients VIH-2 pour l'étude du réservoir	276
Tableau 2 : Caractéristiques des patients VIH-2 pour l'étude NK.....	277
Tableau 3 : Caractéristiques des patients ALT-VIH-1	278
Tableau 4 : Liste des anticorps pour les PBMC triés	279
Tableau 5 : Liste des anticorps pour l'analyse des corécepteurs et facteurs de restriction ...	281
Tableau 6 : Marquage à J3, 7, 10 ,14 des patients VIH-2 et des contrôles (EFS).....	282
Tableau 7 : Liste anticorps des marquages de co-expression avec TRIM5	283

Résumé

Le VIH-2 et le VIH-1 diffèrent par leur pathogénicité. Afin de mieux comprendre les mécanismes encore mal connus des faibles pathogénicité et potentiel de réplication du VIH-2, nous avons étudié les caractéristiques immuno-virologiques des réservoirs du VIH-2 et de paramètres de l'immunité innée et intrinsèque chez des patients infectés par VIH-2 ne progressant pas vers le SIDA, intégrés dans la cohorte de l'ANRS-CO-05.

Dans un premier travail nous avons testé l'hypothèse que les réservoirs du VIH-2 pouvaient suivre une distribution particulière connue dans les modèles d'infections atténuées du VIH-1/SIV, dans lesquels l'infection reste majoritairement limitée dans les lymphocytes T CD4 centrale mémoire (TCM) du sang périphérique. Un nombre de 14 sujets infectés par le VIH-2 et naïfs de traitement ARV, a été inclus ainsi que des donneurs sains de l'EFS et des donneurs sains d'origine Ouest Africaine. Les cellules du sang périphérique ont été triées en sept sous-populations de Monocytes, TCD4 Activés, T CD4 au repos (TN, TCM, TTM, TEM). Les cellules CD8⁺ ont été mises en culture pendant 30 jours pour tester la production virale. L'ADN viral a été quantifié dans ces cellules triées par PCR. L'expression membranaire des corécepteurs et des facteurs de restriction a été analysée dans un premier temps par une étude transcriptomique en multiplex de 96 gènes et dans un second temps par cytométrie en flux. Les résultats ont montré que l'ADN du VIH-2 était indétectable dans les monocytes de tous les individus et quantifiable chez 4 individus seulement, et ce dans les TTM (médiane : 2,25 log₁₀ copies/10⁶ cellules), mais aussi dans les TCM d'un seul individu (1,75 log₁₀ copies/10⁶ cellules). Les niveaux d'ADN du VIH-2 dans les PBMC étaient positivement corrélés avec ceux des TTM (R = 0,66 ; p = 0,01). L'inductibilité virale a été observée in vitro chez seulement 3 patients. L'analyse de l'expression des corécepteurs a montré que le CCR5 était exprimé de façon similaire dans les sous-populations des VIH-2⁺ comparé aux donneurs sains. L'étude transcriptionnelle a montré que le nombre de transcrits de CXCR6 était plus faible dans les TCM par rapport aux TTM (p=0,002), résultat confirmé par cytométrie, et a montré une expression plus élevée du facteur de restriction TRIM5α dans les TCM par rapport au TTM (p=0,004), ce qui n'a pu être confirmé par cytométrie.

Au cours du deuxième travail, l'analyse du phénotype des cellules NK et les différents marqueurs ont été analysés par cytométrie en flux et réalisés sur les cellules sanguines de 24 sujets de la cohorte ANRS Co05, inclus de manière prospective. Nous avons retrouvé une diminution très significative de l'expression du récepteur activateur NKp30 (P < 0,0001) sur les

cellules NK, beaucoup plus importante que celle observée chez les patients VIH-1⁺. Cette diminution de l'expression de NKp30 est corrélée négativement avec celle de HLA-DR ($r=0,5970$; $P= 0,0002$), et positivement avec le NKG2A ($r= 0,5324$; $P < 0,0001$). La faible expression de NKp30 était associée à une augmentation de la production d'IFN- γ ($P < 0,0001$) et une altération de la fonction cytolytique surtout en présence de cellules cibles exprimant à leur surface B7-H6.

Le troisième travail a permis de comparer l'expression des corécepteurs et de facteurs de transcription des VIH-1 et VIH-2 de patients non progresseurs à long terme infectés par VIH-1 (LTNP), intégrés dans la cohorte ANRS CO15, aux patients infectés par VIH-2 et aux donneurs sains. Nous avons principalement observé que l'expression de PD1 était plus importante sur les cellules T CD4 des sujets VIH-1 LTNP comparés aux donneurs sains, mais non corrélée à la charge virale. L'expression des corécepteurs et les facteurs de transcription étaient dans les mêmes proportions chez les VIH-1 LNTN comparé aux sujets VIH-2 et aux donneurs sains.

En conclusion de ces travaux, nous avons pu confirmer notre hypothèse que les faibles réservoirs du VIH-2 se distinguent des réservoirs du VIH-1 par l'absence d'infection monocytaire et une infection limitée des TCM associée à une expression plus faible d'un éventuel autre corécepteur du VIH-2, le CXCR6. L'expression défectueuse du récepteur NKp30 des cellules NK peut être induite par l'engagement chronique de ce récepteur par B7-H6 exprimé sur des cellules cibles infectées par le VIH-2, et influencer les mécanismes de contrôle de l'infection VIH-2 induit par les cellules NK.

Ces résultats jettent un nouvel éclairage sur la faible pathogénicité de l'infection par le VIH-2, suggérant des mécanismes proches de ceux rapportés dans d'autres modèles d'infection atténuée par le VIH/SIV.

Mots clés : [VIH-2, VIH-1, Lymphocytes T CD4, Réservoirs, Inductibilité, corécepteurs, facteurs de transcription, cellules NK, NKp30]

[Immunological characterization of HIV-2 and HIV-1 human immunodeficiency virus reservoirs in immunocompetent cells and study of innate and intrinsic immunity parameters.]

Abstract :

HIV-2 and HIV-1 differ by their pathogenicity. In order to better understand the still poorly known mechanisms of the low pathogenicity and replication potential of HIV-2, we have investigated characteristics of the HIV-2 reservoirs and of some parameters of the intrinsic and innate immunity in untreated individuals with a non progressive HIV-2 infection from the french cohort ANRS CO-05.

In a first study we have investigated whether the HIV-2 peripheral blood reservoirs could follow the particular distribution known in the already well-studied attenuated HIV-1/SIV infection models, in which infection remains predominantly limited in CD4 central memory T lymphocytes (TCM). HIV-2 infected and ARV naïve subjects from the ANRS-CO5 cohort (14 subjects) were included prospectively and compared to those of healthy EFS donors and healthy donors of West African origin. During this first work the cells were sorted and seven sub-populations were harvested : Monocytes, activated CD4 TCD4, CD4 resting T (TN, TCM, TTM, TEM). The CD8- cells were cultured for 30 days to test viral production. Viral DNA was quantified in sub-population sorted by PCR. Membrane expression of co-receptors and restriction factors were analyzed first by transcriptomic study in 96-gene multiplex and secondly by flow cytometry. Results show that HIV-2 DNA was undetectable in the monocytes of all individuals and quantifiable in 4 individuals only, in the TTM (median : 2.25 log₁₀ copies/10⁶), but in the TCM of only one individual (1.75 log₁₀ copies/10⁶ cells). The HIV-2 DNA levels in PBMC positively correlated with those in the TTM (R = 0.66, p = 0.01). Viral inducibility was observed in cells from only 3 HIV-2 infected individuals. Co-receptor expression analysis showed that CCR5 was similar in HIV-2⁺ subpopulations compared to healthy donors. The transcriptional study showed that the expression of the CXCR6 gene was lower in TCM compared to TTM (p = 0.002), confirmed by cytometric analysis, and a higher expression of the restriction factor TRIM5 in TCM compared to TTM (p = 0.004) which was not confirmed by flow cytometry.

In the second work : the NK cell phenotype and the different markers were analysed by flow cytometry in peripheral blood cells from 24 HIV-2 infected non progressors subjects from the same ANRS Co5 cohort. We found a very significant decrease in the expression of the

activating receptor NKp30 ($P < 0.0001$) on NK cells, that was much greater than that observed in HIV-1+ patients. This decrease in NKp30 expression correlated negatively with HLA-DR ($r : 0.5970$; $P : 0.0002$), and positively with NKG2A ($r : 0.5324$; $P < 0.0001$). The low expression of NKp30 was associated with an increased production of IFN-g ($P < 0.0001$) and altered cytolytic function especially in the presence of target cells expressing the B7-H6 surface ligand.

The third work analyzed the expression of HIV-1 and HIV-2 co-receptors and transcription factors in HIV-1 infected long-term non progressors (LTNP) from the ANRS CO15 cohort, to those of the 14 subjects infected with HIV-2 of our first study, compared to healthy donors. We found that the PD1 expression was higher in CD4 T cells from HIV-1LTNP subjects compared to healthy donors, though not correlated to the HIV-1 plasma load. The co-receptors and transcription factors expression were in the same proportions in HIV-1LTNP compared to HIV-2 and healthy donors.

In summary, the weak HIV-2 reservoirs are distinct from the HIV-1 reservoirs by the absence of monocytic infection and a limited TCM infection associated with lower expression of another potential HIV-2 co-receptor, CXCR6, and therefore share the characteristics of other models of attenuated HIV/SIV infection. The defective expression of NK p30 may be induced by chronic engagement of this receptor by B7-H6 expressed on HIV-2 infected target cells.

These results shed new light on the low pathogenicity of HIV-2 infection, suggesting mechanisms close to those reported in other models of attenuated HIV/AIDS infection.

Keywords : [HIV-2, HIV-1, CD4 T cells, reservoirs, inducibility, coreceptor, transcription factor, NK T cells, NK T cells, NKp30]