



**HAL**  
open science

# **Caractérisation des lymphocytes effecteurs CX3CR1+ et de leur recrutement intestinal au cours de l'infection VIH-1 sous traitement antirétroviral**

Nived Collercandy

## **► To cite this version:**

Nived Collercandy. Caractérisation des lymphocytes effecteurs CX3CR1+ et de leur recrutement intestinal au cours de l'infection VIH-1 sous traitement antirétroviral. Médecine humaine et pathologie. Université de Toulouse, 2025. Français. ⟨NNT : 2025TLSES127⟩. ⟨tel-05419204⟩

**HAL Id: tel-05419204**

**<https://theses.hal.science/tel-05419204v1>**

Submitted on 16 Dec 2025

**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.



HAL Authorization

# Doctorat de l'Université de Toulouse

---

Caractérisation des lymphocytes effecteurs CX3CR1+ et de leur recrutement intestinal au cours de l'infection VIH-1 sous traitement antirétroviral

---

Thèse présentée et soutenue, le 26 septembre 2025 par  
**Nived COLLERCANDY**

**École doctorale**

BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies

**Spécialité**

Immunologie

**Unité de recherche**

INFINITY - Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires

**Thèse dirigée par**

Pierre DELOBEL

**Composition du jury**

M. Victor APPAY, Président, INSERM Nouvelle-Aquitaine

Mme Elisabeth MENU, Rapporteur, INSERM Paris Île-de-France Sud

Mme Julie DECHANET-MERVILLE, Rapporteur, CNRS Aquitaine

M. Nicolas NOEL, Rapporteur, Université Paris-Saclay

M. Pierre DELOBEL, Directeur de thèse, Université de Toulouse

# RESUME

## Caractérisation des lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> et de leur recrutement intestinal au cours de l'infection VIH-1 sous traitement antirétroviral

L'intestin est le siège d'un réservoir viral majeur au cours de l'infection par le VIH-1, qui constitue un obstacle à l'obtention d'une rémission de l'infection. Ce réservoir est associé à un défaut de restauration de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> intestinaux, à une dysfonction de la barrière immunitaire intestinale, avec une augmentation des translocations microbiennes et une inflammation locale et systémique persistante, malgré un traitement antirétroviral efficace suivi de façon prolongée.

La réponse immunitaire cellulaire effectrice joue un rôle crucial dans le contrôle de l'infection. Il a notamment pu être observé une perte des lymphocytes résidents mémoires (T<sub>RM</sub>) intestinaux et une augmentation de cellules ayant des marqueurs de tropisme pour l'intestin dans la circulation. L'axe de chimiotactisme CX3CR1-CX3CL1 semble être une voie majeure dans le recrutement de cellules effectrices tissulaires mais semble impacté par l'infection chronique par le VIH-1 même sous traitement, avec une augmentation des cellules circulantes CX3CR1<sup>+</sup> et une augmentation de la fraction soluble de CX3CL1 dans le plasma. Dans ce travail, nous avons cherché à caractériser les cellules effectrices exprimant CX3CR1 dans le compartiment sanguin et intestinal, à étudier les facteurs environnementaux pouvant moduler cet axe de chimiotactisme et à évaluer l'impact de la modulation de cet axe sur le réservoir intestinal dans une cohorte de personnes vivant avec le VIH-1 (PvVIH) sous traitement antirétroviral au long cours.

Dans un premier travail portant sur les lymphocytes  $\gamma\delta$  V $\delta$ <sub>1</sub> dont la fréquence est augmentée dans le sang des PvVIH, nous avons pu mettre en évidence que cette expansion de lymphocytes V $\delta$ <sub>1</sub> se faisait de façon clonale parmi une population particulièrement cytotoxique et exprimant CX3CR1 avec notamment un profil de cellules recirculantes intestinales. Ces lymphocytes V $\delta$ <sub>1</sub> CX3CR1<sup>+</sup> cytotoxiques étaient corrélés à une moindre fréquence de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> avec une transcription résiduelle d'ARN VIH-1 dans le compartiment sanguin ou intestinal. Nous avons également pu montrer que la réplication résiduelle du cytomegalovirus (CMV) au cours de l'infection par le VIH-1 participait de façon majeure à l'expansion des populations de lymphocytes T CD8 et V $\delta$ <sub>1</sub> exprimant CX3CR1, mais que cet effet était en inter-relation avec les altérations du microbiote intestinal et transloqué.

Dans un second travail, nous avons montré que les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> étaient augmentés en fréquence à la fois dans le sang et dans l'intestin. Cependant, dans le colon cette augmentation concernait des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> non-résidents mémoires (T<sub>RM</sub>) au détriment d'une perte des T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup>. Les T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> avaient un profil de cytotoxicité et de production de cytokines pro-inflammatoire élevé et présentaient moins d'expression de marqueurs d'épuisement lymphocytaire que les non-T<sub>RM</sub>. Les T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup>, notamment la population CD39<sup>+</sup>, étaient associés à un réservoir ADN VIH-1 plus faible dans le colon. La perte des T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> au profit de non-T<sub>RM</sub>, moins fonctionnelles, pourrait donc contribuer à la persistance du VIH-1. L'augmentation des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> sanguins était corrélée à l'index sérologique IgG du CMV. Ex-vivo, le VIH-1 et le CMV pouvaient induire l'expression des métalloprotéases ADAM10 et ADAM17 sur les cellules épithéliales intestinales, dont nous faisons l'hypothèse qu'elles pourraient participer au clivage épithélial de CX3CL1 et à un défaut de recrutement des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup>.

### Mots clés

VIH-1, CX3CR1, CX3CL1, Fractalkine, lymphocytes effecteurs, intestin, microenvironnement, lymphocytes T résidents mémoires (T<sub>RM</sub>), lymphocytes V $\delta$ <sub>1</sub>

# SUMMARY

## Phenotype, functional properties, and gut recruitment of CX3CR1<sup>+</sup> effector lymphocytes in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy

The gut is a major site of viral reservoir persistence during HIV-1 infection, which stands as an obstacle toward the reach of HIV remission. This reservoir is associated with an incomplete restoration of T CD4<sup>+</sup> lymphocytes locally, a gut-barrier dysfunction, and an increase of bacterial translocation and local inflammation, despite effective prolonged antiretroviral therapy.

Effector cellular immune response is crucial for infection control. HIV-1 induces a loss of intestinal resident memory lymphocytes and an increase in blood cells with a gut-tropic recirculating profile. CX3CR1-CX3CL1 axis may be a key to the recruitment of tissular effector cells but seem to be impacted by the chronic HIV-1 infection, even under ART, with an increase of circulating CX3CR1<sup>+</sup> cells and an increase in soluble CX3CL1 in the plasma. Here, we aimed to characterize the effector CX3CR1<sup>+</sup> cells in both the blood and the gut, search for environmental factors that could modulate this chemotactic axis and assess the impact of this axis modulation in the gut viral reservoir in a cohort of people living with HIV (PLWH) under long term ART.

In a first work on  $\gamma\delta$  V $\delta$ <sub>1</sub> T cells, which frequencies were increased in the blood of PLWH, we highlighted the clonal expansion of a highly cytotoxic effector population of V $\delta$ <sub>1</sub> expressing CX3CR1 with a recirculating cell-like phenotype. This population correlated with HIV-1 infection reduction in the associated blood or duodenal compartment. We showed that cytomegalovirus (CMV) residual replication during HIV-1 infection was a major trigger for CX3CR1<sup>+</sup> CD8 and V $\delta$ <sub>1</sub> T cells expansion, but this effect was in an interplay of tissular microbiome changes that were also associated with CMV.

In a second work, we showed that CX3CR1<sup>+</sup> CD8 T cells were increased in frequency in both the blood and the gut. However, in the colon this increase was associated with a loss of resident memory CX3CR1<sup>+</sup> CD8 T cells with higher effector functions. This population was associated with lower viral reservoir, especially for with the fraction expressing CD39. CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> T<sub>RM</sub> expressed less exhaustion markers than non-T<sub>RM</sub>. The increase of CX3CR1<sup>+</sup> CD8 T cells in the blood was correlated with CMV IgG index. Ex vivo, HIV-1 and CMV could induce the expression of ADAM10 and ADAM17 metalloproteinases on intestinal epithelial cells. We hypothesize that those metalloproteinases could participate to epithelial cleavage of CX3CL1 and CX3CR1<sup>+</sup> CD8 T cells recirculation.

### Key words

HIV-1, CX3CR1, CX3CL1, Fractalkin, effector lymphocytes, gut, microenvironment, resident memory T lymphocytes (T<sub>RM</sub>), V $\delta$ <sub>1</sub> lymphocytes

# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>10</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS DE L'INTRODUCTION .....</b>	<b>16</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>18</b>
<b>I. L'INFECTION PAR LE VIH-1 .....</b>	<b>19</b>
<b>A. DECOUVERTE DU VIRUS.....</b>	<b>19</b>
<b>B. ORIGINE VIRALE.....</b>	<b>19</b>
<b>C. EPIDEMIOLOGIE .....</b>	<b>20</b>
<b>D. CARACTERISATION VIRALE .....</b>	<b>22</b>
<b>E. GROUPES DE VIH-1 ET QUASI-ESPECES VIRALE .....</b>	<b>24</b>
<b>F. CYCLE VIRAL DU VIH-1 .....</b>	<b>25</b>
1. ENTREE DU VIRUS .....	25
2. DECAPSIDATION ET RETROTRANSCRIPTION.....	27
3. INTEGRATION, TRANSCRIPTION ET TRADUCTION .....	28
4. ENCAPSIDATION ET BOURGEONNEMENT .....	28
5. FACTEURS DE RESTRICTION DE L'HOTE .....	28
<b>G. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION .....</b>	<b>30</b>
1. TRANSMISSION DU VIH-1 .....	30
2. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH-1 .....	30
<b>H. TRAITEMENTS .....</b>	<b>33</b>
1. LES PRINCIPALES CLASSES D'ANTIRETROVIRAUX.....	33
2. EVOLUTION SOUS ANTIRETROVIRAUX .....	37
<b>II. LE RESERVOIR VIRAL DU VIH-1 .....</b>	<b>39</b>
<b>A. CONSTITUTION DES RESERVOIRS VIRAUX .....</b>	<b>39</b>
<b>B. RESERVOIRS ANATOMIQUES .....</b>	<b>42</b>
1. SANCTUAIRES PHARMACOLOGIQUES .....	43
2. SANCTUAIRES IMMUNOLOGIQUES .....	44
<b>C. RESERVOIRS CELLULAIRES .....</b>	<b>45</b>
1. LYMPHOCYTES T CD4+ .....	45
2. MONOCYTES/MACROPHAGES .....	47
3. CELLULES DENDRITIQUES .....	48
4. AUTRES TYPES CELLULAIRES .....	48
<b>D. RESERVOIRS MOLECULAIRES .....</b>	<b>49</b>
1. GENOME VIRAL INTEGRE ET NON INTEGRE .....	50

2.	VIRUS DEFECTIFS.....	50
3.	DYNAMIQUES DE L'EVOLUTION DU RESERVOIR DU VIH-1 .....	52
<b>E.</b>	<b>PERSISTANCE DU RESERVOIR VIRAL .....</b>	<b>52</b>
1.	LATENCE VIRALE .....	53
2.	SURVIE ET PROLIFERATION CELLULAIRE .....	55
3.	REPLICATION VIRALE RESIDUELLE .....	57
<b>III.</b>	<b>CELLULES EFFECTRICES, REPONSE IMMUNITAIRE ET INFLAMMATION AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1 .....</b>	<b>58</b>
<b>A.</b>	<b>REPONSE IMMUNITAIRE CELLULAIRE EFFECTRICE .....</b>	<b>58</b>
1.	LYMPHOCYTES AB, CD8 <sup>+</sup> ET CD4 <sup>+</sup> .....	59
2.	LYMPHOCYTES $\gamma\delta$ .....	63
3.	CELLULES NATURAL-KILLERS .....	68
4.	NKT .....	70
5.	MAIT .....	70
<b>B.</b>	<b>AUTRES CELLULES DE LA REPONSE IMMUNITAIRE CELLULAIRE.....</b>	<b>71</b>
<b>C.</b>	<b>REPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE.....</b>	<b>74</b>
<b>D.</b>	<b>INFLAMMATION SYSTEMIQUE ET TISSULAIRE .....</b>	<b>75</b>
<b>E.</b>	<b>ACTIVATION ET EPUISEMENT LYMPHOCYTAIRE.....</b>	<b>77</b>
<b>F.</b>	<b>ROLE DE LA CO-INFECTION PAR LE CMV SUR LA REPONSE IMMUNITAIRE .....</b>	<b>80</b>
<b>IV.</b>	<b>LE COMPARTIMENT INTESTINAL AU COURS DE L'INFECTION VIH-1 ...</b>	<b>82</b>
<b>A.</b>	<b>ORGANISATION ANATOMIQUE, HISTOLOGIQUE ET FONCTIONNELLE .....</b>	<b>82</b>
1.	SITES INDUCTEURS .....	83
2.	DE L'INDUCTION A LA REPONSE EFFECTRICE .....	84
3.	LES SITES EFFECTEURS.....	85
<b>B.</b>	<b>INFECTION CHRONIQUE PAR LE VIH-1 DANS LE COMPARTIMENT INTESTINAL .....</b>	<b>88</b>
1.	PERSISTANCE DU VIRUS AU NIVEAU INTESTINAL .....	88
2.	IMPACT DU VIH-1 SUR LES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES T CD4 <sup>+</sup> DU COMPARTIMENT INTESTINAL .....	90
3.	RUPTURE DE L'INTEGRITE DE LA BARRIERE MUQUEUSE ET DYSBIOSE INTESTINALE AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1.....	91
<b>V.</b>	<b>AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CR1-CX3CL1 .....</b>	<b>95</b>
<b>A.</b>	<b>LES CHIMIOKINES A MOTIF CX<sub>3</sub>C .....</b>	<b>95</b>
<b>B.</b>	<b>PROTEINE CX3CL1 ET CELLULES EXPRIMANT CX3CL1 .....</b>	<b>95</b>
1.	STRUCTURE PROTEIQUE.....	95
2.	CELLULES ENDOTHELIALES ET EXPRESSION DE CX3CL1 .....	96

3.	CELLULES EPITHELIALES ET EXPRESSION DE CX3CL1 .....	98
4.	AUTRES CELLULES EXPRIMANT CX3CL1 .....	101
5.	PROPRIETES DE LA FORME SOLUBLE DE CX3CL1 .....	102
6.	REGULATION DE L'EXPRESSION DE CX3CL1 .....	103
7.	CLIVAGE DE CX3CL1, EXPRESSION DES METALLOPROTEASES ASSOCIEES .....	104
<b>C.</b>	<b>PROTEINE CX3CR1 ET CELLULES EXPRIMANT CX3CR1 .....</b>	<b>106</b>
1.	STRUCTURE PROTEIQUE ET SIGNALISATION .....	106
2.	CELLULES EFFECTRICES EXPRIMANT CX3CR1 .....	107
3.	CELLULES MYELOÏDES EXPRIMANT CX3CR1 .....	112
4.	AUTRES CELLULES EXPRIMANT CX3CR1 .....	112
<b>D.</b>	<b>MODULATION DE L'AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CR1-CX3CL1 .....</b>	<b>113</b>
<b>E.</b>	<b>AXE CX3CR1-CX3CL1 AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1 .....</b>	<b>114</b>
	<b>OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE .....</b>	<b>115</b>
	<b>RESULTATS .....</b>	<b>119</b>
	<b>INDIVIDUS INCLUS DANS L'ETUDE ANRS EP61 GALT .....</b>	<b>120</b>
<b>A.</b>	<b>RATIONNEL .....</b>	<b>120</b>
<b>B.</b>	<b>CRITERES D'INCLUSION .....</b>	<b>121</b>
<b>C.</b>	<b>CARACTERISTIQUES CLINIQUES DES TEMOINS NON INFECTES ET DES INDIVIDUS INFECTES .....</b>	<b>122</b>
<b>D.</b>	<b>PRELEVEMENTS .....</b>	<b>123</b>
1.	ECHANTILLONS SANGUINS .....	123
2.	ECHANTILLONS INTESTINAUX .....	123
	<b>RESULTATS I. L'AUGMENTATION DES LYMPHOCYTES T <math>VA_1</math> CIRCULANTS CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH-1 EST DUE A L'EXPANSION CLONALE DE CELLULES EFFECTRICES MEMOIRES CYTOTOXIQUES CX3CR1+ DANS UNE INTER-RELATION ENTRE LE CMV, LE MICROBIOTE, ET LA PERSISTANCE DU VIH-1 SOUS TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL. ....</b>	<b>125</b>
	<b>RESULTATS II. LA DEPLETION EN LYMPHOCYTES T CD8 RESIDENTS MEMOIRE EFFECTEURS CX3CR1+ EST ASSOCIEE AU RESERVOIR VIRAL DU VIH-1 DANS LE COLON SOUS TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL. ....</b>	<b>207</b>
<b>A.</b>	<b>OBJECTIFS .....</b>	<b>207</b>
<b>A.</b>	<b>METHODES .....</b>	<b>209</b>
<b>B.</b>	<b>RESULTATS .....</b>	<b>212</b>
<b>C.</b>	<b>PERSPECTIVES – RESULTATS PRELIMINAIRES .....</b>	<b>227</b>

D. DISCUSSION .....	237
ANNEXES .....	242
<b>LISTE DES AUTRES PUBLICATIONS REALISEES SUR LA PERIODE 2022-2025 CONCERNANT L'ETUDE EP61 GALT .....</b>	<b>250</b>
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>251</b>
<b>CONCLUSION &amp; PERSPECTIVES .....</b>	<b>260</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>264</b>

## REMERCIEMENTS

Aux membres du jury :

### **Monsieur le Docteur Victor Appay**

Je vous remercie d'avoir accepté d'être examinateur dans mon jury de thèse. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.

### **Madame la Docteur Julie Déchanet-Merville, Madame la Docteur Elisabeth Menu, Monsieur le Professeur Nicolas Noël**

Merci d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail de thèse et de m'avoir fait bénéficier de vos expertises respectives. Vos retours et vos conseils pour améliorer le manuscrit ont été un apport précieux.

### **Monsieur le Professeur Pierre Delobel**

Pierre, merci infiniment pour ton enseignement et ton accompagnement bienveillant toutes ces dernières années, depuis les bancs de la fac, puis lorsque j'étais en stage comme externe dans ton service, tu as contribué à me donner goût à l'infectiologie ; et plus tard en m'accueillant en M2 puis en thèse, tu m'as partagé ta passion pour la recherche sur le VIH. J'ai appris énormément à tes côtés durant ces dernières années, et j'espère prendre exemple sur ton parcours pour la suite de ma carrière. Cela a été un plaisir global de t'avoir pour directeur de thèse.

Au Pr Jacques Izopet, je tenais à vous exprimer ma gratitude pour votre accueil bienveillant, vos conseils et votre enthousiasme au sein de votre équipe de recherche durant mon master 2 puis ma thèse.

Au Dr Bernard Lagane, je tiens également à te remercier pour ton accueil toutes ces années dans l'équipe 8, et tes nombreux conseils.

A Mary, les remerciements sont incontournables pour tout ce que tu m'as appris pendant toutes ces années, du pipetage aux analyses de cytométrie, tu as été ma guide au laboratoire pour découvrir la recherche, et une référence pour m'aider au quotidien. Je vais être un peu perdu sans toi ! Je sais que tu n'es pas loin et j'espère avoir l'occasion de passer faire des tris cellulaires ou des standardisations en cyto de temps en temps. Et pour que cela soit clairement dit, non tu n'es pas relou et non tu ne rales pas autant que tu le penses ! Tu as été plus qu'une collègue et j'ai vraiment adoré travailler avec toi, je te souhaite le meilleur pour ton nouveau poste bien mérité.

A Camille, ma binôme de la team de Pierre, de voisine de bureau à véritable amie ça a été un plaisir de travailler avec toi et ça ne va pas s'arrêter pour j'espère encore pleins de beaux projets et de nouveaux congrès ensemble dans le futur ! Merci d'avoir été là pour m'écouter râler (même si ce n'était qu'un retour d'ascenseur après ta propre rédaction thèse ;) ). Comme promis je verse ma petite larme en écrivant ces mots, si si.

A Claire et Olivia, mes autres co-thésardes depuis le début, ça a été un plaisir de partager toutes ces années au labo avec vous, de se soutenir dans nos galères de manips, et de partager un grand nombre de resto Toulousains sur ces années, hâte des prochains !

A Marie-π, la fée du P3, merci pour ta bonne humeur constante qui aide à venir à bout des longues manips, et merci du fond du cœur pour l'infinité de services que tu m'as rendu toutes ces années (même si j'ai dû te payer en gâteaux).

A Melissa, je te passe maintenant le relai ! Je suis très fier d'avoir vu la petite graine grandir et évoluer, et je ne doute pas continuer à voir ta croissance jusqu'au rang de vénérable chêne. Tu seras entre de bonnes mains pour ta thèse ! On aura l'occasion de continuer à travailler ensemble dans une ambiance comme tu le sais ô combien toujours *bienveillante* et dans le *respect mutuel*. Je n'ai pas rangé le fouet très loin ne t'en fais pas.

Un grand merci à toute l'équipe 8 d'Infinity et du laboratoire de virologie du CHU de Toulouse, Marion, Sebastien, Stephanie, Florence, Sabine, Pauline, Jean-Michel, Christophe, Karine, Flore, Isabelle, Emma<sup>2</sup>, Venicia, Mélanie, Noémie, Romain, Marielle, Agnès, Marion,

Christophe, Pauline, Justine, Sofia, Laurence, Marie, Chloé, Valentin, Hanane et tous les autres, pour votre accueil et votre gentillesse. Bon courage en particulier à Dorine, Théo et Nicolas pour la fin de vos thèses !

Merci également à tous nos collaborateurs, au sein d'Infinity et ailleurs, en particulier à Anne-Laure, Hugo, Valérie et Fatima du plateau de cytométrie que j'ai hanté pendant une grande partie de cette thèse. Ça a été un vrai plaisir de travailler avec vous tous.

A tous mes collègues du SMIT, Marie, Xavier, Lucas, Muriel, Marine, Camille, Lucie, Alexa, Romain, Adrien, Guillaume, Sophie, Rebecca, Géraldine, Olivia, Aurélie, JR et tous les autres que j'ai pu y côtoyer, vous êtes une équipe en or et je suis ravi de pouvoir passer un peu plus de temps avec vous tous très bientôt ! Même si vous ne compreniez pas toujours ma passion pour les lymphocytes, merci de votre soutien sans faille.

A mes amis, tout simplement géniaux et que je ne remercierai jamais assez d'être là quand j'ai besoin depuis de très longues années, malgré vos regards dubitatifs quand j'ai annoncé que j'ajoutais 3 ans de thèse à ces 12 années de médecine. Je vous admire tous pour les personnes extraordinaires que vous êtes, et c'est toujours un plaisir de voir vos familles s'agrandir et vous voir évoluer. Je ne vais pas réitérer les 5 pages de remerciements de ma thèse de médecine mais comme vous ne l'avez probablement pas vu vous êtes invités à passer quand vous voulez me rendre visite pour lire vos mots personnalisés !

Je ferai une exception pour ceux que je ne connaissais pas encore à l'époque. A Benjamin, pour les points de karma que tu as perdu, nos longues conversations, de grands fous rires (parfois), et nos randonnées de zexpert avec de bons repas à la fin. A Emilien pour ton sens de l'humour à toute épreuve. A Pierre pour les crêpes réconfortantes. A Guillaume pour notre passion RÉJIF.

A Vincent, merci pour tout. Et surtout merci pour ton soutien cette dernière année qui aura énormément comptée.

A mes parents, mon frère et ma famille, merci pour tout ce que vous avez fait pour moi depuis toujours, et ça y est au bout de 33 ans je termine enfin mes études ! Je sais que vous vous êtes demandés si ce jour allait vraiment arriver. Merci de m'avoir soutenu patiemment.

A Agathe et Paul, je suis fier de vous voir grandir et j'ai hâte de vous voir vous épanouir dans ce que vous entreprendrez. Je vous passe le flambeau ! (mais vous n'êtes vraiment pas obligé de faire deux thèses).

« On ne fait jamais attention à ce qui a été fait ; on ne voit que ce qui reste à faire. » - Marie Curie

*Me voilà*

*là où le bleu de la mer*

*est sans limite*

Santōka

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

### A

ABC : Abacavir

ADAM : ADisintegrin And Metalloproteinase

ADCC : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps

ADN : Acide desoxyribonucleique

AGM : African green monkey, singe vert d'Afrique

Akt : Protéine kinase B

AMP : Anti-microbial peptide

ANRS : Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les hépatites virales

Apo-B : Apolipoprotéine B

ARN : Acide ribonucléique

ART : Antiretroviral therapy, thérapie antirétrovirale

ARV : Antirétroviraux

ATI : interruption analytique de traitement ARV

A(T/D/M)P : Adénosine tri/di/mono-phosphate

ATV/r : Atazanavir boosté au ritonavir

AZT : Zidovudine

### B

BP : Binding protéine

### C

CC/CXC/CX3C-L-(X) : CC/CXC/CX3C ligand (X)

CC/CXC/CX3C-R-(X) : CC/CXC/CX3C récepteur (X)

CD(X) : Cluster of differentiation (X)

CDC : Center for Disease Control and Prevention

CFSE : Carboxyfluorescein succinimidyl ester

CITEseq : Cellular Indexing of Transcriptomes and Epitopes sequencing

CMV : Cytomégalovirus

CPA : cellule présentatrice d'antigènes

CRF : Circulating recombinant form

CTL : Cytotoxic T lymphocyte

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

## **D**

DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole

DC: Dendritic cell

ddPCR : digital droplet PCR

DRV/r : Darunavir/ritonavir

DTG : Dolutegravir

DSS : Dextran Sulfate Sodium

DTT: Dithiothreitol

## **E**

EBV : Epstein Barr virus

EGF : Epidermal Growth Factor

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

eNOS : endothelial nitric-oxide synthase

Env : Enveloppe

EPCAM: Epithelial Cell Adhesion Molecule

EPCR : endothelial protein C receptor

ETR : Etravirine

## **F**

FR : facteur de restriction

FTC : emtricitabine

## **G**

GALT : Gut-associated lymphoid tissue, tissue lymphoide associe a l' intestin

GITR : glucocorticoid-induced TNFR-related protein

gp: Glycoprotéine

## **H**

HIV : Human Immunodeficiency Virus

HLA : Human leukocyte antigen

HMG-CoA : Hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A

## I

ICAM-1 : Inter-Cellular Adhesion Molecule 1  
IC : Inhibiteurs de capsidie  
IDO : Indoleamine 2,3-dioxygenase 1  
IEL : Intra-epithelial lymphocytes  
IF : Inhibiteur de fusion  
IFITM : Interferon inductible trans-membrane  
IFN : Interferon  
Ig : Immunoglobuline  
IL : Interleukine  
ILC : Innate lymphoid cell, cellule lymphoide innee  
INNTI : Inhibiteur non nucleosidique de la transcriptase inverse  
INTI : Inhibiteur nucleosidique de la transcriptase inverse  
IP : Inhibiteur de protease  
IP/r : Inhibiteur de protease booste au ritonavir  
IPDA : Intact proviral DNA assay

## K

KLGR1 : Killer cell lectin-like receptor subfamily G member 1  
KO : Knockout  
Kyn : Kynurenine

## L

LAG-3 : Lymphocyte activation gene-3  
LC: Cellule de Langerhans  
LDL : Low-Density Lipoprotein  
LEN : Lenacapavir  
LFA-1 : Lymphocyte function-associated antigen 1  
LHVS : morpholinurea-leucine-homophenylalanine-vinyl sulfone-phenyl  
LPS : Lipopolysaccharide  
LT : Lymphocyte T  
LTNP : non progresseurs à long terme  
LTR : Long terminal repeats

## **M**

MAdCAM-1 : Mucosal addressin cell adhesion molecule-1  
MAIT : Mucosal-associated invariant T cells  
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinases  
mDC : cellule dendritique myeloide  
MDM : Monocyte derived macrophage, monocytes derives de macrophages  
MIP-1 $\beta$  : Macrophage Inflammatory Protein-1 $\beta$   
MLN : Mesenteric lymph node, ganglion mesenterique  
MR1 : MHC class I-related protein 1  
mTOR : mechanistic target of rapamycin, cible mecanistique de la rapamycine

## **N**

NFAT : Nuclear factor of activated T-cells, facteur nucleaire des lymphocytes T actives  
NF $\kappa$ B : nuclear factor-kappa B, facteur nucleaire kappa-B  
NGS : Sequencage de nouvelle generation  
NK : Natural Killer  
NKRM : tissue-resident memory-like natural killer  
NKT : lymphocytes T invariants NK

## **O**

OMS : organisation mondiale de la Sante

## **P**

pb : paire(s) de bases  
PBMC : Peripheral blood mononuclear cell  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PD-1 : Programmed cell death-1  
pDC : cellule dendritique plasmacytoide  
PI3K : phosphoinositide 3-kinases  
PLZF : Promyelocytic leukemia zinc finger  
PMA : phorbol 12-myristate 13-acetate  
PrEP : Prophylaxie pré-exposition  
PVVIH : Personnes vivants avec le VIH

## **Q**

QVOA : Quantitative viral outgrowth assay

## **R**

RT-PCR : retro transcription polymerase chain reaction

## **S**

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise

SIV : Simian immunodeficiency virus

S1P : Sphingosine-1-phosphate

Src : Sarcoma

STR : Single treatment regimen

## **T**

TAF : Tenofovir alafenamide

TACE : TNF- $\alpha$  Converting Enzyme

T-bet : T-box expressed in T cells

TCF-1 : T cell factor 1

TCM : Central memory T cell

TCR : T Cell Receptor

TDF : Tenofovir disoproxil fumarate

TEM: Effector memory T cell

TEMRA : Effector memory T cell expressing CD45RA

T<sub>FH</sub>: Follicular helper T cell

TGF- $\beta$  : Tumor Growth Factor- $\beta$

T<sub>H</sub> : T helper

TIGIT : T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains

TIL : Tumor infiltrating lymphocyte

TIM-3 : T cell immunoglobulin and mucin domain 3

TLR : Toll like receptor, recepteur Toll

TN: Naive T cell

TNF- $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

TNT : nanotubes tunnels

T<sub>reg</sub> : Cellule T régulatrice

T<sub>RM</sub> : lymphocyte T résident mémoire

TSCM: Stem cell memory T cell

TTM: Transitional memory T cell

## **U**

UFR : Formes recombinantes uniques

UNAIDS : ONUSIDA, Programme commun des Nations unies sur le VIH/sida

## **V**

VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule 1

VIH-1 : Virus de l'immunodéficience humaine-1

## **Z**

ZO-1 : Zonnula occludens-1

## TABLE DES ILLUSTRATIONS DE L'INTRODUCTION

FIGURE 1. ARBRE PHYLOGENETIQUE DU VIH-1 ET DU SIV ISSU DU CHIMPANZE (SIVCPZ) ET DU GORILLE (SIVGOR).....	20
FIGURE 2. PREVALENCE DU VIH-1 CHEZ LES ADULTES ET ENFANTS EN 2023.....	21
FIGURE 3. REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN VIRION DE VIH-1.....	22
FIGURE 4. STRUCTURE ET ORGANISATION DU GENOME DU VIH-1.....	23
FIGURE 5. CYCLE DE REPLICATION DU VIH-1.....	25
FIGURE 6. PROCESSUS IMPLIQUES DANS LA TRANSMISSION INTERCELLULAIRE DU VIH-1 DE CELLULE A CELLULE.....	27
FIGURE 7. MODELE DE L'INFECTION PAR LE VIH-1.....	31
FIGURE 8. MECANISMES D'ACTION DES ARV DISPONIBLES SUR LE MARCHE.....	36
FIGURE 9. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION PAR LE VIH-1 ET EVOLUTION SOUS TRAITEMENT ARV.....	37
FIGURE 10. DELAIS DE DISSEMINATION DU VIH-1 APRES INFECTION SANS TRAITEMENT.....	40
FIGURE 11. RESERVOIRS VIRAUX VIH-1: UN FREIN AU TRAITEMENT CURATIF.....	40
FIGURE 12. EXEMPLES DE RESERVOIRS TISSULAIRES DU VIH-1.....	43
FIGURE 13. EXEMPLES DE RESERVOIRS ANATOMIQUES ET CELLULAIRES DU VIH-1.....	44
FIGURE 14. DECROISSANCE DE LA CHARGE VIRALE PLASMATIQUE SOUS ARV.....	45
FIGURE 15. CONTRIBUTION DES SOUS-ENSEMBLES DE LYMPHOCYTES T CD4+ AU RESERVOIR VIH-1 SOUS ARV.....	46
FIGURE 16. FORMES DE RESERVOIRS VIRAUX INTRACELLULAIRES.....	49
FIGURE 17. SEQUENCES DE PROVIRUS DE PVVIH SOUS TRAITEMENT CHRONIQUE PAR ARV, PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT.....	51
FIGURE 18. MECANISMES DE PERSISTANCE DES PROVIRUS.....	55
FIGURE 19. FACTEURS POUVANT AFFECTER LA DUREE AVANT REBOND VIRAL.....	56
FIGURE 20. DIFFERENTIATION DES LT CD4 NAIVES EN SOUS-POPULATIONS EFFECTRICES.....	61
FIGURE 21. MARQUEURS PHENOTYPIQUES DES SOUS-POPULATIONS DE LT.....	62
FIGURE 22. DEVELOPPEMENT DES LYMPHOCYTES $\gamma\delta$ .....	63
FIGURE 23. MONOCYTES ET MACROPHAGES RETROUVES CHEZ LES INDIVIDUS INFECTES PAR LE VIH-1.....	73
FIGURE 24. MODELE DE LA PATHOGENICITE DU VIH-1.....	77
FIGURE 25. PHENOTYPE, PROFILS TRANSCRIPTIONNEL ET FONCTIONNEL DES CELLULES T PROGRESSANT VERS L'EPUISEMENT.....	80
FIGURE 26. ANATOMIE DU SYSTEME IMMUNITAIRE DIGESTIF.....	84
FIGURE 27. PROFILS DU MICROBIOTE INTESTINAL OBSERVES CHEZ LES INDIVIDUS VIVANT AVEC LE VIH-1 PAR RAPPORT AUX INDIVIDUS NON INFECTES.....	92
FIGURE 28. MANIFESTATIONS PATHOLOGIQUES OBSERVEES AU NIVEAU INTESTINAL AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1/SIV...	94
FIGURE 29. STRUCTURE SCHEMATIQUE DE LA PROTEINE CX3CL1.....	95
FIGURE 30. EFFET DE LA FRACTALKINE ET DE CX3CR1 SUR L'ATHEROSCLEROSE.....	97
FIGURE 31. FONCTIONS DE L'AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CL1/CX3CR1 DANS L'EPITHELIUM INTESTINAL.....	99
FIGURE 32. ROLES DE CX3CR1 ET CX3CL1 DANS LES MALADIES RENALES.....	100
FIGURE 33. REGULATION DU CLIVAGE DE CX3CL1.....	104
FIGURE 34. DOUBLE FONCTION DE L'AXE CX3CL1/CX3CR1 : CHIMIOTACTISME ET ADHESION CELLULAIRE.....	107
FIGURE 35. L'EXPRESSION GRADUEE DE CX3CR1 EST UN MARQUEUR DE DIFFERENTIATION DES LYMPHOCYTES T.....	109

FIGURE 36. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION DE L'ETUDE ANRS EP61 GALT. ....	122
FIGURE 37. TRAITEMENT DES BIOPSIES INTESTINALES. ....	124
FIGURE 38. MODELE PROPOSE DES POPULATIONS DE LT V $\Delta$ <sub>1</sub> SANGUINS ET DUODENAUX AU COURS DE L'INFECTION CHRONIQUE PAR LE VIH-1 SOUS ARV.....	253
FIGURE 39. MODELE PROPOSE DES POPULATIONS DE LYMPHOCYTES T CD8 CX3CR1 <sup>+</sup> DANS LE COMPARTIMENT COLIQUE AU COURS DE L'INFECTION CHRONIQUE PAR LE VIH-1 SOUS ARV. ....	254
FIGURE 40. HYPOTHESES RESTANT A EXPLORER SUR LA MODULATION DE L'AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CL1/CX3CR1 AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1. ....	259
FIGURE 41. INTERVENTIONS THERAPEUTIQUES HYPOTHETIQUES POUR LA MODULATION DE L'AXE CX3CR1/CX3CL1 AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1. ....	263

# INTRODUCTION

# I. L'INFECTION PAR LE VIH-1

## A. DECOUVERTE DU VIRUS

Le syndrome d'immunodéficience d'acquise (SIDA) a initialement été décrit en juin 1981 devant la présentation clinique de pneumopathies graves, à un germe inhabituel – *Pneumocystis carinii* – chez des jeunes homosexuels avec cinq cas groupés rapportés par le CDC (Center for Disease Control and Prevention) aux Etats-Unis. Deux ans plus tard, en 1983, l'équipe du Pr Barré-Sinoussi à l'institut Pasteur de Paris va confirmer l'implication d'un rétrovirus par mesure de l'activité enzymatique rétrovirale de la transcriptase inverse au niveau d'un prélèvement ganglionnaire d'un individu présentant ce syndrome (Barré-Sinoussi *et al.* 1983). La découverte de ce rétrovirus humain responsable du SIDA, d'abord appelé LAV (lymphadenopathy associated virus), rebaptisé par la suite **VIH-1** : virus de l'immunodéficience humaine de type 1 fut récompensée par un prix Nobel en 2008. Le VIH de type 2 (**VIH-2**) fut lui isolé pour la première fois en 1986 par le Pr Clavel à partir de 2 patients d'Afrique de l'Ouest atteint du SIDA (Clavel *et al.* 1986). Le premier médicament antirétroviral (ARV) disponible, l'AZT (Zidovudine), fut découvert en 1987, 6 ans après la première description du SIDA.

## B. ORIGINE VIRALE

Des analyses phylogénétiques ont permis de remonter les origines du VIH-1 à une transmission zoonotique à partir de virus simiens issus de chimpanzés (SIVcpz) et de gorilles (SIVgor) d'Afrique du Centre-Ouest vers l'humain au début du XX<sup>ème</sup> siècle (Gao *et al.* 1999; Van Heuverswyn *et al.* 2006) (Figure 1). Le VIH-2 proviendrait quant à lui de sooty mangabeys (SIVsm) d'Afrique de l'Ouest (Visseaux *et al.* 2016).

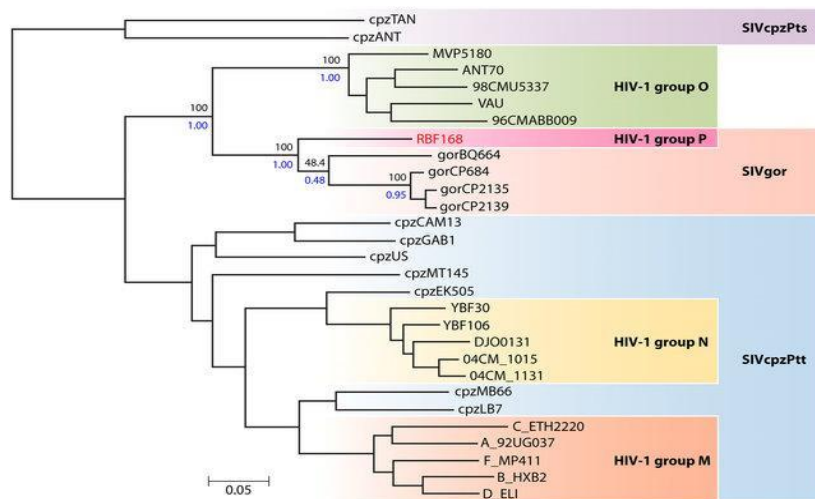


Figure 1. Arbre phylogénétique du VIH-1 et du SIV issu du chimpanzé (SIVcpz) et du gorille (SIVgor). (Mourez et al. 2013)

### C. EPIDEMIOLOGIE

Les dernières données épidémiologiques de 2023 permettent d'estimer à **39,9 millions** le nombre de personnes vivant avec le VIH-1 (**PVVIH**) dans monde, dont 77% (30.7 millions de personnes) recevraient un traitement antirétroviral (UNAIDS 2024). La majeure partie de cette population se situe en Afrique de l'est et Afrique Australe, avec 20,8 millions de personnes infectées, soit plus de la moitié de l'épidémie mondiale (Figure 2). Le nombre de nouvelles contaminations par le VIH-1 en 2023 a été estimé à **1,3 millions** de personnes et le nombre de décès attribuables au VIH-1 de 630 000 personnes infectées au cours de la même année. L'estimation de l'épidémie cachée, c'est-à-dire du nombre d'individus infectés mais non diagnostiqués est d'environ 14% des PVVIH, et 86% connaîtraient leur statut. En France, on a comptabilisé 5500 nouveaux diagnostics d'infection par le VIH-1 en 2023. On observe un changement du profil de l'épidémie, avec une diminution de 36% des nouvelles contaminations parmi les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) nés en France, et des nouvelles contamination touchant maintenant davantage des personnes hétérosexuelles, en particulier les femmes nées à l'étranger, ainsi que les HSH nés à l'étranger. L'ONUSIDA a fixé pour objectif « Fast-Track » d'ici 2030 une cible de 95-95-95 : 95% des personnes infectées connaissant leur statut, 95% de ces individus suivant un traitement antirétroviral, et 95% des personnes sous traitement avec une charge virale indétectable signant un contrôle de l'infection, qui n'est pas encore atteinte, en particulier au regard du premier pallier pour la France.

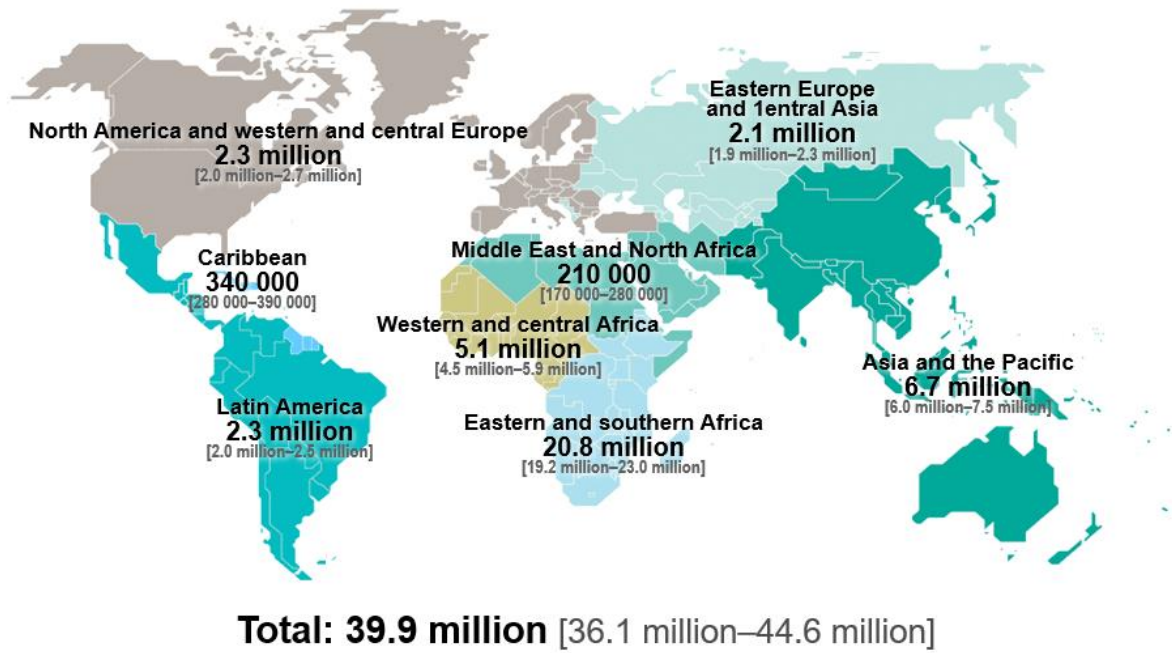


Figure 2. Prévalence du VIH-1 chez les adultes et enfants en 2023. (UNAIDS 2024)

## D. CARACTERISATION VIRALE

Le VIH-1 est un membre la famille des *Retroviridae*, de la sous-famille des *Orthoretrovirinae* et du genre des *Lentivirus*. Il s'agit d'un virus enveloppé mesurant 80 à 120nm de diamètre, composé de deux simples brins indépendants d'acide ribonucléique (ARN), tous deux de polarité positive, associés à des protéines de nucléocapside (Gag P7). Ce complexe est entouré d'une capside (Gag P24) qui va entourer ce complexe ribonucléoprotéique et des enzymes virales (transcriptase inverse, intégrase et protéase). Cette capside est entourée d'une matrice protéique (P17). L'enveloppe externe est constituée d'une double couche lipidique formée lors du bourgeonnement du virus à partir de la membrane cellulaire de la cellule infectée. Le virus va exprimer deux glycoprotéines d'enveloppe qui vont jouer un rôle majeur dans la reconnaissance et l'attachement du virus à sa cellule cible : la Gp120 (en surface) et la Gp41 (transmembranaire) (Figure 3). Celles-ci seront associées en trimères à la surface de l'enveloppe virale.

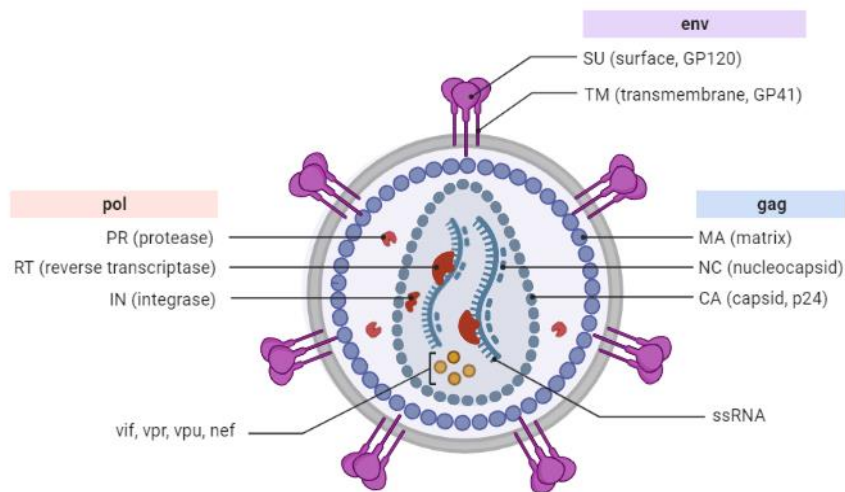
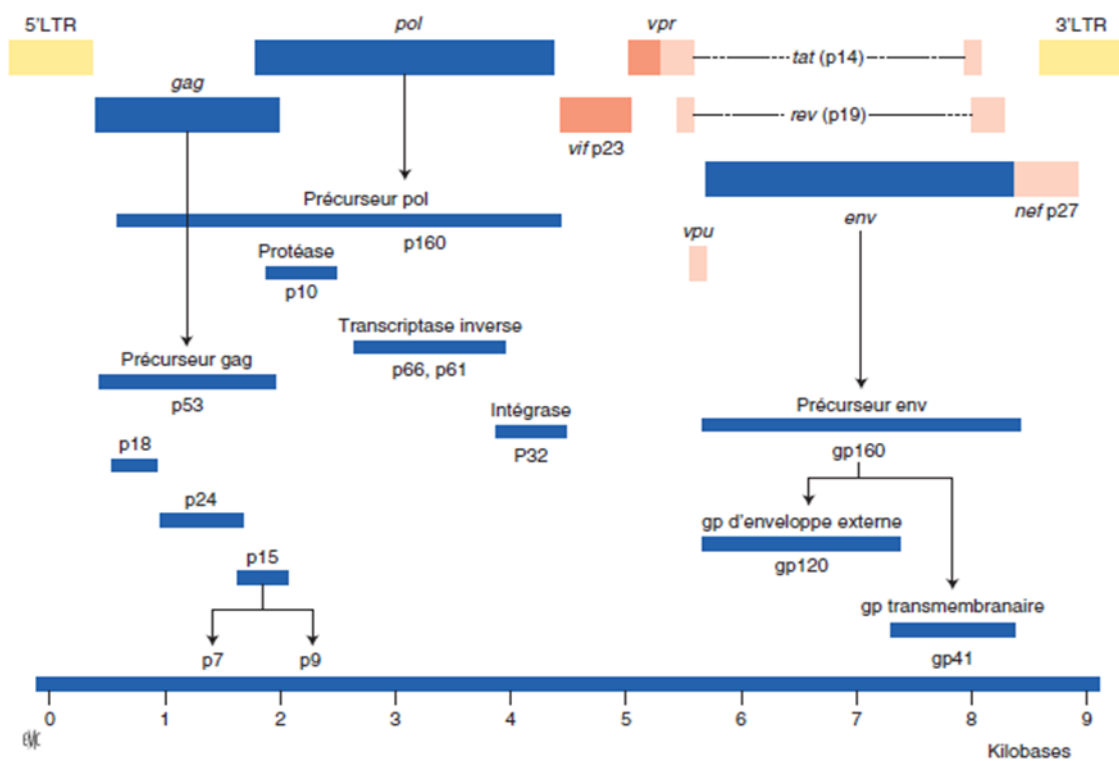


Figure 3. Représentation schématique d'un virion de VIH-1. (Réalisée avec Biorender)

Le génome du VIH-1, mesurant 9,6kb, est constitué de 3 gènes principaux : ***gag***, ***pol*** et ***env*** ; codant respectivement pour les protéines de la capsid, les enzymes participant à la réplication virale et les glycoprotéines d'enveloppe. Au cours de l'infection, les deux simples brins d'ARN du virus seront rétrotranscrits en ADN double brin qui sera flanqué à chacune de ses extrémités par des séquences Long Terminal Repeat (LTR) essentiels à l'intégration ultérieure du virus dans le génome de l'hôte puis à la transcription du génome viral. Ce dernier compte également six gènes régulateurs : *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* et *vpu*, qui codent pour des protéines régulatrices de la réplication virale dans la cellule hôte (Figure 4).



**Figure 4. Structure et organisation du génome du VIH-1.** Cadres de lecture des gènes codant pour les protéines structurales et régulatrices : LTR, Long Terminal Repeat ou séquences terminales redondantes ; Gag, protéines structurales de la particule virale ; Pol, enzymes de la particule virale (transcriptase inverse, intégrase, protéase) ; Env, protéines d'enveloppe ; gp, glycoprotéine ; Vif, viral infectivity factor ; Vpu, viral protein u ; Tat, transactivateur ; Rev, régulateur. (Le Hingrat *et al.* 2019)

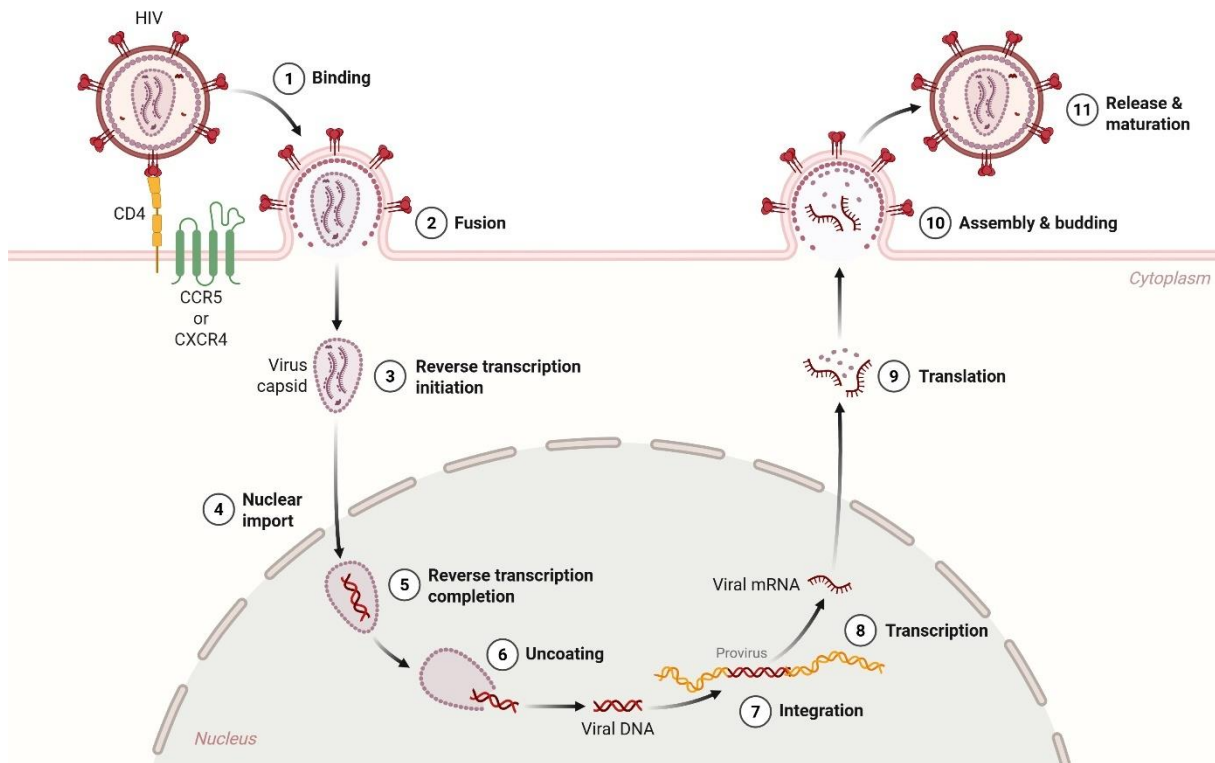
## E. GROUPES DE VIH-1 ET QUASI-ESPECES VIRALE

On distingue quatre groupes de VIH-1 : le groupe M qui est majoritaire, ainsi que les groupes N, O et P. Le groupe M a été divisé en neuf sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J et K). Il a par la suite été identifié plus d'une centaine de formes recombinantes circulantes (CRF) et des formes recombinantes uniques (URF) qui sont plus limitées à un faible nombre d'individus. L'épidémie initiale du VIH-1 dans les pays occidentaux était liée au sous-type B du groupe M, les autres groupes et sous-type étant davantage limités au continent Africain où sont apparus ces virus. L'évolution de l'épidémie mondiale avec l'augmentation des échanges a entraîné un changement des profils du VIH-1 avec une diversification des sous-types selon les zones géographiques. Les CRF et URF comptent maintenant dans leur globalité pour la majorité des infections (29%) (Williams *et al.* 2023). Le sous-type C est devenu le sous-type prédominant (23%), suivi du sous-type A (17%), CRF01\_AE (10%), B (9%), D (8%) et CRF02\_AG (7%). En France le sous-type B reste majoritaire, mais la place du CRF02\_AG est devenue importante dans les nouvelles infections.

Les origines de la **diversité génétique** importante du VIH-1 reposent d'une part sur le **taux élevé de mutations** liées aux erreurs de la transcriptase inverse virale exempte de mécanismes de correction, d'autre part sur des phénomènes de **recombinaison génétique** en présence de plusieurs virus différents au sein de la même cellule, et enfin par une dynamique de **réplication virale élevée** (Mansky & Temin 1995; Jung *et al.* 2002; Cuevas *et al.* 2015). On observe ainsi au sein d'un même individu la co-existence de plusieurs variants génétiquement proches décrite sous le terme de **quasi-espèce virale**. Les différences de séquences du gène viral *env* peuvent ainsi différer chez un individu de près de 10% (Korber *et al.* 2001). Les gènes *gag* et *pol* sont davantage conservés. Seulement un nombre très limité de variants d'une quasi-espèce pourra être ensuite transmise à son tour à un autre individu, avec une efficacité variable (Venner *et al.* 2016), et les infections se font le plus souvent par un seul virus fondateur (Keele *et al.* 2008; Tully *et al.* 2016; Kijak *et al.* 2017). On peut néanmoins retrouver des différences chez un même individu selon les compartiments cellulaires ou anatomiques (Hoetelmans 1998). Les variants transmis peuvent être sélectionnés par des facteurs intrinsèques (capacité d'adaptation au milieu, de réplication, tropisme d'affinité aux co-récepteurs), ainsi que des facteurs extrinsèques (réponse immunitaire et traitement ARV plus ou moins efficace à bloquer certains variants). Les variants transmis peuvent avoir une sensibilité différente aux antirétroviraux (Lessells *et al.* 2012).

## F. CYCLE VIRAL DU VIH-1

Le cycle de réplication du VIH-1 s'effectue en 2 jours environ dans les principales cellules cibles, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés (Perelson *et al.* 1996) (Figure 5).



**Figure 5. Cycle de réplication du VIH-1.** (réalisé avec Biorender) (1) le virus se lie via la gp120 au récepteur d'entrée CD4 et au corécepteur CCR5 ou CXCR4, (2) la membrane virale et la membrane cellulaire fusionnent via la gp41, (3 et 5) l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN, (4) la capside virale libérée dans le cytoplasme de la cellule est importée dans le noyau cellulaire, (6) une décapsidation permet de libérer l'ADN viral qui pourra ensuite (7) s'intégrer dans le génome cellulaire, (8) l'ADN proviral est transcrit en utilisant la machinerie cellulaire en ARN génomique viral et en ARNm, (9) les ARNm sont traduits en protéines virales qui vont (10) s'assembler pour créer de nouveaux virus qui vont permettre un bourgeonnement du virus qui va être (11) libéré sous forme de virion immature qui va mûrir dans le milieu extracellulaire avant de pouvoir infecter de nouvelles cellules.

### 1. Entrée du virus

L'entrée du virus dans sa cellule cible est initiée par l'attachement de la glycoprotéine d'enveloppe virale, la Gp120, avec d'abord des glycosaminoglycanes cellulaires de façon non spécifique, puis de façon spécifique avec la molécule CD4 de la cellule. Il s'ensuit une

modification de la conformation de la Gp120 lui permettant de reconnaître l'un des corécepteurs présents à la surface de la cellule : **CCR5** ou **CXCR4**. Cette liaison au corécepteur aboutira à un second changement de conformation permettant d'exposer le peptide de fusion de la Gp41, qui aboutira à la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire.

## **Tropisme**

On distingue trois tropismes pour le VIH-1 en fonction du type de corécepteur qui est utilisé lors de l'entrée dans la cellule cible : virus CCR5 (dit « **R5** »), virus CXCR4 (« dit **X4** ») ou virus pouvant cibler les deux co-récepteurs (dit « **R5X4** ») (Berger *et al.* 1998). Les virus « R5 » sont majoritaires aux stades initiaux de l'infection, avant que la proportion de virus « X4 » n'augmente progressivement dans le temps (Goodenow & Collman 2006). Chez une même personne, il est possible de retrouver à la fois des virus « R5 » et « X4 » ou « R5X4 ». Le tropisme viral peut être déterminé par le séquençage de la boucle V3 de la gp120, permettant de prédire en fonction de la séquence d'acide aminés l'affinité pour le corécepteur donné. Il peut également être déterminé phénotypiquement sur des cellules indicatrices exprimant CD4.

## **Autres mécanismes d'entrée du virus dans la cellule**

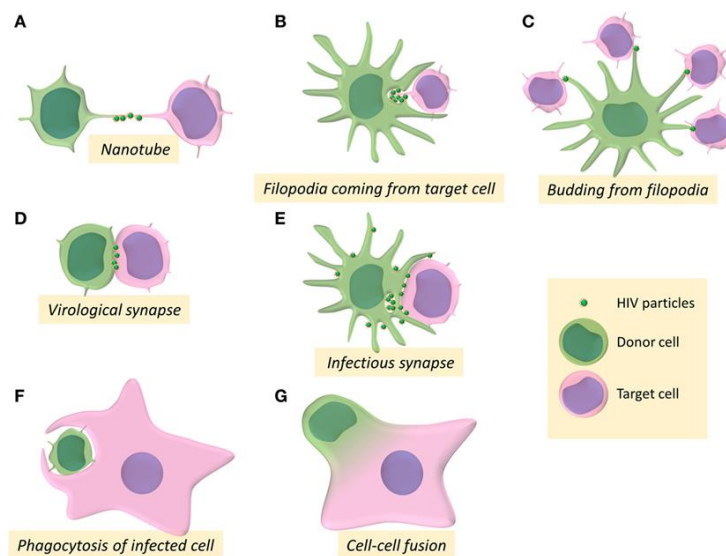
Une transmission du virus de cellule à cellule par **contact** est possible également (Sigal *et al.* 2011; Bracq *et al.* 2018). Cette transmission de cellule à cellule peut être réalisée de différentes façons (Figure 6) :

- Par des **synapses virologiques** (Jolly & Sattentau 2004) : Ces synapses peuvent être établies entre deux lymphocytes T CD4 ou entre des cellules dendritiques (DC) (Nikolic *et al.* 2011), des macrophages (Groot *et al.* 2008) et des monocytes activés (Duncan *et al.* 2013) et les cellules T CD4<sup>+</sup> cibles. La libération de virions dans une fente synaptique entre deux cellules est suivi d'une entrée similaire à celle des virus libres. Ce mécanisme d'entrée présente l'avantage d'être rapide, et d'échapper potentiellement à la réponse immunitaire humorale. Il nécessite néanmoins une proximité entre la cellule hébergeant le virus et la cellule cible. Ce mécanisme pourrait être impliqué dans l'infection des LT CD4 quiescents par leurs voisins activés (Agosto *et al.* 2018).
- Par des **protrusions membranaires** telles que les filopodes et les nanotubes tunnels (TNTs) : Ces structures dynamiques peuvent s'étendre jusqu'à 100µm mais sont fragiles (Rustom *et al.* 2004). Ils peuvent se déployer de façon ouverte ou fermée. Des échanges de

cellule à cellule sont rendus possibles entre lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et macrophages par ces TNTs (Sowinski *et al.* 2008; Eugenin *et al.* 2009).

- Par **syncytia**, issus de la fusion des membranes cellulaires lors d'un contact. Ceci a été décrit pour des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, notamment de tropisme X4, initialement identifiés comme « Syncytium-Inducing » (Lifson *et al.* 1986; Sylwester *et al.* 1993).

- Par **phagocytose/endocytose** : la phagocytose de CD4 infectés par des macrophages peut entraîner une infection productive au sein des macrophages (Baxter *et al.* 2014).



**Figure 6. Processus impliqués dans la transmission intercellulaire du VIH-1 de cellule à cellule.** Différents mécanismes de transfert de cellule à cellule du VIH-1 entre les cellules de départ (en vert) et les cellules d'arrivées (en rose) (Bracq *et al.* 2018).

## 2. Décapsidation et rétrotranscription

Suite à l'entrée du virus dans sa cellule cible, la capsid virale est transportée dans le noyau de la cellule où le génome viral sera libéré au cours d'une étape de **décapsidation**. Dans le même temps, l'ARN viral sera **rétrotranscrit** en ADN par la transcriptase inverse virale (ADN polymérase ARN dépendante) (Dharan *et al.* 2020).

### 3. Intégration, transcription et traduction

Le génome viral rétrotranscrit en ADN double brin et flanqué des LTR va ensuite **s'intégrer** dans le génome de la cellule cible grâce à l'intégrase virale. L'ADN intégré, ou provirus, est ensuite **transcrit** en ARN génomique viral et en ARN messagers (ARNm) codant les protéines virales par l'ARN polymérase II cellulaire à partir de la région 5' LTR de l'ADN proviral. L'ARN génomique viral et l'ARNm se distinguent par l'épissage de ceux-ci, l'ARNm étant épissé tandis que l'ARN génomique ne sera pas épissé.

Les ARNm sont ensuite **traduits** en protéines virales en utilisant la machinerie cellulaire de la cellule hôte au niveau de son cytoplasme. Les provirus codent pour des ARNm de petite taille pour les gènes *tat*, *rev* et *nef*, ainsi que des ARNm de plus grande taille pour le gène *gag-pol* qui sera traduit en une polyprotéine secondairement clivée par la protéase virale à l'étape de maturation. Ce clivage permettra de libérer les enzymes et protéines internes virales. Le gène *env* code pour une protéine Gp160 qui sera ensuite clivée en Gp41 et Gp120.

### 4. Encapsidation et bourgeonnement

L'ARN viral est ensuite encapsidé et sera dimérisé, à proximité de la membrane cellulaire pour permettre la sortie des virions par **bourgeonnement** sous forme initialement immature. Les virions sont ensuite maturés en extracellulaire grâce à la protéase virale (Engelman & Cherepanov 2012; Freed 2015; Dharan *et al.* 2020).

### 5. Facteurs de restriction de l'hôte

Des protéines cellulaires de l'hôte, appelées facteurs de restriction (FR) et faisant partie du système immunitaire inné, vont participer à la défense de la cellule en tentant de bloquer différentes étapes du cycle viral :

- A l'entrée : IFITM, SERINC3, et CH25H. IFITM (IFN inductible transmembrane) inhibe l'étape de fusion entre l'enveloppe virale et la cellule cible en piégeant le virus dans des vésicules endosomales. TRIM5 $\alpha$  peut se lier à la capsid virale et l'adresser vers le protéasome où elle sera dégradée (D Urbano *et al.* 2018).

- A la rétrotranscription : SAMHD1, P21, Mov10 et APOBEC3G/F. SAMHD1 (sterile alpha motif histidine-aspartic domain protein 1) réduit les nucléotides disponibles qui sont nécessaires à la rétrotranscription. La protéine P21 active P53 qui bloque le cycle cellulaire. APOBEC (apolipoprotéines) 3G et 3F sont des cytidine désaminases qui transforment les résidus cytosines (C) en uraciles (U). La transcriptase inverse va ainsi incorporer de l'adénine (A) à la place de la guanine (G) en complément des résidus U, entraînant des hypermutations G vers A (Liddament *et al.* 2004).
- A l'intégration : MX2 (D Urbano *et al.* 2018).
- A la transcription : TRIM22. Ce FR bloque l'activation du LTR nécessaire au recrutement de l'ARN polymérase II cellulaire (D Urbano *et al.* 2018).
- A la traduction : ZAP (Zinc-finger antiviral protein) favorise la dégradation de l'ARNm viral, empêchant ainsi sa traduction.
- Au bourgeonnement : ISG15, 90K, et BST2.

La plupart de ces FR sont inductibles par la voie de signalisation de l'interféron (D Urbano *et al.* 2018).

## G. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION

### 1. Transmission du VIH-1

Le VIH-1 peut être transmis par : (1) voie **sexuelle** ; (2) par transmission de **sang** contaminé (par usage de drogue injectable, par transfusion sanguine non sécurisé, ou par accident d'exposition au sang (notamment au cours d'un acte de soin) ; (3) et enfin par voie **materno-fœtale**, lors de l'accouchement ou de l'allaitement.

### 2. Physiopathologie de l'infection par le VIH-1

En l'absence de traitement, l'évolution de l'infection par le VIH-1 se fait en 3 stades, de durée variable selon les individus : (1) la primo-infection, (2) le stade chronique et (3) le stade SIDA.

#### **Primo-infection**

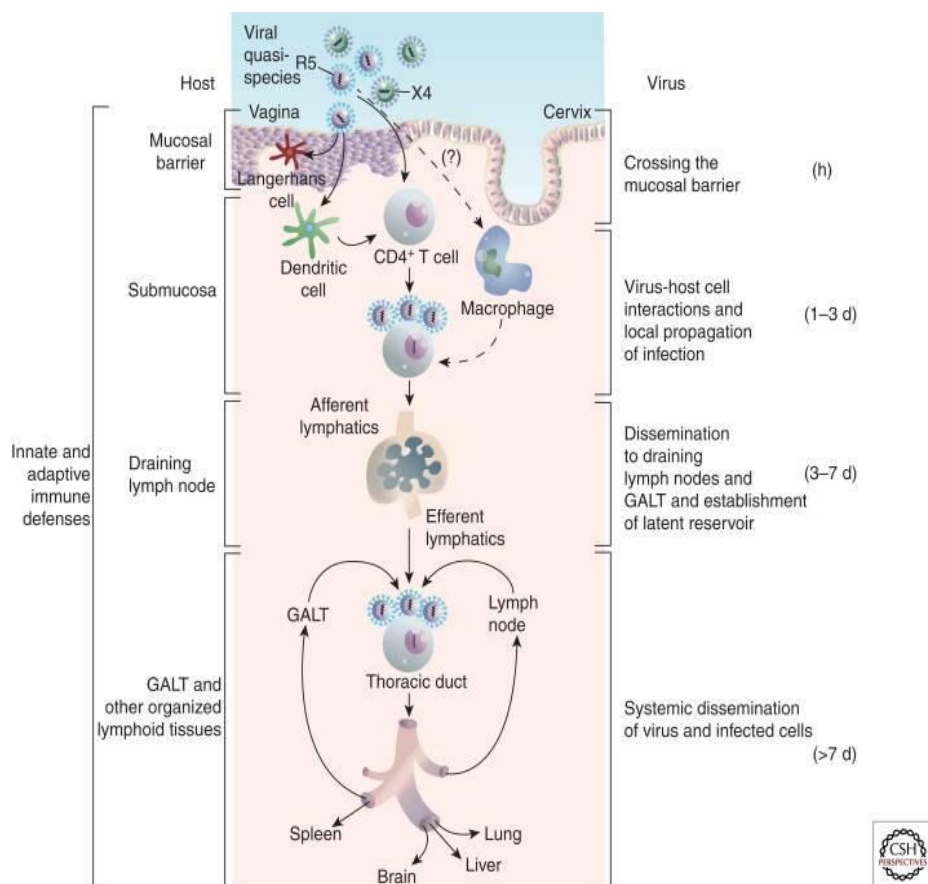
Elle survient **10 à 30 jours** après la contamination. En cas de contamination par voie sexuelle (voire materno-fœtale), le virus pénètre à travers la muqueuse. Seulement une faible quantité de virus est en mesure de traverser rapidement l'épithélium, sélectionnant de ce fait de façon précoce certaines souches virales, en particulier celles de tropisme « R5 » se liant plus facilement au corécepteur CCR5 des cellules cibles dans la muqueuse. Un mécanisme compétitif avec les chimiokines de la muqueuse, notamment SDF1 $\alpha$ , pourrait également être impliqué dans la contre-sélection des virus X4 pour la liaison au corécepteur d'entrée CXCR4.

La primo-infection entraîne initialement une réponse immunitaire innée locale, mais va paradoxalement participer au recrutement de cellules immunitaires qui pourront être ciblées par le virus, facilitant ainsi sa multiplication, puis sa dissémination, par la migration de cellules immunitaires innées présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques notamment) vers les organes lymphoïdes riches en cellules cible du VIH-1. Les cibles initiales sont principalement les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> des muqueuses, qui sont les plus permissives à l'infection, avec un phénotype CCR5<sup>+</sup>, effectrices mémoires activées. Les tissus lymphoïdes sont également riches en LT CD4 qui pourront être atteints environ une semaine après l'infection par les muqueuses par voie lymphatique.

Il est estimé qu'entre la 2<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine suivant l'infection, le virus peut se disséminer dans le sang, touchant d'autres organes lymphoïdes secondaires, avant de se généraliser à l'ensemble de l'organisme. Cette dissémination se fait principalement par les LT CD4 infectés, mais partiellement également par les monocytes infectés (Shaw & Hunter 2012) (Figure 7).

La réponse immunitaire initiale, innée puis adaptative spécifique du VIH-1 va permettre de limiter la réplication virale, mais de façon incomplète. Il y aura ainsi une diminution relativement rapide de la charge virale à la fin de la phase de primo-infection, mais qui ne sera généralement pas suffisante pour empêcher la poursuite de la propagation du virus, à un niveau réplcatif moindre.

La primo-infection au VIH-1 est symptomatique dans environ 50% des cas sous forme d'un syndrome pseudo-grippal (fièvre, céphalées, myalgies) associé à des polyadénopathies, une éruption cutanée, et une symptomatologie digestive à type de diarrhées le plus fréquemment. Elle peut également être asymptomatique dans l'autre moitié des cas et passer inaperçue.



**Figure 7. Modèle de l'infection par le VIH-1.** Illustration de la dissémination du virus dans l'organisme après une infection au niveau cervico-vaginal. Les cellules dendritiques migrent et transmettent le virus aux cellules T CD4<sup>+</sup> au niveau ganglionnaire. Les T CD4<sup>+</sup> et (plus rarement) les monocytes infectés vont ensuite participer à la dissémination du virus dans l'organisme et à l'établissement de réservoirs (Shaw & Hunter 2012).

## Phase chronique asymptomatique

La réponse immunitaire mise en place au cours de la primo-infection permet un contrôle partiel de la réplication virale, avec une virémie persistante, formant un plateau en équilibre avec la réponse immune. Cette activation immunitaire chronique va avoir un impact sur les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> qui seront progressivement déplétés de façon multifactorielle (McCune 2001; McMichael *et al.* 2010) :

- Par un effet **cytopathique direct** du virus
- Par l'**apoptose** des cellules infectées induite par les protéines virales (Env, Vpr, Tat, Nef) ainsi que l'apoptose de cellules non infectées bystander dans le microenvironnement d'une cellule infectée
- Par la réponse **immunitaire cytotoxique** ciblant les cellules infectées, principalement liée à la réponse T CD8 et NK
- Par une altération de l'**homéostasie lymphocytaire** : mort cellulaire et épuisement lymphocytaire induits par l'activation de la cellule, réduction de la régénération cellulaire, et altération de la distribution cellulaire

L'activation chronique et la déplétion d'une partie des lymphocytes va entraîner une restriction du répertoire lymphocytaire T.

Cette phase peut durer en moyenne 5 à 10 ans, de façon asymptomatique ou paucisymptomatique, mais diffère selon les individus : elle peut être plus courte en cas de déséquilibre plus marqué de la balance entre le virus et l'hôte, chez les individus dits « progressseurs rapides », mais peut également être plus longue chez les individus dits « non progressseurs à long terme » présentant un meilleur contrôle de l'infection.

## Stade SIDA

Le stade **SIDA** (Syndrome d'Immuno Déficience Acquise) correspond à une immunodépression sévère (lymphocytes T CD4<sup>+</sup> souvent <200/mm<sup>3</sup>) et/ou la survenue d'infections opportunistes liées à cette immunodépression (ex: pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii*, méningo-encéphalite à *Toxoplasma gondii*, méningite à *Cryptococcus neoformans*, Tuberculose et infections à mycobactéries atypiques, infection disséminée à CMV, maladie de Kaposi à HHV-8...), avec une réascension de la charge virale liée à la perte de contrôle de l'infection par la réponse immunitaire de l'hôte. Ces infections opportunistes sont responsables de la mortalité de l'infection par le VIH-1 hors traitement antirétroviral.

## H. TRAITEMENTS

Suite à la mise sur le marché en 1987 du premier traitement antirétroviral, l'AZT (Zidovudine), le développement de virus résistants à ce traitement a pu être rapidement constaté après son utilisation en monothérapie (Wei *et al.* 1995). L'utilisation de trithérapie a pu être permise en 1996, suite à l'arrivée des anti-protéases, changeant considérablement le pronostic des personnes vivant avec le VIH-1.

Le traitement antirétroviral, initialement débuté selon certains critères immunologiques, virologiques et cliniques, est actuellement recommandé pour toute personne vivant avec le VIH-1 dès le diagnostic (à l'exception des personnes contrôlant naturellement l'infection, dit « VIH controllers »). Ce traitement doit être précoce pour réduire au mieux l'établissement de réservoirs viraux chez un individu, et ainsi d'améliorer le pronostic de ces personnes.

Les **objectifs du traitement ARV** sont :

D'obtenir une charge virale indétectable de manière prolongée (< 50 copies/ml).

De restaurer le taux de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sanguin au moins > 200/mm<sup>3</sup>.

Maintenir un bon état de santé en évitant les infections opportunistes, l'évolution vers le stade SIDA, et les symptômes pouvant être en lien avec l'infection par le VIH.

L'efficacité du traitement par ARV est évaluée par l'obtention de la charge virale VIH-1 plasmatique indétectable (< 50 copies/ml) dans les 6 mois suivant l'introduction du traitement tout en maintenant une bonne tolérance clinique. A un mois, elle baisse en général d'au moins 2 log copies/ml, et devient < 400 copies/ml en trois mois. L'échec thérapeutique primaire est défini par une charge virale qui reste détectable après 12 mois de traitement.

### 1. Les principales classes d'antirétroviraux

Actuellement, plus de 20 ARV sont disponibles en France. Ces ARV sont classés en cinq principales classes médicamenteuses selon leurs mécanismes d'action au cours du cycle viral (Figure 8) :

- **Les inhibiteurs d'entrée :**

**Antagonistes du CCR5 (anti-CCR5) : Maraviroc (MVC)**

Il bloque par compétition allostérique la liaison du virus à son corécepteur CCR5, et donc l'entrée du virus, en ciblant la molécule CCR5 humaine.

**Inhibiteurs de l'attachement : Fostemsavir (FTR)**

Le Fostemsavir se lie à la Gp120, et empêche la liaison avec CD4.

**Anti-CD4 : Ibalizumab**

Anticorps monoclonal anti-CD4 inhibant la liaison de la Gp120 au CD4. Comme le Maraviroc, l'Ibalizumab cible une protéine humaine et pas directement le virus.

**Inhibiteurs de fusion (IF) : Enfuvirtide (T20).**

Il bloque le changement de conformation de la Gp41, nécessaire à la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire, en se liant à celle-ci de façon compétitive.

- **Les inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI) :**

INTI de 1<sup>ère</sup> génération, qui ne sont actuellement plus utilisés du fait de leur toxicité : Zidovudine (AZT), Stavudine (d4T), Didanosine (ddI), Zalcitabine (ddC).

INTI encore utilisés : Lamivudine (3TC), Emtricitabine (FTC), Tenofovir (TDF/TAF), Abacavir (ABC).

Les INTI vont être incorporés préférentiellement par la transcriptase inverse virale lors de la rétrotranscription et entraîner un arrêt de l'élongation.

- **Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) :**

Efavirenz (EFV), Névirapine (NVP), Etravirine (ETR), Rilpivirine (RVP), Doravirine (DRV).

Les INNTI interfèrent avec l'activité de rétrotranscription de la transcriptase inverse en se fixant à proximité du site catalytique de celle-ci.

- **Les inhibiteurs de l'intégrase (INI) :**

INI de 1<sup>ère</sup> génération : Raltégravir (RAL) et Elvitégravir (EVG)

INI de 2<sup>ème</sup> génération : Dolutégravir (DTG), Bictégravir (BIC) et Cabotégravir (CBG).

Le Cabotégravir a été développé dans une formulation à libération prolongée, qui peut être administré en traitement injectable « long-acting », en monothérapie en prophylaxie pré-exposition (PrEP), ou en association avec une formulation LP de la Rilpivirine (INNTI) en traitement de l'infection.

Des INI de 3<sup>e</sup> génération (VH-184 notamment) sont actuellement en développement.

Les INI inhibent l'intégration de l'ADN viral dans le noyau de la cellule infectée.

- **Les inhibiteurs de la protéase (IP) :**

IP de 1<sup>ère</sup> génération : Ritonavir (RTV), Indinavir (IDV), Saquinavir (SQV), Nelfinavir (NFV), Fosamprenavir (FPV), Lopinavir (LPV), Tipranavir (TPV). Ceux-ci ne sont actuellement plus utilisés devant leur toxicité.

Les IP encore utilisés : Atazanavir (ATV) et surtout le Darunavir (DRV).

Le Ritonavir (RTV) est utilisé comme booster pharmacologique (inhibiteur du CYP3A4) en association avec un autre IP.

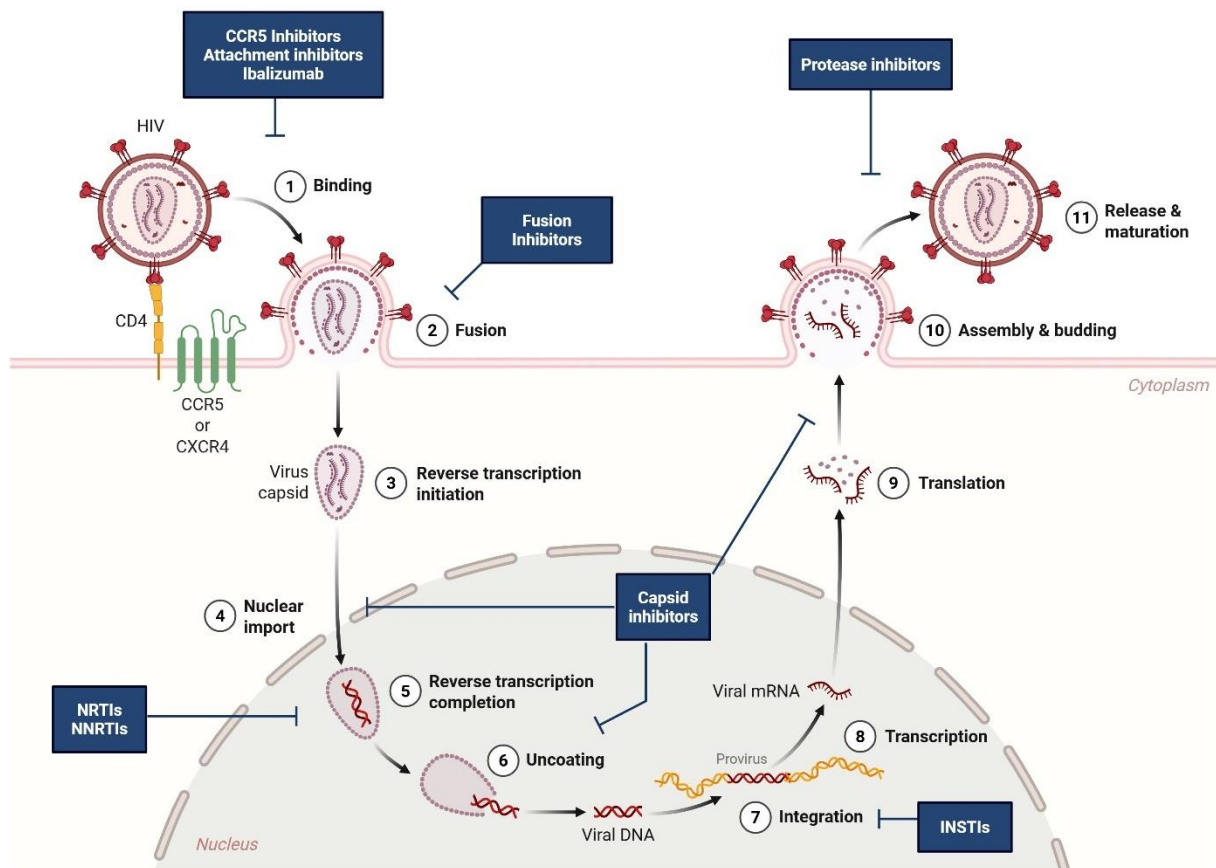
Les IP se lient à la protéase virale et empêchent le clivage des produits des gènes *gag* et *pol* nécessaire à la maturation du virus.

- **Les inhibiteurs de capsid (IC) :**

Lenacapavir (LEN).

Actuellement unique molécule de cette classe, initialement utilisée dans les situations de résistance multiples aux autres antirétroviraux, elle a récemment démontré son potentiel d'utilisation en PrEP sous forme injectable « long-acting » en injection sous-cutané tous les 6 mois. Elle possède sous cette forme la demi-vie la plus longue parmi les antirétroviraux actuellement commercialisés. Un nouvel inhibiteur de capsid (VH-499) à longue demi-vie sous formulation orale est actuellement en développement. Les IC bloquent la réplication virale en perturbant l'assemblage de la capsid virale à deux temps du cycle viral : à l'importation du génome viral dans le noyau et à l'assemblage des virions matures.

Par ailleurs, d'autres classes d'ARV sont actuellement en développement telles que les inhibiteurs de la translocation de la transcriptase inverse (islatravir, MK-8591), et les inhibiteurs de la maturation (GSK3640254).



**Figure 8. Mécanismes d'action des ARV disponibles sur le marché.** (réalisé avec Biorender). L'inhibiteur de CCR5 (Maraviroc) empêche la liaison de la Gp120 avec le corécepteur CCR5 ; L'inhibiteur d'attachement (Fostemsavir) bloque le site de liaison de la Gp120 et l'ibalizumab bloque un site de liaison du CD4 ; les inhibiteurs de fusion empêchent la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire, les inhibiteurs nucléosidiques (NRTI) et non nucléosidiques (NNRTIs) de la transcriptase inverse bloquent la transcription inverse ; les inhibiteurs d'intégrase empêchent l'intégration de l'ADN viral au génome cellulaire ; les inhibiteurs de capsid bloquent l'import et la libération nucléaire de l'ADN viral ainsi que l'assemblage de nouveaux virions ; et les inhibiteurs de protéases inhibent la libération et la maturation des nouvelles particules virales.

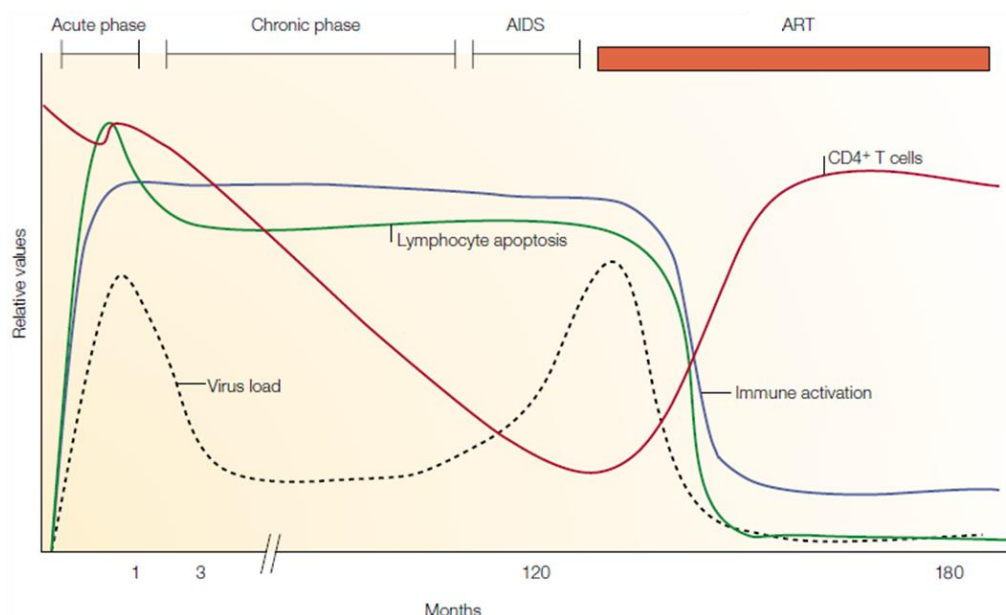
Les facteurs pouvant conditionner le choix du traitement antirétroviral incluent le niveau de la charge virale (certaines stratégies pouvant être déconseillées pour des charges virales > 100 000 copies/ml), la tolérance attendue et les éventuelles toxicité en lien avec les comorbidités, les interactions médicamenteuses, les préférences du patient, l'observance attendue en fonction de la stratégie proposée, ainsi que le génotypage de résistance aux

antirétroviraux (qui ne conditionne pas l'initiation du traitement), les risques de sélection de résistance, le coût du traitement, et l'éventuelle recherche de HLA B57\*01 associé à une hypersensibilité à l'Abacavir.

Il est actuellement possible d'initier soit une trithérapie (constituée classiquement de 2 INTI + un INI ou un INNTI ou un IP boosté), soit une bithérapie (dolutegravir-lamivudine). Un traitement d'allègement peut s'envisager en relais par bithérapie (dolutegravir-lamivudine, dolutegravir-rilpivirine, darunavir/r-lamivudine), incluant également une bithérapie injectable (cabotegravir-rilpivirine). L'objectif de l'association des antirétroviraux est de réduire l'émergence de résistance aux différentes classes médicamenteuses. L'évolution des traitements, avec l'apparition d'INI pouvant réduire de façon puissante la charge virale tout en étant robuste face à l'apparition de résistance, ont permis d'envisager les stratégies de bithérapie, mais les monothérapies restent déconseillées du fait du risque d'émergence de résistance.

Les traitements oraux peuvent être proposés en un comprimé par jour de façon préférentielle (STR). Un allègement par un traitement en trithérapie en prise 4 jours consécutifs par semaine peut également être proposé.

## 2. Evolution sous antirétroviraux



**Figure 9. Histoire naturelle de l'infection par le VIH-1 et évolution sous traitement ARV.** Illustration de l'évolution de la charge virale, du taux de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, de l'apoptose des lymphocytes et de l'activation immunitaire au cours de la phase aiguë d'infection, de la phase chronique, du stade SIDA ; ainsi que leur rétablissement sous traitement ARV (Gougeon 2003).

L'évolution des traitements proposés à travers les années a permis de révolutionner le pronostic de l'infection par le VIH, en réduisant de façon majeure la mortalité et la morbidité liées à l'infection et au stade SIDA. Ainsi, sous traitement, une personne vivant avec le VIH-1 aura une charge virale **indétectable**, et le virus sera donc considéré comme **intransmissible**. L'activation immunitaire diminuera progressivement sous traitement, et les LT CD4 circulants seront restaurés dans la plupart des cas (Figure 9). La fonctionnalité des LT CD4 restaurés reste néanmoins imparfaite, et une déplétion quantitative peut persister dans certains compartiments, notamment le tissu intestinal, malgré une restauration dans le sang périphérique.

Les personnes vivant avec le VIH-1 peuvent aujourd'hui, grâce aux traitements antirétroviraux, bénéficier d'une espérance de vie proche de la population générale pour ceux ayant initié le traitement ARV précocement, avec toutefois une persistance d'excès de maladies cardiovasculaires et métaboliques, (liées à la fois à la persistance d'une inflammation chronique même sous traitement antirétroviral et à la toxicité liée aux traitements), de troubles neurocognitifs ou de cancers. On parle d'« inflamm-aging » ou vieillissement accéléré secondaire à l'inflammation chronique et à l'activation immunitaire.

Par ailleurs, bien que le virus soit indétectable dans le sang, il persiste dans certaines cellules infectées sous forme de **réservoir viral**, à partir duquel la réplication peut reprendre en cas d'arrêt du traitement antirétroviral.

## II. LE RESERVOIR VIRAL DU VIH-1

Les traitements antirétroviraux ont permis des progrès thérapeutiques majeurs de l'infection par le VIH-1 en réduisant très considérablement la réplication virale, qui s'associe à une restauration quantitative des lymphocytes T CD4 et à l'absence de contagiosité des sujets traités. Néanmoins, à l'arrêt du traitement antirétroviral, dans la plus grande majorité des cas, on assiste à un rebond de la charge virale et à une poursuite de l'évolution de l'infection. Aucun traitement ne permet à ce jour d'éradiquer totalement le virus d'un organisme. Celui-ci va constituer un **réservoir viral**, qui va persister sous **forme latent** d'ADN qui sera **intégré au génome** de l'hôte, en particulier dans des **sites sanctuaires** préservés de la réponse immunitaire de l'hôte. Ce réservoir permettra au virus de réensemencer l'organisme en l'absence de traitement ARV, et constitue un frein majeur aux perspectives de guérison de l'infection (« *HIV cure* ») (Finzi *et al.* 1997). Ce réservoir latent peut également être la source d'une production virale incomplète (Imamichi *et al.* 2020; Wu *et al.* 2021), non productive, source d'**inflammation systémique résiduelle**, même sous traitement antirétroviral (Hileman *et al.* 2015; Imamichi *et al.* 2016, 2020; Pollack *et al.* 2017). Cette stimulation antigénique chronique, et les signaux inflammatoires qui y sont associés (translocations microbiennes, réplication persistante du CMV) vont participer à l'épuisement immunitaire (Haas *et al.* 2011). (*Les mécanismes de l'inflammation chronique et de l'épuisement immunitaire seront détaillés dans la partie III*). La complexité des formes de persistance du VIH-1, au niveau du génome, du type cellulaire, du tissu et des organes sont des champs d'investigation primordiaux pour aboutir à une réduction de ce réservoir. Néanmoins cette même complexité rend l'éradication complète de tout le génome viral intégré hautement improbable. Les stratégies thérapeutiques actuelles se concentrent donc sur des stratégies dites de « rémission », permettant de réduire suffisamment la taille du réservoir viral pour permettre à l'hôte de contrôler l'infection résiduelle.

### A. CONSTITUTION DES RESERVOIRS VIRAUX

Les réservoirs sont constitués très précocement lors de l'infection par le VIH-1. Après la pénétration du virus (au niveau des muqueuses en cas de transmission par voie sexuelle), celui-ci va atteindre les organes lymphoïdes secondaires (Cohen *et al.* 2011) et se disséminer ensuite à l'ensemble de l'organisme par la circulation sanguine en quelques semaines (Chaillon *et al.* 2020), ciblant les tissus riches en lymphocytes T CD4<sup>+</sup> de façon préférentielle (Figure 10). La constitution du réservoir au niveau tissulaire et cellulaire dépendra de différents

facteurs, incluant l'accessibilité du tissu aux cellules infectées, la susceptibilité des cellules d'un tissu donné à être infectées, et l'équilibre entre résidence et migration des cellules infectées dans un tissu donné (Figure 11).

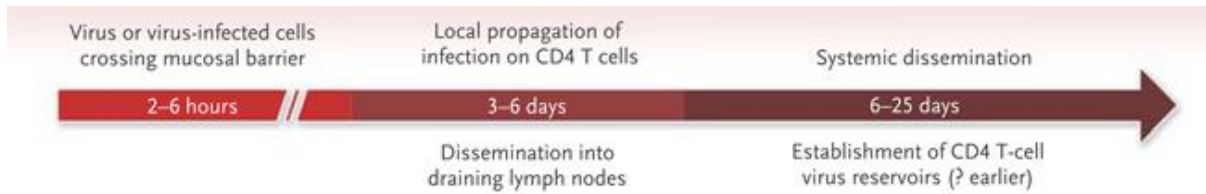


Figure 10. Délais de dissémination du VIH-1 après infection sans traitement. (Cohen *et al.* 2011)

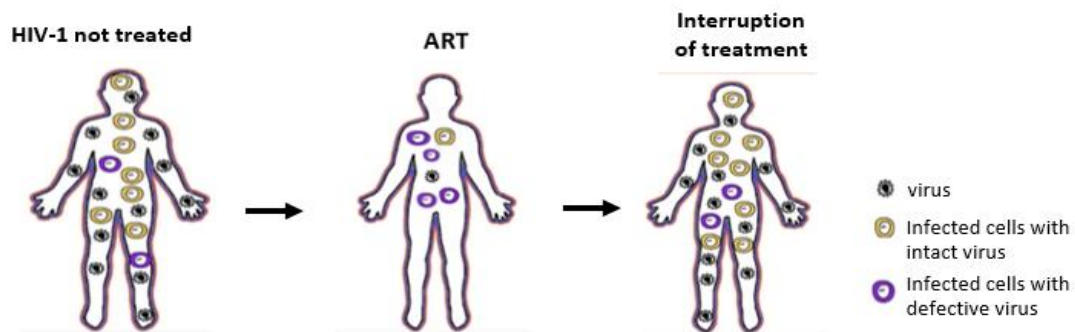


Figure 11. Réservoirs viraux VIH-1: un frein au traitement curatif. (Source : Adapté de Xu Yun, CROI 2021)

La première mise en évidence de formes latentes du VIH-1 au sein de lymphocytes T CD4 de personnes vivant avec le VIH-1 remonte à 1995. Les cellules LT CD4 décrites alors étaient des cellules mémoires quiescentes, mais pouvant se réactiver pour produire de nouveaux virions (Chun *et al.* 1995). Il a pu être montré que même en cas de mise en place d'un traitement antirétroviral de façon très précoce après une primo-infection, les ARV ne permettaient pas de prévenir la mise en place de ces réservoirs, avec un rebond fréquent de la charge virale à l'arrêt du traitement mais dans ces cas (Chun *et al.* 1997; Siliciano & Greene 2011; Colby *et al.* 2018). Le délai avant le rebond est variable, en général en quelques semaines (Colby *et al.* 2018), mais peut être retardé, notamment en cas de contrôle partiel de l'infection par le VIH-1. Les individus ayant un contrôle post-traitement sont notablement plus nombreux parmi ceux ayant commencé le traitement précocement et peuvent présenter des rebonds très retardés après plusieurs années. Cela a pu être illustré par le cas de « l'enfant du Mississippi », ayant débuté un traitement antirétroviral 1 jour après sa naissance, avec un

arrêt du traitement un an et demi plus tard, et un rebond 27 mois après l'arrêt des ARV. (Persaud *et al.* 2013). Le virus persiste ainsi dans des cellules mémoires à très longue durée de vie (Luzuriaga *et al.* 2015). Ainsi si l'initiation d'un traitement précoce est probablement associé à un réservoir plus faible, réduisant les effets délétères sur l'activation immunitaire chronique, elle ne permet pas d'éviter totalement la mise en place de réservoirs.

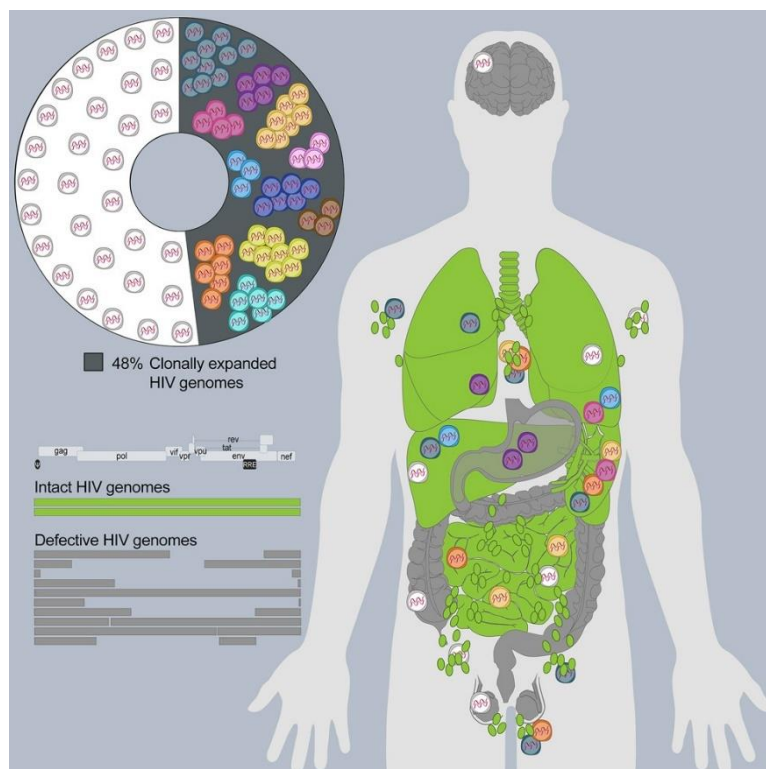
Ces réservoirs ont conditionné les objectifs des interventions pour la guérison de l'infection par le VIH-1. On distingue notamment une **guérison complète** (« **sterilizing cure** »), définie par l'éradication complète du virus de l'organisme ; d'une **guérison fonctionnelle** (ou rémission durable), qui serait une absence totale de réplication virale détectable en l'absence de traitement (Dieffenbach & Fauci 2011). La guérison complète n'a pu être démontré à ce jour qu'après des allogreffes de moelle osseuse. Le premier cas décrit, celui du patient de Berlin, ayant pu bénéficier de cellules souches d'un donneur porteur de la mutation CCR5 $\Delta$ 32<sup>+/+</sup> homozygote associée à une protection complète contre le VIH-1 de tropisme CCR5 et l'empêchant de pénétrer dans sa cellule cible (Hütter *et al.* 2009). L'aplasie induite avant la greffe semble permettre d'éradiquer l'ensemble des cellules du réservoir, mais n'est pas applicable à large échelle en dehors des indications habituelles de l'allogreffe du fait des risques inhérents à la mise en aplasie et qui ne peut se justifier que pour des pathologies mettant en jeu le pronostic vital d'un individu. Par la suite, plusieurs autres personnes ont atteint une guérison complète de l'infection après greffe de moelle : le patient de Londres en 2019 (Gupta *et al.* 2020), la patiente de New York et le patient de *City of Hope* en 2022, le patient de Düsseldorf en 2023 (Jensen *et al.* 2023)... Plus récemment, un cas de guérison après une allogreffe de cellules non porteuse de la mutation CCR5 $\Delta$ 32<sup>+/+</sup> a été rapporté (Sáez-Cirión *et al.* 2024). Dans ce dernier cas, il semble que la réaction du greffon contre l'hôte, avec les conséquences thérapeutiques qui ont suivies, ont permis d'obtenir secondairement l'éradication des cellules réservoirs. La guérison fonctionnelle serait quant à elle le résultat d'une réponse immunitaire suffisamment robuste pour contrôler l'infection résiduelle. Elle a notamment pu être observée chez des sujets dits « post-traitement controllers ». Ces personnes ont démarré un traitement en général – mais pas nécessairement – précoce, au cours de la primo-infection, interrompu par la suite après plusieurs années, et présentant spontanément une charge virale indétectable de façon prolongée, correspondant à l'état de guérison fonctionnelle. Cette capacité à contrôler l'infection a été en partie attribué à une réponse immunitaire NK anti-VIH-1 particulièrement efficace dans la destruction des cellules infectées (Etemad *et al.* 2023). Il semblerait par ailleurs que ceux ayant débuté des ARV de façon extrêmement précoce aient moins de chance d'être post-traitement controller, suggérant qu'une mise en place initiale de la réponse immunitaire serait cruciale dans l'obtention de cette guérison fonctionnelle avec un contrôle de l'infection par une réponse immunitaire de qualité

suffisante (Woldemeskel *et al.* 2020). Un équilibre serait donc à atteindre, entre une activation suffisante mais en l'absence d'épuisement immunitaire.

## B. RESERVOIRS ANATOMIQUES

Les cellules infectées par le VIH-1 (LT CD4 principalement, et monocytes et DC dans une moindre mesure) pourront après leur infection migrer vers des compartiments différents du site initial de l'infection. Les organes touchés sont variés et nombreux, incluant, les tissus lymphoïdes, la rate, le thymus, la moelle osseuse, le GALT (gut-associated lymphoid tissue), le système nerveux central, les poumons, le foie... (Ward *et al.* 2020) (Figure 13). Chaque organe pourra induire une pression de sélection locale sur les populations virales, modelant la dissémination du virus dans des **réservoirs anatomiques** distincts (Kahn & Walker 1998). Ces pressions de sélection vont inclure la réponse immunitaire locale, la permissivité des cellules du tissu à l'infection, la permissivité du tissu à la migration des cellules issues de la circulation, et la diffusion tissulaire des ARV, entre autre. Ces réservoirs anatomiques peuvent être qualifié de compartiment ou de sanctuaire, qui sont distinguables. Un compartiment peut être défini comme un site où les échanges de matériel génétique viral avec d'autres sites sont limités. Un sanctuaire serait un site où les éléments antiviraux (cellules immunitaires, ARV...) auraient une pénétration limitée (Nickle *et al.* 2003; Blackard 2012).

Il existe de nombreux de nombreux mécanismes de persistance du virus dans les réservoirs tissulaires sous ARV, incluant la quiescence cellulaire, la survie des cellules infectées à longue durée de vie, la prolifération du virus soit par mitose de cellules infectées, soit par réplication virale résiduelle (Wong & Yukl 2016). Le séquençage du **réservoir viral VIH-1 post-mortem** a permis de montrer différents réservoir tissulaires et une communication du virus entre certains tissus avec des clones viraux communs (Dufour *et al.* 2023). Le réservoir intact était majoritairement retrouvé au niveau des tissus lymphoïdes, intestinaux, du foie et des poumons (Figure 12). Au niveau intestinal, il a été montré que l'ADN proviral intact était particulièrement enrichi dans le colon (Vellas *et al.* 2024).



**Figure 12. Exemples de réservoirs tissulaires du VIH-1.** Sur des données issues de séquençage tissulaire post-mortem de 2 personnes vivant avec le VIH-1 sous traitement antirétroviral, les organes représentés en vert contribuaient en très grande partie au réservoir viral intact parmi ces individus, avec un partage de clones entre différents tissus témoignant d'une communication du réservoir viral entre les compartiments (Dufour *et al.* 2023).

### 1. Sanctuaires pharmacologiques

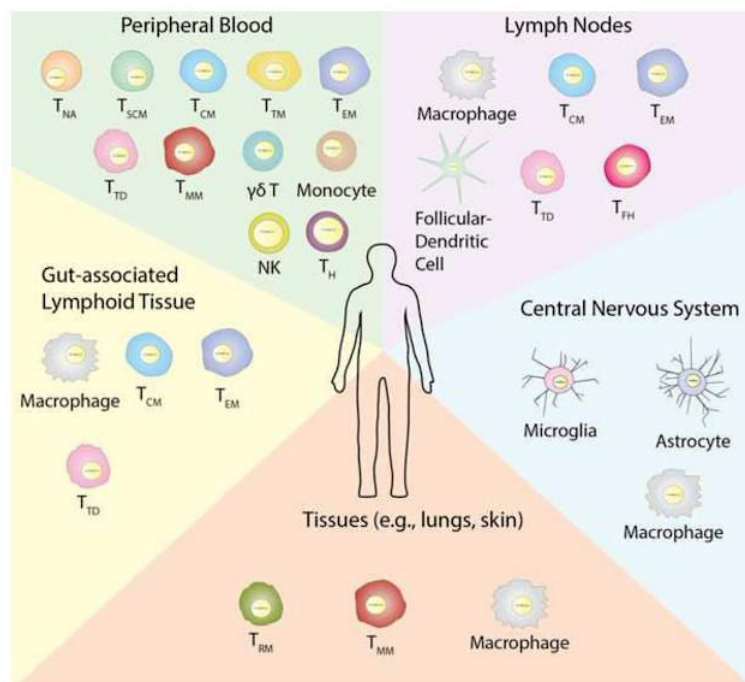
Les sanctuaires pharmacologiques se caractérisent par une moins bonne pénétration des traitements antiviraux au sein d'un site, préservant le réservoir viral local. On peut citer par exemple les tissus lymphoïdes et de la muqueuse intestinale (Fletcher *et al.* 2014; Thompson *et al.* 2017). L'un des mécanismes par lequel un organe peut être moins perméable aux ARV est l'efflux des molécules médicamenteuses. Au niveau intestinal, la protéine P-gp des entérocytes participe ainsi aux mécanismes d'efflux (Sankatsing *et al.* 2004). Des transporteurs et enzymes de métabolisation peuvent participer dans certains tissus à une élimination plus rapide et une absorption moindre des ARV. Ceux-ci diffusent notamment mal dans les ganglions lymphatiques. L'absorption peut dépendre de la classe médicamenteuse, voire de la molécule en elle-même. Ainsi le Raltégravir (INI) et les inhibiteurs d'intégrase, ainsi que l'Emtricitabine (INTI) pénètrent mal dans les ganglions, contrairement à l'Efavirenz (INNTI) et le Ténofovir (INTI) (Rosen *et al.* 2022). D'autres molécules vont diffuser davantage dans certaines structures en particulier au sein du tissu ganglionnaire. Cette différence de diffusion

des ARV est en pratique principalement prise en compte pour les atteintes spécifiques du système nerveux central.

## 2. Sanctuaires immunologiques

Certaines cellules immunitaires peuvent avoir un accès limité à certaines structures tissulaires. C'est le cas notamment des LT CD8 avec les tissus lymphoïdes, dont les lymphocytes spécifiques du VIH-1 présentent un moindre accès au niveau folliculaire des ganglions lymphatiques (Huot *et al.* 2017). Au contraire, les  $T_{FH}$  et cellules dendritiques qui pourront être ciblées par le virus sont plus abondantes dans les tissus lymphatiques (Perreau *et al.* 2013). Certains sites anatomiques ne permettant pas l'accès aux CD4 circulants comme le système nerveux central protégé par la barrière hémato-encéphalique, seront plutôt infectés dans leurs macrophages (Yukl *et al.* 2013).

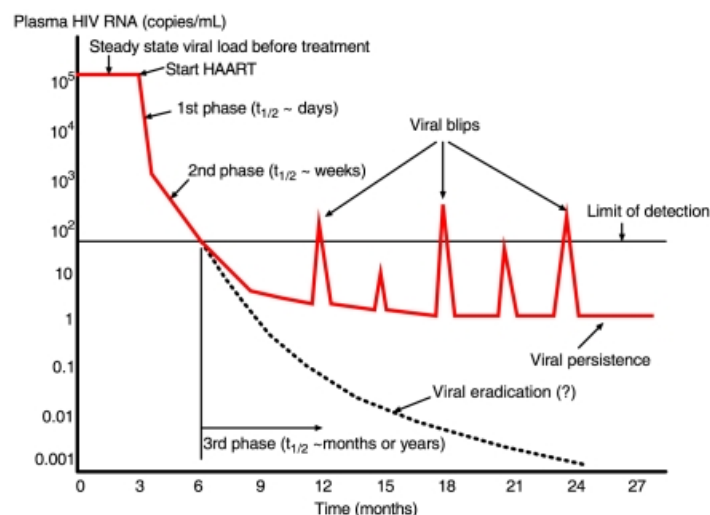
L'étude plus précise de ces sanctuaires pharmacologiques et immunologiques tissulaires est limitée par l'accès à des prélèvements *in vivo* plus difficiles à obtenir.



**Figure 13. Exemples de réservoirs anatomiques et cellulaires du VIH-1.** Chaque tissu peut être enrichi en différents types cellulaires pouvant participer à la persistance du VIH-1. TH – CD4<sup>+</sup> helper T cells, NK – natural killer cells (Barton *et al.* 2016)

## C. RESERVOIRS CELLULAIRES

Différents types de cellules immunitaires vont participer aux **réservoirs cellulaires**. Cette multiplicité est illustrée par la cinétique de décroissance de la charge virale du VIH-1 sous traitement antirétroviral. On distingue deux phases, une première d'environ deux semaines, rapide, et une seconde plus longue, avec une décroissance plus lente. Ces deux phases seraient ainsi liées à des types cellulaires de demi-vie différentes (Figure 14) (Rong & Perelson 2009). Les cellules réservoirs pourraient présenter des signatures transcriptomiques avec une amélioration de la survie cellulaire et une baisse de la transcription virale (Clark *et al.* 2023). La 1<sup>ère</sup> phase correspond probablement à des lymphocytes T CD4 activées à plus courte durée de vie ou des virions libres circulants hors des cellules, tandis que la 2<sup>ème</sup> correspond quant à elle probablement à des T CD4 quiescents ou des macrophages.

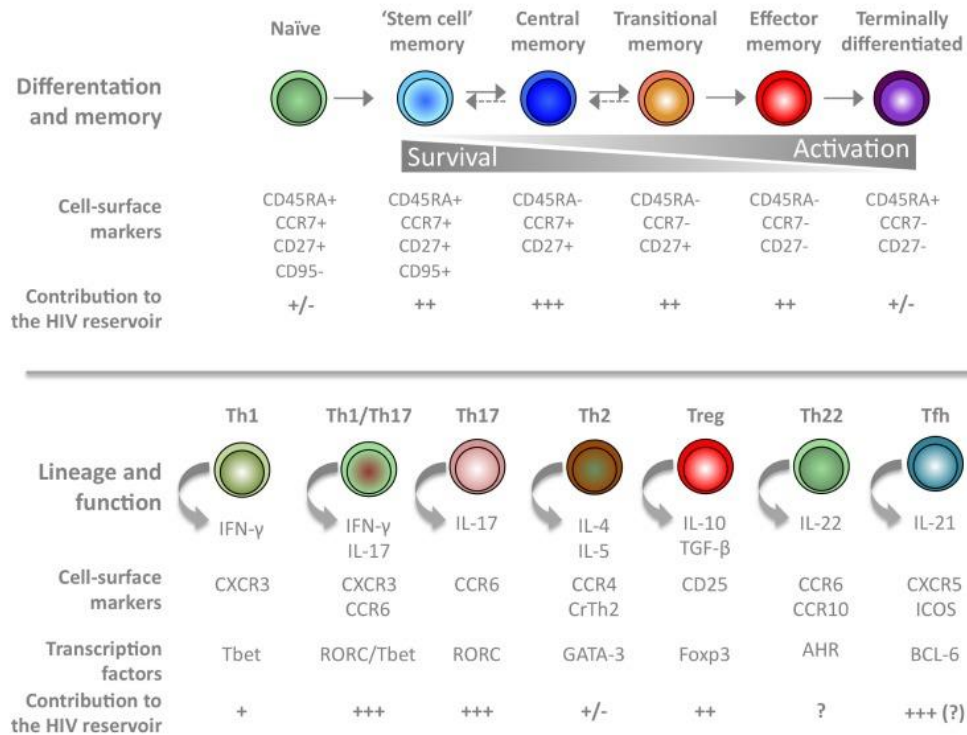


**Figure 14. Décroissance de la charge virale plasmatique sous ARV.** Après le début des ARV, la charge virale plasmatique diminue en deux phases traduisant l'élimination du virus dans des cellules réservoirs à durée de vie différentes (Rong & Perelson 2009)

### 1. Lymphocytes T CD4<sup>+</sup>

Le réservoir principal du VIH-1 est constitué de lymphocytes **T CD4 mémoires quiescents** (Chun *et al.* 1997). (Les sous-populations de CD4 seront détaillés dans la partie III.A.1). La contribution de chaque sous-population de cellules T CD4<sup>+</sup> au réservoir est décrit en Figure 15. Les TSCM (stem cell memory) TCM (central memory), et les TTM (transcient memory) et les TEM (effectrices mémoires) sont le siège des réservoir des personnes sous ARV. Les

cellules infectées ont également un phénotype de cellules activées exprimant les marqueurs HLA-DR (CMH de classe II) (Horsburgh et al., 2020; Lee et al., 2019a), CD25 (marqueur de T<sub>REG</sub>, faisant parti du récepteur à l'IL-2) (Tran et al., 2008) et CD69 (marqueur d'activation et de cellules résidentes mémoires) (Cantero-Perez et al., 2019).



**Figure 15. Contribution des sous-ensembles de lymphocytes T CD4+ au réservoir VIH-1 sous ARV.** Les sous-populations de LT CD4 sont représentés selon leur statut de différenciation mémoire (en haut) ou fonctionnel (en bas) (Kulpa & Chomont 2015).

Les LT CD4 Th<sub>17</sub> et T<sub>FH</sub> semblent également particulièrement contribuer au réservoir viral VIH-1 cellulaire. Ainsi, celles exprimant CCR6, un récepteur de chimiokine impliqué dans l'adressage intestinal des Th<sub>17</sub> vers l'intestin, sont ciblées de façon importantes par le virus (Gosselin *et al.* 2010). Les lymphocytes exprimant CXCR3, marqueur de Th<sub>1</sub>, semblent enrichies en provirus intacts (Banga *et al.* 2018). Des analyses du transcriptome par single-cell RNA sequencing ont permis de montrer l'enrichissement du génome viral dans les cellules Th<sub>17</sub>, pouvant être en lien avec leur localisation privilégiée au niveau intestinal (Wacleche *et al.* 2016; Pardons *et al.* 2019). L'intégrine  $\alpha 4\beta 1$ , participant à la migration vers les organes lymphoïdes secondaire et aux signaux de costimulation des lymphocytes T pourrait faciliter l'infection des T CD4 et participer à l'établissement des réservoirs viraux (Pardons *et al.* 2019).

Les **cellules quiescentes** sont un siège important du réservoir viral du VIH-1 qui pourra persister dans des cellules à longue durée de vie, et dont l'absence d'activité permettra au virus de passer inaperçu vis-à-vis du système immunitaire (Buzon *et al.* 2014).

On retrouve également un enrichissement en ADN proviral dans les cellules T CD4 mémoires présentant un profil d'activation/épuisement lymphocytaire avec l'expression notamment de PD-1, tandis que d'autres marqueurs associés à un épuisement plus terminal (TIGIT, CTLA-4) semblaient moins enrichies en provirus intacts (Fisher *et al.* 2023; Dufour *et al.* 2023). Notre équipe a montré que les T CD4<sup>+</sup> du colon contenaient une fréquence plus élevée de provirus intacts que les T CD4<sup>+</sup> du sang périphérique, et que la fréquence de ces provirus intacts était corrélée à la fréquence des T CD4<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> TIGIT<sup>-</sup> dans la muqueuse colique (Vellas *et al.* 2024).

## 2. Monocytes/Macrophages

Les **monocytes** peuvent exprimer à leur surface CD4 et les corécepteurs CCR5/CXCR4 nécessaire à l'entrée du virus, les rendant susceptibles à l'infection par le VIH-1. L'infection de ces cellules a pu être prouvée par la mise en évidence d'ADN proviral intégré dans le génome de monocytes circulants (Lambotte *et al.* 2000; Sánchez-Torres *et al.* 2001; Mavigner *et al.* 2009). Les monocytes circulants vont ensuite migrer dans les tissus et se différencier en **macrophages**, participant ainsi à la dissémination du virus au niveau tissulaire (Benaroch *et al.* 2010). Les macrophages tissulaires, au renouvellement lent, en particulier dans le système nerveux central, participent au réservoir viral (Koenig *et al.* 1986; Gartner *et al.* 1986; Orenstein *et al.* 1997; Cribbs *et al.* 2015). Ces cellules sont plus résistantes que les CD4 activés à l'effet cytopathogène du virus ou aux signaux de mort cellulaire induits par la réponse immunitaire (Koppensteiner *et al.* 2012; Clayton *et al.* 2018). Ainsi les monocytes et macrophages intestinaux peuvent également inclure de l'ADN du VIH-1, de façon intégré ou non intégré, mais à des niveaux beaucoup plus faibles que dans les lymphocytes T, faisant évoquer des mécanismes d'infection moins efficace (Vellas *et al.* 2024). Au niveau urétral masculin, les macrophages CCR5<sup>+</sup> seraient des cibles privilégiées du virus et pourraient participer à la transmission inter-individuelle du VIH-1 (Ganor *et al.* 2013, 2019).

### 3. Cellules dendritiques

La lectine de surface DC-SIGN des **cellules dendritiques** (DC) peut permettre au VIH-1 d'être adsorbé dans la cellule (Geijtenbeek *et al.* 2000). On distingue plusieurs types de DC : les cellules de Langerhans (LCs), les cellules dendritiques myéloïdes (mDC), et les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC). Les cellules de Langerhans, un sous-groupe de DC présentes au niveau de l'épiderme ont été identifiées dès 1987 comme étant susceptibles à l'infection par le VIH-1 (Braathen *et al.* 1987). Il a pu être montré plus récemment que ces LCs peuvent mettre en place des synapses virologiques permettant de transmettre le VIH-1 aux kératinocytes apicaux dans les muqueuses kératinisées génitales. Ces synapses permettent au virus de bourgeonner de façon polarisé avant d'être rapidement internalisé et disséminé dans la muqueuse par les LCs. Les LCs semblent être capable de se protéger du VIH-1 lorsque celui est à une faible concentration, en internalisant et dégradant le virus directement dans l'épiderme ; en revanche en cas de concentration virale plus importante, les LCs vont capturer le virus avant de migrer à l'interface épiderme-derme avant de transmettre le virus vers des lymphocytes T (Ganor *et al.* 2010).

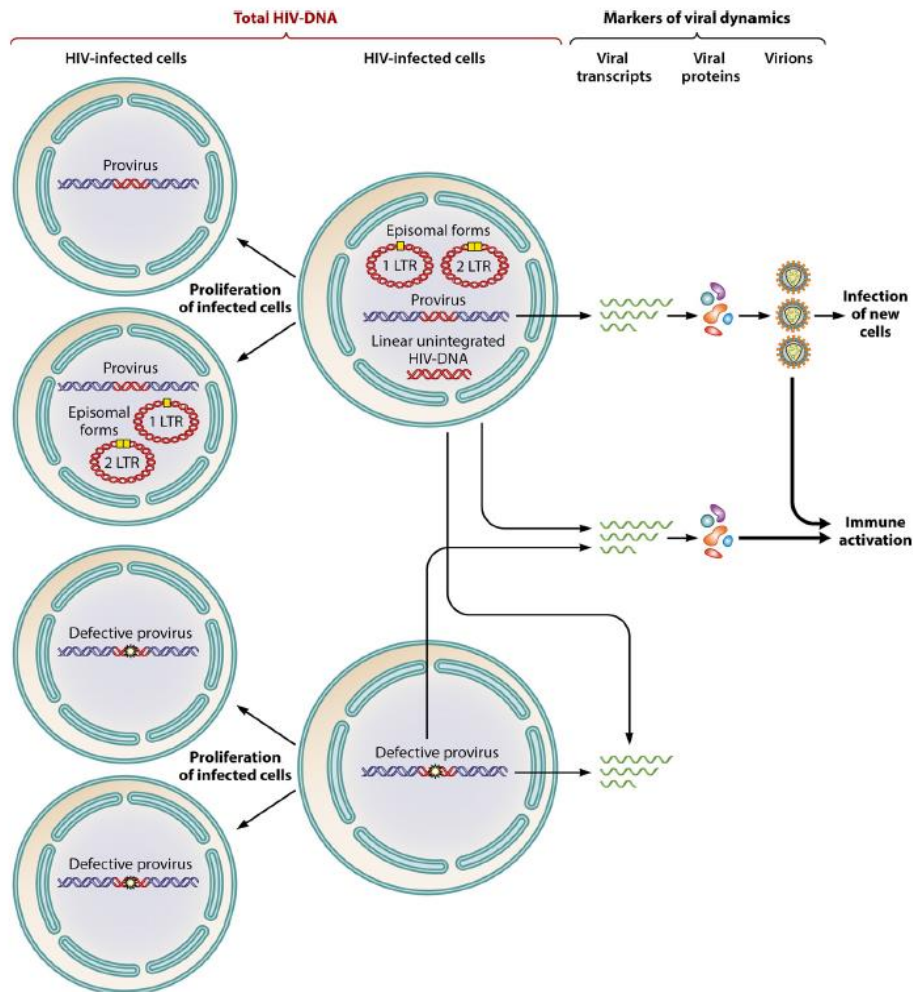
### 4. Autres types cellulaires

Certains lymphocytes **Natural Killer** (voire section III) peuvent exprimer CD4 ainsi que CCR5/CXCR4, mais avec des résultats contradictoires quant à leur rôle dans les réservoirs viraux (Valentin *et al.* 2002; Delobel *et al.* 2005).

Les **plaquettes** et **mégacaryocytes** ont également été rapportées comme pouvant contenir la protéine P24 virale ou des provirus de VIH-1. La transmission se ferait par contact direct de cellule à cellule, probablement au cours de la thrombopoïèse dans la moelle osseuse. Elles pourraient participer à la transmission du virus à d'autres cellules mais pas au réservoir à proprement parler du fait de leur faible durée de vie (Real *et al.* 2020).

## D. RESERVOIRS MOLECULAIRES

Le génome viral persiste sous différente forme au sein des cellules infectées : on distingue une forme de **provirus intégré** au génome de la cellule hôte, mais également des formes **non intégrées, linéaires** dans le cytosol ou **circulaires** dans le noyau (Figure 16).



**Figure 16. Formes de réservoirs viraux intracellulaires.** La forme intégrée (provirus) est la plus associée à la persistance virale et va permettre la production de nouveaux virions lors de la réactivation cellulaire. Les virions peuvent infecter de nouvelles cellules et propager l'infection et le réservoir du VIH-1. Au cours de la division cellulaire, l'ADN proviral sera également copié dans les deux cellules filles. Les formes épisomales (1-LTR ou 2-LTR) se répartissent dans les cellules filles pendant la prolifération cellulaire. L'ADN linéaire non intégré du VIH-1 est plus labile et est essentiellement retrouvée lors de la réplication virale. Les provirus défectifs ne peuvent pas produire de nouveaux virions mais peuvent transcrire certains gènes codant pour des protéines virales participant à l'activation immunitaire au cours de l'infection par le VIH-1 (Avettand-Fénoël *et al.* 2016).

## 1. Génome viral intégré et non intégré

L'ADN VIH-1 total représente le niveau global du réservoir du VIH-1 dans l'organisme, et englobe toutes les formes du réservoir viral. Cette quantification va donc inclure à la fois les formes **intégrées** (intactes ou défectives) dans le génome de l'hôte et celles **non intégrées**. On peut retrouver ces deux formes de façon concomitante au sein de la même cellule.

Lors de la rétrotranscription de l'ARN viral en ADN double-brin, la forme **linéaire** initialement produite, non intégrée, contient à ses extrémités des séquences répétées appelées LTR (Long Terminal Repeat). Cette forme linéaire peut rester dans le cytosol de la cellule, de façon transitoire. Cette forme est la plus instable de l'ADN viral. Elle signe donc une infection récente ou de la réplication virale active au sein de la cellule. Dans le noyau, cet ADN double-brin peut prendre une forme **épissomale**, circulaire, avec potentiellement davantage de stabilité. Cet ADN épissomal peuvent contenir une (**1-LTR**) ou deux (**2-LTR**) copies des LTR viral. Chacune de ces formes épissomales a une origine différente : la forme 1-LTR provient d'une recombinaison homologue tandis que la forme 2-LTR est le produit d'une ligation du génome viral (Kilzer *et al.* 2003). Elles ne se répliquent pas en même temps que la mitose cellulaire et vont donc progressivement se répartir entre les cellules filles en l'absence de réplication virale (Sharkey *et al.* 2005). Les formes 2-LTR, possédant un génome viral complet, ont le potentiel d'être intégrées au génome de l'hôte pour ensuite participer à la production de nouveaux virions (Richetta *et al.* 2019). Elles pourraient également être directement transcrites (Wu & Marsh 2001; Poon & Chen 2003). Enfin le génome viral peut être sous forme intégrée dans le génome de la cellule hôte sous forme d'**ADN proviral**. Cette forme extrêmement stable va permettre au VIH-1 de persister dans la cellule hôte toute la durée de vie de celle-ci et de se répliquer à chaque mitose cellulaire. Cette forme permet le plus l'expression du génome viral. L'ADN proviral intégré peut rester quiescent pendant plusieurs années (Siliciano & Greene 2011).

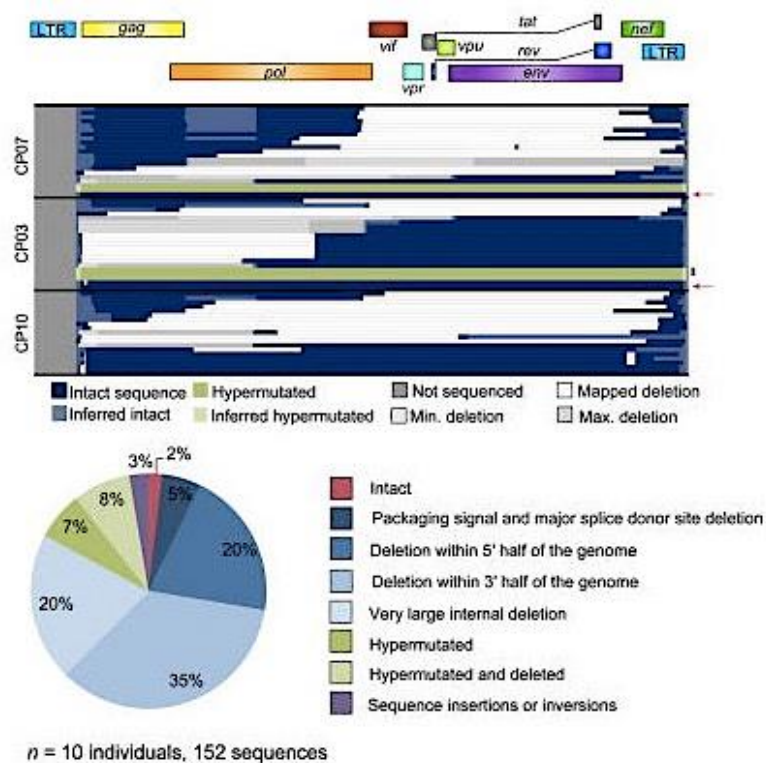
## 2. Virus défectifs

La quasi-totalité (près de 95%) de l'ADN proviral intégré au sein de la cellule hôte est de l'ADN défectif (Hiener *et al.* 2017). Le faible pourcentage d'ADN intact suffit néanmoins à réactiver l'infection par le VIH-1 en l'absence de traitement (Ho *et al.* 2013; Bruner *et al.* 2016). Seuls les provirus intacts peuvent participer à la réplication virale. Les virus défectifs peuvent quant à eux continuer à transcrire pour des protéines virales, qui ne pourront pas donner lieu

à des virions pouvant infecter d'autres individus car étant incomplètes, mais qui pourront participer à l'activation du système immunitaire et d'autres voies de l'inflammation (Imamichi *et al.* 2016; Pollack *et al.* 2017; Imamichi *et al.* 2020; Wu *et al.* 2021).

Les principales anomalies rendant ces provirus défectifs sont les suivantes :

- des **délétions de grande taille** (80%) pouvant aller jusqu'à 8kb, au niveau des régions **3'** (genes *env*, *tat*, *rev*, *nef*) ou **5'** (gene *gag*)
- La présence de **codons stops** ou de **mutations** dans les codons d'initiation : notamment liées à des **hypermutations G/A** induites par le facteur de restriction APOBEC-3G/3F
- Mutations (insertions ou délétions) entraînant un **décalage** du cadre de lecture qui aboutissent sur des codons stop
- **Mutations/délétions** dans la région du **site d'épissage majeur** (MSD) et d'**encapsidation** (Psi, Ψ) du génome viral (5%) (Figure 17) (Ho *et al.* 2013; Bruner *et al.* 2016; Hiener *et al.* 2017; Das *et al.* 2019).



**Figure 17. Séquences de provirus de PvVIH sous traitement chronique par ARV, par séquençage haut débit.** En haut : carte de clones proviraux de trois individus traités par ARV en phase chronique (CP07, CP03, CP10). Chaque barre horizontale correspond à un clone individuel identifié par séquençage. Une flèche rose indique les rares séquences complètes et génétiquement intactes. En bas : résumé de 152 séquences provirales issues de 10 PvVIH sous ARV (seulement 2% de clones intacts) (Bruner *et al.* 2016).

### 3. Dynamiques de l'évolution du réservoir du VIH-1

Le réservoir viral, en constante évolution par les différents mécanismes conduisant à sa dissémination et aux mutations accompagnant ses différents cycles de réplication, pourra connaître de profonds changements au cours du temps, et sera modelé par les différentes pressions qui s'exerceront sur lui, en particulier les traitement antirétroviraux. Il peut être quantifié de façon la plus simple par la mesure de l'ADN VIH-1 total dans le sang périphérique. Il peut être mesuré à des niveaux élevés au cours de la primo-infection (Ghosn *et al.* 2010). Il diminuera ensuite sous traitement antirétroviral, mais cette diminution quantitative s'accompagne également d'une augmentation des formes d'ADN VIH-1 intégrés (Ananworanich *et al.* 2016). La diminution quantitative de l'ADN total du VIH-1 pourrait être lié à l'élimination des formes les moins stables (non-intégré) et des cellules du réservoir à plus courte durée de vie. Les formes épisomales 2-LTR font exception et pourraient persister de façon prolonger, notamment dans les macrophages (Kelly *et al.* 2008). Leur diminution serait davantage lié à leur dilution au cours de la mitose, ne se répliquant pas avec la cellule (Pierson *et al.* 2002). Les formes intégrées, minoritaires lors de la primo-infection (12%), deviendraient ainsi progressivement quasi-exclusives au stade chronique de l'infection.

Si l'on compare ces données virologiques à l'évolution des individus, les sujets dits « progressseurs rapides » présentent des niveaux plus élevés d'ADN VIH-1 total et intégré, tandis que les sujets « VIH-1 controllers » présentent des niveaux plus faibles (Trémeaux *et al.* 2019). La proportion en provirus intact serait néanmoins identique quelque soit le statut de progression de l'infection, mais avec une diversité plus faible chez les post-traitement controllers, en faveur d'une réplication virale probablement diminuée (Trémeaux *et al.* 2023).

#### E. PERSISTANCE DU RESERVOIR VIRAL

Le réservoir viral du VIH-1 conserve un niveau relativement stable, quelle que soit la stratégie thérapeutique employée. Le maintien du réservoir passe par une diversité de mécanismes, incluant la **survie** des cellules infectées restant **quiescentes**, l'**expansion clonale** au cours de la division cellulaire, et la **réplication virale résiduelle** même sous ARV qui permettrait un **réensemencement** du réservoir (Lorenzo-Redondo *et al.* 2016).

## 1. Latence virale

Une cellule infectée par le VIH-1 avec un ADN proviral intact peut ne pas produire de nouveaux virions et donc ne pas infecter de nouvelles cellules. On parle dans ce cas de « **latence virale** ». La cellule infectée reste alors silencieuse concernant la transcription virale, tout en gardant la capacité de produire une réplication virale active après stimulation (Eisele & Siliciano 2012). Ce blocage de la transcription viral peut être lié à des mécanismes précédant ou suivant l'intégration de l'ADN proviral (Pierson *et al.* 2002). En **pré-intégration**, la latence est liée à un blocage de la transcription inverse ou de l'intégration elle-même, pouvant être en lien avec des facteurs de restrictions de l'hôte tels que APOBEC3G et TRIM5 $\alpha$  (Marcello 2006; Pagani *et al.* 2022). En **post-intégration**, il s'agit du passage de la cellule hôte activée à un état quiescent, qui peut persister pour toute la durée de vie de la cellule. A titre d'exemple, une cellule T mémoire peut avoir une demi-vie moyenne de 44 mois. Cette latence post-intégration repose sur différents mécanismes (Colin & Van Lint 2009; Siliciano & Greene 2011) :

### **Sites d'intégration**

Lors de l'intégration du provirus dans la cellule hôte, il a pu être montré que les cellules latentes s'intégraient préférentiellement dans des sites transcriptionnellement actif du génome (Schröder *et al.* 2002; Lewinski *et al.* 2006) ; mais certains mécanismes (encombrement stérique, épissage et méthylation des histones, occlusion du promoteur) peuvent rendre ces sites peu accessibles (Greger *et al.* 1998; Lenasi *et al.* 2008). Les sites d'intégration diffèrent chez les sujets elite controllers, et sont plus éloignés de l'hétérochromatine (zone répressive de la transcription), et donc plus accessibles (Jiang *et al.* 2020; Huang *et al.* 2021). L'ADN proviral défectif se situe dans des zones plus accessibles d'euchromatine (zone permissive de la transcription) que l'ADN intact (Lian *et al.* 2021). Les sites d'intégration peuvent évoluer selon les pressions de sélection, avec une sélection des réservoirs intégrés dans des zones moins permissives (Einkauf *et al.* 2022; Lian *et al.* 2023). Les traitements reverseurs de latence reposant sur l'acétylation des histones permet d'augmenter la transcription virale et de modeler le réservoir en le rendant accessible au système immunitaire (Armani-Tourret *et al.* 2024). Le réservoir au stade chronique persistant s'intégrera préférentiellement dans des sites favorisant les fonctions de survie de la cellule (Joy *et al.* 2024), et le site d'intégration aura un impact sur l'activité transcriptionnelle du provirus intégré (Teixeira *et al.* 2024).

## **Facteurs de transcription cellulaire**

Nécessaires à la transcription du VIH, ces facteurs de transcription tels que NFκB, NFAT, SP1 peuvent en cas d'exclusion du noyau des LT CD4 infectés empêcher cette transcription (Nabel & Baltimore 1987; Böhnlein *et al.* 1988).

## **Epigénétique**

L'organisation de la chromatine autour du promoteur du VIH-1 (dépendante de la méthylation de l'ADN notamment) dans la région 5'-LTR peut empêcher l'accès des facteurs de transcription (Van Lint *et al.* 1996; Blazkova *et al.* 2009).

## **Protéine Tat**

Protéine transactivatrice, elle permet de recruter les facteurs de l'hôte pour promouvoir la transcription virale. Si Tat ou les complexes protéiques associés ne sont pas exprimés, il ne peut y avoir de transcription virale (Zhu *et al.* 1997; Peterlin & Price 2006).

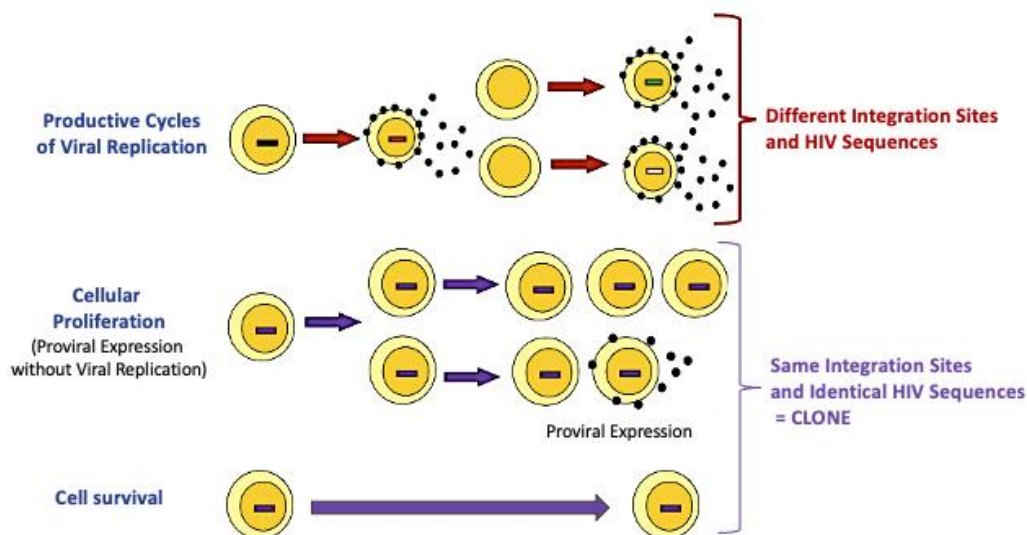
## **microRNA et RNA interférences**

Les miRNA peuvent réguler l'épigénétique en induisant par exemple une méthylation dans une région promotrice et diminuer l'expression de protéines virales (Huang *et al.* 2007). Ils peuvent également bloquer la traduction de protéines virales telle que Tat (Bennasser *et al.* 2005).

Pour éliminer les cellules réservoirs latentes, la stratégie dite du « shock and kill » vise à réactiver les cellules infectées ainsi que la réactivation de l'activité transcriptomique virale afin qu'elles puissent être ciblées par la réponse immunitaire ou éliminées par effet cytopathogène direct du virus. Cette stratégie doit néanmoins être associée à la stimulation d'une réponse immunitaire cellulaire ou humorale spécifique anti-VIH-1 avant la réactivation du VIH-1 latent (Shan *et al.* 2012).

## 2. Survie et prolifération cellulaire

L'ADN proviral peut persister dans des cellules à longue durée de vie, en particulier des cellules mémoires, quiescentes, ou en réplication cellulaire, permettant une prolifération virale passive par division cellulaire itérative. Cette réplication cellulaire peut être homéostatique ou secondaire à une stimulation antigénique. Elle multiplie à la fois les **provirus intacts et défectifs**, et joue un rôle majeur dans le maintien des cellules infectées en cours de traitement par antirétroviraux (Cohn *et al.* 2020) (Figure 18). Il a été montré que les provirus inducibles partagent fréquemment des sites d'intégration identique, suggérant une prolifération clonale des cellules hôtes (Wang *et al.* 2018).



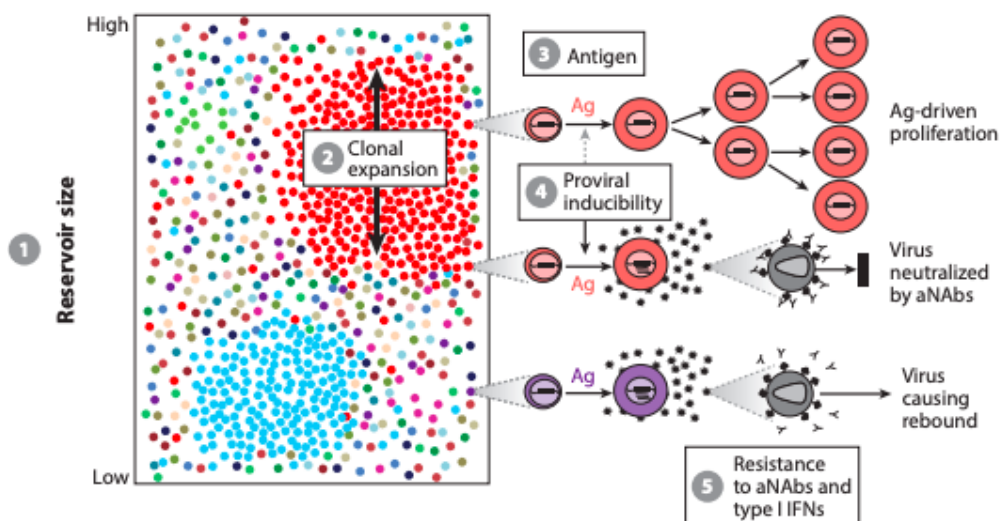
**Figure 18. Mécanismes de persistance des provirus.** Un provirus intact intégré peut se répliquer par division cellulaire et prolifération clonale d'une cellule latente ; par réplication virale productive dans une cellule activée où les virions produits pourront infecter de nouvelles cellules ; et peut persister pendant toute la durée de vie d'une cellule à longue durée de vie. (Adapté de Jacobs *et al.*, 2019)

**L'interleukine-7 (IL-7)** pourrait être un médiateur important de la division homéostatique des cellules hôtes du VIH-1 au repos (Chomont *et al.* 2009; Vandergeeten *et al.* 2013).

Les **stimuli antigéniques** induisant la prolifération des cellules hôtes sont nombreux. Dans le cadre de l'infection par le VIH-1, on observe notamment une augmentation des translocations microbiennes qui peuvent participer à l'activation des cellules infectées (Brenchley *et al.* 2006; Marchetti *et al.* 2013). Les coinfections virales par le cytomégalovirus (CMV) ou l'Epstein-Barr

virus (EBV) pourraient également être responsable d'une part importante de l'activation chronique de ces cellules réservoir (Simonetti *et al.* 2021).

Les cellules infectées en provirus intact parviennent également à échapper au système immunitaire, avec des profils phénotypiques de résistance à la réponse cytotoxique des LT CD8 et NK, notamment avec l'expression de checkpoints immunitaire ou de marqueurs de régulation négative de la réponse immunitaire ; tout en exprimant des marqueurs de survies cellulaires (Sun *et al.* 2023). Les clones semblant être responsable du rebond viral en cas d'arrêt thérapeutique sont généralement des **clones minoritaires**, difficilement détectables (Salantes *et al.* 2018; Mendoza *et al.* 2018). L'expansion clonale des LT CD4 hôtes ne semble pas être en lien avec la capacité du virus à être sélectionné dans le rebond viral. Cette sélection est probablement davantage en lien avec la réponse immunitaire de l'hôte (Siliciano & Siliciano 2022). La résistance aux anticorps neutralisant de l'organisme infecté pour être un facteur de sélection du clone qui sera à l'origine du rebond viral (Bertagnolli *et al.* 2020) (Figure 19).



**Figure 19. Facteurs pouvant affecter la durée avant rebond viral.** (1) La taille du réservoir : chaque couleur représente une lignée clonale distincte de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> infectés. (2) La composition du réservoir : clones majoritaires de T CD4<sup>+</sup> qui ont proliféré suite à une exposition antigénique (3). (4) Le provirus inducible ne représente qu'une minorité des provirus totaux ; une rencontre avec un Ag n'induit pas forcément une induction de réplication virale. Lorsque celle-ci est induite, elle peut provoquer un rebond viral si les virus ne sont pas neutralisés par les anticorps neutralisants (bNAbs) ou par la réponse immunitaire (IFN de type I) (5) (Siliciano & Siliciano 2022).

### 3. Réplication virale résiduelle

La question de la **réplication virale résiduelle** productive sous traitement antirétroviral chronique reste débattue. L'évolution attendue de la quasi-espèce virale qui devrait théoriquement accompagner cette réplication résiduelle n'est pas toujours retrouvée (Persaud *et al.* 2004; Bailey *et al.* 2006), bien qu'il persiste une activité de reverse transcriptase (Zack *et al.* 1990). Par ailleurs, l'évolution des quasi-espèces, lorsqu'elle est retrouvée, pourrait également être en lien avec des mécanismes distincts de persistance du réservoir précédemment décrite (Rosenbloom *et al.* 2017). Il n'est pas non plus obtenue de diminution de taille du réservoir malgré l'intensification du traitement (Dinosa *et al.* 2009; Gandhi *et al.* 2010; Yukl *et al.* 2010).

Néanmoins, parmi les sujets présentant une persistance de la réplication virale, une diminution des concentrations d'ARV tissulaires a pu être rapporté (Fletcher *et al.* 2014). Celle-ci n'est cependant pas souvent suivie d'une acquisition de résistance au traitement, qui serait attendu en cas d'exposition infra-thérapeutique. Une réactivation des cellules hôtes faisant suite à une phase de latence par exposition à un antigène pourrait être le mécanisme impliqué, et de nombreux pathogènes pourraient être impliqués (Shen & Siliciano 2008).

Si une réplication résiduelle issue de provirus intact n'est pas exclue dans certaines situations, elle pourrait être liée en revanche à des productions de particules virales issues de provirus défectifs, notamment en 5'-leader (White *et al.* 2023; Mohammadi *et al.* 2023).

### III. CELLULES EFFECTRICES, REPONSE IMMUNITAIRE ET INFLAMMATION AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1

Au cours de la primo-infection par le VIH-1, le virus traverse dans la plupart des cas une **barrière muqueuse** afin de rejoindre la circulation systémique. Pendant une dizaine de jours, celui-ci va donc se répliquer localement au niveau du site de transmission, et rejoindre les tissus lymphoïdes locaux. Cette barrière muqueuse met en jeu une première réponse immunitaire localement, qui sera une réponse **immunitaire innée** permettant de lutter contre les infections virales de façon non spécifique. La réponse immunitaire innée permettra la mise en jeu de fonctions antivirales directes, mais également de favoriser le recrutement et l'activation d'autres cellules immunitaires par la production de cytokines pro-inflammatoires, de chimiokines, et par des fonctions de première ligne telle que la **phagocytose** ainsi que la **présentation d'antigènes**.

La réponse immunitaire secondairement recrutée sera davantage spécifique du VIH-1 et sera la **réponse immunitaire adaptative**. On distingue une **réponse immunitaire cellulaire**, médiée par des **cellules effectrices**, avec des propriétés antivirales directes, et complétée par des cellules immunitaires aux fonctions variées permettant la **régulation** de cette réponse cellulaire ; d'une réponse immunitaire humorale, médiée par des anticorps.

#### A. REPONSE IMMUNITAIRE CELLULAIRE EFFECTRICE

La réponse immunitaire effectrice spécifique du VIH-1 nécessite d'être préalablement activée par des antigènes viraux, présentés soit par le HLA de classe I des cellules infectées, soit par le HLA de classe II des cellules présentatrices d'antigènes. Le délai de sa mise en place est donc plus long que celle de la réponse immunitaire innée. Par ailleurs, le VIH-1 ciblant les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et entraînant leur déplétion, la mise en place de la réponse immunitaire anti-VIH-1 est directement impactée par la pathogénicité du virus et la perte de la fonction auxiliaire des LT CD4. Cette réponse immunitaire anti-VIH-1 est notamment médiée de façon majeure par les **lymphocytes T CD8<sup>+</sup>**, et semble particulièrement importante chez les sujets dit « controllers » (Sáez-Cirión *et al.* 2007). L'activation et la fonctionnalité des NK et des CD4 a également montré son importance dans les cohortes d'individus post-traitement controllers (Etemad *et al.* 2023).

## 1. Lymphocytes $\alpha\beta$ , CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup>

### Lymphocytes T CD8<sup>+</sup>

Ils participent à la réponse immunitaire par des fonctions multiples : effet **cytotoxique** direct par **dégranulation** d'effecteurs (avec une mobilisation de CD107a), production de **cytokines** (exemple : IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  et IL-2) et de **chimiokines** (MIP-1 $\beta$ ). La réponse lymphocytaire T CD8 se met rapidement en place à la suite de la réponse immunitaire innée. Le VIH-1 présente quant à lui différents mécanismes d'**échappement** à cette réponse antivirale spécifique. Des mutations des épitopes du VIH-1 reconnus par les LT CD8 peuvent ainsi empêcher la reconnaissance du virus (Borrow *et al.* 1997). Les LT CD8 cibleront ainsi ensuite des **épitopes invariants** (situés majoritairement dans les protéines Gag, Pol et Nef) de façon plus spécifique, permettant le maintien d'une réponse antivirale efficace (Goonetilleke *et al.* 2009). La déplétion de la réponse lymphocytaire T CD8<sup>+</sup> par un anticorps anti-CD8 $\alpha$  dans un modèle de macaque infecté par le SIV induit une perte de contrôle de l'infection et un rebond de la charge virale ARN et ADN du VIH-1 même sous traitement ARV, illustrant le rôle crucial de cette réponse immunitaire cellulaire spécifique dans le contrôle de l'infection de façon complémentaire au traitement antirétroviral (Cartwright *et al.* 2016). Cette déplétion entraîne également secondairement une baisse des lymphocytes T CD4 sanguins et dans les tissus lymphoïdes (Matano *et al.* 1998). La magnitude de la réponse T CD8 anti-VIH-1 est dépendante de la taille du réservoir viral, avec un réservoir important associé au maintien de T CD8 anti-VIH-1 à courte durée de vie, et un réservoir plus bas associé à des T CD8 anti-VIH-1 plus fonctionnels (Takata *et al.* 2023).

Il a été observé chez des sujets « controllers » une meilleure réponse lymphocytaire T CD8<sup>+</sup> spécifique du VIH-1 de façon qualitative en comparaison à des sujets progressseurs. Les CD8 des « controllers » pourraient notamment produire davantage de TNF $\alpha$  et d'IL-2 que les CD8 des progressseurs (Betts *et al.* 2006). Cette meilleure réponse T CD8<sup>+</sup> chez les « controllers » a été rapporté dans plusieurs études (Sáez-Cirión *et al.* 2007; Hersperger *et al.* 2010). Les diminutions des fonctions des LT CD8 des sujets progressseurs semble principalement liée à la fonction anti-VIH-1, comparativement à des réponses qui restent efficaces avec d'autres infections virales comme le CMV, l'EBV, le virus influenza. Ces fonctions ne sont pas restaurées par le traitement antirétroviral (Betts *et al.* 2006). Parmi les sujets « elite controllers » (EC), les LT CD8 ont montré des fonctions cytotoxiques plus importantes pour détruire les LT CD4 infectées par le VIH-1 que des sujets non-elite controllers ; malgré une production de facteurs solubles similaires, mais pouvant être en lien avec les capacités de

liaison entre les T CD8 et les T CD4 infectés (Migueles *et al.* 2002; Sáez-Cirión *et al.* 2007; Hersperger *et al.* 2010).

La réponse immunitaire des LT CD8 des EC est liée à une **activation lymphocytaire**, avec un phénotype de cellules T CD8<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> significativement plus élevé que chez les personnes non infectées (Hunt *et al.* 2008). Dans le même temps, une sous-population CD38<sup>low</sup> HLA-DR<sup>high</sup> avec un haut potentiel de prolifération et de cytotoxicité après stimulation antigénique a été rapportée. Si cette activation semble favorable chez les sujets EC, elle semble de mauvais pronostic chez des sujets non contrôleurs (Giorgi *et al.* 1993; Hazenberg *et al.* 2003). Cette activation chronique des CD8 contribue donc à une perte de fonctionnalité et de capacité de prolifération, avec un phénotype de sénescence marqué par la perte d'expression de CD27 et de CD28 et l'expression de CD57 (Appay *et al.* 2002). Il existe donc des différences notables en terme de réponse effectrice T CD8 entre des sujets EC et progresseurs, avec une fonctionnalité conservée et un meilleur profil métabolique chez les contrôleurs et un profil d'épuisement plus marqué avec moins de fonctions effectrices chez les progresseurs (Perdomo-Celis *et al.* 2022).

### **Lymphocytes T CD4<sup>+</sup>**

Les lymphocytes T CD4 ont un rôle d'auxiliaires cruciaux dans la mise en place de la réponse immunitaire adaptative. Après une activation par une cellule présentatrice d'antigènes (tels que les cellules dendritiques et macrophages) via leur HLA de classe II, les LT CD4 vont se différencier en sous-types de cellules T auxiliaires (T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub>, T<sub>H17</sub>, T<sub>FH</sub>, T<sub>reg</sub>...) en fonctions des signaux de costimulation de l'environnement (Figure 20) :

**T<sub>H1</sub>** : produisent de l'IFN $\gamma$  et de l'IL-2. Ils vont stimuler la prolifération des cellules T et des NK et favoriser la réponse immunitaire cellulaire.

**T<sub>H2</sub>** : produisent des cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13. Ils stimulent la réponse immunitaire humorale.

**T<sub>H17</sub>** : ils sont principalement impliqués dans la réponse immunitaire des muqueuses.

**T<sub>reg</sub>** : ils assurent un rôle dans la régulation de la réponse immunitaire, limitent la prolifération et l'activation des cellules T (Zhu & Paul 2008).

De part l'altération du nombre et des fonctions des LT CD4 au cours de l'infection par le VIH-1, dans les différents compartiments, leurs capacités de prolifération et de production de cytokines sont également atténuées (McCune 2001). Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> anti-VIH-1 sont

particulièrement touchés et déplétés (Douek *et al.* 2002) et les cellules restantes sont moins fonctionnelles (Day *et al.* 2006).

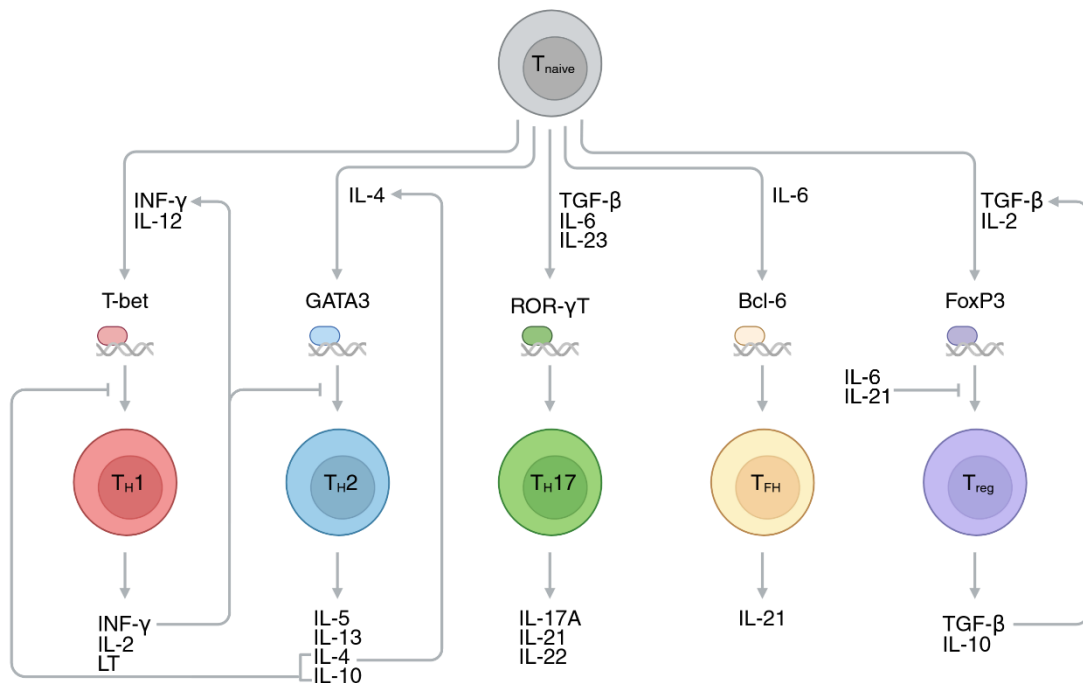


Figure 20. Différenciation des LT CD4 naives en sous-populations effectrices. (Réalisé avec BioRender).

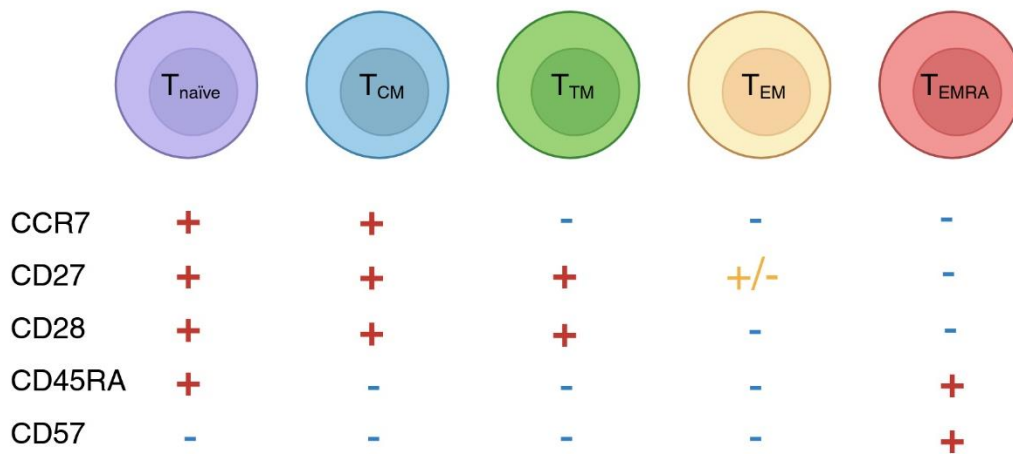
Les LT CD4 infectées sont détruites soit directement par effet cytopathique du virus (Laurent-Crawford *et al.* 1991), soit éliminées par la réponse immunitaire cellulaire effectrice T CD8<sup>+</sup> anti-VIH-1 (Cheyner *et al.* 1994) ou par les cellules NK (Vieillard *et al.* 2005). L'activation cellulaire peut également induire une mort cellulaire par apoptose ou par la pyroptose (Muro-Cacho *et al.* 1995; Doitsh *et al.* 2014). Une majorité de la déplétion des LT CD4 concerne des cellules non infectées, et donc de façon indirecte : le micro-environnement va contribuer à une perte importante de ces cellules par mort cellulaire induite par l'activation (Gougeon & Montagnier 1999; Appay & Sauce 2008).

Par ailleurs, la régénération des lymphocytes par les précurseurs hématopoïétiques semble réduite par l'infection par le VIH-1. (Moses *et al.* 1998). Les thymocytes exprimant CD4 (ou les doubles positives CD4 et CD8) peuvent être ciblés par les VIH-1 de tropisme X4 et la thymopoïèse perturbée par un micro-environnement davantage inflammatoire (Jenkins *et al.* 1998; Ye *et al.* 2004). Cette dysfonction de la thymopoïèse, plus lente, va contribuer à la perte de diversité du répertoire des cellules T CD4 (Ho *et al.* 1995; Autran *et al.* 1997). La mise en place précoce d'un traitement antirétroviral peut prévenir cette perte de fonctionnalité anti-VIH-1 (Rosenberg *et al.* 2000). Chez les sujets EC, les lymphocytes T CD4 sont préservés, avec

des taux et une fonctionnalité conservés. Ils présentent une forte affinité pour la protéine Gag, leur permettant de s'activer et de proliférer même en présence d'une faible quantité de virus, et de stimuler la réponse effectrice T CD8.

### Sous-populations des lymphocytes T

Les lymphocytes T présentent différents niveaux de différenciation, des cellules naïves à différents stades de cellules mémoires en fonction des stimulations antérieures par leur antigène et aux capacités de migration. Si la classification en sous-population bien définie est aujourd'hui discuté en faveur d'un continuum de différenciation, certains marqueurs phénotypiques peuvent faciliter leur classification (Figure 21).

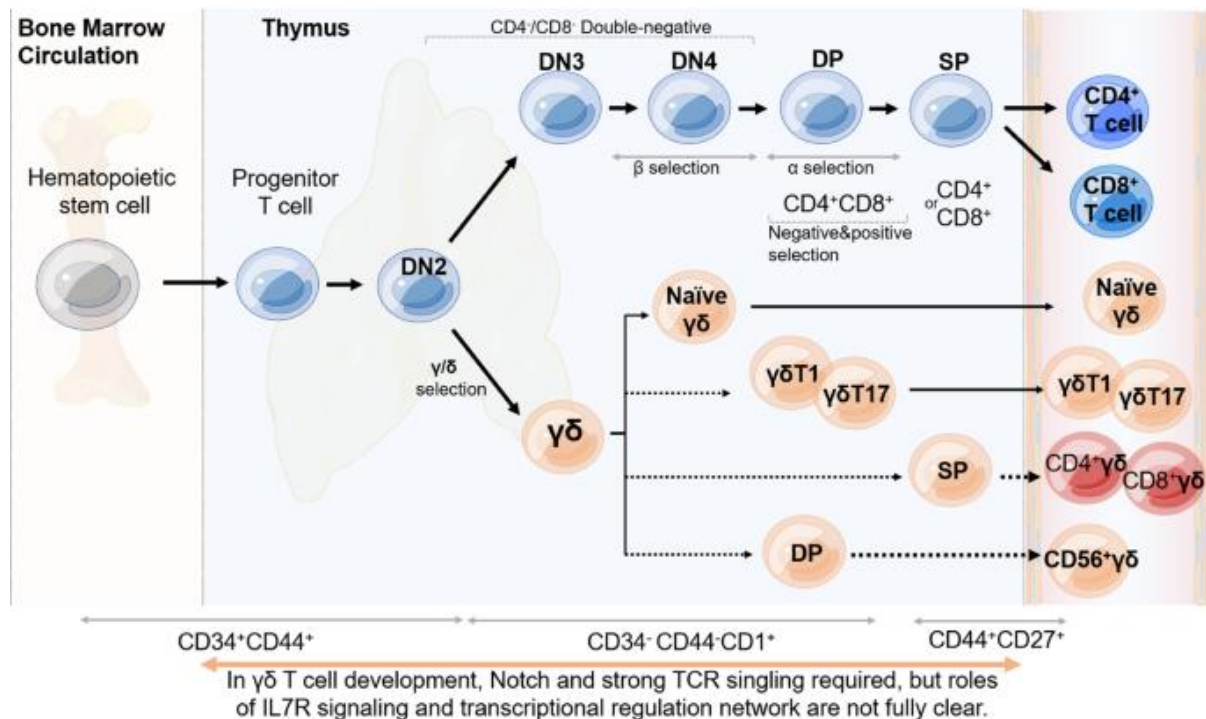


**Figure 21. Marqueurs phénotypiques des sous-populations de LT.** CCR7 est un récepteur de chimiokine permettant de migrer vers les organes lymphoïdes secondaires où l'antigène pourra être présenté. CD27 et CD28 sont des récepteurs de costimulation intervenant dans la transduction et l'amplification du signal de stimulation par le TCR. CD45RA est exprimé par les cellules naïves, puis perdu au profit d'un autre isoforme de CD45 (CD45RO) avant d'être réexprimé au stade d'effectrice mémoire terminale. CD57 est un marqueur de sénescence (réalisé avec BioRender).

Les CD4 de phénotype TCM au cours de l'infection par le VIH-1 semblent garder des fonctions préservées chez les EC, avec une bonne production de cytokines et chimiokines (Potter *et al.* 2007; Owen *et al.* 2010).

## 2. Lymphocytes $\gamma\delta$

Distincts des lymphocytes  $\alpha\beta$  au cours de la différenciation thymique, les **lymphocytes  $\gamma\delta$**  se caractérisent par un TCR constitué de chaînes  $\gamma$  et  $\delta$ , leur permettant de détecter une plus grande variabilité d'antigènes de façon indépendante du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (Nielsen *et al.* 2017; Castro *et al.* 2020; Hu *et al.* 2023). Ces antigènes peuvent être endogène ou exogènes. La sortie de ces cellules dans la circulation peut se faire à des stades différents, leur conférant des propriétés pouvant aller de la réponse immunitaire innée à la réponse immunitaire adaptative (Figure 22). Elles peuvent exprimer ou non des marqueurs CD4 ou CD8, les  $\gamma\delta$  CD8<sup>+</sup> étant les plus fréquents (Van Coppenolle *et al.* 2012). Ces cellules présentent à la fois des capacités de production de cytokines telles que l'IL-17 ou l'IFN- $\gamma$ , ainsi qu'une activité cytotoxique. Les sous-populations de lymphocytes  $\gamma\delta$  sont caractérisées par leur numéro de chaîne  $\delta$ , parmi les 8 segment *TRDV* du locus *TRD*, et par leur chaîne  $\gamma$ , parmi les 6 gènes *TRGV* fonctionnels possibles (2-5, 8 et 9). La population la plus fréquente dans la circulation à l'âge adulte est la population **V $\delta$ <sub>2</sub>**, et plus particulièrement V $\gamma$ 9V $\delta$ 2, mais restant rare en comparaison aux lymphocytes  $\alpha\beta$  (1 à 4%).



**Figure 22. Développement des lymphocytes  $\gamma\delta$ .** Les mécanismes possibles de développement et sélection thymique des lymphocytes  $\gamma\delta$  sont représentés. Dans la circulation, le phénotype des  $\gamma\delta$  inclut au moins des  $\gamma\delta$  naïves, ainsi que d'autres sous-populations ici représentées selon certaines propriétés fonctionnelles (production d'IFN- $\gamma$ ,  $\gamma\delta$ T1 ; ou d'IL-17,  $\gamma\delta$ T17), ou de la présence de marqueurs CD4, très rares, CD8, ou CD56 ( $\gamma\delta$ NKT).

Les LT V $\delta$ 2 reconnaissent classiquement les phosphoantigènes microbiens et tumoraux, dont HMBPP et IPP, via des molécules butyrophilines 2A1 et 3A1 (Karunakaran *et al.* 2020).

Parmi les populations de **lymphocytes intra-épithéliaux** (IEL) présentes dans la muqueuse intestinale, de 15% à 50% sont constituées de lymphocytes T  $\gamma\delta$ , majoritairement représentés par la sous-population **V $\delta$ 1** qui est également la plus importante dans d'autres tissus tel que la peau, le foie et les poumons (Juno & Eriksson 2019). Ils participent notamment à la surveillance et la réparation des tissus épithéliaux (Boismenu & Havran 1994). Les LT V $\delta$ 1 peuvent reconnaître un nombre varié de ligands, incluant les molécules R-phycoerythrin, EphA2, MR1, ainsi que des antigènes lipidiques présentées par CD1c/CD1d. Les LT  $\gamma\delta$  peuvent être activés par la reconnaissance des molécules de stress MICA et MICB, dont l'expression peut être induite à la surface des cellules de l'épithélium intestinal en réponse à des stimuli bactériens, via leur récepteur NKG2D (Biradar *et al.* 2020). Au sein de l'épithélium digestif, des populations de LT V $\delta$ 1 exprimant des Natural Cytotoxic Receptors (NCR) ont été décrites et l'expression de NKp46 était corrélée à des propriétés anti-tumorales (Mikulak *et al.* 2019). Les LT  $\gamma\delta$  expriment également plusieurs NKR, dont le NKR inhibiteur NKG2A, le récepteur activateur NKG2C, ainsi que NKG2D, qui pourraient médier *in vitro* une cytotoxicité des V $\delta$ <sub>1</sub> et V $\delta$ <sub>2</sub> envers des LT CD4<sup>+</sup> infectées par le VIH-1 (Fausther-Bovendo *et al.* 2008; Field *et al.* 2024).

Parmi les IEL intestinaux humains, une sous-population de lymphocytes V $\delta$ 1 semble être majoritaire en condition physiologique, correspondant à la population V $\gamma$ 4<sup>+</sup> V $\delta$ 1, caractérisée notamment par l'expression des NCR NKp44 et NKp46, de l'intégrine CD103, ainsi que par la reconnaissance de molécules butyrophilines-like BTNL3/8 (Mayassi *et al.* 2019; Dart *et al.* 2023). Au cours de la maladie cœliaque ou des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin notamment, la perte de la reconnaissance par les LT V $\delta$ 1 de ces molécules de co-stimulation butyrophilines-like semble entraîner une déplétion peu réversible de cette population au bénéfice de populations de LT V $\delta$ 1 pro-inflammatoires produisant de l'IFN- $\gamma$  et participant à des dommages tissulaires, suggérant un rôle majeur de ces molécules de co-stimulation dans l'intégrité de la réponse immunitaire muqueuse médiée par les lymphocytes  $\gamma\delta$ . Les LT V $\delta$ 1 pro-inflammatoires et n'exprimant pas de NCR semblent stimulés de façon plus spécifique via la reconnaissance d'antigènes comme le gluten dans la maladie cœliaque, et présentent un profil transcriptomique distinct. Les LT V $\delta$ 1 des IEL intestinaux hors contexte inflammatoire semblent au contraire associés à des fonctions « Natural-Killer » pouvant participer à la lutte contre des agents infectieux ou tumoraux, ou de réparation tissulaire (Mayassi *et al.* 2019). Le rétablissement de la population V $\gamma$ 4<sup>+</sup> V $\delta$ 1 semble être de bon pronostic pour l'évolution des maladies inflammatoires de l'intestin (Dart *et al.* 2023). L'expression des différents types de butyrophilines est dépendante d'un tissu donné et d'une

polarisation cytokinique, et les BTNL3/8 sont principalement exprimées par les cellules épithéliales intestinales. Le polymorphisme génétique de ces butyrophilines pourrait prédisposer à des processus inflammatoires intestinaux.

Au-delà de leurs fonctions dans la réponse immunitaire innée, la répartition de ces populations et leurs répertoires peut être fortement influencées par des infections virales bactériennes ou parasitaires, en particulier le CMV, le paludisme, la tuberculose et le VIH. Le large répertoire de LT V $\delta$ 1 présent à la naissance est progressivement resserré à l'âge adulte, de façon plus importante selon les agents pathogènes rencontrés, montrant le rôle des **LT V $\delta$ 1 dans l'immunité adaptative** (Davey *et al.* 2018). La réactivation du CMV semble être particulièrement pourvoyeuse d'expansion clonale des LT  $\gamma\delta$  et de différenciation dans un programme transcriptomique conservé (Déchanet *et al.* 1999; Ravens *et al.* 2017; McMurray *et al.* 2022). Les mêmes clonotypes peuvent être retrouvés entre le sang et les tissus périphériques (Hunter *et al.* 2018). La stimulation répétée à un même pathogène confirme de façon longitudinale l'expansion des même clones en réponse à l'infection (Von Borstel *et al.* 2021; Chan *et al.* 2024). Les LT  $\gamma\delta$  V $\delta$ 2<sup>neg</sup> étaient par ailleurs expandus par l'infection par le CMV et pouvaient sélectivement cibler les cellules infectées par le CMV et limiter sa propagation *in vitro* (Halary *et al.* 2005).

L'action de ces pathogènes sur l'expression des butyrophilines intestinales humaines n'a pour le moment pas été étudié. L'inflammation tissulaire induite par ces infections pourrait néanmoins participer par ce biais au remodelage des populations de LT  $\gamma\delta$  et moduler le type de réponse effectrice anti-infectieuse.

**Au cours de l'infection par le VIH-1**, il est classiquement observé une **augmentation du ratio V $\delta$ 1/V $\delta$ 2** dans les différents compartiments, allant jusqu'à une inversion de ce rapport dans le sang, bien que les causes de ce switch de population de LT  $\gamma\delta$  ne soient pas connues à ce jour (Poles *et al.* 2003). Si le taux de LT  $\gamma\delta$  semble rester constant, il existe une déplétion de la population V $\delta$ 2 et une augmentation de la population V $\delta$ 1 dans le sang qui présente majoritairement un phénotype effecteur mémoire terminal (CD45RA<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>). Cette altération persiste sous traitement antirétroviral et est présente y compris chez les sujets dits « élites contrôleurs » (Olson *et al.* 2018). L'activation des lymphocytes  $\gamma\delta$  semble associée à la charge virale au stade précoce de l'infection par le VIH-1, et l'expression des marqueurs CD16 au sein des LT V $\delta$ 1 et de CD57 parmi les V $\delta$ 2 au cours de cette activation est associée à la production d'anticorps neutralisants large spectre et au niveau de neutralisation à long terme (Griffith *et al.* 2025). Dans le sang au stade chronique, les LT  $\gamma\delta$  semblent présenter plus fréquemment un phénotype d'activation/épuisement lymphocytaire, avec une augmentation de certains récepteurs inhibiteurs tels que TIGIT, TIM-3 et CD160, de façon plus marquée

avec l'âge (Belkina *et al.* 2018). Ces altérations sont accompagnées d'une modification des fonctions effectrices, avec une sécrétion majorée de cytokines pro-inflammatoires IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$  et MIP-1 $\beta$  à la stimulation (Olson *et al.* 2018). La fréquence des populations V $\delta$ 1 et V $\delta$ 2 semble corrélée avec des biomarqueurs d'inflammation dans la circulation (Pihl *et al.* 2024). Les LT V $\delta$ 2, qui semblent déplétés au cours de l'infection par le VIH-1 pourraient même être directement la cible du virus et s'infecter via leurs corécepteurs CXCR4 et CCR5, et une possible expression transitoire de CD4 (Soriano-Sarabia *et al.* 2015). Constituant seulement une faible partie du réservoir viral, il a été retrouvé dans une étude que les LT  $\gamma\delta$  intégreraient néanmoins une fréquence relativement importante d'ADN proviral. Il n'est cependant pas possible d'affirmer que cette éventuelle susceptibilité à une infection directe par le VIH-1 soit la cause de leur déplétion et ces résultats doivent être confirmés.

Les populations lymphocytaires T  $\gamma\delta$  restent encore peu étudiées dans la **muqueuse intestinale** des patients infectés par le VIH-1, et les données actuelles proviennent principalement de biopsies de muqueuse rectale, dont les caractéristiques peuvent différer des autres muqueuses intestinales, et notamment de la muqueuse duodénale (Nilssen & Brandtzaeg 2012). Les différences quantitatives des LT  $\gamma\delta$  dans la muqueuse digestive sont variables selon les études et selon le stade de l'infection. Le pourcentage de LT  $\gamma\delta$  parmi les lymphocytes CD3<sup>+</sup> semble stable ou parfois augmenté, s'accompagnant en général d'une augmentation des LT V $\delta$ 1, bien qu'une étude ait retrouvé une diminution de leur proportion (Poles *et al.* 2003; Cimini *et al.* 2015). Cette étude a également rapporté une baisse des LT V $\delta$ 2 chez les sujets non traités. Si les causes de la modification des LT  $\gamma\delta$  ne sont pas encore connues, certains éléments soulèvent des questions quant à un possible trigger localisé dans la muqueuse intestinale. Chez des sujets « controllers » non traités, la fréquence des LT V $\delta$ 1 pro-inflammatoire était corrélée à l'augmentation de l'ARN viral intestinal et donc à la réplication virale locale (Olson *et al.* 2018). Chez les singes infectés par le SIV, une corrélation entre les translocations microbiennes et l'expansion des LT V $\delta$ 1 a pu être retrouvée (Harris *et al.* 2010). Dans une étude plus récente, il a été montré parmi les LT V $\delta$ 1 intestinaux humains au cours de l'infection par le VIH-1 une fréquence plus importante de cellules cytotoxiques de différenciation terminale, avec un potentiel d'inhibition de la réplication du VIH-1 *in vitro*. Il était également montré la présence d'ADN VIH-1 au sein des LT V $\delta$ 1 CD4<sup>+</sup> intestinaux pouvant suggérer que ces cellules pourraient participer au réservoir viral intestinal, bien que l'expression de CD4 parmi les LT V $\delta$ 1 soit rare et qu'il n'a pas pu être montré la présence d'ADN VIH-1 intact au sein des LT V $\delta$ 1 (Mann *et al.* 2025). Une up-régulation transitoire de l'expression de CD4 en cas d'activation médiée par le TCR des LT V $\delta$ 1 pourrait participer à cette susceptibilité, mais qui reste *in vitro* bien plus faible que celle des LT  $\alpha\beta$ . Il n'a néanmoins

pas clairement été établi si cette susceptibilité des LT  $V\delta_1$  à l'infection par le VIH-1 pourrait réellement contrebalancer le potentiel antiviral de ces cellules.

### 3. Cellules Natural-Killers

Les cellules Natural-Killers, dit « **NK** », participent à la réponse immunitaire innée et possèdent des propriétés antivirales. Ces cellules possèdent des récepteurs activateurs et inhibiteurs capable notamment de reconnaître le HLA de classe I (Lanier 2005). L'équilibre entre signaux activateurs et inhibiteurs vont conditionner la réponse des cellules NK. Ainsi une diminution de l'expression du HLA de classe I, pouvant être induite par certains virus ou cancers pour échapper à l'immunité adaptative, va entraîner une diminution des signaux inhibiteurs. Les principaux récepteurs inhibiteurs incluent les récepteurs **KIRs**, ainsi que le récepteur NKG2A (Schwartz *et al.* 1996; Lanier 2005). Les signaux activateurs regroupent des molécules anormales induites dans des situations de stress cellulaire. Les récepteurs activateurs incluent de nombreux Natural Killer receptors (**NKR**) et Natural Cytotoxic receptors (**NCR**) tels que NKG2C, NKG2D, NKp30, NKp46, NKp44 (Moretta *et al.* 2001). L'activation des lymphocytes NK va pouvoir induire différentes fonctions participant à la destruction de la cellule ciblée. Ils pourront directement lyser une cellule par l'utilisation de leurs nombreux **effecteurs cytotoxiques**, telle que la perforine qui pourra s'assembler pour former des pores dans la membranes cellulaires, ainsi que des granzymes directement cytolytiques et dont la pénétration dans la cellule cible pourra être facilitée par les pores de perforine. Les NK peuvent également produire **des cytokines pro-inflammatoires** qui pourront participer à l'activation des autres cellules immunitaires innées ou adaptatives. L'activation des NK peut également se faire via leur CD16, récepteur des immunoglobulines, entraînant une **cytotoxicité dépendante des anticorps** (ADCC) renforçant l'efficacité de la réponse humorale.

On peut distinguer trois populations de NK en fonction de leur niveau d'expression de CD56 (exprimé de façon commune par tous les NK) et de CD16. Il est à noter que les NK n'expriment pas CD3, marqueur de lymphocytes T participant à la réponse adaptative. On distingue les cellules NK CD16<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> fortement productrices de cytokines, les NK CD16<sup>+</sup> CD56<sup>bright</sup>, et les NK CD16<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup>, stade le plus terminal de leur différenciation avec des fonctions cytotoxiques les plus élevées (Caligiuri 2008). Ce dernier stade est également le plus fréquent dans la circulation. Le niveau de différenciation des NK est spécifique à chaque compartiment tissulaire (Dogra *et al.* 2020).

L'infection chronique par le VIH-1 induit une perte de la fonctionnalité des NK, avec une diminution de leurs capacités cytotoxiques (par baisse de production de perforine et granzymes) ainsi qu'une diminution de leur production cytokinique (par baisse de production d'IFN $\gamma$  et de TNF $\alpha$ ) et une moindre réponse à l'IFN $\alpha$  (Martin & Carrington 2006). La réponse NK, et en particulier la sélection de leurs récepteurs KIRs pourrait favoriser ou restreindre

certaines variantes du VIH-1 au cours de l'infection chronique (Alter *et al.* 2011). L'infection par le VIH-1 induit également une plus grande proportion de NK CD56<sup>dim</sup> à plus forte expression de récepteurs inhibiteurs et moins cytolytiques. Cette population produira également moins de cytokines pro-inflammatoires participant à la mise en place de la réponse antivirale par rapport aux NK CD56<sup>bright</sup> (Mavilio *et al.* 2005). Le marqueur d'activation CD38 parmi les NK CD56<sup>dim</sup> est associé à une évolution immuno-virologique péjorative, avec une augmentation de la charge virale plus importante et une baisse des lymphocytes T CD4 plus marquée (Kuri-Cervantes *et al.* 2014). Un polymorphisme génétique associé à l'éducation des KIRs des cellules NK (HLA-B\*35 et Bw4TTC2) a plus récemment été montré comme caractéristique de meilleures chances de contrôle de l'infection post-traitement dans la cohorte VISCONTI (Essat *et al.* 2025). La protéine virale Vpr du VIH-1 va participer à l'activation des NK en induisant l'expression des protéines ULBP1 et ULBP2 par les cellules infectées, qui sont des ligands du récepteur activateur NKG2D (Ward *et al.* 2009). L'un des mécanismes d'échappement du VIH-1 à cette réponse NK consiste en la dégradation de ces ligands de NKG2D par la protéine virale Nef (Cerboni *et al.* 2007).

Le rôle des cellules NK dans le contrôle de l'infection par le SIV a été étudié en comparant les NK de tissus lymphoïdes entre des infection à SIV de singes vers d'Afrique (SIVagm), capables de contrôler le virus, à l'infection à SIV de macaques (SIVmac), ne pouvant pas contrôler l'infection virale. Il a ainsi été retrouvé que le SIVagm se distinguait du SIVmac en induisant la différenciation de cellules NK terminales NKG2A<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> au niveau ganglionnaire, associés à une importante activité de dégranulation d'effecteurs cytotoxiques et un profil transcriptionnel correspondant à un profil de cellules « NK adaptatives ». Les cellules NK du modèle d'infection à SIVagm pouvaient également reconnaître le CMH-E et cette population présentait une activité augmentée contre les cellules infectées. A l'inverse, dans le modèle SIVmac, la différenciation des NK était bloquée dans les ganglions malgré la régénération de pools de NK au profils diversifiés. L'amélioration de la différenciation terminale des NK en cellules activées hautement cytotoxiques semble donc participer au contrôle de l'infection par le SIV avec une probable meilleure reconnaissance des cellules infectées dans les organes lymphoïdes secondaires, et pourrait être l'un des éléments de la réponse immunitaire différenciant l'infection SIVagm, contrôlée par l'hôte, du SIVmac (Huot *et al.* 2021). Un traitement par IL-21 et IFN $\alpha$  pourrait notamment induire la différenciation des NK dans les tissus et améliorer la clairance virale (Harper *et al.* 2021).

#### 4. NKT

Les lymphocytes invariants **NKT**, cellules extrêmement rares dans la circulation, participent à la fois à la réponse immunitaire innée et adaptative, en produisant rapidement une gamme variée de cytokines une fois activés, avec un potentiel cytotoxique élevé. Ces cellules ont été décrites pour la première fois en 1994, et reconnaissent des antigènes présentés par des molécules CD1 (Bendelac *et al.* 1994). PLZF est un facteur de transcription critique pour la régulation du développement des NKT (Pyaram & Chang 2024). 50% des NKT expriment CD4 et produisent des cytokines  $T_{H1}$  et  $T_{H2}$ , et ces cellules participeraient au soutien des lymphocytes B et auraient des propriétés immunorégulatrices. Les NKT n'exprimant pas CD4 auraient une activité cytolytique plus importante, et une production de cytokines  $T_{H1}$  au premier plan. Au cours de l'infection par le VIH-1, les NKT semblent déplétés au stade de primo-infection, particulièrement celles exprimant CD4 en étant probablement ciblés par le virus, et leur reconstitution sous traitement antirétroviral semble lente (Li & Xu 2008). Par ailleurs, la protéine virale Nef pourrait, en bloquant l'expression de CD1d, réduire l'activation de ces cellules.

#### 5. MAIT

Les cellules T invariantes associées aux muqueuses (**MAIT**) sont des cellules conservées capables de reconnaître des fragments microbiens via leur TCR pouvant se lier à des métabolites dérivées de la voie de biosynthèse de la vitamine B2 présenté par MR1 (Legoux *et al.* 2020). Ils sont classiquement identifiés par l'expression du TCR Va7.2, associée à un haut niveau d'expression de CD161 et de l'IL18R. Dans les tissus, ces cellules peuvent avoir des fonctions effectrices impliquées dans la défense contre des agents infectieux. Ces cellules acquièrent dès le stade thymique leurs fonctions effectrices et la capacité à se localiser dans les tissus. Des données plus récentes ont montré leur rôle dans la protection contre certaines infections virales, et l'impact de leur déficience dans ces infections (Sandberg *et al.* 2023).

Au cours de l'infection par le VIH-1, les MAIT sont activées en phase de primo-infection, avant d'être déplétées au stade chronique (Phetsouphanh *et al.* 2021). L'activation par la stimulation virale *in vitro* semble passer par l'IL-12 et l'IL-18 produite par les monocytes, et permet d'augmenter la production par ces cellules de granzyme B, d'IFN- $\gamma$ , ainsi que de CCL3, 4 et 5 qui peuvent avoir un rôle de facteur de restriction. Cette population pourrait ainsi participer au contrôle de l'infection par le VIH-1 au niveau tissulaire.

## B. AUTRES CELLULES DE LA REPONSE IMMUNITAIRE CELLULAIRE

Outre la réponse immunitaire effectrice, plusieurs sous-population de cellules de la réponse immunitaire innée vont compléter les fonctions des cellules effectrices, incluant les **cellules dendritiques**, **monocytes** et **macrophages**, ainsi que les **polynucléaires neutrophiles**. Ces cellules seront ainsi capable de **phagocytose** et de **présentation d'antigènes**, fonction qui pourra participer à son tour à l'activation de cellules immunitaires adaptatives. Elles pourront également, comme les cellules effectrices, produire des **cytokines** ainsi que des **chimiokines** qui participeront notamment au recrutement et à l'activation des cellules effectrices (Carrington & Alter 2012). Faisant toutes parties de l'immunité innée, elles sont mises en jeu en première ligne de l'infection avant la mise en place de la réponse adaptative sans nécessité de sensibilisation antigénique préalable. La réponse immunitaire adaptative, avec notamment certaines sous populations de lymphocytes auxiliaires T CD4, participent en plus de leurs fonctions effectrices par elle-même, au soutien et à la régulation celle-ci.

*(Les fonctions des lymphocytes T CD4 ont été décrit dans le paragraphe 3.A.1)*

### Cellules dendritiques

On distingue parmi les **DC** plusieurs sous-populations : les **DC plasmacytoïdes** CD123<sup>+</sup> CD11c<sup>-</sup> (pDC), les **DC myéloïdes** CD11c<sup>+</sup> (mDC) et les **cellules de Langerhans** (LCs).

Les pDC vont produire d'importantes quantité d'**IFN de type I**, dont l'IFN- $\alpha$ , - $\beta$  et - $\omega$ , qui participeront à la réponse immunitaire antivirale et activeront les facteurs de restriction intracellulaires (Barber 2001). Elles pourront internaliser le virus par endocytose, où une cascade de signalisation induite par l'activation du TLR7 va aboutir à la maturation des pDC, incluant une augmentation de l'expression de CCR7 qui va participer à l'adressage des pDC matures vers les ganglions lymphatiques où ils pourront présenter les antigènes viraux via leur CMH de classe II (Heil *et al.* 2004; Fonteneau *et al.* 2004). Les pDC peuvent produire de nombreuses chimiokines (CCL3, CCL4, CCL5, IL-8, CXCL10 et CXCL11) et de cytokines (IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23 et IL-27) pro-inflammatoires. Cette activation, chronique dans le cadre de l'infection par le VIH-1, peut devenir délétère et participer à la mort des cellules T (O'Brien *et al.* 2013). L'IFN $\alpha$  peut notamment via la signalisation du récepteur de TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) entraîner l'apoptose de CD4 infectées comme non infectées (Herbeuval *et al.* 2005). Par ailleurs, la signalisation de l'IFN peut induire l'expression de PD-L1, le ligand de PD-1, à la surface des DC et ainsi participer à l'épuisement des cellules T

exprimant PD-1 dans leur environnement (Tsushima *et al.* 2007). L'IL-2 et l'IL-7 pouvaient favoriser la transcription de provirus en phosphorylant le facteur de restriction SAMHD1 (Coiras *et al.* 2016).

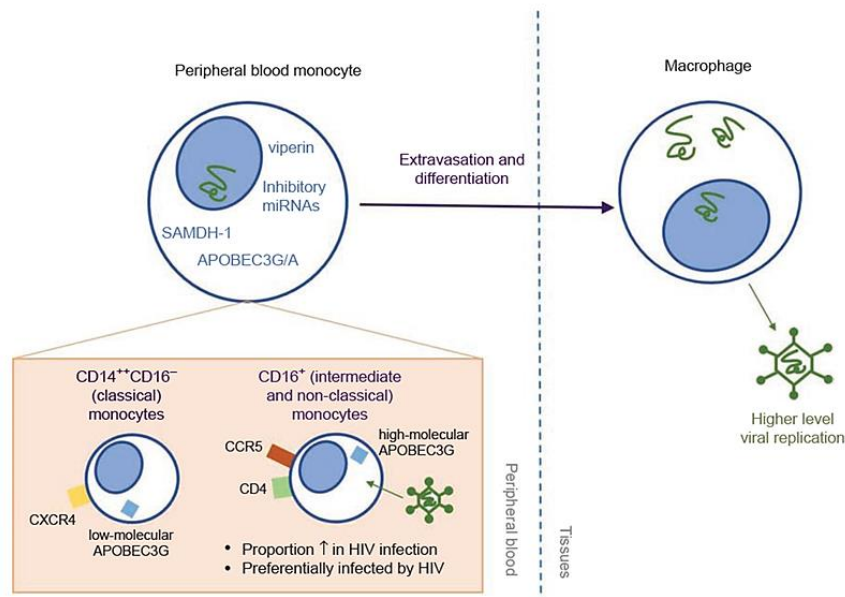
L'infection par le VIH-1 entraîne un défaut de maturation des **mDC**, à la différence des pDC (Granelli-Piperno *et al.* 2004). Elles ne pourront pas produire certaines cytokines comme l'IL-12 qui est nécessaire à la réponse Th1 et NK (Buisson *et al.* 2009). Ce défaut de maturation semble être d'origine multifactorielle (Majumder *et al.* 2005; Blanchet *et al.* 2010; Miller *et al.* 2012).

Les **LCs** (DC épidermiques) jouent un rôle majeur dans la barrière épidermique qui est la première barrière immunologique vis-à-vis de l'environnement (Merad *et al.* 2008). Elles vont ainsi jouer un rôle important dans la présentation des antigènes, mais pourront également être ciblées par le VIH-1 et participer à la dissémination du virus lors de leur migration dans la circulation lymphatique pour transmettre celui-ci aux cellules T (Hladik & McElrath 2008; Ganor *et al.* 2010).

### **Monocytes et macrophages**

Les monocytes/macrophages participent à la réponse immunitaire innée anti-VIH-1 par la production de cytokines pro-inflammatoires, la phagocytose de cellules infectées, et la présentation des antigènes viraux via leur HLA de classe II. Les macrophages sont issus de la différenciation tissulaire des monocytes circulants du sang périphérique. Les monocytes sont caractérisés par l'expression de CD14, et peuvent être classés selon leur niveau d'expression de CD14 et de CD16. Une expression forte de CD14 et l'absence d'expression de CD16 (CD14<sup>++</sup> CD16<sup>-</sup>) caractérise les monocytes dits « **classiques** » qui constituent la majorité des monocytes circulants (80-90%). Ceux exprimant à la fois CD14 et CD16 (CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup>) sont dits « **pro-inflammatoires intermédiaires** » et ceux exprimant fortement CD16 et faiblement CD14 (CD14<sup>low</sup> CD16<sup>++</sup>), minoritaires, sont dits « **non classiques** » (Campbell *et al.* 2014; Boyette *et al.* 2017). L'activation des monocytes par un pathogène ou des cytokines pro-inflammatoires vont conduire à leur localisation tissulaire et leur différenciation en macrophage, selon différents profils de polarisation en fonction des stimuli inducteurs (Jakubzick *et al.* 2017).

Au cours de l'infection par le VIH-1, on observe une augmentation des monocytes de phénotype intermédiaire (CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup>) et non classiques (CD14<sup>low</sup> CD16<sup>++</sup>) (Figure 23).



**Figure 23. Monocytes et macrophages retrouvés chez les individus infectés par le VIH-1.** Au cours de l'infection VIH-1 il est observé une augmentation en monocytes pro-inflammatoires intermédiaires ( $CD14^+ CD16^+$ ) et non-classiques ( $CD14^{low} CD16^{++}$ ), qui vont participer à la physiopathologie de l'infection et sont permissifs au VIH-1. Des niveaux variables d'expression des co-récepteurs du VIH-1, ainsi que des facteurs inhibiteurs intracellulaires, sont responsables des différences d'infection et de réplication du VIH-1 entre les macrophages et les monocytes, ainsi qu'entre les sous-ensembles de monocytes. Les monocytes infectés migrent vers les tissus où ils se différencient en macrophages à longue durée de vie, constituant des réservoirs du VIH-1. (Campbell *et al.* 2014).

En cas de réplication virale persistante, la fréquence des monocytes de profil intermédiaire ( $CD14^+ CD16^+$ ) va augmenter jusqu'à 40%, contre 20% pour les personnes en contrôle virologique (par ARV ou spontané) (Funderburg *et al.* 2012, 2014; Campbell *et al.* 2014). Parmi les monocytes intermédiaire, une population exprimant M-DC8 est également augmentée et produirait une importante quantité de  $TNF-\alpha$  en réponse au LPS reconnu par le TLR4. Ces cellules pourraient être des cellules tissulaires recirculantes (Dutertre *et al.* 2012).

Les monocytes infectés par le VIH-1 vont avoir un profil de cellules activées, qui vont plus facilement migrer comparativement aux cellules non infectées, et donc disséminer le virus, notamment dans le SNC (González-Scarano & Martín-García 2005). Les monocytes peuvent transmettre les virions par transfert de cellules à cellules, notamment vers des cellules T  $CD4^+$  (Duncan *et al.* 2013).

Les monocytes et macrophages, en étant ciblées par le virus, vont donc de façon paradoxale participer à la réponse contre le VIH-1 tout en facilitant sa propagation dans l'organisme.

## Polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles (**PNN**) sont des cellules majeures de la réponse immunitaire innée, notamment dans le **recrutement** et l'**activation** de cellules de la lignée myéloïde qui complètent cette réponse innée. Ils peuvent libérer des **chimiokines** pouvant attirer monocytes et DC sur le site de l'inflammation et participer à la polarisation des macrophages. Ils pourront également directement détruire les pathogènes par une activité de **phagocytose** et de libération de **radicaux oxygénés** (Nathan 2006).

L'infection par le VIH-1 induit une perte de la fonctionnalité des PNN, avec notamment une altération de la fonction de phagocytose persistante sous traitement dans un modèle simien de SIV, augmentant ainsi la susceptibilité à certaines infections bactériennes chez les personnes vivant avec le VIH-1 (Moore *et al.* 1995; Lemaitre *et al.* 2020). Les PNN circulants au cours de l'infection par le VIH-1 sont majoritairement de phénotype immature activés, dont le niveau corrélait avec l'activation des CD8 circulants et pouvait moduler le profil fonctionnel des LT CD4 et CD8 (Lemaitre *et al.* 2022). Des infiltrats de PNN sont également retrouvés dans le compartiment intestinal, sans que leur rôle dans les dommages observés au sein de la muqueuse intestinale au cours de l'infection par le VIH-1 n'ait pu être formellement prouvé (Somsouk *et al.* 2015).

## C. REPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE

La réponse immunitaire **humorale** au cours de l'infection par le VIH-1 ne permet que rarement la production d'anticorps ayant une activité neutralisante suffisante pour participer au contrôle de l'infection. Cette réponse est liée à l'activité des **lymphocytes B** et **plasmocytes**, qui vont produire les immunoglobulines et participer à leur diffusion. L'un des défis auxquels doit faire face cette réponse par anticorps est la grande diversité des quasi-espèces virales présentes chez un même individu, avec une **variabilité des cibles antigéniques**. En revanche, on retrouve chez une partie des individus qualifiés de « post-traitement controllers » une production **d'anticorps neutralisants à large spectre (bNAbs)**. Ces bNAbs sont principalement retrouvés chez des individus exposés à la réplication virale, tandis que ceux traités très précocement semblent n'avoir qu'une faible réponse humorale, suggérant qu'un temps d'exposition est nécessaire pour permettre de générer une réponse efficace (Mouquet 2025). Les principales cibles connues de ces anticorps incluent au sein de l'enveloppe virale des glycanes des boucles V1/V2 et V3, du site de N-glycosylation N332, ainsi que le site de liaison au CD4, d'autres sites toujours au niveau des Gp120-Gp41 et le site externe de Gp160 en proximal de la membrane. Il n'est néanmoins pas encore évident de

savoir à quel point les bNAbs participent isolément au contrôle de l'infection par le VIH-1. Ces bNAbs sont actuellement à l'étude en immunothérapie de l'infection pour réduire les réservoirs viraux et contrôler l'infection, notamment au cours de l'étude « RIO » ayant récemment pu montrer que certains anticorps semblent avoir une efficacité chez une partie des individus pour retarder le rebond viral de façon prolongée (CROI 2025). Outre leur action directe contre le virus, les bNAbs peuvent aussi **stimuler la réponse immunitaire cellulaire et humorale** anti-VIH-1 (Schoofs *et al.* 2016; Niessl *et al.* 2020; Rosás-Umbert *et al.* 2022).

#### D. INFLAMMATION SYSTEMIQUE ET TISSULAIRE

Malgré l'efficacité du traitement ARV pour inhiber la réplication virale et induire une restauration du taux de CD4<sup>+</sup> et ainsi diminuer le risque de développer des complications liées au SIDA, les individus infectés présentent néanmoins un risque accru persistant de morbidité globale non liée au SIDA (maladies cardiovasculaires, neurocognitives, hépatiques, rénales, ostéoporose, cancers) par rapport aux individus non infectés (Neuhaus *et al.* 2010; Freiberg *et al.* 2013; Hoffmann *et al.* 2021). Plusieurs facteurs peuvent contribuer à cela, notamment le **dysfonctionnement immunitaire et l'inflammation chronique**. De nombreux marqueurs inflammatoires sont retrouvés élevés au cours de l'infection par le VIH-1 sous traitement ARV et sont corrélés aux risques de morbidité et de mortalité, en particulier sCD14 (Grund *et al.* 2016).

Comme vu précédemment, l'infection aiguë par le VIH-1 est associée à une libération rapide et intense de cytokines pro-inflammatoires (Stacey *et al.* 2009). Cette « **cascade cytokinique** » présente une cinétique similaire à celle de la charge virale VIH-1 plasmatique. Les premières cytokines libérées sont l'IFN $\alpha$ , l'IL-15, l'IP-10, le TNF $\alpha$ , la MCP-1 suivies de facteurs pro-inflammatoires additionnels avec l'IL-6, l'IL-8, l'IL-18, l'IFN- $\gamma$ , ainsi que de cytokines immuno-régulatrices avec l'IL-10 notamment. La mise en place de cette cascade cytokinique, visant à recruter et induire une réponse immunitaire antivirale efficace, va entraîner secondairement des répercussions délétères. L'activation immunitaire va ainsi favoriser la réplication du VIH-1 au sein des cellules activées, et accélérer la perte des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> (Mueller *et al.* 2008; Stacey *et al.* 2009).

Les cellules T CD8<sup>+</sup> majoritairement, mais également des T CD4<sup>+</sup>, sont activées suite à l'infection, et vont rester dans un état d'activation persistant. Cette **activation immunitaire persistante** peut être liée à plusieurs causes. Premièrement, la **réplication du VIH-1** contribue directement à l'activation des cellules T CD8<sup>+</sup> dirigées contre le VIH-1 (Papagno *et al.* 2004). Deuxièmement, d'autres pathogènes, tels que le **CMV** ou l'**EBV** peuvent contribuer

à l'activation des cellules T dirigées contre ces pathogènes (Papagno *et al.* 2004; Doisne *et al.* 2004; Wittkop *et al.* 2013). De plus, les cellules T CD4<sup>+</sup> non infectées par le VIH-1 peuvent également être activées via les protéines Tat et Nef virales (Wang *et al.* 2000), et via l'interaction entre la Gp120 et CCR5 ou CXCR4 mais sans infection obligatoire de la cellule (Lee *et al.* 2003). Troisièmement, les brèches de l'intégrité de la muqueuse intestinale observées au cours de l'infection par le VIH-1 laissent apparaître des phénomènes de **translocation de produits microbiens** de la flore intestinale dans le compartiment sanguin, contribuant à l'inflammation et l'activation immunitaire systémique chronique (Brenchley *et al.* 2006) (*Ceci est détaillé dans la partie IV*). La translocation microbienne induit notamment l'activation des monocytes/macrophages via l'interaction entre le LPS bactérien et TLR4/CD14. Le rôle clé de l'activation des monocytes/macrophages est souligné par le fait que le marqueur sCD14 est l'un des facteurs indépendants les plus fortement associés à la morbi-mortalité non liée au SIDA.

L'inflammation chronique observée chez les individus infectés par le VIH-1 est à l'origine d'une fibrose des tissus lymphoïdes, notamment via le TGF- $\beta$ , et entraîne ainsi une incapacité de régénération des cellules T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup> (Zeng *et al.* 2012), ce qui soutient encore une fois la nécessité de commencer le plus précocement possible le traitement par ARV. Bien que les ARV réduisent de manière importante ces voies pro-inflammatoires, l'effet est incomplet et une **inflammation résiduelle** persiste chez les individus infectés. En effet, les individus sous ARV présentent une concentration en cytokine pro-inflammatoire IL-6 60% plus élevée que des individus non traités (Neuhaus *et al.* 2010), qui est associée positivement à la mortalité et à des risques élevés de développer des pathologies non-SIDA (Grund *et al.* 2016). La **persistance du virus** dans des organes ou des cellules réservoirs, et la potentielle transcription résiduelle, contribuent également à cette inflammation et activation immunitaire persistante délétère (Figure 24). En outre, l'inflammation persistante pourrait contribuer au maintien du réservoir en induisant directement ou indirectement la prolifération des cellules hébergeant des provirus latents (Massanella *et al.* 2016). Identifier les réservoirs du VIH-1, et limiter l'activation immunitaire et l'inflammation résiduelles sont donc primordiaux pour améliorer l'espérance de vie des individus infectés, même sous traitement ARV efficace. En effet, lorsque la réponse immunitaire est incapable d'éliminer l'antigène étranger, comme c'est le cas dans l'infection VIH-1 du fait de la persistance virale, et qu'il y a une stimulation chronique persistante, les cellules T peuvent entrer dans un état dysfonctionnel appelé épuisement.

Néanmoins, au niveau tissulaire, l'inflammation est en partie contre-balancée par des signaux immunorégulateurs, dont le TGF- $\beta$  est le médiateur majeur. Si ces signaux visent à limiter l'inflammation locale, ils sont également délétères en participant à un affaiblissement de la

réponse immunitaire anti-virale et à la latence des cellules réservoir du VIH-1, et le blocage de cette signalisation dans le modèle du SIV semble bénéfique pour réduire ce réservoir (Kim et al. 2024).

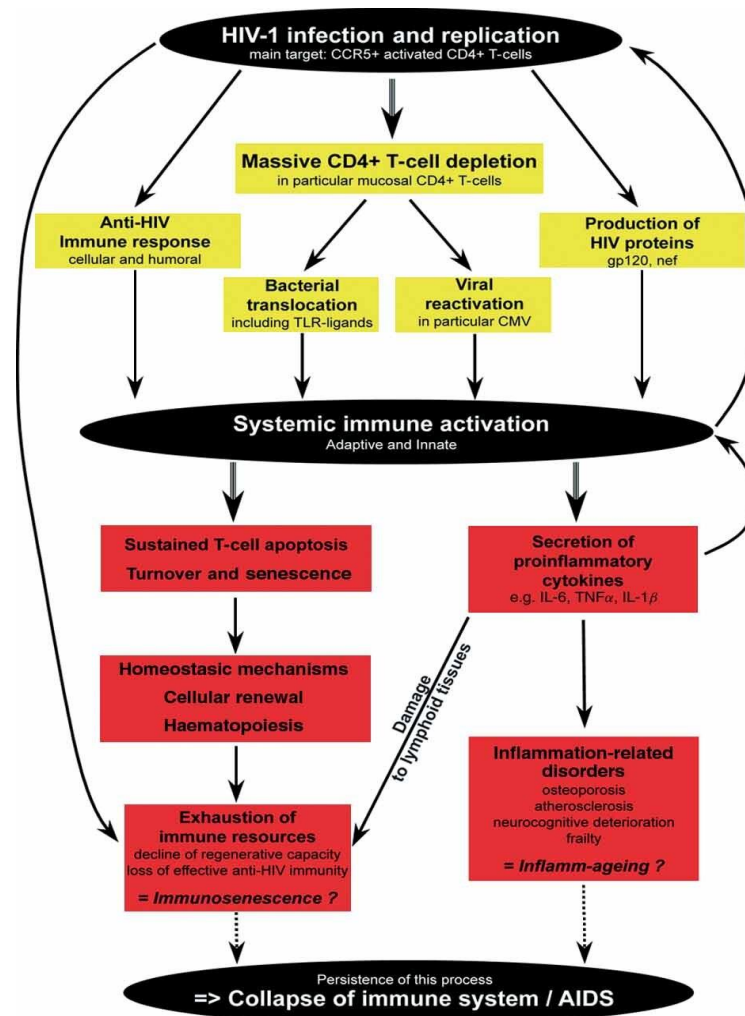


Figure 24. Modèle de la pathogénicité du VIH-1. En jaune : causes de l'activation immunitaire, en rouge : conséquences de l'activation immunitaire (Appay & Sauce 2017)

## E. ACTIVATION ET EPUISEMENT LYMPHOCYTAIRE

L'**activation** des lymphocytes T par leur TCR, développant leurs fonctions effectrices, induit dans le même temps des signaux participant à « **l'épuisement immunitaire** » (ou « **exhaustion** »), c'est-à-dire une perte progressive de la fonctionnalité de ces cellules. Cet épuisement participe à la limitation dans le temps de la réponse immunitaire effectrice, afin d'éviter une activation excessive qui pourrait devenir délétère pour l'organisme. En revanche,

dans le cas des infections virales chroniques, la stimulation antigénique spécifique du virus va stimuler de façon excessive et prolongée le TCR des LT participant à la réponse antivirale, induisant de ce fait un épuisement plus marqué et précoce de ces cellules ; et donc une perte de contrôle de l'infection virale par le système immunitaire favorisant sa persistance (McLane *et al.* 2019).

On décrit plus précisément trois signaux d'activation des LT qui vont participer à ce processus d'épuisement lymphocytaire :

- (1) La **reconnaissance de l'antigène** par le TCR
- (2) La **co-stimulation** du récepteur
- (3) Le signal de **terminaison**

(1) L'activation des LT par leur TCR via le CMH (de classe I ou de classe II par les CPA) va être le premier signal induisant l'épuisement. (2) Le deuxième signal correspond à la co-stimulation via CD28, avec CD80 et CD86 des CPA. Il existe d'autres signaux de costimulation notamment par CD27, OX40, ICOS, CD40L exprimés par les lymphocytes T et leurs ligands qui sont exprimés par les CPA. Cette co-stimulation est une étape obligatoire pour terminer l'activation des LT de façon complète. (3) Le 3<sup>ème</sup> signal est celui qui va permettre de réguler la réponse immunitaire des cellules T, par des molécules inhibitrices appelées « checkpoints » immunitaire. On compte par exemple PD-1, CTLA-4, TIGIT, LAG-3 et TIM-3, qui sont exprimés de façon transitoire à la surface des cellules T (Fenwick *et al.* 2019). La stimulation chronique par l'infection par le VIH-1 va ainsi induire cet état d'épuisement lymphocytaire avec une surexpression progressive de ces récepteurs à la surface des lymphocytes associé à une perte de fonctions effectrices (Figure 25) (McLane *et al.* 2019). Ces « checkpoints » vont induire après liaison à leur ligand présent dans leur microenvironnement une signalisation intracellulaire inhibitrice, réduisant la production de cytokines, la prolifération cellulaire, jusqu'à aboutir à l'apoptose (Wherry *et al.* 2007). Ces checkpoints peuvent également être exprimés par des cellules non T telles que les NK, ou les monocytes (Wing *et al.* 2011; Anderson *et al.* 2016; Holder & Grant 2020).

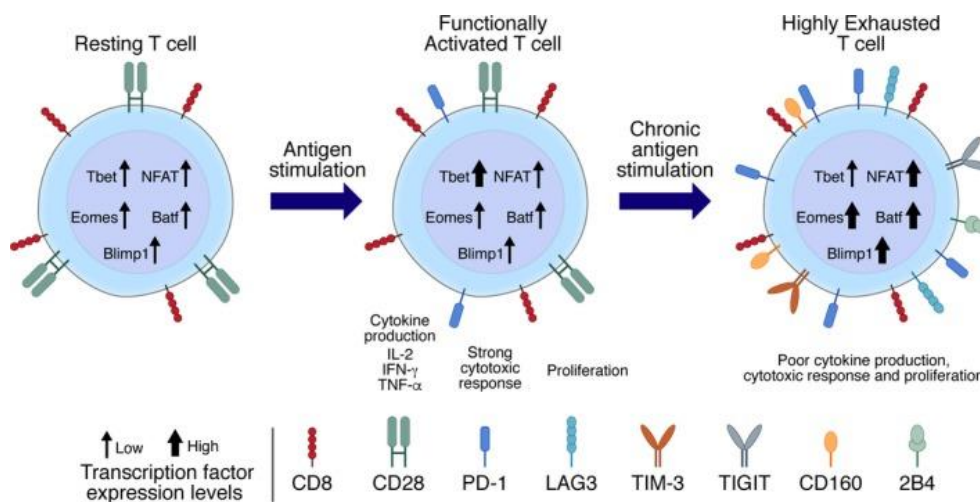
Lorsque l'on compare, au cours de l'infection par le VIH-1, les individus progressifs et les individus non progressifs à long terme (LTNP), on observe que le profil des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> des LTNP se distingue par une moindre expression de PD-1, notamment parmi les T CD8 spécifiques du VIH-1, avec une meilleure réponse fonctionnelle (avec davantage de production de perforine, d'IFN $\gamma$ ) et une meilleure capacité de prolifération que les CD8 PD-1<sup>+</sup> des (Zhang *et al.* 2007). Par ailleurs, chez les individus progressifs, cette plus forte expression de PD-1 était également associée à une moins bonne évolution immuno-

virologique, avec une perte plus marquée des LT CD4 et une augmentation de la charge virale VIH-1 plasmatique. PD-1 est capable d'induire, parmi les lymphocytes T CD8 spécifiques du VIH-1 l'activation du facteur de transcription BATF, qui participe à cette perte de fonction et de prolifération de ces cellules (Quigley *et al.* 2010). Bloquer l'expression de BATF permettrait de restaurer ces propriétés fonctionnelles.

Le facteur de transcription **TCF-1**, associé au potentiel de survie et d'auto-renouvellement cellulaire, est également impacté par l'épuisement immunitaire. L'induction de cet épuisement va progressivement faire perdre l'expression de TCF-1 qui pourra être un marqueur du niveau d'épuisement. Les cellules TCF-1<sup>+</sup> peuvent exprimer le checkpoint PD-1, mais n'expriment pas des marqueurs tels que TIM-3 ou CD101, associé quant à eux à des niveaux plus terminaux d'épuisement. Les cellules TCF-1<sup>-</sup> TIM-3<sup>+</sup> CD101<sup>+</sup> sont marquées par une perte de leur capacité de prolifération et de réponse après stimulation antigénique tandis que les cellules TCF-1<sup>+</sup> PD-1<sup>-</sup> TIM-3<sup>-</sup> CD101<sup>-</sup> sont capable d'auto-renouvellement et d'une réponse cellulaire de type mémoire (Utzschneider *et al.* 2016; Im *et al.* 2016). Elles peuvent également améliorer leur propriétés effectrices après blocage des checkpoints immunitaires, contrairement aux cellules de phénotype d'épuisement terminal. Ainsi, l'activation immunitaire engageant l'expression de checkpoints immunitaire n'est pas nécessairement associé à un état fonctionnel d'épuisement, et les checkpoints immunitaires pourraient être le reflet d'un état de **continuum entre l'activation et l'épuisement cellulaire**. Le type de checkpoints et le niveau d'expression de ceux-ci pourraient être des indications de curseur d'épuisement dans ce continuum.

Les cellules mémoires T CD8 spécifiques du VIH-1 des sujets pouvant contrôler l'infection sont notamment caractérisés par une expression de TCF-1 plus importante (Rutishauser *et al.* 2021). Sous traitement antirétroviral, l'expression des checkpoints PD-1, TIM-3 et LAG-3 sur les cellules T est associée à une moindre probabilité de contrôle virologique post-traitement à l'arrêt de celui-ci (Hurst *et al.* 2015). L'épuisement immunitaire est donc l'un des processus clés dans la perte de contrôle de l'infection par le VIH-1.

L'épuisement des lymphocytes pourrait également être le fruit d'une **dysrégulation métabolique** (McKinney & Smith 2018; Perdomo-Celis *et al.* 2022). La voie de la glycolyse notamment, pouvant être modulée par la signalisation de PI3K, Akt, et mTOR, semble être impactée par la diminution de ces voies de signalisation induites par PD-1 et CTLA-4 (Parry *et al.* 2005; Patsoukis *et al.* 2015; Bengsch *et al.* 2016).



**Figure 25. Phénotype, profils transcriptionnel et fonctionnel des cellules T progressant vers l'épuisement.**

La stimulation antigénique des cellules T au repos conduit à une réponse de cellules T fonctionnellement actives avec une augmentation de l'expression de PD-1 à la surface cellulaire, une expression du facteur de transcription T-bet et une réponse cellulaire fonctionnelle et proliférative. Une stimulation chronique antigénique conduit les cellules T à un état d'épuisement caractérisé par des niveaux élevés d'expression de PD-1 et d'autres inhibiteurs de point de contrôle immunitaire et une dysfonction des cellules T. Les cellules T hautement épuisées ont une expression élevée de facteurs de transcription, y compris NFAT, BATF, Eomes et Blimp-1, avec des niveaux réduits de T-bet (Fenwick *et al.* 2019)

## F. ROLE DE LA CO-INFECTION PAR LE CMV SUR LA REPOSE IMMUNITAIRE

Le **cytomégalo virus** peut être responsable de complications infectieuses au cours de l'infection par le VIH-1 au stade SIDA, avec une réplication virale systémique et des atteintes d'organes (œil, tube digestif, cerveau...). Sous traitement antirétroviral, avec une restauration des CD4 dans le sang au-dessus de 50-100/mm<sup>3</sup>, la réplication du CMV n'est généralement plus détectée sur les prélèvements sanguins, l'infection devenant contrôlée par le système immunitaire. Néanmoins, il a pu être établi que même à un niveau de CD4 restaurés dans le sang, des signes indirects de **réplication résiduelle du CMV**, probablement tissulaire, sont retrouvés (Maidji *et al.* 2017). Cette réplication résiduelle est un facteur persistant d'activation immunitaire et est associée à des biomarqueurs inflammatoires tels que l'IP-10, le TNF-RII, les D-dimères, et à l'expansion des LT CD8 (Freeman *et al.* 2016) ; à la **diminution du ratio CD4/CD8** dans le sang – elle-même associée à une augmentation du risque **cardio-vasculaire** chez les personnes vivant avec le VIH-1 – (Caby *et al.* 2016; Smith *et al.* 2016) ; à l'augmentation de l'incidence d'évènements cardio-vasculaire (Lichtner *et al.* 2015; Chen *et al.* 2020; Vasilieva *et al.* 2020) ; et aux marqueurs de **translocation microbienne** tel que le LPS

et le  $\beta$ -D-glucanne et au marqueur d'altération de l'épithélium intestinal I-FABP (Ramendra *et al.* 2020). Une réplication résiduelle a pu être mise en évidence même chez des individus sous traitement antirétroviral par RNAscope au niveau intestinal, avec un lien retrouvé entre cette réplication et la perte de perméabilité de la barrière épithéliale intestinale (Maidji *et al.* 2017).

Ainsi, les personnes vivant avec le VIH-1 et le CMV ont un niveau d'**immunoglobulines anti-CMV** sériques beaucoup plus élevé que les personnes séropositives pour le CMV et séronégatives pour le VIH-1 (Parrinello *et al.* 2012; Lichtner *et al.* 2015). La réplication du CMV peut être retrouvée dans le sperme, même chez des individus traités de façon chronique avec une restauration des CD4, bien que le nadir de CD4 semble avoir un impact (Gianella *et al.* 2014). Par ailleurs, des cellules spécifiques du CMV sont plus fréquemment retrouvées au cours de l'infection par le VIH, notamment des CD4 de phénotype CX3CR1<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup> (Pachnio *et al.* 2016; Abana *et al.* 2017; Wanjalla *et al.* 2021). La mesure de la réponse spécifique anti-CMV, humorale ou cellulaire, est associée à certaines maladies artérielles au cours de l'infection par le VIH-1 (Hsue *et al.* 2006; Parrinello *et al.* 2012). Les IgG anti-CMV corrélaient également, chez des sujets élites controllers, à la baisse des lymphocytes T CD4 (Isnard *et al.* 2021)

Il est à noter que cette co-infection est fréquente, concerne près de 90% des personnes vivant avec le VIH-1 contre 50% de la population générale, et les facteurs provoquant cette co-infection sont mal connus (Robain *et al.* 1998). Il a été observé que parmi ceux séronégatifs pour le CMV au diagnostic du VIH, l'incidence du CMV était élevée par la suite.

Il a été proposé de traiter la réplication occulte du CMV pour réduire l'incidence des maladies cardio-vasculaires et l'inflammation systémique, avec des études actuellement en cours (Vasilieva *et al.* 2020). Les effets provoqués par la co-infection CMV sur le système immunitaire semblent également favoriser la persistance du VIH, et pourraient faire l'objet d'interventions ciblées dans le futur (Hastie *et al.* 2023).

## IV. LE COMPARTIMENT INTESTINAL AU COURS DE L'INFECTION

### VIIH-1

#### A. ORGANISATION ANATOMIQUE, HISTOLOGIQUE ET FONCTIONNELLE

Le tractus digestif se divise en différentes parties, à partir de l'œsophage, suivi de l'estomac, l'intestin grêle jusqu'au colon. L'intestin englobe une surface de plus de 250m<sup>2</sup> sur plus de 5m de longueur, servant d'interface, riche en échanges, avec le bol alimentaire et le microbiome qui se constitue tout au long de la vie de façon physiologique. L'intestin grêle se divise lui-même en 3 segments : le duodénum, le jéjunum et l'iléon. La paroi intestinale est composée de quatre feuillets aux fonctions et composition distinctes. La **muqueuse** constitue la face la plus interne, surmontée d'un **épithélium** intestinal monostratifié directement au contact du contenu de la lumière de l'intestin. La partie de la muqueuse sous-jacente à l'épithélium constitue la **lamina propria**, tissu conjonctif richement vascularisé et relié à la circulation lymphatique. La muqueuse est soutenue par une sous-muqueuse, une musculature participant aux mouvements de péristaltisme de l'intestin, et d'une séreuse pour sa partie la plus externe.

L'épithélium intestinal est constitué de différents type cellulaires : les **entérocytes**, cellules épithéliales polarisées et principal constituant de la barrière intestinale, les **cellules caliciformes** produisant le mucus, des **cellules endocrines**, les **cellules de Paneth** participant à la sécrétion de médiateurs tels que les peptides antimicrobien, et des cellules immunitaires constituées de **lymphocytes intra-épithéliaux**. La lamina propria sous-jacente est principalement constituée de cellules stromales, d'une circulation vasculaire et lymphatique riche, et de cellules immunitaires plus variées que l'épithélium : lymphocytes T, macrophages, cellules dendritiques, NK, MAIT, ILC, et lymphocytes B/plasmocytes, produisant en particulier des IgA (Mowat 2003) (Figure 26). La lamina propria est ainsi un constituant majeur du **GALT**, ou tissu lymphoïde associé au tube digestif, associé à des structures lymphoïdes telles que les plaques de Peyer.

Au-delà de ces spécificités d'organe, chaque étage intestinal présente ses propres caractéristiques, liées notamment à la composition chimique et microbienne locale, entraînant le système immunitaire de façon distincte, le **colon** étant plus abondant en bactéries que le **duodénum**, et avec un enrichissement en diversité d'espèces, et le duodénum étant plus directement au contact des antigènes alimentaires (Mowat & Agace 2014).

On distingue au sein du GALT des sites dits **inducteurs**, où sera initiée la réponse immunitaire, de sites dits **effecteurs**, constitués de lymphocytes, qui sont dispersés dans l'épithélium et la *lamina propria*.

## 1. Sites inducteurs

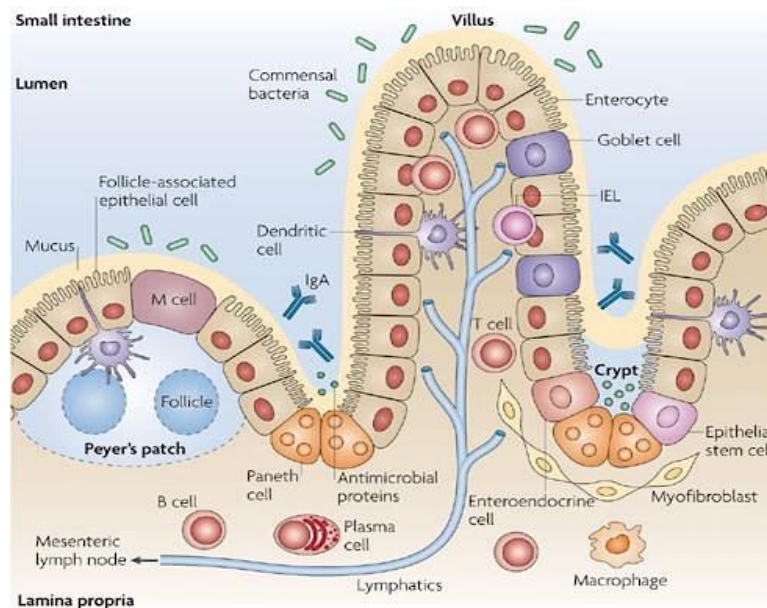
Les sites inducteurs du GALT sont constitués principalement des **plaques de Peyer** (PPs) et des **ganglions lymphatiques mésentériques** (MLNs), ainsi que de **follicules lymphoïdes** qui sont de plus petite taille et formés plus isolément dans la paroi de l'intestin grêle et du colon, avec une apparence proche des plaques de Peyer.

### **Les plaques de Peyer**

Les PPs est un tissu lymphoïde macroscopique formé en agrégat au niveau de la sous-muqueuse dans l'intestin grêle, principalement au niveau de l'iléon. Il s'agit d'un site majeur d'initiation de la réponse immunitaire de la muqueuse. Proche de la structure des ganglions lymphatiques, elle va contenir des follicules de cellules B et des follicules plus petits de cellules T. Un épithélium d'une structure particulière recouvre ces zones lymphoïdes, appelé épithélium associé aux follicules et constitué d'une couche de cellules épithéliales cylindriques et d'une couche appelée dôme sous épithélial (Mowat 2003). Ce dôme sous épithélial se caractérise par des cellules spécialisées appelées cellules M, impliquées de façon majeure dans le transport des antigènes de la lumière intestinale vers les tissus lymphoïdes via des cellules dendritiques (Mabbott *et al.* 2013). Des microorganismes peuvent être transportés de cette façon en restant intacts. On retrouve dans les PPs la grande majorité des types de cellules immunitaires qui pourront participer ainsi à l'induction de la réponse immunitaire.

### **Les ganglions lymphatiques mésentériques**

Les MLNs concentre le plus de ganglions lymphatiques à l'échelle de l'organisme et participent à la filtration de la lymphe intestinale. Les lymphocytes stimulés dans les PPs vont recirculer dans la lymphe et être drainés vers les MLNs pour se différencier avant de migrer dans la circulation sanguine à partir de laquelle ils pourront se localiser dans la muqueuse.



**Figure 26. Anatomie du système immunitaire digestif.** L'épithélium intestinal constitue une barrière physique et chimique séparant le microbiome de la lumière intestinale et la lamina propria. (Abreu 2010)

## 2. De l'induction à la réponse effectrice

La réponse immunitaire tissulaire intestinale dépend ainsi d'un cycle de migration des lymphocytes, initialement naïfs dans la circulation avant d'être localisés dans les sites inducteurs décrits ci-dessus. Après activation dans ces sites inducteurs, les lymphocytes seront polarisés et expansés, pour former des cellules effectrices qui quitteront les tissus lymphoïdes digestifs pour retourner dans la circulation avant d'être redirigés vers la muqueuse intestinale et exercer leurs fonctions.

L'adressage des cellules immunitaires de la circulation vers les sites inducteurs se fait par des molécules d'adhésion endothéliales, incluant des **sélectines** permettant l'adhésion des lymphocytes à l'endothélium des veinules post-capillaires ou *high endothelial venule* (HEV). La L-selectine (CD62L) est exprimée par les LT naïves et va se lier à MAdCAM-1 exprimé par l'endothélium des HEV des plaques de Peyer. Des chimiokines vont ensuite participer à l'attraction des cellules et entraîner leur migration à travers l'endothélium grâce à des liaisons de haute affinités entre les intégrines des lymphocytes et les molécules d'adhésion de l'endothélium (Adams & Eksteen 2006). Ainsi, le récepteur de chimiokine CCR7 exprimé sur les LT naïves va interagir avec les chimiokines CCL19 et CCL21 présentes à la surface des HEVs. L'**intégrine**  $\beta 2$  (LFA-1) va créer des liaisons fortes entre les LT et l'endothélium, permettant alors leur extravasation vers les sites inducteurs (Von Andrian & Mackay 2000).

Les lymphocytes des sites inducteurs vont être activés au contact d'antigènes présentés notamment par les CPA. Cette activation va entraîner la division cellulaire des lymphocytes et une modification des molécules d'adhésion à leur surface pour orienter les cellules vers une migration vers l'intestin ( $\alpha 4\beta 7$ , CCR9, LFA-1,  $\alpha 4\beta 1$ , CD44). Les cellules effectrices vont ainsi recirculer des vaisseaux lymphatiques vers le sang avant de migrer vers la muqueuse intestinale par les liaisons entre  $\alpha 4\beta 7$  et CCR9 exprimés sur les lymphocytes avec MAdCAM-1 exprimés par les cellules endothéliales et CCL25 exprimé sur les cellules épithéliales. On compte différents axes de chimiotactisme impliqués dans le recrutement intestinal : CCR9 plus spécifique de l'intestin grêle, CCR6 pour le recrutement des Th17 et Th1Th17, CCR5, CXCR4, CXCR3, CX3CR1, qui peuvent agir dans des circonstances homéostasiques ou inflammatoires (Streeter *et al.* 1988; Kunkel *et al.* 2000).

Lorsque les lymphocytes effecteurs rencontreront à nouveau l'antigène au niveau de l'intestin, une réponse **anamnestique** avec production notamment de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- $\gamma$ , l'IL-17, le TNF- $\alpha$ , ainsi que la lymphotoxine- $\alpha$  et l'IL-2 sera déclenché. Ces cytokines pro-inflammatoires pourront agir sur les cellules endothéliales pour accroître l'expression des molécules d'adhésion et améliorer le recrutement des cellules immunitaires vers l'intestin (Von Andrian & Mempel 2003; Kobozev *et al.* 2010).

### 3. Les sites effecteurs

Les lymphocytes des sites effecteurs du GALT sont disséminés dans l'épithélium intestinal (**lymphocytes intra-épithéliaux**) et dans la **lamina propria** afin de protéger la barrière intestinale et s'assurer de son intégrité.

#### **La lamina propria**

Les lymphocytes de la **lamina propria** sont principalement des lymphocytes **T effecteurs mémoires CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>** ainsi que des **plasmocytes** sécréteurs d'IgA (Nagler-Anderson 2001).

Les plasmocytes sécréteurs d'IgA constituent la majeure partie des cellules B de la **lamina propria**. Les IgA sont les immunoglobulines les plus fréquemment produites dans le tissu intestinal. Elles peuvent se lier à leur cible par des liaisons de haute affinité afin de neutraliser des éléments pathogènes telles que des bactéries invasives ou des toxines ; ou par des

liaisons de basses affinité qui vont participer à éviter les liaisons de bactéries commensales à l'épithélium intestinal (Farstad *et al.* 2000).

Les lymphocytes T ayant migré à partir des sites inducteurs vont résider dans la lamina propria avec un profil de **cellules effectrices mémoires** à longue durée de vie qui vont progressivement s'accumuler. En situation physiologique, les LT CD4 sont les lymphocytes T les plus abondants de la lamina propria, avec un ratio 2:1 par rapport aux CD8. Les LT CD4 de la *lamina propria* sont le plus fréquemment des cellules activées exprimant le récepteur de chimiokine **CCR5** servant de co-récepteur d'entrée pour le virus ainsi que l'intégrine  $\beta 7$ , offrant des conditions avantageuses au virus pour une infection au stade de primo-infection (Lapenta *et al.* 1999; Poles *et al.* 2001; Brenchley *et al.* 2004; Mehandru *et al.* 2004). Les LT CD4 présentent des phénotypes de différenciation divers, avec une production d'IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-17, la présence de T<sub>REG</sub> producteurs d'IL-10 et de type Th3 producteurs de TGF- $\beta$  (Weiner 2001; Mowat & Agace 2014). Le rôle des T<sub>REG</sub> est de contrôler la réponse inflammatoire pour maintenir une **tolérance immunitaire** intestinale notamment aux antigènes environnementaux (Powrie *et al.* 2003). Les lymphocytes Th<sub>17</sub> vont eux participer à la défense à la défense contre des agents pathogènes, principalement bactériens ou fongiques (Ishigame *et al.* 2009). L'équilibre entre intégrité tissulaire et protection contre les agents pathogènes se jouera dans l'équilibre entre les types de réponse des LT CD4. Le TGF- $\beta$  participera à la fois à la différenciation des LT helpers en Th<sub>17</sub> et T<sub>REG</sub>. En présence d'IL-6, la différenciation induite par le TGF- $\beta$  sera en faveur de Th<sub>17</sub>, et en présence de TGF- $\beta$  seul, la différenciation sera en faveur d'un profil T<sub>REG</sub> (Veldhoen *et al.* 2006). L'acide rétinoïque produit par les DC des sites inducteurs de l'intestin renforce l'induction en T<sub>REG</sub> et va inhiber la différenciation en Th<sub>17</sub> médiée par l'IL-6 (Mucida *et al.* 2007).

La *lamina propria* sera le siège de lymphocytes **résidents mémoires** (T<sub>RM</sub>). Ces T<sub>RM</sub> sont caractérisés notamment par l'expression de **CD69**, un marqueur d'activation lymphocytaire précoce qui sera réexprimé au sein des cellules résidentes mémoires (Sathaliyawala *et al.* 2013). CD69 permet de réguler le récepteur de la sphingosine-1 phosphate (S1P) qui participe à la sortie des cellules intestinales de leur compartiment et à leur recirculation (Matloubian *et al.* 2004; Shiow *et al.* 2006). CD69 permet ainsi aux cellules de rester dans le compartiment où les cellules vont rester résidentes. Les T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> sont également caractérisés par l'expression de **CD103** (correspondant à l'intégrine  $\alpha_E\beta_7$ ), qui participe à la rétention tissulaire et qui est peu exprimé par les CD4 (Masopust *et al.* 2006; Thom *et al.* 2015). Les T<sub>RM</sub> présentent des fonctions effectrices accrues comparativement aux autres lymphocytes T, en faisant des acteurs majeurs dans la préservation de l'intégrité de la muqueuse intestinale (Kumar *et al.* 2017).

La *lamina propria* est également le siège de cellules immunitaires innées incluant les **macrophages**, les **DC**, les **cellules lymphoïdes innées** (ILCs), les **polynucléaires** et les **mastocytes**. La muqueuse intestinale va ainsi inclure la majorité des macrophages de l'organisme. Ces derniers vont être indispensables à l'homéostasie de la muqueuse par leurs capacités de phagocytoses et de médiateurs favorisant le maintien, le renouvellement et l'intégrité des cellules épithéliales et de leurs jonctions. Ils participent à la différenciation des LT CD4, notamment en T<sub>REG</sub> par production d'IL-10 (Hadis *et al.* 2011). Des monocytes vont migrer en permanence vers la muqueuse intestinale pour assurer le renouvellement de cette population en se différenciant en macrophages dans le tissu, expliquant l'abondance de ces cellules dans ce compartiment (Bain *et al.* 2014).

### L'épithélium intestinal

L'épithélium intestinal est essentiellement composé de **cellules épithéliales intestinales** dont les **entérocytes** sont les plus abondantes qui sont associés à des **lymphocytes intra-épithéliaux** (IEL). Les IEL représentent un peu plus de 10% des cellules de l'épithélium (Ferguson 1977).

Les IEL sont principalement composées de lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, ainsi que de lymphocytes T non conventionnels  $\gamma\delta^+$ . Les LT  $\gamma\delta$  peuvent compter pour 15 à 50% des IEL, avec une majorité de LT  $\gamma\delta$  V $\delta_1$  (Juno & Eriksson 2019). On peut également compter des lymphocytes NK, moins abondants. Il n'y est généralement pas retrouvé de LT CD4. Les lymphocytes T CD8 des IEL proviennent de sites inducteurs intestinaux. Les IEL présentent un profil oligoclonal lié à des expansions clonales itératives secondaires à l'exposition à certains antigènes (Probert *et al.* 2007).

L'épithélium intestinal est constitué d'entérocytes, de cellules caliciformes et de cellules de Paneth et participe à deux rôles principaux dans le maintien d'un équilibre entre la réponse immunitaire locale et le microbiome intestinal : un rôle de "**ségrégation**" et un rôle de "**médiation**". La ségrégation repose le rôle de **barrière** physique et chimique séparant le microbiome du système immunitaire. La barrière physique est permise par des jonctions serrées qui vont rendre occlusives l'espace entre les cellules épithéliales, le glycocalyx qui recouvre les microvillosités des cellules épithéliales ainsi que le mucus sécrété par les cellules caliciformes qui recouvre la muqueuse intestinale essentiellement au niveau du colon, mais pas ou peu au niveau du grêle (Okumura & Takeda 2017). La barrière chimique repose quant à elle sur des molécules sécrétées, notamment après stimulation par l'IL-17 et l'IL-22 des Th<sub>17</sub> et Th<sub>22</sub> respectivement (Liang *et al.* 2006). Elles ont également un rôle de médiateur en participant activement au passage d'antigènes vers les CPA par les cellules M qui permettront

d'activer efficacement la réponse immunitaire ; et en produisant des cytokines et chimiokines nécessaires au recrutement, au maintien et à l'activation des cellules immunitaires avoisinantes (Okumura & Takeda 2017).

## B. INFECTION CHRONIQUE PAR LE VIH-1 DANS LE COMPARTIMENT INTESTINAL

L'intestin est le siège d'un **réservoir viral intestinal** majeur, entraînant une **réplication résiduelle virale locale**, pouvant correspondre sous traitement antirétroviral à une production de particules virales non infectieuses, mais pouvant participer à **l'activation immunitaire locale et à l'inflammation chronique**. Par ailleurs, les effets directs de l'infection sur la réponse immunitaire, notamment par un effet délétère à long terme même sous traitement par altération quantitative des LT CD4 de la *lamina propria* et par altération fonctionnelle de la réponse immunitaire globale vont **fragiliser la barrière intestinale**, et générer une dysbiose intestinale, participant également à l'inflammation systémique.

### 1. Persistance du virus au niveau intestinal

Le modèle d'infection par le SIV a permis de mettre en évidence la déplétion précoce de lymphocytes T CD4 de la *lamina propria* par rapport aux autres compartiments (Veazey *et al.* 1998). Ceci a également pu être observé par la suite au cours de l'infection par le VIH-1, montrant que le virus va cibler ces LT CD4 intestinaux dès la primo-infection. La richesse en lymphocytes T CD4<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> activés favorisent l'infection virale au stade précoce de la maladie (Brenchley *et al.* 2004). Le traitement antirétroviral ne permet pas de restaurer de façon complète les lymphocytes T CD4 de la lamina propria, malgré que les T CD4 circulants ou au niveau des PPs et MLNs soient restaurés (Guadalupe *et al.* 2003; Mavigner *et al.* 2012). L'initiation d'un traitement à un stade précoce permet d'améliorer la restauration des LT CD4 de la *lamina propria* mais cette déplétion reste incomplète dès que le traitement est initié à partir du stade Fiebig III correspondant à environ 25 jours suivant l'infection, et un western-blot pour le diagnostic du VIH-1 incomplet.

Les lymphocytes T CD4 constituent ainsi un réservoir viral précocement au cours de l'infection et participer à la persistance du VIH-1 au niveau intestinal. Le réservoir viral intestinal est quantitativement plus important (ADN VIH-1) chez les personnes sous ARV par rapport aux PBMC, avec un ratio 5 à 10 fois plus élevé par million de CD4 dans l'intestin par rapport au sang (Chun *et al.* 2008; Mavigner *et al.* 2012; Vellas *et al.* 2024). La quantité d'ADN et d'ARN

VIH-1 peut également varier **en fonction des segments anatomiques** de l'intestin : duodénum, jéjunum, iléon et colon. Une augmentation de l'ADN VIH-1 a été observé dans un gradient allant du duodénum jusqu'au rectum (Yukl *et al.* 2010). Par ailleurs, nous avons pu montrer que ce réservoir intestinal était particulièrement enrichi en ADN proviral intact au niveau du colon, faisant de ce compartiment un site majeur à cibler pour des stratégies visant à éviter le rebond viral à l'arrêt du traitement (Vellas *et al.* 2024). L'intestin renferme près de 50 à 80% des lymphocytes de l'organisme, en faisant donc un siège quantitatif de cellules potentiellement infectés prépondérant. L'effet du type de traitement antirétroviral sur la modulation de ce réservoir viral intestinal, sans montrer de différence majeure. Le switch d'un traitement depuis un inhibiteur de protéase boosté au ritonavir (IP/r) vers le dolutégravir (DTG, inhibiteur d'intégrase) ; ou la comparaison de personnes recevant du raltégravir (RAL) par rapport à des personnes recevant du DTG n'a ainsi pas été associé à des modifications dans l'ADN ou ARN viral VIH-1 au niveau intestinal ou sanguin (Weber *et al.* 2018; Morón-López *et al.* 2019), et ce alors que les concentrations en DTG dans les tissus rectaux ont été estimés à 17 % de celles dans le plasma (Greener *et al.* 2013) et que le RAL a en comparaison des concentrations dans le tractus gastro-intestinal 600 fois plus élevées que dans le plasma (Patterson *et al.* 2013). La persistance du réservoir viral intestinal, tel que décrit précédemment, pourrait être lié à une **réplication virale résiduelle** (Lorenzo-Redondo *et al.* 2016) et/ou à une **prolifération clonale des lymphocytes hébergeant des provirus latents** (Chomont *et al.* 2009).

L'étude de la compartimentalisation du réservoir intestinal du VIH-1, soit le reflet de sa capacité à migrer et interagir avec d'autres compartiments siège de réservoir, a montré l'absence d'évolution significative des quasi-espèces de la muqueuse recto-sigmoïdienne avant traitement et près de 2 ans après, suggérant l'absence de réplication *de novo* du virus à ce niveau (Evering *et al.* 2012). Néanmoins, si une compartimentalisation a pu être montrée au début de l'infection entre le sang et l'intestin, celle-ci semble disparaître au stade chronique sous traitement, avec des séquences communes dans le duodénum et le sang (Rozera *et al.* 2014). Il est à noter que cette compartimentalisation pourrait dépendre de l'étage intestinal étudié. Dans notre étude EP61 GALT, une compartimentation entre intestin et sang et entre les différents segments intestinaux d'un même patient était retrouvée chez environ un tiers des patients sous ARV (Vellas *et al.* 2024).

La persistance du VIH-1 au niveau intestinal pourrait être liée à d'autres cellules réservoirs que les LT CD4, telles que les **cellules myéloïdes intestinales** (Josefsson *et al.* 2013; Yukl *et al.* 2014). Nous avons pu montrer que ce réservoir était quantitativement faible, pouvait inclure du provirus intact et pouvait avoir une compartimentalisation dans les macrophages, bien qu'il ne semble pas dépendre d'un tropisme particulier pour les cellules myéloïdes (Vellas

*et al.* 2024). Le mécanisme d'entrée de ces virus dans les cellules myéloïdes intestinales n'est donc pas clairement élucidé. Les macrophages intestinaux n'auraient que des bas niveaux des récepteurs d'entrée CD4 et CCR5 et une faible propension à s'activer par la voie NFκB, les rendant moins sensibles à l'infection (Shen *et al.* 2011). Une contamination au stade de monocyte avant une migration dans le compartiment intestinal et la différenciation en macrophage est également envisageable (Shen *et al.* 2009; Brown & Mattapallil 2014).

## 2. Impact du VIH-1 sur les sous-populations lymphocytaires T CD4<sup>+</sup> du compartiment intestinal

La déplétion en lymphocytes T CD4 dans la muqueuse intestinale cible particulièrement les **lymphocytes Th<sub>17</sub>**, importants dans leur rôle pour la défense de la muqueuse contre les infections bactériennes et fongiques (Brenchley *et al.* 2006, 2008). Cette déplétion de LT CD4 Th<sub>17</sub> a été observé à différents étages de l'intestin, alors que les **Th<sub>1</sub>** semblent préservés, avec une augmentation de leur proportion ainsi que de celle des LT CD8 effecteurs. Les Th1 et lymphocytes T CD8 effecteurs mémoires, producteurs d'IFNγ sont recrutés dans la muqueuse intestinale entre autre par l'axe de chimiotactisme du récepteur **CXCR3** exprimé par ces cellules en réponse à ses ligands CXCL9/10/11 dont la production est induite par l'infection virale et/ou les translocations du microbiote intestinal observé au cours de l'infection par le VIH-1 (Loiseau *et al.* 2019).

Au contraire, l'axe de chimiotactisme CCR6/CCL20, participant au recrutement des Th<sub>17</sub>, serait dysfonctionnel au cours de l'infection par le VIH-1, avec une diminution de l'expression de CCL20, contribuant ainsi au défaut de restauration de ces cellules dans la muqueuse intestinale. Cette diminution d'expression de CCL20 pourrait être induite par les T<sub>REG</sub>, augmentés dans la muqueuse intestinale, entraînant un déséquilibre entre Th<sub>17</sub>/T<sub>REG</sub> dans la *lamina propria* (Loiseau *et al.* 2016). Par opposition, les lymphocytes Th<sub>22</sub>, également déplétés au cours de la primo-infection, et également recrutés par cet axe de chimiotactisme, pourront être complètement restaurés au stade chronique sous ARV par l'utilisation d'un axe de chimiotactisme alternatif CCR10/CCL28 (Kök *et al.* 2015; Nayrac *et al.* 2021).

Il est à noter que lors de l'infection par le SIV, la déplétion en Th<sub>17</sub> n'est retrouvée que parmi les espèces de singe qui peuvent évoluer vers le stade SIDA, tandis que les Th<sub>17</sub> intestinaux des singes contrôlant l'infection étaient préservés (Raffatellu *et al.* 2008; Favre *et al.* 2009).

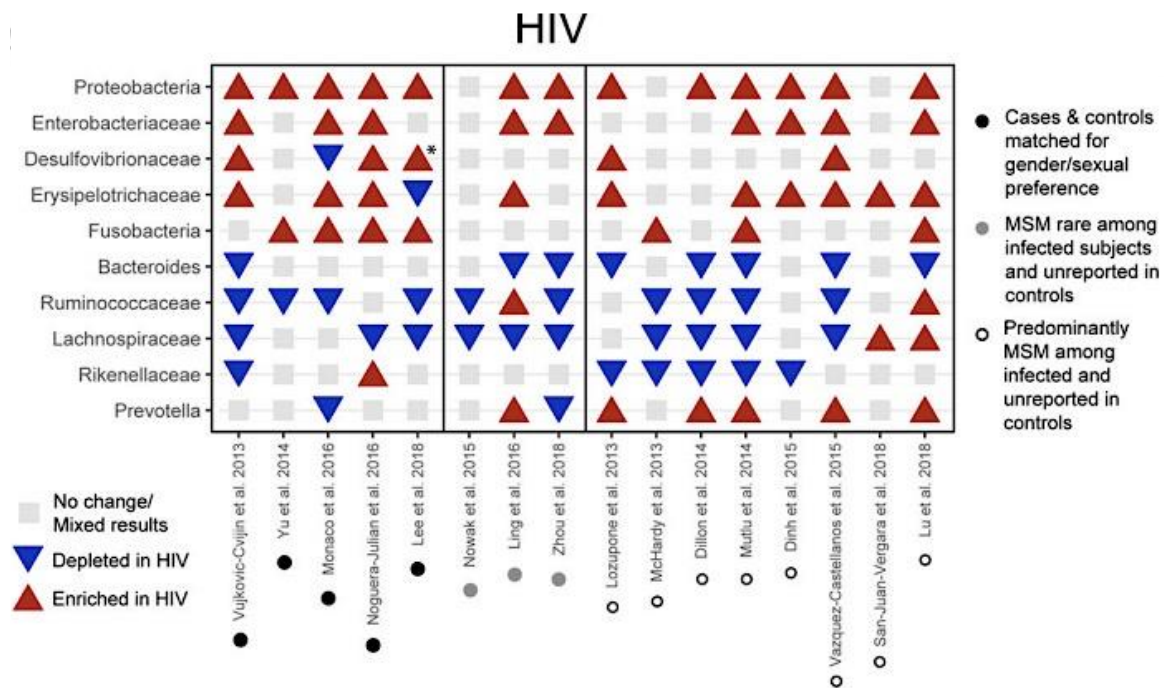
La persistance d'une activation induite par le réservoir du VIH-1, et les signaux d'épuisement cellulaire, pourraient également contribuer au défaut de reconstitution des lymphocytes T CD4.

### 3. Rupture de l'intégrité de la barrière muqueuse et dysbiose intestinale au cours de l'infection par le VIH-1

L'infection chronique par le VIH-1 entraîne, notamment par la fragilisation de la barrière muqueuse intestinale, une **dysbiose intestinale** et une **translocation** microbienne à travers la muqueuse vers la circulation systémique. Ces translocations et l'activation immunitaire intestinale chronique ne sont pas retrouvées chez les singes Sooty Mangabeys infectés par le SIV. Ces derniers n'évoluent pas vers le stade SIDA, suggérant un impact de cette inflammation intestinale sur l'évolution de la maladie (Brenchley *et al.* 2006).

Au niveau tissulaire, il a été observé une atrophie des villosités de la muqueuse intestinale et une hyperplasie des cryptes chez les personnes vivant avec le VIH-1 non traités (Epple *et al.* 2009). La **rupture de l'intégrité de la barrière intestinale** est en grande partie liée à un phénomène d'apoptose touchant les cellules épithéliales intestinales, survenant précocement au cours de l'infection (Li *et al.* 2008). Il existe également une altération des jonctions serrées par modification d'expression de certaines protéines (claudines 1, 2, 4, occludine, ZO-1), qui pourrait être liée à la sécrétion de TNF $\alpha$  par les cellules épithéliales lors du contact avec la Gp120 virale (Nazli *et al.* 2010). Cette perte d'intégrité facilite la translocation de bactéries et particules bactériennes à travers la muqueuse, comme le LPS.

La **dysbiose intestinale** observée au cours de l'infection par le VIH-1 se caractérise notamment par une diminution de la diversité bactérienne ; une diminution du genre *Bacteroides*, des familles Lachnospiraceae, Rikenellaceae, et du phylum Bacillota (ancien Firmicutes) (notamment *Lactobacillus* sp), une augmentation des *Prevotella*, des Pseudomonadota (ancien Proteobacteria) (*Enterobacteriaceae*), et des Fusobacteriota (ancien Fusobacteria) (Figure 27) (Lozupone *et al.* 2013; Dillon *et al.* 2014; Dinh *et al.* 2015; Noguera-Julian *et al.* 2016; Lee *et al.* 2018; Vujkovic-Cvijin & Somsouk 2019). La plupart de ces études proviennent d'analyses du microbiote rectal ou issue de selles, limitant ces paramètres à certains étages intestinaux, d'autant plus que la composition du microbiote va également varier de façon physiologique selon le segment du tractus intestinal. Cette dysbiose persiste au cours de l'infection chronique et n'est pas corrigée par le traitement antirétroviral. Des similarités ont pu être observées au cours de maladies inflammatoires chroniques des intestins telle que la maladie de Crohn (Lozupone *et al.* 2013).



**Figure 27. Profils du microbiote intestinal observés chez les individus vivant avec le VIH-1 par rapport aux individus non infectés.** Recensement des différentes études comparant les profils du microbiote (axe x). En bleu sont indiqués les clades appauvris, en rouge les clades enrichis, et en gris ceux inchangés chez les individus infectés comparés aux individus non infectés. (Vujkovic-Cvijin & Somsouk 2019)

Cette dysbiose au cours de l'infection par le VIH-1 est multifactorielle :

D'une part, la perte de fonctionnalité du système immunitaire inné et adaptatif induite par l'infection par le VIH-1 réduisent les capacités de l'organisme à maintenir un équilibre avec le microbiote commensal. L'augmentation de la tolérance induite par les  $T_{REG}$  au détriment des moyens de défense des  $Th_{17}$  favorise une plus grande perméabilité aux infections bactériennes. Certaines espèces bactériennes peuvent accentuer le déséquilibre  $T_{REG}/Th_{17}$  par l'induction de la production de dérivés de la kynurénine issus du métabolisme du tryptophane par IDO-1 qui vont agir directement sur les lymphocytes T (Favre *et al.* 2010; Vujkovic-Cvijin *et al.* 2013).

On observe également une sélection de bactéries tolérantes à l'inflammation sous-jacente, telles que certains Enterobacteriaceae, famille composée de nombreuses bactéries pro-inflammatoires, flagellés et mobiles, capables de translocation (*E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*...). Chaque espèce bactérienne est capable d'induire un type de réponse immunitaire spécifique, en induisant des signaux variables selon les TLR activés. Ceci va secondairement perturber la régulation des signaux de costimulation ou de co-inhibition (Spindler *et al.* 2022; Park *et al.* 2023). De plus, les bactéries pro-inflammatoires pourraient utiliser les espèces réactives de l'oxygène générées au cours de l'inflammation pour leur

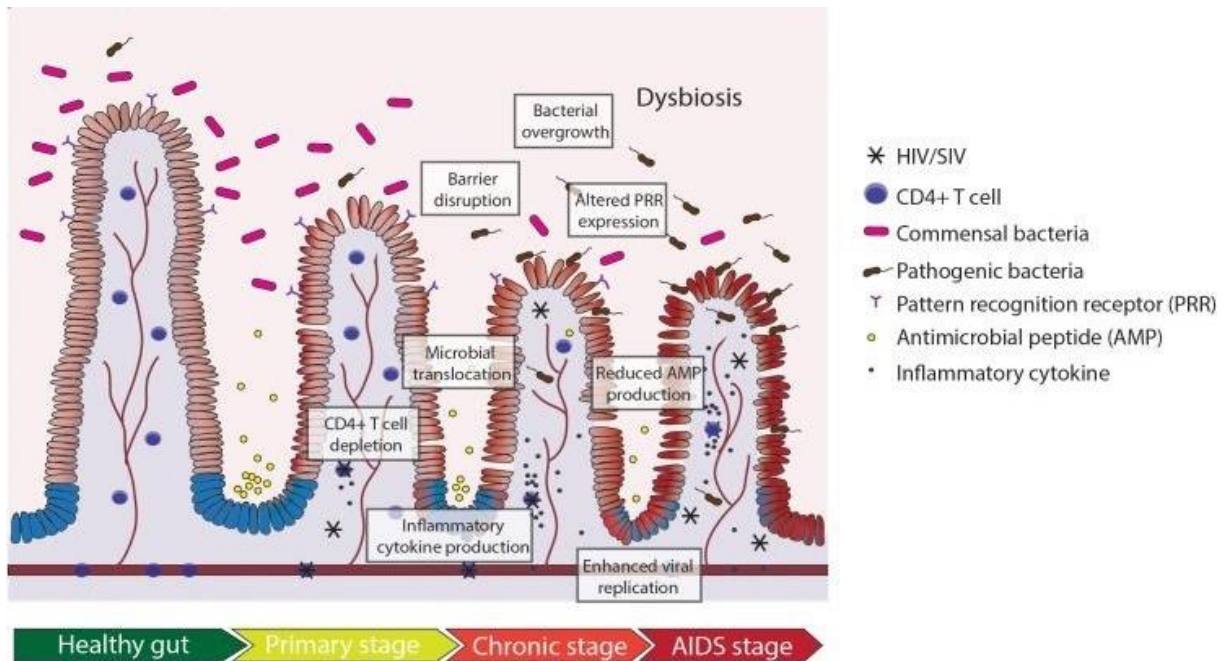
chaîne respiratoire, dans une boucle d'auto-amplification favorisant leur homéostasie dans le cadre de l'inflammation qu'elles pourront induire par elle-même (Winter *et al.* 2010). Cette propriété participe à leur sélection initiale en leur conférant un avantage compétitif par rapport aux autres bactéries endogènes dans le contexte de l'inflammation chronique sous-jacente au cours de l'infection VIH-1.

La dysbiose intestinale est associée à une augmentation de **l'inflammation muqueuse et systémique** chez les patients infectés. L'augmentation de *Prevotella* observé au cours de l'infection a été corrélée à l'activation immunitaire de la muqueuse intestinale (cellules T et mDC du colon activés) et à l'activation immunitaire systémique (Dillon *et al.*, 2014). A partir de selles de personnes vivant avec le VIH-1 non traité, il a pu être mis en évidence après purification des espèces bactériennes que celles-ci peuvent induire une activation plus importante des monocytes et des lymphocytes T que les bactéries de personnes non infectées. La comparaison avec des selles de PVVIH traités ne montrait qu'une réduction partielle de cette activation immunitaire (Neff *et al.* 2018).

Le microbiote intestinal pourrait également être un marqueur de la réponse immunitaire associée au contrôle de l'infection par le VIH-1. Ainsi, dans le cadre d'un essai thérapeutique avec administration d'un agent réverseur de la latence (Romidepsine) en association avec un vaccin thérapeutique (MVA.HIV-1consv), suivie d'une interruption analytique de traitement ARV (ATI), il a été montré que les patients présentant un contrôle de la virémie post-interventionnelle présentaient un rapport Bactéroïdales/Clostridiales plus élevé par rapport aux non-contrôleurs et que ce rapport était inversement corrélés à la taille du réservoir du VIH-1 dans le sang périphérique (ADN et ARN VIH-1) (Borgognone *et al.* 2022).

Le **microbiote transloqué**, par sa diversité et sa composition, peut ainsi être une signature de l'évolution immuno-virologique : la réduction du ratio entre les *Serratia* et autres genres bactériens a pu être montré comme étant en lien avec l'amélioration de l'intégrité de la muqueuse intestinale, tandis que son augmentation hors traitement ou à l'initiation des traitements pourrait être un reflet de mécanismes inflammatoires systémiques (Nganou-Makamdop *et al.* 2021).

Le microbiote intestinal semble ainsi être un acteur clé dans l'activation du système immunitaire de l'hôte et de l'inflammation systémique (Neff *et al.* 2018; Zheng *et al.* 2020). L'effet direct du microbiote sur le réservoir viral reste peu caractérisé. Il a cependant été montré *in vitro* que des bactéries plus fréquemment retrouvées chez les PVVIH comme *Escherichia coli* ou *Acinetobacter baumannii*, participent à l'activation des LT CD4 infectés et renforceraient la réplication du VIH-1 par induction de la translocation nucléaire de NF- $\kappa$ B (Znaidia *et al.* 2023)



**Figure 28. Manifestations pathologiques observées au niveau intestinal au cours de l'infection par le VIH-1/SIV.** La diminution des cellules T CD4<sup>+</sup> se produit dès la primo-infection par le VIH-1. La production de cytokines inflammatoires entraîne une altération de la barrière intestinale et une translocation microbienne, participant à l'inflammation locale et favorisant la réplication virale. Lors de l'infection chronique, il est observé une dysrégulation de l'immunité muqueuse et une réduction de la production de peptides antimicrobiens (AMP) favorisant la prolifération bactérienne et une altération de l'expression des récepteurs de reconnaissance des motifs microbiens (PRR) (Crakes & Jiang 2019)

## V. AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CR1-CX3CL1

### A. LES CHIMIOKINES A MOTIF CX<sub>3</sub>C

Les **chimiokines** sont des molécules impliquées dans le trafic cellulaire en attirant des cellules dans des milieux donnés par un gradient chimioattractant via leur récepteur de chimiokine. Elles peuvent être produites sur des sites d'inflammation et conditionner le recrutement – et donc le type de réponse – de cellules immunitaires (Zlotnik & Yoshie 2000). La plupart des chimiokines sont des protéines sécrétées, réparties initialement en trois familles selon un motif cystéine distinct dans leur partie amino-terminale : CXC, CC, et C, où C est une cystéine et X n'importe lequel des acides aminés (Wells *et al.* 1996). Une 4<sup>ème</sup> famille de chimiokine, porteuse du motif **CX<sub>3</sub>C**, a été décrite en 1997 (Bazan *et al.* 1997) à partir de cellules non-hématopoïétiques. Contrairement aux autres familles de chimiokines, les chimiokines CX<sub>3</sub>C sont des protéines pouvant exister à la fois sous une forme **membranaire** et sous une forme **soluble**, clivée. La forme soluble peut alors agir comme un chimioattractant, tandis que la forme membranaire peut également participer à l'adhésion des cellules. A ce jour, une seule chimiokine de la famille CX<sub>3</sub>C a été décrite : **CX3CL1**, également appelée **fractalkine**. Cette même protéine a été décrite la même année par une deuxième équipe dans un modèle d'inflammation cérébrale murine et désignée initialement sous le terme de neurotactin (Pan *et al.* 1997).

### B. PROTEINE CX3CL1 ET CELLULES EXPRIMANT CX3CL1

#### 1. Structure protéique



Figure 29. Structure schématique de la protéine CX3CL1. Adapté de Umehara *et al.*, 2004.

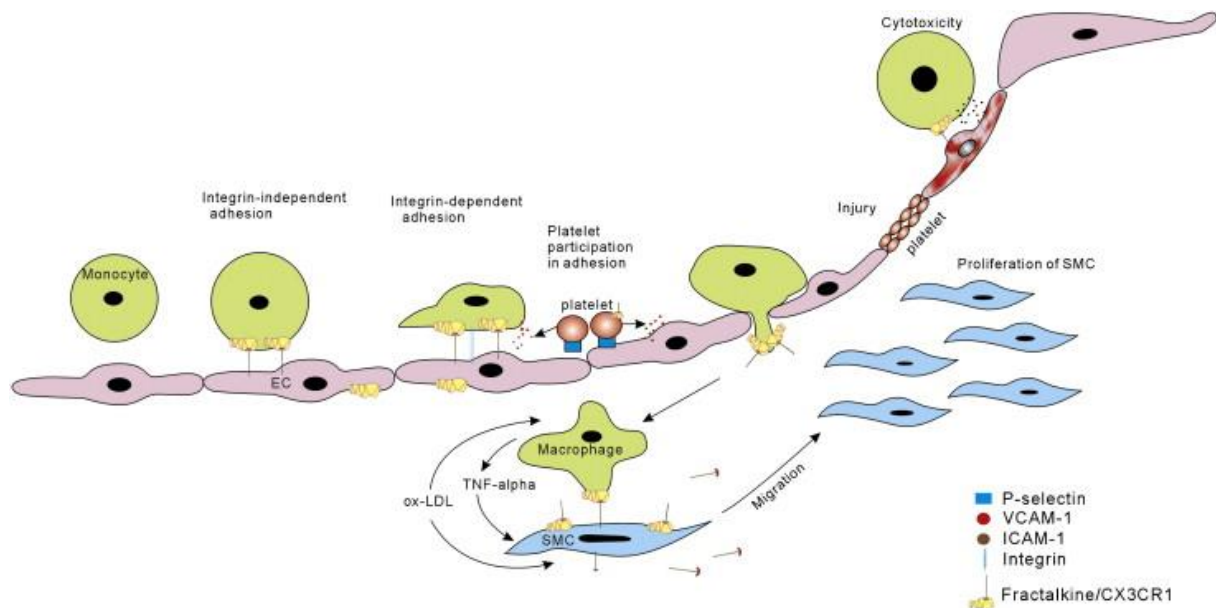
CX3CL1 est une protéine de 373 acides aminés, dont le gène se trouve sur le chromosome 16 (Umehara *et al.* 2004). Les 76 premiers acides aminés de la partie extra-cellulaire correspondent au domaine chimiokine contenant le motif CX<sub>3</sub>C. Cette partie est reliée à la membrane cellulaire par une queue analogue à la mucine, suivie d'un domaine transmembranaire et d'une partie intracytoplasmique terminale (Figure 29). Un potentiel site de clivage dibasique permettant la partition de la forme membranaire en une forme libre se situe entre la queue et la partie transmembranaire, mais son utilité réelle dans le clivage de CX3CL1 est discuté, et un motif structural au sein de la queue extra-membranaire pourrait être impliqué (Garton *et al.* 2001). Le domaine chimiokine permet la liaison avec le récepteur CX3CR1 exprimé notamment à la surface de cellules immunitaires (Imai *et al.* 1997). La queue analogue à la mucine est nécessaire à la présentation du domaine chimiokine mais ne participe pas en elle-même aux propriétés d'adhésion cellulaire.

## 2. Cellules endothéliales et expression de CX3CL1

Les cellules **endothéliales** font partie des principales cellules exprimant la fractalkine. Cette expression est notamment induite en contexte inflammatoire (Bazan *et al.* 1997). L'expression de fractalkine à la surface de l'endothélium favorise d'une part l'adhésion et la migration des cellules CX3CR1<sup>+</sup>, mais également la migration de ces cellules en réponse à d'autres chimiokines (Nishimura *et al.* 2002). En effet, Nishimura *et al.* ont montré sur des lignées de cellules ECV304 que la transfection de CX3CL1 augmentait la migration des cellules CX3CR1<sup>+</sup> en réponse aux chimiokines MIP-1β (CCL4) ou l'IL-8 (CXCL8). La migration des cellules pouvait se faire indépendamment de l'action d'intégrines (Fong *et al.* 1998).

Néanmoins, l'excès de recrutement vasculaire de cellules CX3CR1<sup>+</sup> par l'endothélium peut avoir des conséquences néfastes, participant à la physiopathologie de la formation de plaques **d'athérosclérose** et de **maladies cardiovasculaires** (Figure 30). La transcription de CX3CL1 est augmentée au sein des plaques calcifiées d'athérosclérose et des cellules endothéliales activées (Greaves *et al.* 2001; Akhtar *et al.* 2024). L'immunomarquage d'artères coronaires normales ne retrouvait pas d'expression de CX3CL1, tandis qu'elle était plus marquée en cas d'athérosclérose, de diabète de type 2, ou de maladie vasculaire sur transplant coronarien (Wong *et al.* 2002). Un polymorphisme du gène de CX3CR1 est par ailleurs associé au risque de maladie coronaire (Moatti *et al.* 2001; McDermott *et al.* 2001). L'expression de fractalkine sur des cellules endothéliales inflammatoires participe à l'adhésion plaquettaire et à l'expression de P-sélectine à leur surface, qui vont à leur tour participer à l'accumulation de leucocytes à l'origine des mécanismes inflammatoires de l'athérosclérose (Schulz *et al.* 2007).

Un traitement par anticorps anti-CX3CR1, bloquant la liaison entre le récepteur et son ligand, permettait d'améliorer la durée de survie d'une allogreffe cardiaque sur modèle murin (Robinson *et al.* 2000), qui était également améliorée dans des modèles de souris CX3CR1<sup>-/-</sup> (Haskell *et al.* 2001). L'expression de CX3CL1 peut être induite sur l'endothélium par l'interaction avec des monocytes pro-inflammatoires CD16<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> (Roy-Chowdhury *et al.* 2021).



**Figure 30. Effet de la fractalkine et de CX3CR1 sur l'athérosclérose.** La fractalkine facilite l'adhésion et la migration de monocytes (et de lymphocytes T) à l'endothélium, à la fois par sa forme soluble et membranaire. Celle-ci peut être médiée ou non par des intégrines endothéliales. Le LDL oxydé favorise la sécrétion de TNF- $\alpha$  qui lui-même stimulera la transcription de CX3CL1. La liaison des macrophages aux cellules musculaires lisses via CX3CL1/CX3CR1 contribue à la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses dans le tissu vasculaire. La fractalkine peut également interagir avec les plaquettes dans le développement de l'athérosclérose. (Liu & Jiang 2011)

La fractalkine peut également contribuer au recrutement de cellules immunitaires dans tous les tissus vascularisés via l'endothélium, tel que la peau, les reins ou le poumon, et participer aux pathologies inflammatoires de certains compartiments (Raychaudhuri *et al.* 2001; Ito *et al.* 2002; Zhang *et al.* 2012; Staumont-Sallé *et al.* 2014).

### 3. Cellules épithéliales et expression de CX3CL1

#### Epithélium intestinal

L'expression de CX3CL1 a été décrite au niveau de l'épithélium de plusieurs étages intestinaux, et en particulier au sein des cellules caliciformes (Kim *et al.* 2011). Le rôle de la surexpression de CX3CL1 au sein des cellules caliciformes n'est à ce jour pas élucidé. L'expression épithéliale de la fractalkine participe à la formation de **dendrites transépithéliales** à partir de cellules dendritiques CX3CR1<sup>+</sup> et de macrophages CX3CR1<sup>+</sup> de la lamina propria, permettant à ces dernières de capter des antigènes de la lumière intestinale (Niess *et al.* 2005; Kim *et al.* 2011). Il a été montré sur des modèles de souris déficientes en CX3CL1 que la correction de ce déficit contribuait à restaurer la barrière épithéliale (Kim *et al.* 2011). La forme soluble suffirait à rattraper le déficit de la forme membranaire épithéliale dans la formation des dendrites transépithéliales, mais pas dans la migration de monocytes CX3CR1<sup>+</sup> sanguins.

L'axe CX3CL1-CX3CR1 pourrait également participer à la régulation de la réponse inflammatoire intestinale, et semble important pour le recrutement de macrophages résidents-tissulaires producteurs d'IL-10 (Hadis *et al.* 2011). Paradoxalement, les colites induites par le DSS semblent induire une accumulation de cellules CX3CR1<sup>+</sup> inflammatoires au niveau tissulaire, amélioré par la déficience en CX3CR1 (Kostadinova *et al.* 2010). Cette étude n'avait pas étudié l'effet de la déficience en fractalkine, qui pourrait participer à des fonctions intestinales multiples (Figure 31). Dans le cadre des maladies inflammatoires de l'intestin, la fractalkine semble augmentée au niveau de l'épithélium intestinal et favorise le recrutement de lymphocytes T effecteurs cytotoxiques et pro-inflammatoires (Sans *et al.* 2007; Kobayashi *et al.* 2007). CX3CL1 pourrait donc contrôler un équilibre entre cellules effectrices inflammatoires et cellules régulatrices, exprimant CX3CR1. Cette hypothèse est renforcée par l'effet protecteur de macrophages CX3CR1<sup>+</sup> en cas de stimulation par la toxine A de *Clostridioides difficile* (Inui *et al.* 2011), et l'amélioration de la réponse antibactérienne CX3CR1<sup>+</sup> au cours d'infection intra-péritonéale par administration de CX3CL1 (Ishida *et al.* 2008). En outre, les macrophages intestinaux CX3CR1<sup>+</sup> semblent passer d'un phénotype CX3CR1<sup>hi</sup> vers un phénotype CX3CR1<sup>lo</sup> associé aux dommages intestinaux en contexte pro-inflammatoire, tel que l'infection aigüe par le SIV ou le SARS-CoV-2 (Cavarelli *et al.* 2022; Hua *et al.* 2024). La modulation du type de réponse pourrait dépendre de co-facteurs moléculaires et du type de signal inducteur.

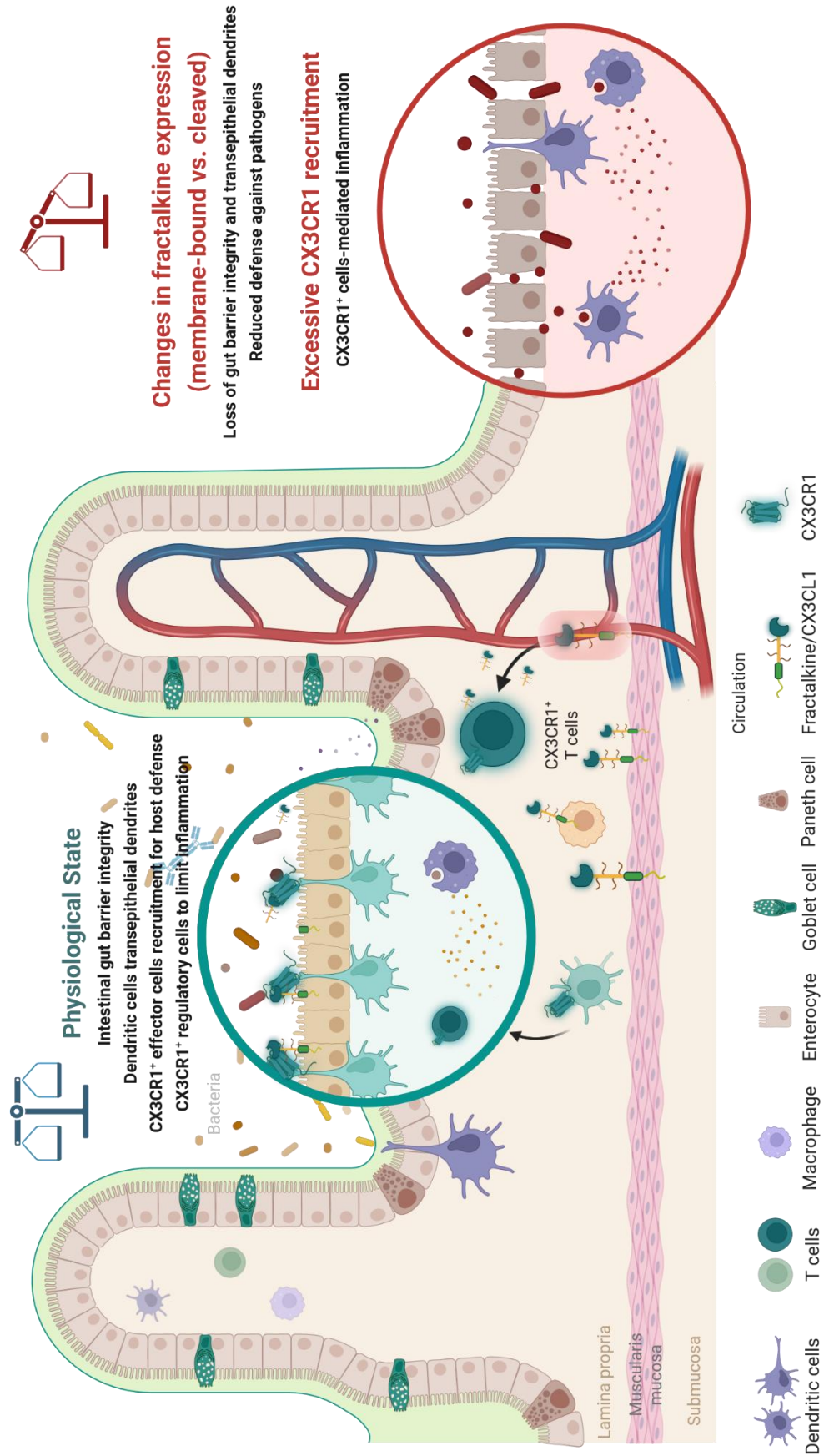


Figure 31. Fonctions de l'axe de chimiotactisme CX3CL1/CX3CR1 dans l'épithélium intestinal. (Réalisé avec BioRender).

## Epithélium rénal

En addition de son expression sur l'endothélium rénal, CX3CL1 est exprimé au sein de l'**épithélium tubulaire et des podocytes**, participant au chimiotactisme tissulaire (Cockwell *et al.* 2002; Von Vietinghoff & Kurts 2021). L'expression de CX3CL1 au niveau de l'épithélium tubulaire participerait à l'adhésion de cellules mononuclées, notamment des monocytes et cellules NK, et serait associée aux dommages tissulaires retrouvés notamment en cas d'inflammation rénale aigue ou faisant suite à une transplantation rénale (Chakravorty *et al.* 2002). Les sites d'expression de CX3CL1 concordaient avec l'infiltration des cellules CX3CR1+ dans diverses pathologies rénales, certaines centrées sur l'endothélium glomérulaire dans le cas des glomérulonéphrites, et d'autres sur l'épithélium tubulaire dans le cadre des atteintes tubulo-interstitielles (Segerer *et al.* 2002) (Figure 32).

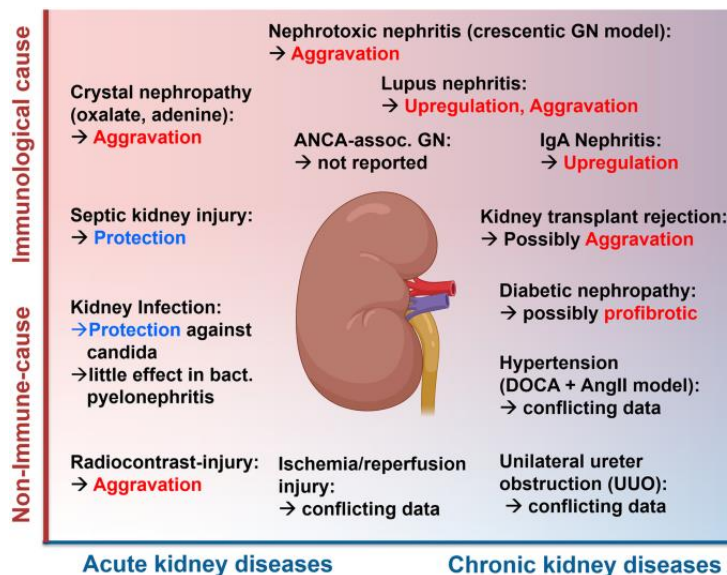


Figure 32. Rôles de CX3CR1 et CX3CL1 dans les maladies rénales. (Von Vietinghoff & Kurts 2021).

## Epithélium pulmonaire

CX3CL1 est exprimé par les **cellules épithéliales bronchiques et alvéolaires** de façon physiologique, et peut être induit en contexte inflammatoire pour participer au recrutement de monocytes au sein des alvéoles pulmonaires (Fujimoto *et al.* 2001; Landsman *et al.* 2007). La consommation de tabac ou les mécanismes allergiques peuvent également favoriser la stimulation de cet axe de chimiotactisme (McComb *et al.* 2008; Mionnet *et al.* 2010).

## Epiderme

L'expression de CX3CL1 a été rapportée sur les **kératinocytes**, notamment en situation pathologiques tel que le lichen plan et le psoriasis (Sugaya *et al.* 2003).

### 4. Autres cellules exprimant CX3CL1

#### Cellules stromales, cellules de la lignée monocyttaire et dendritique

La fractalkine est globalement exprimée au sein des cellules **stromales**, et sur les **cellules myéloïdes (monocytes, macrophages, cellules dendritiques)** des différents tissus. Au niveau vasculaire, l'expression de CX3CL1 a pu être observée sur des **macrophages**, des **myofibroblastes** et des cellules **musculaires lisses**, notamment dans la media artérielle, participant à leur implication dans les maladies cardio-vasculaires (Wong *et al.* 2002), ainsi que sur des cellules **mésangiales** rénales (Ito *et al.* 2002). La liaison d'une cellule CX3CR1<sup>+</sup> aux cellules musculaires lisses CX3CL1<sup>+</sup> participe à la prolifération des cellules musculaires lisses. CX3CL1 augmente également l'entrée des lipoprotéines oxydées au sein des monocytes/macrophages, favorisant la formation de cellules spumeuses impliquées dans l'athérosclérose (Wong *et al.* 2016).

L'expression de fractalkine a également été rapportée au sein de tissus synoviaux, sur des fibroblastes, macrophages, et cellules dendritiques et pourrait participer à la physiopathologie de certaines pathologies rhumatismales inflammatoires (Ruth *et al.* 2001, 2001; Nanki *et al.* 2002; Sawai *et al.* 2005). Il a notamment été montré que l'expression de CX3CL1 sur les **ostéoclastes** et les interactions de ces dernières avec les cellules immunitaires CX3CR1<sup>+</sup> pourraient participer aux mécanismes impliqués dans l'ostéoporose (Wojdasiewicz *et al.* 2019).

Le rôle des monocytes exprimant la fractalkine a également été décrit dans la physiopathologie de nombreuses maladies rénales, digestives ou pulmonaire notamment, avec des interactions similaires entre ces monocytes, l'épithélium ou l'endothélium, et les cellules stromales sous-jacentes.

## Neurones

Au sein du système nerveux central, les **neurones** expriment fortement CX3CL1, tandis que la microglie semble être plus abondante en cellules exprimant CX3CR1 (Nishiyori *et al.* 1998). La fractalkine est ainsi impliquée dans diverses pathologies inflammatoires du système nerveux central (Mendiola *et al.* 2022), ainsi que dans la maladie d'Alzheimer (Fan *et al.* 2019). La partie intra-cellulaire de CX3CL1 pourrait être libérée lors du clivage de la protéine, puis transloquée en intra-nucléaire, en participant à la régulation transcriptionnelle, et semblant favoriser la neurogénèse.

## Mésothélium

L'expression de CX3CL1 a également été rapportée sur des cellules mésothéliales, mais les données de la littérature sur ces cellules sont limitées (Helmke *et al.* 2021).

### 5. Propriétés de la forme soluble de CX3CL1

La forme soluble de la fractalkine remplit un rôle dans la migration des cellules immunitaires CX3CR1<sup>+</sup>, de façon similaire aux autres chimiokines. Elle peut favoriser la migration trans-endothéliale des cellules en réponse à un gradient de la chimiokine (Imai *et al.* 1997). Ainsi la transfection directe de la forme soluble au sein de certains tissus tumoraux peut suffire à induire un effet anti-tumoral, probablement par le recrutement de cellules effectrices (Vitale *et al.* 2007). CX3CL1 peut par ailleurs induire par elle-même une angiogenèse au sein des tissus. Il a en effet été montré que certaines cellules endothéliales pouvaient exprimer le récepteur CX3CR1, et que la forme soluble de CX3CL1 pourrait participer à l'angiogenèse délétère au niveau synovial au cours de la polyarthrite rhumatoïde (Ruth *et al.* 2001). L'administration de fractalkine soluble pourrait également augmenter les propriétés cytolytiques de cellules NK CX3CR1<sup>+</sup> contre l'endothélium vasculaire (Yoneda *et al.* 2000).

La forme soluble de CX3CL1 peut être directement mesurée dans le plasma, et peut servir de **biomarqueur** en lien avec les propriétés biologiques de cet axe de chimiotactisme. La fractalkine soluble est ainsi corrélée à la gravité d'un sepsis (Hoogendijk *et al.* 2015), peut être augmentée dans les formes légères à modérées de maladie d'Alzheimer (Kim *et al.* 2008), est également corrélée à d'autres biomarqueurs inflammatoires et métaboliques tel que l'IL-6, Apo-B, le LDL-cholestérol et l'insuline (Franco *et al.* 2013), est prédictif de mortalité, notamment cardiovasculaire, avec des niveaux réduits sous inhibiteurs de l'enzyme de

conversion (Richter *et al.* 2012), et est augmentée dans les maladies allergiques (Rimaniol *et al.* 2003). L'élévation de la forme soluble de CX3CL1 n'est donc que peu spécifique d'un processus inflammatoire particulier, mais pourrait servir d'indicateur de risque. Sa valeur pronostique reste néanmoins limitée, son niveau n'étant pas parfaitement corrélé aux stades des maladies cardio-vasculaires (Apostolakis & Spandidos 2013).

## 6. Régulation de l'expression de CX3CL1

Les principaux facteurs connus pouvant induire l'expression de la fractalkine sont des molécules pro-inflammatoires, incluant le TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$ , l'IL-1 et le LPS (Harrison *et al.* 1999; Imaizumi *et al.* 2000). Ces données semblent consistantes entre les différents types cellulaires exprimant CX3CL1 (Chakravorty *et al.* 2002; Matsumiya *et al.* 2010; Roy-Chowdhury *et al.* 2021). Un effet synergique du TNF- $\alpha$  et de l'IFN- $\gamma$  a été rapporté (Matsumiya *et al.* 2010). L'angiotensine-II pourrait également participer à la stimulation de production de CX3CL1 par l'endothélium ou les cellules musculaires lisses, avec un mécanisme pouvant dépendre du TNF- $\alpha$  (Rius *et al.* 2013; Li *et al.* 2020). La stimulation induite par le TNF- $\alpha$  est médiée par la voie de signalisation NF- $\kappa$ B, et la fractalkine peut induire sa propre expression par les voies de signalisation PI 3-kinase/PDK1/Akt/NIK/IKK/NF- $\kappa$ B (Chandrasekar *et al.* 2003). L'ampleur de l'effet de la stimulation par le TNF- $\alpha$  peut être plus important en contexte pathologique, comme en cas de maladies inflammatoires chroniques intestinales (Sans *et al.* 2007).

Une autre situation de stress cellulaire, l'hypoxie, peut également induire l'expression de CX3CL1 sur l'endothélium vasculaire (Zhang *et al.* 2012).

Les forces de cisaillement à la surface des cellules endothéliales, correspondant aux forces multidirectionnelles exercées par le flux sanguin à la surface apicale des cellules de la paroi vasculaire (« *shear stress* »), peuvent participer au niveau d'expression de CX3CL1. Ainsi, *in vitro*, en absence de forces de cisaillement, ou à un faible niveau, l'expression de CX3CL1 est naturellement induite (Babendreyer *et al.* 2017). Elle est au contraire réduite en présence de forces importantes de cisaillement.

Le niveau d'expression de CX3CL1 au sein des macrophages peut être induit par l'IL-4, bien que l'effet semble faible (Greaves *et al.* 2001). D'autres données sur des cellules endothéliales montrent au contraire que l'IL-4 (ainsi que l'IL-13) pouvaient réduire l'effet inducteur du TNF (Fracicelli *et al.* 2001).

## 7. Clivage de CX3CL1, expression des métalloprotéases associées

Le **clivage** de la partie extra-membranaire de CX3CL1 en une forme soluble est principalement médiée par l'action de deux métalloprotéases, **ADAM10** et **ADAM17** (Garton *et al.* 2001; Hundhausen *et al.* 2003). Trois autres protéases, **MMP-2**, **MMP-9** et la **cathepsine S** ont également été rapportées comme pouvant participer au clivage de CX3CL1 (Wildenberg *et al.* 2008; Clark *et al.* 2009; Bourd-Boittin *et al.* 2009). Le site de clivage est situé au niveau de la queue analogue à la mucine. Ce clivage réduit les propriétés d'adhésion des cellules CX3CR1<sup>+</sup> aux cellules CX3CL1<sup>+</sup>, et l'inhibition de ces métalloprotéases améliore les forces d'adhésion mais prévient aussi la libération des cellules ayant adhéré, suggérant un rôle actif de ces protéines dans la migration induite par l'axe CX3CL1/CX3CR1 (Figure 33). Au sein des cellules endothéliales lymphatiques cutanées, la majorité des protéines CX3CL1 produites par la cellule sont clivées à leur face basolatérale par des métalloprotéinases de la matrice extra-cellulaire (Johnson & Jackson 2013). Le pôle de libération de la fraction soluble ne semble pas avoir été étudié pour les autres types cellulaires.

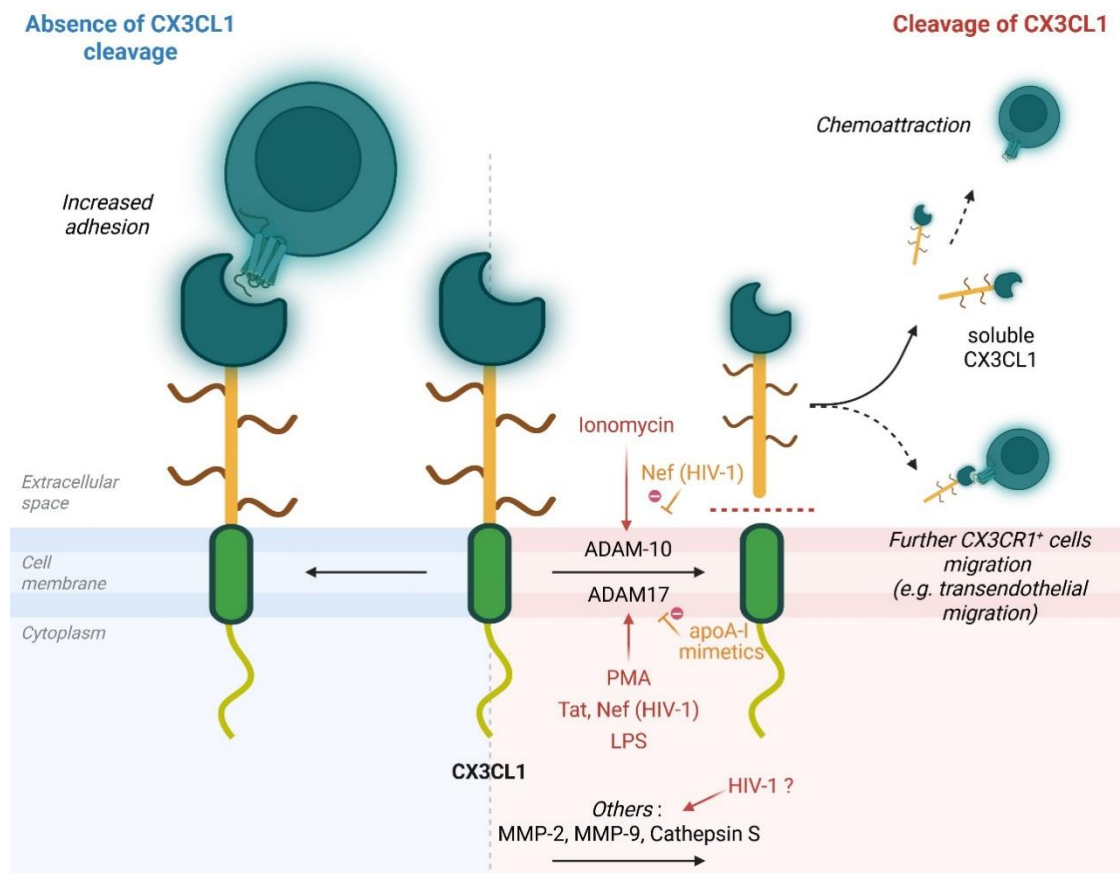


Figure 33. Régulation du clivage de CX3CL1. Réalisé avec Biorender.

Les protéines ADAM (pour ADisintegrin And Metalloproteinase) sont des protéines transmembranaires de type I contenant un domaine analogue aux disintegrines et aux metalloprotéinases (Camodeca *et al.* 2019). Il a été suggéré que ADAM10 avait une activité de clivage à un état basal, tandis que ADAM17 aurait une activité inductible (Garton *et al.* 2001). L'activité d'ADAM17 peut notablement être induite par la PMA. L'activité d'ADAM10 peut également être induite par l'ionomycine (Hundhausen *et al.* 2007). Le rôle de ces metalloprotéinases a été étudié dans de nombreuses pathologies. Ainsi, ADAM17, également connu sous le nom de TNF- $\alpha$  converting enzyme (TACE), en convertissant le précurseur du TNF- $\alpha$  dans sa forme active, peut médier diverses voies d'inflammation, et de remodelage tissulaire, qui sont associées en particulier à l'athérosclérose et aux maladies cardiovasculaires (Kawai *et al.* 2021). ADAM17 participerait également à la nécroptose induite par la signalisation du TNF au niveau de l'endothélium et faciliterait la formation de métastases de cancers (Bolik *et al.* 2021). ADAM10 quant à elle participe notamment à l'efferocytose permettant l'élimination des cellules apoptotiques (Drexhage *et al.* 2024), au clivage de l'EGF et de l'E-cadhérine facilitant des voies de signalisation nécessaire à l'entrée de certaines infections virales comme l'hépatite C (Carriquí-Madroñal *et al.* 2023), et semble être une cible intéressante dans la maladie d'Alzheimer en clivant des précurseurs amyloïdes sans favoriser leur accumulation (Khezri *et al.* 2023).

Au cours de l'infection par le VIH-1, ADAM17 peut être induit par les protéines virales Tat et Nef, et semble médier la signalisation pro-inflammatoire liée à Tat (Lee *et al.* 2013; Qiu *et al.* 2023). L'induction d'ADAM17 au cours de l'infection, et par l'endotoxine LPS, pourrait être limitée par des peptides mimant l'effet anti-oxydant et anti-inflammatoire d'apoA-I, dont l'administration semble réduire les niveaux d'ADAM17 et les produits de son activité de clivage (Daskou *et al.* 2022). Les effets d'ADAM10 sur la réplication du VIH-1 ne sont pas univoques : d'une part ADAM10 pourrait limiter la réplication virale, en clivant la gp41, mais d'autre part, ADAM10 pourrait avoir des effets inverses, en favorisant la réplication virale par son domaine intracellulaire (Friedrich *et al.* 2011; Endsley *et al.* 2014; Olety *et al.* 2025). La protéine virale Nef pourrait en retour avoir des effets de régulation de l'activité d'ADAM10.

L'action d'autres protéases n'a que plus succinctement été étudié dans la littérature. Il a pu être montré qu'après inhibition de l'activité d'ADAM10 et ADAM17 par le batimastat, il pouvait persister un clivage de CX3CL1 au niveau hépatique, principalement en lien avec l'activité de la metalloprotéase MMP-2 (Bourd-Boittin *et al.* 2009). L'activité de clivage de CX3CL1 a également pu être montré avec la metalloprotéase MMP-9 au niveau des glandes salivaires et du tissu neuronal (Wildenberg *et al.* 2008; Zhao *et al.* 2020). Enfin, l'action de la cathepsine S produite par des cellules myéloïdes au niveau de la microglie a également pu être montré par blocage sélectif de son action en utilisant de la LHVS (Clark *et al.* 2009). L'activité de la

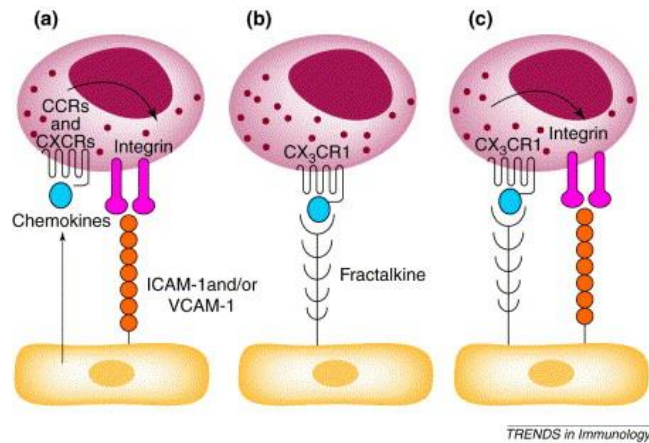
cathepsine S peut notamment être modulée par les bactéries intestinales (Steimle *et al.* 2016). L'infection par le VIH-1 pourrait, dans des modèles murins ou *in vitro*, induire l'expression de la cathepsin S dans l'endothélium, de MMP-9 au niveau de la muqueuse colique, et de MMP-2 dans des lignées d'astrocytes (López-Herrera *et al.* 2005; Hansen *et al.* 2013; Ohene-Nyako *et al.* 2024).

## C. PROTEINE CX3CR1 ET CELLULES EXPRIMANT CX3CR1

### 1. Structure protéique et signalisation

Les récepteurs de chimiokines identifiés sur les leucocytes sont des protéines à **7 domaines transmembranaire couplées aux protéines G** sur leur domaine intracellulaire, facilitant la transduction de signaux intra-cellulaires variés. La protéine **CX3CR1**, initialement identifiée sous le nom V28, a été décrite pour la première fois en 1995 après des techniques d'amplification génique par « degenerate » PCR visant à identifier de nouveaux récepteurs couplés aux protéines G (Raport *et al.* 1995). Elle était alors principalement retrouvée dans les tissus neuronaux et lymphoïdes. Suite à la première description de son ligand CX3CL1, la cible de ce récepteur orphelin fut identifiée en 1997 (Imai *et al.* 1997). La protéine CX3CR1 est constituée de 355 acides aminés codé par le gène CX3CR1 situé sur le chromosome 3 (Combadiere *et al.* 1998; Garin *et al.* 2002). Outre son ligand principal, CX3CL1, CX3CR1 peut également reconnaître avec une moindre affinité CCL26 (Nakayama *et al.* 2010).

La signalisation induite par l'activation de CX3CR1, transduite par les protéines G, est nécessaire à la migration cellulaire, et peut être bloquée par l'administration de toxine pertussique (Imai *et al.* 1997). Elle permet également d'améliorer l'avidité des intégrines pour leur ligand, telles que les molécules d'adhésion intercellulaire ICAM-1 et VCAM-1, aboutissant à un effet synergique dans l'adhésion et la migration cellulaire (Hundhausen *et al.* 2007; Meng *et al.* 2010). Il est à noter que la présence d'intégrines n'est pas nécessaire à l'adhésion et la migration, qui peut se faire par la seule signalisation induite par l'axe CX3CR1-CX3CL1 (Figure 34) (Goda *et al.* 2000). Les voies de signalisation induites par l'activation de CX3CR1 incluent la PI3-kinase, les MAP-kinases, AKT, la tyrosine kinase Src, et eNOS (Meucci *et al.* 2000; Cambien *et al.* 2001; Kansra *et al.* 2001; Deiva *et al.* 2004; Lee *et al.* 2006; Volin *et al.* 2007).



**Figure 34. Double fonction de l'axe CX3CL1/CX3CR1 : chimiotactisme et adhésion cellulaire.** (a) Les chimiokines solubles se lient à leur récepteur et participent à l'activation d'intégrines. (b) La fractalkine, peut participer directement à l'adhésion cellulaire seule, (c) ou en addition de l'adhésion médiée par les intégrines. (Umehara *et al.* 2001)

## 2. Cellules effectrices exprimant CX3CR1

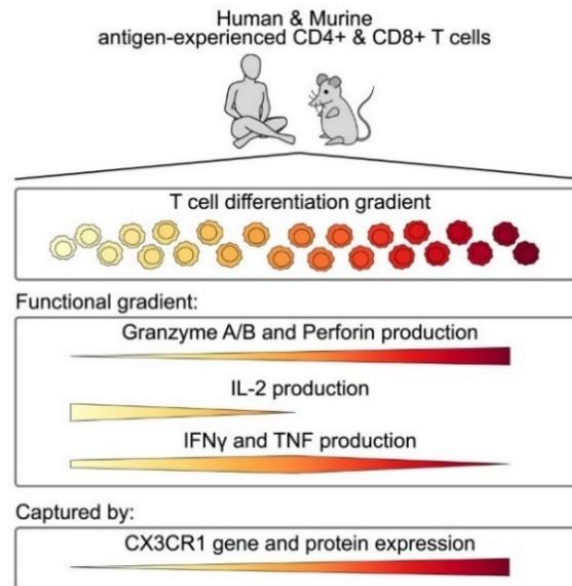
CX3CR1 est exprimé à la surface de différents types cellulaires, au nombre desquelles plusieurs incluent des populations de cellules effectrices, en particulier les **lymphocytes T CD8<sup>+</sup>,  $\gamma\delta$ , et cellules NK**, exprimant des effecteurs cytotoxiques intra-cellulaires tels que la perforine ou granzyme B (Nishimura *et al.* 2002). Il a été initialement estimé qu'elle était exprimée à la surface de 92% des NK CD16<sup>+</sup> et 25% des lymphocytes T CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>, dont 10% répondaient aux tests de migration sur gradient de chimiokine (Imai *et al.* 1997). Ces proportions peuvent varier selon le compartiment sanguin ou tissulaire, et le contexte physiopathologique.

## Lymphocytes T CD8 et T CD4

L'expression de CX3CR1 semble être un marqueur important de l'état de différenciation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> ainsi que de leur potentiel de **prolifération** et de leurs fonctions **cytotoxiques**. Ainsi, dans les ganglions lymphatiques, la population de cellules T mémoires CX3CR1<sup>+</sup>CD62L<sup>hi</sup> a été identifiée par analyses transcriptomiques comme possédant d'importantes fonctions effectrices cytotoxiques, en restant localisée dans le ganglion dans la zone sous-capsulaire, site d'entrée des pathogènes (Böttcher *et al.* 2015). De façon intéressante, cette population restait faible chez des individus atteints d'infections virales chroniques, mais était plus élevée chez les personnes ayant pu contrôler ces infections, suggérant un lien entre cette population effectrice et la guérison de l'infection. Dans cette même étude, le nombre de lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> était corrélé au contrôle de l'infection et la réponse à l'immunothérapie. La population CX3CR1<sup>-</sup> KLRG1<sup>-</sup>, quant à elle, présentait des capacités de prolifération après stimulation antigénique plus importante, mais des fonctions effectrices plus limitées. Cette population CX3CR1<sup>-</sup> pouvait par la suite exprimer CX3CR1 après des stimulations virales itératives (Wirth *et al.* 2010; Böttcher *et al.* 2015). Les lymphocytes T CD8 spécifiques du CMV exprimaient fréquemment CX3CR1 et Granzyme B, mais cela n'était pas le cas pour les autres pathogènes.

Les CD8 CX3CR1<sup>+</sup> ont le plus fréquemment un phénotype d'effecteur mémoire (Olivo *et al.* 2021). Böttcher *et al.* ont également montré que les lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> ont un profil distinct des lymphocytes T résidents mémoires (T<sub>RM</sub>), notamment en exprimant SMAD7 qui régule la signalisation du TGF-β.

Outre la distinction d'une sous-population effectrice, l'expression de CX3CR1 permet de **grader** le type de réponse effectrice selon le niveau d'expression de ce récepteur (Zwijnenburg *et al.* 2023). Des expériences de CITEseq ont permis de montrer le niveau d'expression de CX3CR1 corrélait avec l'état de différenciation des LT CD8 et CD4 (Figure 35). Les fonctions cytotoxiques sont de façon plus prépondérante réalisées par des cellules distinctes des cellules productrices de cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN-γ et le TNF-α. Ces dernières dépendent de cellules à niveau d'expression de **CX3CR1 intermédiaire**, tandis que les effecteurs cytotoxiques (Granzymes, perforine...) dépendent de cellules à niveau d'expression de **CX3CR1 élevé**.



**Figure 35.** L'expression graduée de CX3CR1 est un marqueur de différenciation des lymphocytes T. (Zwijnenburg *et al.* 2023)

Ce modèle présente l'avantage de ne pas délimiter la différenciation par bloc phénotypique, et semble plus représentative de l'état de continuum dans le processus de différenciation. Trois principaux niveaux d'expression de CX3CR1 semblent néanmoins se démarquer et semblent être liés également à la localisation des cellules en sus de leur phénotype et de leurs fonctions: on distingue ainsi les cellules n'exprimant pas CX3CR1 (**CX3CR1<sup>-</sup>**), les cellules exprimant un niveau intermédiaire de CX3CR1 (**CX3CR1<sup>int</sup>**) et les cellules exprimant un niveau élevé de CX3CR1 (**CX3CR1<sup>hi</sup>**) (Gerlach *et al.* 2016). Les cellules CX3CR1<sup>hi</sup> sont plus rares dans les tissus et plus abondantes dans la circulation, tandis que les cellules CX3CR1<sup>int</sup> sont prédominantes dans les tissus périphériques.

Ainsi au niveau de la peau, CX3CR1 semble être moins exprimé parmi les T<sub>RM</sub>, et davantage parmi les **T résidentes recirculantes** (Zwijnenburg *et al.* 2023). Cela pourrait être par perte de molécules de rétention tissulaire ou par des molécules de sortie des tissus tel que S1PR5, plus exprimé par les cellules exprimant davantage CX3CR1. Il est à noter que des niveaux d'exposition à CX3CL1 au-delà des niveaux habituels physiologiques entraînent une régulation négative de CX3CR1 (Pokharel *et al.* 2024). L'infection par le **CMV** semble notamment induire une population de CD8 mémoires **CX3CR1<sup>int</sup>** gardant un potentiel de prolifération (Gordon *et al.* 2018).

Au cours des infections virales chronique, les CD8 CX3CR1<sup>+</sup>CD101<sup>-</sup> ont été décrites comme une population de cellules « **transitoires** » entre une population à fort potentiel de multiplication et une population épuisée exprimant CD101 (Hudson *et al.* 2019). Cette

population transitoire, hautement cytotoxique, contribuerait au contrôle de l'infection virale chronique et pourrait être augmentée par le blocage de la signalisation de PD-1.

Les propriétés des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> ont notamment été étudiées dans le champs de l'oncologie, avec des résultats intéressants dans des optiques de thérapie cellulaire par CAR-T cells (Siddiqui *et al.* 2016; Trinh *et al.* 2023; Ma *et al.* 2024). La surexpression induite de CX3CR1 permettait d'augmenter l'infiltration des lymphocytes (TIL) au sein des tumeurs exprimant la fractalkine. Ceux-ci exprimeraient moins les récepteurs de co-inhibition PD-1, LAG-3, et TIGIT. Les cellules T CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> seraient même prédictives et corrélées à une bonne réponse aux immunothérapies par inhibiteur de checkpoint immunitaire (Yan *et al.* 2018; Yamauchi *et al.* 2021).

Parmi les **LT CD4**, Zwijnenburg *et al.* suggèrent que CX3CR1 semble être un reflet du degré de différenciation dans un profil T<sub>H1</sub>, et CX3CR1 marque également les CD4<sup>+</sup> ayant le plus haut niveau d'expression du facteur de transcription T-bet (Batista *et al.* 2020). Le rôle de LT CD4 CX3CR1<sup>+</sup> polarisés en T<sub>H2</sub> a également été mis en évidence dans la physiopathologie de l'asthme allergique (Mionnet *et al.* 2010) et de la dermatite atopique (Staumont-Sallé *et al.* 2014), en participant au maintien et à la survie des CD4 T<sub>H2</sub> et T<sub>H1</sub> médiant l'inflammation aigue puis chronique sur ces terrains allergiques. Enfin, des cellules régulatrices peuvent elles aussi exprimer le récepteur CX3CR1. La polarisation en T<sub>H17</sub> ou T<sub>REG</sub> peut être associée à une expression de CX3CR1, qui semble également pouvoir être induite par l'effet du TGF-β isolément (Dong *et al.* 2016). Cette double expression de CX3CR1 entre cellules T<sub>H1</sub> et T<sub>REG</sub> pourrait notamment faire émettre l'hypothèse d'un système d'équilibre entre une réponse inflammatoire et la régulation de cette réponse.

Dans les infections virales, une partie des LT CD4<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> sont spécifiques du CMV (Wanjalla *et al.* 2021).

Par ailleurs, les LT CD4 sont cruciaux dans le développement et les fonctions des LT CD8 CX3CR1, notamment par la signalisation de l'IL-21 produite par les LT CD4<sup>+</sup>IL-21<sup>+</sup> (Zander *et al.* 2019).

## Lymphocytes T $\gamma\delta$

L'expression de CX3CR1 par les lymphocytes T  $\gamma\delta$  se fait de façon prépondérante parmi les populations  $V\delta_2^{\text{neg}}$ , minoritaires dans la circulation mais majoritaires dans les tissus, et plus particulièrement la sous population  $V\delta_1^+$ . Le phénotype de ces cellules est marqué par une faible expression de CD27, une forte expression de l'effecteur cytotoxique Granzyme B, et une faible expression du récepteur IL-7R $\alpha$  (Davey *et al.* 2017). Elles correspondent par ailleurs à des cellules ayant subi une expansion clonale, tandis que les LT  $\gamma\delta$  CX3CR1 $^-$  présentent une diversité du TCR plus importante. La population de LT  $V\delta_1$  CX3CR1 $^+$  a ainsi été suggérée comme étant une population « **T  $V\delta_1$  effectrice** », reflet de la part de réponse adaptative de cette sous population de LT  $\gamma\delta$  (Davey *et al.* 2018). Le tropisme vasculaire de CX3CR1, et les capacités des LT  $\gamma\delta$  à reconnaître les cellules endothéliales infectées par le CMV par une liaison au récepteur endothélial de la protéine C (EPCR) soulignent les fonctions d'immuno-surveillance endothéliale de ces cellules (Willcox *et al.* 2012; Yared *et al.* 2024).

## Cellules Natural-Killers

De façon analogue aux LT CD8, les cellules **NK** ayant un niveau d'expression de CX3CR1 plus élevé présentent des propriétés cytotoxiques plus importantes (Hamann *et al.* 2011). On peut distinguer 2 sous-populations, l'une **CX3CR1 $^{\text{high}}$** , l'autre **CX3CR1 $^{\text{neg/low}}$** . Cette dernière se distingue également en une fraction CD56 $^{\text{bright}}$  et une CD56 $^{\text{dim}}$ . Les NK CX3CR1 $^{\text{hi}}$  sont majoritairement **CD56 $^{\text{dim}}$**  et **CD16 $^+$** , et ont un phénotype de cellules plus matures, avec un niveau d'expression de KIRs plus élevé mais une expression plus faible de NKG2A, NKp30 et NKp46. CX3CR1 joue un rôle important dans la réponse des cellules NK contre les cellules tumorales et également contre les cellules auto-réactives des cellules NK (Lavergne *et al.* 2003; Hertwig *et al.* 2016), mais aussi dans leur adressage hors de la moelle osseuse (Ponzetta *et al.* 2013). L'IL-15 est un facteur de régulation négatif de CX3CR1 pour les NK *in vitro* (Sechler *et al.* 2004).

CX3CR1 participe également au recrutement d'une population de NK similaire à des cellules résidentes mémoires tissulaires (NKRM), notamment au niveau des glandes salivaires (Schuster *et al.* 2023).

Il est à noter que les **MAIT** ne semblent pas exprimer CX3CR1 (Zwijnenburg *et al.* 2023).

### 3. Cellules myéloïdes exprimant CX3CR1

Il était initialement estimé que 80% des **monocytes** CD14<sup>+</sup> exprimaient CX3CR1. Le recrutement endothélial des monocytes par l'axe CX3CR1/CX3CL1 touche en majorité des monocytes CD16<sup>+</sup>CD14<sup>lo</sup> (Ancuta *et al.* 2003; Geissmann *et al.* 2003). De façon intéressante, inversement aux lymphocytes T, l'adressage des monocytes CX3CR1<sup>hi</sup> concerne davantage des tissus non-inflammatoires, alors que les monocytes CX3CR1<sup>lo</sup> sont adressés vers des tissus inflammatoires. Les macrophages intestinaux CX3CR1<sup>+</sup> semblent notamment avoir des fonctions régulatrices de la réponse T, notamment via l'IL-10, contribuant à l'équilibre de la réponse hôte-pathogène avec le microbiote intestinal (Medina-Contreras *et al.* 2011; Kayama *et al.* 2012; Diehl *et al.* 2013). Ainsi, la migration de macrophages CX3CR1<sup>hi</sup> vers les tissus lymphoïdes dépendrait de signaux induit par le microbiote, pour éviter de générer un excès d'inflammation face à des germes commensaux. Ils participeraient également à l'initiation de la réponse anti-fongique intestinale (Leonardi *et al.* 2018). Les cellules myéloïdes CX3CR1<sup>hi</sup> semblent avoir la capacité d'inhiber l'excès d'inflammation que pourraient produire les LT CD4, permettant d'éviter la survenue d'une colite médiée par ces derniers. L'axe CX3CL1-CX3CR1 pourrait donc jouer un rôle clé dans l'équilibre homéostasique de la muqueuse intestinale, avec une régulation entre les cellules myéloïdes et lymphoïdes.

En situation pathologique, tel que le cancer, les macrophages CX3CR1<sup>+</sup> infiltrants la tumeur peuvent induire de l'épuisement immunitaire, limitant la réponse immunitaire anti-tumorale (Xiang *et al.* 2024). Un blocage non sélectif de CX3CR1 pourrait donc avoir un effet inverse sur les lymphocytes T et les cellules myéloïdes et devrait être pris en compte en cas d'intervention immunothérapeutique.

### 4. Autres cellules exprimant CX3CR1

Les plaquettes peuvent également exprimer le récepteur CX3CR1, participant à leur activation au contact de l'endothélium inflammatoire, et au recrutement de cellules immunitaires via la P-selectin produite par les plaquettes (Flierl & Schäfer 2012). L'adhésion à CX3CL1 semble directement médiée par la glycoprotéine Ib et le facteur de Willebrand (Meyer dos Santos *et al.* 2011). L'expression de CX3CR1 sur les plaquettes semble augmentée en cas d'insuffisance cardiaque (Hildemann *et al.* 2014).

Les cellules musculaires lisses, exprimant également le ligand CX3CL1, expriment le récepteur CX3CR1 dans l'intima, facilitant leur migration (Lucas *et al.* 2003).

## D. MODULATION DE L'AXE DE CHIMIOTACTISME CX3CR1-CX3CL1

La signalisation **Interféron de type I** induite par l'infection virale entraîne l'expression de CX3CR1, participant ainsi au recrutement de cellules effectrices contribuant au contrôle de l'infection virale. L'expression de CX3CR1 est notamment modulée par la signalisation induite par **GITR**, un membre de la superfamille des récepteurs du TNF. GITRL, le ligand de GITR est exprimé par des cellules présentatrices d'antigène, sous l'effet de l'**interféron de type I** et va donc participer au recrutement des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> essentiels au contrôle de l'infection virale (Chang *et al.* 2017). Cette signalisation induit notamment l'augmentation de la transcription du gène *CX3CR1*, et l'augmentation de l'expression du récepteur CX3CR1 à la surface des lymphocytes T CD4 (Batista *et al.* 2020).

L'**IL-15** a été décrite comme pouvant promouvoir le phénotype, la survie et la prolifération des cellules CD8<sup>+</sup>CX3CR1<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup> par la signalisation de STAT5 et Bcl-2 pour la survie et de STAT5 et mTORC1 pour la prolifération (Morris *et al.* 2020). Néanmoins, un effet négatif de l'IL-15 sur l'expression de CX3CR1 a également été rapporté (Barlic *et al.* 2004), comme c'est le cas pour les lymphocytes NK.

En thérapeutique, une molécule antagoniste de CX3CR1, **CX3-AT**, a été testée dans l'asthme allergique et la dermatite atopique, et semble présenter une efficacité dans des modèles pré-cliniques (Mionnet *et al.* 2010; Staumont-Sallé *et al.* 2014).

Un modulateur chimique sélectif de CX3CR1, **E6130**, administré par voie orale, a été développé pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et permettrait de bloquer l'axe de chimiotactisme CX3CR1-CX3CL1 et de réduire la migration des cellules CX3CR1<sup>+</sup> dans l'intestin (Wakita *et al.* 2017).

Les **statines**, inhibiteurs de l'HMG-CoA reductase, et utilisés en thérapeutique dans la réduction du risque cardio-vasculaire, ont montré leur effet sur la réduction du niveau plasmatique de CX3CL1, de cellules T CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> dans la circulation sanguine, et sur la réduction de la migration et l'adhésion des cellules CX3CR1<sup>+</sup> en réponse à de la fractalkine immobilisée (Damàs *et al.* 2005).

*Les facteurs influençant l'expression de la fractalkine ont été décrit dans la partie V.B.6.*

## E. AXE CX3CR1-CX3CL1 AU COURS DE L'INFECTION PAR LE VIH-1

L'infection par le VIH-1 est marquée par une augmentation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> exprimant CX3CR1 dans la circulation, ainsi qu'une augmentation de l'expression de la fractalkine dans les tissus lymphoïdes (Foussat *et al.* 2001; Freeman *et al.* 2016; Morris *et al.* 2020). Néanmoins, les fonctions antivirales éventuelles des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> ne sont pas démontrées.

L'axe de chimiotactisme CX3CL1-CX3CR1 a par ailleurs été impliqué dans le processus d'athérosclérose chez les personnes vivant avec le VIH-1. Le recrutement dans la paroi artérielle de lymphocytes T CX3CR1<sup>+</sup> et l'augmentation d'expression de la fractalkine au niveau de l'endothélium vasculaire ont en effet été associés aux phénomènes inflammatoires survenant dans les plaques d'athérome (Panigrahi *et al.* 2020). Les LT CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> présentent également une augmentation de l'expression du récepteur PAR-1, suggérant une interaction de ces cellules avec la cascade de la coagulation et la thrombine (Mudd *et al.* 2016).

Au niveau tissulaire intestinal, au cours de l'infection par le VIH-1 ou par le SIV, il a été décrit une fréquence augmentée de macrophages CX3CR1<sup>lo</sup> (Cavarelli *et al.* 2022) et une augmentation de monocytes CX3CR1<sup>neg/lo</sup> dans la circulation, avec une augmentation des biomarqueurs inflammatoires (Kulkarni *et al.* 2016).

Enfin, des polymorphismes génétiques de CX3CR1 (V249I et T280M) ont été associés avec l'évolution immuno-virologique de l'infection VIH-1, renforçant l'idée d'un rôle fonctionnel probable de cet axe de chimiotactisme dans la physiopathologie de l'infection VIH-1 (Faure *et al.* 2000; Puissant *et al.* 2006). L'un de ces polymorphismes réduisant l'affinité de CX3CR1 pour CX3CL1 était associé à une évolution défavorable, allant plus rapidement vers le stade SIDA.

# **OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE**

La muqueuse intestinale est un site de persistance du VIH-1 sous traitement antirétroviral (Chun *et al.* 2008; Gosselin *et al.* 2017; Khoury *et al.* 2017; Vellas *et al.* 2024). Le compartiment intestinal pourrait être le siège d'une réplication virale résiduelle sous traitement antirétroviral, ou tout du moins d'une production virale ou antigénique résiduelle, source d'activation immunitaire chronique (Imamichi *et al.* 2016, 2020; Lee *et al.* 2020).

La réponse lymphocytaire effectrice, essentiellement T CD8<sup>+</sup>, mais également NK, et possiblement aussi T $\gamma\delta$ , joue un rôle central dans le contrôle de la réplication du VIH-1, y compris sous traitement antirétroviral. Une fraction des lymphocytes effecteurs T CD8<sup>+</sup>, T $\gamma\delta$ , et NK expriment de façon commune CX3CR1, et l'axe de chimiotactisme CX3CL1-CX3CR1 pourrait donc jouer un rôle clé dans le recrutement tissulaire de ces lymphocytes effecteurs, et dans le contrôle de la réplication virale (Combadière *et al.* 2003). Il a récemment été mis en évidence dans la différenciation lymphocytaire une population de lymphocytes effecteurs mémoires de phénotype intermédiaire, exprimant CX3CR1, qui conserveraient des propriétés cytotoxiques (PD-1<sup>+</sup> TIM-3<sup>+</sup> CD101<sup>-</sup> CX3CR1<sup>+</sup> TCF-1<sup>-/+</sup> T-bet<sup>high</sup>) (Gerlach *et al.* 2016; Gordon *et al.* 2018; Hudson *et al.* 2019). La préservation des capacités cytotoxiques des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> en font des effecteurs intéressants pour les stratégies d'immunothérapie.

Au cours de l'infection par le VIH, la persistance virale chronique est associée à l'induction d'un tel phénotype d'épuisement lymphocytaire, avec l'établissement d'un cercle vicieux entre persistance virale et défaut de réponse cellulaire effectrice (Fromentin *et al.* 2016; McGary *et al.* 2017; McLane *et al.* 2019). L'optimisation de la réponse cellulaire effectrice antivirale constitue un objectif majeur des stratégies de guérison de l'infection VIH. L'utilisation d'inhibiteurs de check-points immunitaires, mais également la modulation du chimiotactisme des lymphocytes effecteurs représentent des axes thérapeutiques potentiels dans les stratégies de guérison de l'infection VIH. Dans cette optique, une meilleure connaissance des populations cellulaires impliquées, notamment au niveau tissulaire, de leur phénotype de différenciation, et de leurs voies de recrutement sont donc indispensables.

La régulation de l'expression de la chimiokine CX3CL1 (fractalkine), le ligand de CX3CR1, reste mal connue dans le contexte de l'infection VIH. Au niveau intestinal, CX3CR1 a essentiellement été décrit sur les macrophages et les cellules dendritiques de la muqueuse intestinale. Les macrophages intestinaux CX3CR1<sup>+</sup> semblent notamment avoir des fonctions régulatrices de la réponse T, notamment via l'IL-10, contribuant à l'équilibre de la réponse hôte-pathogène avec le microbiote intestinal (Medina-Contreras *et al.* 2011; Kayama *et al.* 2012; Diehl *et al.* 2013). L'axe CX3CL1-CX3CR1 pourrait donc jouer un rôle clé dans l'équilibre homéostatique de la muqueuse intestinale, avec une régulation entre les cellules myéloïdes et lymphoïdes.

Chez les PVVIH, il a été observé une expansion des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> effecteurs mémoires terminales (TEMRA) CX3CR1<sup>+</sup> (Foussat *et al.* 2000; Combadière *et al.* 2003). Les lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup>, dont le nombre semble augmenté chez les PVVIH, tout au moins dans le compartiment sanguin, pourraient avoir un rôle important dans le contrôle de la réplication virale, mais également des effets délétères pro-inflammatoires locaux ou systémiques. Au-delà de leur contribution à la réponse anti-virale, les lymphocytes T CX3CR1<sup>+</sup> pourraient donc aussi avoir des effets délétères pro-inflammatoires et contribuer à l'«inflammageing» chez les PVVIH, constituant un lien entre inflammation chronique et complications cardio-vasculaires.

**L'axe de chimiotactisme CX3CL1-CX3CR1 pourrait jouer un rôle clé dans la régulation de la réponse lymphocytaire cytotoxique anti-VIH-1 tissulaire, en particulier dans la muqueuse intestinale. Le microenvironnement intestinal, dans le contexte de persistance du VIH-1 et de dysbiose, pourrait moduler le recrutement et les propriétés fonctionnelles des lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup>.**

Les objectifs de la recherche sont de :

- (i) Caractériser sur un plan phénotypique et fonctionnel les populations de lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> (principalement T CD8<sup>+</sup>, T $\gamma\delta$ ) dans les compartiments sanguins et intestinaux.
- (ii) Etudier les mécanismes régulant l'expression intestinale de CX3CL1 et la fonctionnalité de l'axe de chimiotactisme CX3CL1-CX3CR1 chez les PVVIH sous traitement antirétroviral.

Deux axes complémentaires ont été développés :

Dans une 1<sup>ère</sup> partie *in-vivo*, les lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> ont été caractérisés sur un plan phénotypique et fonctionnel dans les compartiments sanguins et intestinaux, ainsi que l'expression de la chimiokine CX3CL1 et des métalloprotéases ADAM10 et ADAM17 dans la muqueuse intestinale.

*Le phénotype des lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> T $\alpha\beta$  CD8<sup>+</sup> et T $\gamma\delta$ , a été caractérisé en parallèle dans les compartiments sanguins et intestinaux chez des PVVIH et témoins non infectés de la cohorte EP61 GALT. Une quantification de la fréquence de lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> a été réalisée dans le sang et dans la muqueuse intestinale par cytométrie en flux. Nous avons également étudié le répertoire et le transcriptome par cellule unique des lymphocytes  $\gamma\delta$  V $\delta_1$ , et des analyses similaires sont en cours pour les lymphocytes T CD8. Les IEL ont été caractérisés de façon distincte car ils ont un phénotype différent des lymphocytes de la lamina propria, avec entre autres l'absence de T CD4<sup>+</sup> parmi les IEL et l'expression*

*d'αEβ7 plutôt qu'α4β7. Des différences entre les segments intestinaux ont également été recherchées (analyse du duodénum, de l'iléon, et du colon) chez les PVVIH et témoins ayant des prélèvements étagés disponibles. Ces analyses ont été réalisées sur des populations stratifiées vis-à-vis du statut sérologique pour le CMV. Ces résultats ont pu être mis en relation avec la caractérisation et la quantification du réservoir viral du VIH-1 dans le sang et l'intestin réalisé préalablement sur les mêmes individus, ainsi que la caractérisation du microbiote tissulaire et du microbiome transloqué sanguin par PCR16S et séquençage du génome bactérien.*

Dans une 2<sup>ème</sup> partie *ex-vivo*, les mécanismes régulant l'expression de CX3CL1 et des métalloprotéases ADAM10 et ADAM17 clivant CX3CL1 dans la muqueuse intestinale ont été explorés.

*Nous avons utilisé dans cette 2<sup>ème</sup> partie les modèles ex-vivo d'histocultures de tissu intestinal, et de cultures d'entérocytes primaires différenciés sur transwell reproduisant un épithélium polarisé. Dans le modèle d'histocultures, les explants de muqueuse intestinale ont été cultivés sur des éponges de gélatine, permettant d'étudier l'infection par le VIH-1 dans le microenvironnement tissulaire intestinal. Ces explants ont été infectés par le VIH-1 et/ou le CMV et peuvent également être cultivées en présence d'autres molécules dans le milieu.*

Les connaissances sur la persistance du VIH-1 et la réponse lymphocytaire effectrice dans les compartiments tissulaires restent limitées à ce jour du fait des difficultés d'accès aux échantillons « profonds ». Dans ce travail, nous avons utilisé des échantillons sanguins et intestinaux des PVVIH et témoins inclus dans l'étude ANRS EP61 GALT pour caractériser le rôle de l'axe de chimiotactisme CX3CL1-CX3CR1 dans la réponse immunitaire antivirale intestinale sous traitement antirétroviral. Les données immunologiques obtenues ont été croisées avec les données du réservoir VIH-1 dans la muqueuse intestinale, et celles du microbiote intestinal, obtenues dans la même population.

Les résultats obtenus pourraient fournir des connaissances utiles à l'élaboration de nouvelles stratégies d'immunothérapie dans un objectif de guérison fonctionnelle de l'infection VIH, mais également à mieux comprendre les mécanismes de l'inflammation chronique qui persiste chez les PVVIH malgré le traitement ARV.

# RESULTATS

## INDIVIDUS INCLUS DANS L'ETUDE ANRS EP61 GALT

### A. RATIONNEL

Une restauration incomplète de la barrière immunitaire intestinale est un phénomène fréquent chez la plupart des patients infectés par le VIH-1 qui reçoivent un traitement ARV. Même chez les patients dont les niveaux de T CD4+ circulants sont satisfaisants (>500/mm<sup>3</sup>), une diminution persistante des T CD4+ est observée dans la muqueuse intestinale, notamment au niveau de la *lamina propria*, en particulier chez ceux qui ont commencé le traitement au stade chronique de l'infection. Cette altération de la reconstitution des lymphocytes T CD4+ intestinaux a des répercussions fonctionnelles significatives, car elle est associée à la persistance d'une translocation bactérienne et à une inflammation systémique. Cette inflammation chronique résiduelle est l'un des principaux facteurs susceptibles de compromettre le pronostic à long terme des patients sous ARV. La persistance du VIH-1 est également associée à une inflammation chronique délétère chez les PVVIH.

L'étude ANRS EP61 GALT a recruté 42 patients infectés par le VIH-1 et 42 témoins non infectés. Les individus de l'étude ont fait l'objet de prélèvements sanguins et intestinaux (biopsies duodénales chez n=30 PVVIH, iléales chez n=27 et coliques chez n=35 PVVIH) dans le cadre d'indications indépendantes à ce protocole (majoritairement gastroscopie pour bilan de reflux gastro-oesophagien et coloscopie pour dépistage systématique du cancer colo-rectal ; indications similaires dans les 2 groupes, PVVIH et témoins). Un consentement libre, éclairé et signé a été obtenu de chaque individu pour la réalisation de cette étude, ayant obtenu un avis favorable du CPP Sud-Ouest et Outre-Mer et une autorisation de l'ANSM. Des biopsies étagées sur 2 à 3 segments du tube digestif ont pu être obtenues pour la plupart des individus (34/42 PVVIH) permettant une analyse détaillée du réservoir VIH-1, de la distribution des cellules immunitaires et du microbiote intestinal aux différents niveaux du tractus digestif. Les individus présentant un antécédent de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) ou une maladie coeliaque étaient exclus.

## B. CRITERES D'INCLUSION

Les critères d'inclusions des individus infectés par le VIH-1 étaient les suivants :

- Age  $\geq$  18 ans
- Infection VIH-1
- Traitement ARV continu depuis au moins 12 mois, débuté au cours de la phase chronique
- Charge virale plasmatique  $\leq$  50 copies/ml depuis au moins 6 mois (un « blip »  $\leq$  200 copies/ml autorisé)
- Taux de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>  $\geq$  350 cellules/mm<sup>3</sup>
- Indications pour une endoscopie digestive haute ou basse
- Patient inscrit ou bénéficiaire d'un programme de Sécurité sociale
- Consentement éclairé écrit

Les critères de non-inclusion des individus infectés par le VIH-1 étaient les suivants :

- Infection VIH-2
- Maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, maladie coeliaque)
- Plaquettes  $<$  50 G/L ou perturbation du bilan hémostatique contre-indiquant la réalisation de biopsies
- Cirrhose décompensée
- Lymphome
- Grossesse ou allaitement
- Participation à une étude de vaccin VIH-1 ou une autre recherche comprenant une période d'exclusion toujours en cours à la pré-inclusion
- Vulnérabilité : mineur, tutelle, curatelle, privé de liberté par une décision juridique ou administrative.

Les individus avaient été interrogés sur leur prise d'antibiotiques au cours des 3 derniers mois, les événements infectieux récents éventuels, les voyages internationaux et les pratiques sexuelles, facteurs susceptibles d'influencer la composition de leur microbiote intestinal.

### C. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DES TEMOINS NON INFECTES ET DES INDIVIDUS INFECTES

Les 42 PVVIH inclus étaient majoritairement des hommes (88%), d'un âge médian de 53 ans (IQR, 46-61), dont le traitement ARV avait été initié au stade chronique. Le nadir médian de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> était de 255/mm<sup>3</sup> (IQR, 163-361) ; le nombre de T CD4<sup>+</sup> médian à l'inclusion était de 717/mm<sup>3</sup> (IQR, 547-885) et le ratio CD4/CD8 de 0,95 (IQR, 0,77-1,15). La charge virale VIH-1 à l'inclusion était indétectable <30 copies/ml pour tous les patients, avec une durée médiane d'indétectabilité de 8 ans (IQR, 4-11) (Figure 36). A l'inclusion, 17/42 patients recevaient un traitement ARV comportant un anti-intégrase comme 3<sup>ème</sup> agent, 20/42 un analogue non-nucléosidique de la transcriptase inverse, et 5/42 un inhibiteur de protéase. Globalement, la population étudiée correspond donc à des PVVIH ayant un contrôle virologique optimal depuis de nombreuses années et une restauration immunitaire dans le sang périphérique très satisfaisante (CD4 >500/mm<sup>3</sup>). Cette population est globalement représentative de files actives de PVVIH suivis en France actuellement, et donc pertinente pour étudier la persistance du VIH-1 dans les réservoirs.

Les 42 témoins non infectés sont également majoritairement des hommes (62%), d'un âge médian de 59 ans (IQR, 51-65). A l'inclusion, le nombre de T CD4<sup>+</sup> médian était de 702/mm<sup>3</sup> (IQR, 574-815) et le ratio CD4/CD8 de 2,20 (IQR, 1,49-2,99).

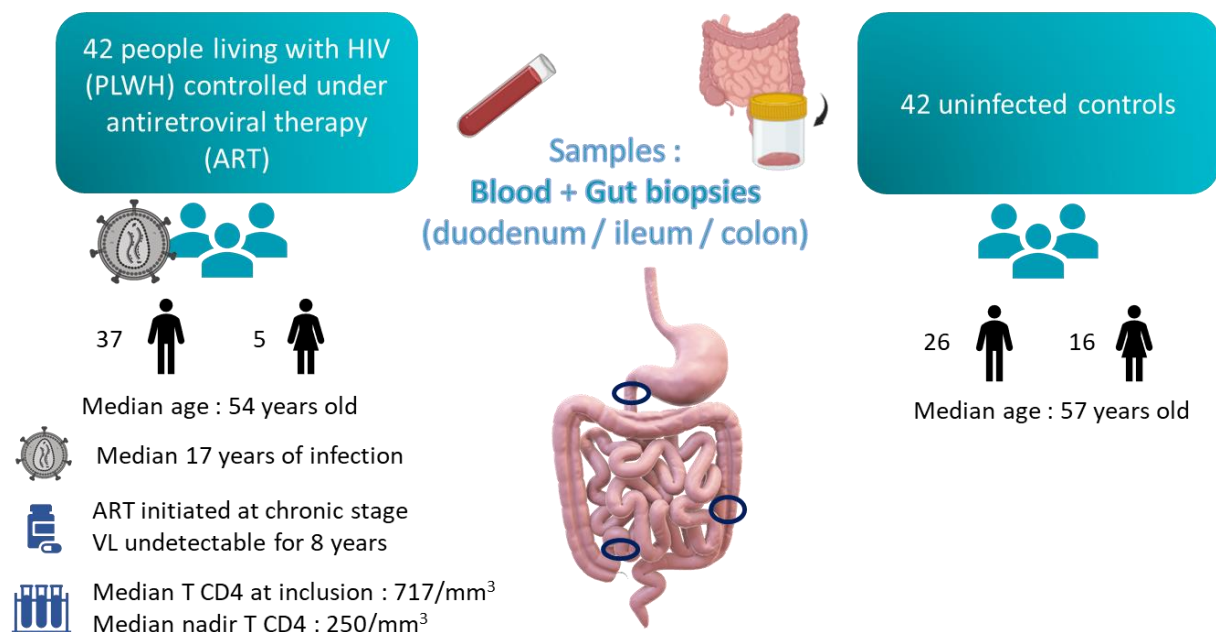


Figure 36. Caractéristiques de la population de l'étude ANRS EP61 GALT.

## D. PRELEVEMENTS

### 1. Echantillons sanguins

Un prélèvement sanguin veineux périphérique de 8 ml a été réalisé pour la Numération Formule Sanguine, la quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique, et la mesure des populations lymphocytaires T CD3/CD4/CD8 (analyses de routine faites aux laboratoires d'hématologie, de virologie et d'immunologie).

Un autre prélèvement sanguin veineux périphérique, de 70 ml, a été destiné aux études immunovirologiques propres au protocole de recherche. Une partie des prélèvements sanguins ont été utilisées pour la constitution d'aliquots de sang total conservés à -80°C. Le reste des prélèvements sanguins a été centrifugé pour l'obtention d'aliquots de plasma et l'isolement des PBMCs sur gradient de Ficoll, qui ont été conservés à -80°C (plasma) ou en azote liquide (PBMCs). Les prélèvements sanguins ont été effectués à jeun et avant la réalisation des endoscopies digestives.

### 2. Echantillons intestinaux

Les biopsies intestinales ont été recueillies lors d'endoscopies digestives réalisées au CHU de Toulouse en collaboration avec le service d'Hépatogastro-Entérologie. Les biopsies duodénales ont été obtenues par endoscopie haute, et les biopsies iléales et coliques par endoscopie basse.

Cinq biopsies de muqueuse intestinale ont été pesées, puis ont subi différentes étapes de digestion et tris pour séparer les fractions cellulaires d'intérêt. Une première étape de tri des lymphocytes intra-épithéliaux et des cellules épithéliales a été réalisée, après décollement de l'épithélium dans un milieu contenant du DTT, suivi d'un tri magnétique positif EpCAM (StemCell) des cellules épithéliales. Dans une deuxième étape, la lamina propria a ensuite été digérée dans un milieu contenant de la collagénase, puis passage sur tamis pour obtenir une suspension cellulaire selon une technique déjà mise au point au laboratoire lors de l'étude ANRS EP44. Après digestion enzymatique et mécanique, les lymphocytes T ont été isolés par tri magnétique positif CD2 (StemCell) et la fraction non-T conservée également. Le milieu de digestion a été conservé pour dosages de marqueurs solubles.

Trois autres biopsies ont été incluses dans du RNAlater (cryoconservation pour l'étude du réservoir VIH-1 et du microbiote intestinal), de l'OCT et de la paraffine.

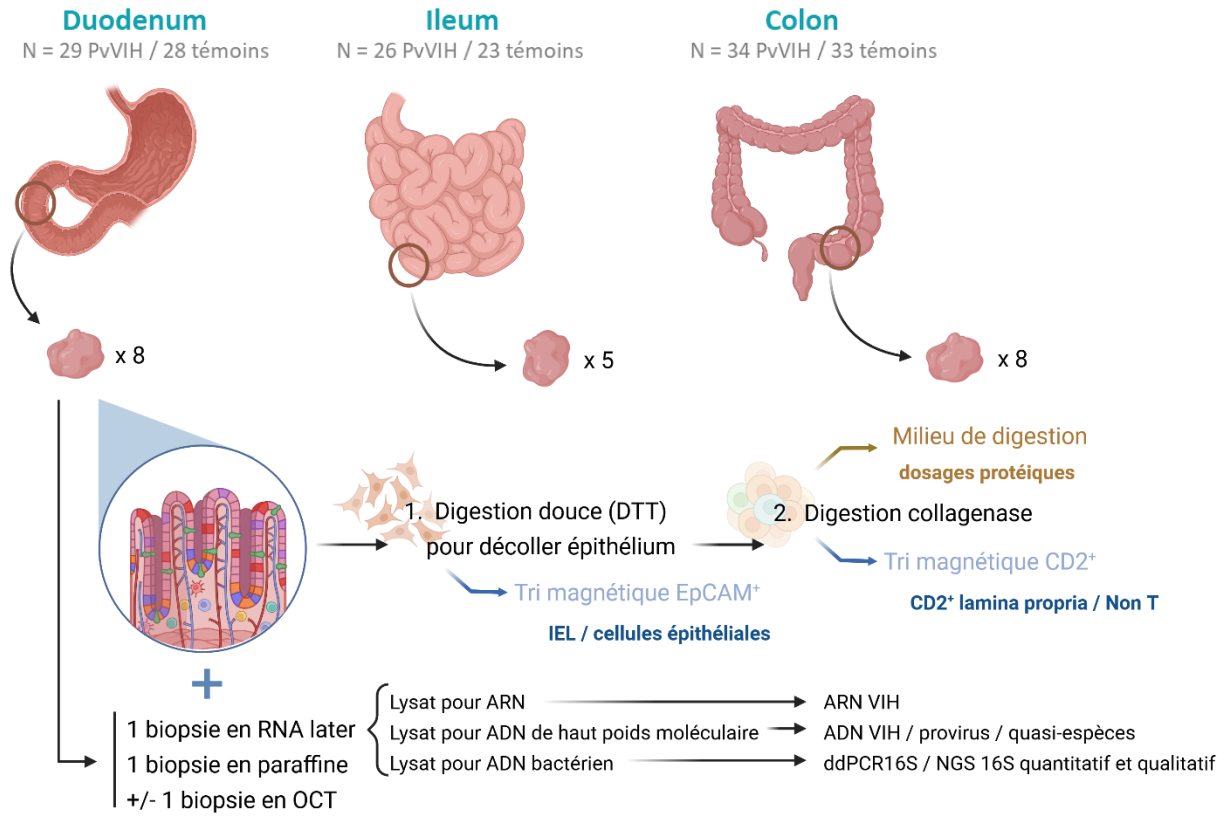


Figure 37. Traitement des biopsies intestinales.

## **RESULTATS I. L'augmentation des lymphocytes T $V\delta_1$ circulants chez les personnes vivant avec le VIH-1 est due à l'expansion clonale de cellules effectrices mémoires cytotoxiques CX3CR1+ dans une inter-relation entre le CMV, le microbiote, et la persistance du VIH-1 sous traitement antirétroviral.**

*Ce travail est présenté en suivant sous la forme d'un article long, accepté pour publication dans la revue PLoS Pathogens.*

La muqueuse intestinale joue un rôle clé dans la physiopathologie de l'infection par le VIH-1, siège d'un réservoir viral majeur, et de stimulation antigénique chronique liée à la réplication virale résiduelle mais aussi aux signaux microbiens dysbiotiques secondaire à la dysfonction de la barrière intestinale observée (Brenchley *et al.* 2004, 2006; Dillon *et al.* 2014; Vellas *et al.* 2024). Le cytomégalo virus peut également se réactiver dans la muqueuse intestinale des personnes vivants avec le VIH-1 et serait une source majeure d'activation lymphocytaire (Freeman *et al.* 2016).

Chez les personnes vivant avec le VIH-1, une augmentation des lymphocytes  $V\delta_1$  circulant a été observée quel que soit le stade de l'infection, et persiste même sous traitement antirétroviral, allant jusqu'à l'inversion du ratio des lymphocytes  $V\delta_1/V\delta_2$  dans le sang, mais les mécanismes de ce phénomène demeuraient peu compris (Poles *et al.* 2003; Pihl *et al.* 2024). Cette population de cellules, habituellement rare dans le sang est en revanche la plus fréquemment retrouvée au sein des tissus, notamment au niveau de l'épithélium intestinal. Elle y regroupe la majorité des lymphocytes  $\gamma\delta$  de l'épithélium intestinal, qui comptent eux-mêmes pour 15 à 50% des lymphocytes intra-épithéliaux, et qui participent ainsi à l'immuno-surveillance de la barrière intestinale. Ceux-ci sont plus abondants sur la partie proximale de l'intestin, notamment au niveau du duodénum (Suzuki *et al.* 2002). Les lymphocytes  $V\delta_1$  semblent participer à la fois à la réponse immunitaire innée et adaptative, avec un répertoire pouvant se focaliser de façon clonale en réponse à certains pathogènes tel que le CMV, avec des fonctions effectrices importantes, marquée par l'expression de CX3CR1 (Davey *et al.* 2017). Nous avons formulé l'hypothèse que l'expansion des lymphocytes  $V\delta_1$  dans le sang des personnes vivant avec le VIH-1 pourrait être lié à une stimulation intestinale.

Cette étude présente une caractérisation détaillée des lymphocytes T V $\delta$ <sub>1</sub> sanguins et intra-épithéliaux intestinaux au cours de l'infection par le VIH-1 sous traitement antirétroviral, à partir d'échantillons de sang et de duodénum de sujets inclus dans l'étude EP61 GALT. Une analyse du phénotype, des fonctions, du transcriptome à l'échelle de cellules uniques et du répertoire de ces lymphocytes a été réalisée et a permis de mettre en évidence une inter-relation dans cette expansion entre le CMV, le microbiote tissulaire et transloqué, et le réservoir viral VIH-1. Nous avons montré que l'expansion de V $\delta$ <sub>1</sub> circulants dans cette situation est majoritairement de nature clonale, avec un phénotype de cellules différenciées effectrices mémoires terminales exprimant le récepteur CX3CR1 avec un profil fonctionnel caractérisé par une forte cytotoxicité mais une production plus faible de cytokines. Nous avons retrouvé, chez les PVVIH, une augmentation des cellules V $\delta$ <sub>1</sub> circulantes exprimant des marqueurs de tropisme pour la muqueuse intestinale. Le clone V $\delta$ <sub>1</sub> circulant majoritaire chez un patient était également retrouvé de façon minoritaire dans l'intestin. Ces observations suggèrent que l'intestin puisse être un site de stimulation important pour l'activation des V $\delta$ <sub>1</sub>. Une analyse complémentaire d'échantillons sanguins de PVVIH et séronégatives pour le CMV nous a permis de déterminer le rôle crucial de la co-infection CMV et sa probable réplication résiduelle dans l'expansion des lymphocytes V $\delta$ <sub>1</sub>, malgré une restauration immunitaire des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. En addition de la stimulation par le CMV, des modifications de fréquence de certaines espèces bactériennes dans le duodénum et dans le microbiote transloqué étaient également associées aux modifications phénotypiques des LT V $\delta$ <sub>1</sub>. La fréquence des V $\delta$ <sub>1</sub> cytotoxiques, mais pas de ceux produisant de l'IFN- $\gamma$ , apparaissait corrélée négativement avec l'ARN VIH-1 résiduel dans le même compartiment, sanguin ou intestinal. Ces résultats permettent de mieux appréhender les stimuli à l'origine de l'expansion des LT V $\delta$ <sub>1</sub> dans le sang des PVVIH et mettent en lumière un possible rôle des LT V $\delta$ <sub>1</sub> dans le contrôle de l'infection VIH-1 qui pourraient aboutir à de nouvelles stratégies d'immunothérapie.

**Cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> Vδ<sub>1</sub> T cells clonally expand in an interplay of CMV, microbiota, and HIV-1 persistence in people on antiretroviral therapy**

Nived Collercandy<sup>1,2</sup>, Camille Vellas<sup>1,3</sup>, Manon Nayrac<sup>1,#a</sup>, Mary Requena<sup>1,3</sup>, Thomas Richarme<sup>1</sup>, Anne-Laure Iscache<sup>1</sup>, Justine Latour<sup>3</sup>, Karl Barange<sup>4</sup>, Laurent Alric<sup>5,6</sup>, Guillaume Martin-Blondel<sup>1,2,6</sup>, Matteo Serino<sup>7</sup>, Jacques Izopet<sup>1,3,6</sup>, Pierre Delobel<sup>1,2,6\*</sup>

<sup>1</sup>INSERM UMR1291-CNRS UMR5051-Université de Toulouse, Toulouse Institute for Infectious and Inflammatory Diseases, Toulouse, France

<sup>2</sup>CHU de Toulouse, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Toulouse, France

<sup>3</sup>CHU de Toulouse, Laboratoire de Virologie, Toulouse, France

<sup>4</sup>CHU de Toulouse, Service d'Hépatogastro-entérologie, Toulouse, France

<sup>5</sup>CHU de Toulouse, Service de Médecine Interne et Immunologie clinique, Toulouse, F-31400, France

<sup>6</sup>Université de Toulouse, Toulouse, France

<sup>7</sup>Institut de Recherche en Santé Digestive, INSERM U1220, INRAe, ENVT, Université de Toulouse, Toulouse, France

<sup>#a</sup>Current Address: Centre de Recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Montréal, Université de Montréal, Canada

\* Corresponding author

E-mail: [delobel.p@chu-toulouse.fr](mailto:delobel.p@chu-toulouse.fr) (PD)

ORCID: 0000-0002-2874-3581

Abstract word count: 242

## Abstract

V $\delta_1$   $\gamma\delta$  T cells are key players in innate and adaptive immunity, particularly at mucosal interfaces such as the gut. An increase in circulating V $\delta_1$  cells has long been observed in people with HIV-1, but remains poorly understood. We performed a comprehensive characterization of V $\delta_1$  T cells in blood and duodenal intra-epithelial lymphocytes, obtained from endoscopic mucosal biopsies of 15 people with HIV-1 on antiretroviral therapy and 15 HIV-seronegative controls, in a substudy of the ANRS EP61 GALT study (NCT02906137). We deciphered the phenotype, functional profile, single-cell transcriptome and repertoire of V $\delta_1$  cells and unraveled their relationships with the possible triggers involved, in particular CMV and microbiota. We also assessed whether V $\delta_1$  T cells may play a role in controlling the HIV-1 reservoir. V $\delta_1$  T cells were mainly terminally differentiated effectors that clonally expanded in the blood with some trafficking with the gut of people with HIV-1. Most expressed CX3CR1 and displayed a highly cytotoxic profile, but low cytokine production, supported by a transcriptomic shift towards enhanced effector lymphocytes. This expansion was associated with CMV status and markers of occult replication, but also with changes in the duodenal and blood-translocated microbiota. Cytotoxic, but not IFN- $\gamma$ -producing, V $\delta_1$  T cells were negatively associated with cell-associated HIV-1 RNA in both the blood and duodenal compartments. The increase in V $\delta_1$  T cells observed in people with HIV-1 has multiple triggers, particularly CMV and microbiota, and may in turn contribute to the control of the HIV-1 reservoir.

**Keywords:** V $\delta_1$  T cells; CX3CR1 ; HIV-1 ; CMV ; Microbiota ; Gut ; Duodenum ; Intra-epithelial lymphocytes

## **Author Summary**

V $\delta$ 1 T cells are key immune cells, particularly in the intestinal mucosa, which is a major site of HIV-1 persistence during antiretroviral therapy. Disruption of the gut microenvironment in people with HIV-1 is associated with chronic dysbiosis, increased bacterial translocation, and subsequent immune activation and systemic inflammation. An increase in circulating V $\delta$ 1 T cells has long been observed in this setting, regardless of the stage of infection, and persists even with effective antiretroviral therapy, but the reasons for this remain poorly understood.

Our findings revealed the interplay between CMV, microbiota, and HIV-1 and V $\delta$ 1 T cell immune responses, particularly in the gut, to explain the expansion of V $\delta$ 1 T cells observed in people with HIV-1. They also highlight the role of cytotoxic V $\delta$ 1 T cells in targeting residual HIV-1-infected cells. This may lead to considering V $\delta$ 1 T cell-based immunotherapy strategies to target the HIV-1 reservoir.

**Funding:** This project was supported by grants from the ANRS-MIE (EP61 GALT) and Sidaction.

**Competing interests:** The authors declare no competing interests.

## Introduction

The intestinal mucosa appears to be a key player in the pathophysiology of HIV-1, both as a direct target for HIV-1 replication and as a source of chronic antigenic stimulation from multiple sources in people with HIV-1 (PLWH). Indeed, the intestinal mucosa is highly enriched in CCR5<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells, which are specifically targeted and depleted during the early stages of HIV-1 infection. This leads to disruption of the intestinal immune barrier (1,2). Even on antiretroviral therapy (ART), immune reconstitution of the intestinal mucosa remains incomplete (3,4). Disruption of the gut microenvironment is associated with chronic dysbiosis, increased bacterial translocation, and subsequent immune activation and systemic inflammation in PLWH (5,6). The gut is also a major site of HIV-1 persistence during ART, with enrichment of intact proviral DNA, which is the form responsible for viral rebound upon ART interruption. Persistent transcription from HIV-1 proviruses, both intact and defective, also appears to be a source of residual viral antigen production (7–10). In addition, human cytomegalovirus (CMV) can also reactivate in the intestinal mucosa of PLWH and may be a major source of T-cell activation (11). These multiple and persistent antigenic stimuli may contribute to chronic immune activation and exhaustion in PLWH (12).

Each intestinal segment has specific characteristics in antigen uptake and immune cell composition (13,14). Intra-epithelial lymphocytes (IEL) are more abundant in the proximal intestine, particularly in the duodenum. Due to their anatomical location, duodenal IEL are at the forefront of the intestinal barrier defense against a wide range of digestive pathogens and dietary antigens, including bacteria, viruses, and fungi, which in turn expand the IEL (15). IEL are divided into conventional  $\alpha\beta$ TCR T cells, mostly CD8<sup>+</sup>, and unconventional T cells, of which  $\gamma\delta$  T cells are an important subset.

V $\delta$ <sub>1</sub> T cells are the more predominant subsets of  $\gamma\delta$  T cells in the intestinal epithelium (16). They are involved in both innate and adaptive immune responses (17). While they can be triggered in a TCR-independent manner by natural killer receptor-mediated recognition of stress ligands, particularly in epithelia, they can also recognize conserved patterns in a major histocompatibility complex (MHC)-unrestricted manner through their TCR (16,18). Remarkably, their repertoire can be increasingly

shaped with age by exposure to various pathogens, most notably CMV, but also malaria or EBV, with pathogen-driven clonal expansion (19–23). Expanded V $\delta_1$  T cells exhibit cytotoxic effector properties and express the chemokine receptor CX3CR1 (19). Expanded clonotypes can be found in peripheral tissues as well as in the circulation, although V $\delta_1$  T cells are rare in the blood, where the most abundant subset of  $\gamma\delta$  T cells is classically the V $\delta_2$  subset (24). In tissues, in addition to their role against pathogens, V $\delta_1$  IEL may also have anti-tumor properties (25).

Surprisingly, in the setting of HIV-1 infection, CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> V $\delta_1$  T cells expand in the circulation, and outnumber the V $\delta_2$  subset, both in primary and chronic HIV-1 infection, and even under ART (26–29). The V $\delta_1$ /V $\delta_2$  ratio inversion seems to occur only at the chronic stage. This has been observed during both HIV-1 and SIV infection (30,31). The evolution of  $\gamma\delta$  T cell numbers among IEL is less clear and may depend on the stage of HIV-1 infection (27,32). The expansion of V $\delta_1$  cells in the blood of PLWH, a subset that is more abundant in the mucosa, raises the question of their intestinal origin. However, the trigger for the expansion of V $\delta_1$  T cells and the inversion of the V $\delta_1$ /V $\delta_2$  ratio in PLWH is not clearly understood. In SIVsm-infected rhesus macaques, the increase in V $\delta_1$  T cells has been correlated with microbial translocation (33). HIV-1 may also be an inducer and potentially a target of V $\delta_1$  T cells, which may have antiviral activity against HIV-1, particularly those bearing the activator receptor NKG2C, and thus may contribute to the control of HIV-1 replication (28,34,35).

Therefore, we performed a comprehensive characterization of V $\delta_1$  T cells in blood and duodenal IEL obtained from endoscopic mucosal biopsies in PLWH on ART and uninfected controls. We deciphered their phenotype, functions, transcriptome and repertoire and unraveled their relationships with CMV, microbiota and the HIV-1 reservoir.

Here, we found that V $\delta_1$  T cell expansion in PLWH is due to clonal expansion of terminally differentiated effector memory cells that express the chemokine receptor CX3CR1 and exhibit highly cytotoxic functions supported by expression of effector pathways. Some expanded V $\delta_1$  T cells show features of intestinal recirculation. Importantly, this expansion of CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta_1$  T cells was found specifically in PLWH with positive CMV serologic status. We observed associations between markers of occult CMV

replication, changes in the duodenal and blood microbiota, and the phenotype of V $\delta$ <sub>1</sub>T cells. Finally, cytotoxic V $\delta$ <sub>1</sub> T cells negatively correlated with residual HIV-1 RNA in both blood and duodenum, suggesting that these cells may contribute to HIV-1 control.

## Results

### Study population

This study was nested within the ANRS EP61 GALT study, which enrolled 42 PLWH on ART and HIV seronegative controls. Their full clinical and virological details have been previously published (7). Here, we performed a sub-study in which the main population consisted of 15 PLWH on ART and 15 HIV seronegative controls, all seropositive for CMV IgG antibodies, with available duodenal biopsies and PBMC (Fig. 1A; Table S1). The median age was 54 years for PLWH (80% men) and 58 years for controls (73% men). Included subjects were PLWH who initiated ART in the chronic stage of infection and had sustained virologic suppression (plasma HIV-1 RNA <30 copies/mL) for a median of 9 years [IQR, 5-14], and who had a median CD4 T-cell count of 812 cells/ $\mu$ L [IQR, 590-956] at the time of sampling. In addition, we studied CMV-seronegative individuals with available PBMC, 12 of whom were PLWH on ART with clinical characteristics close to those of CMV-positive PLWH, and 12 of whom were HIV-seronegative controls matched for age and sex (Table S1).

### **The increased proportion of $V\delta_1$ T cells in the blood of PLWH is mainly due to the expansion of $CX3CR1^+$ TEMRA cells**

The phenotype of the  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  subsets of  $\gamma\delta$  T cells was assessed by flow cytometry in both PBMC and duodenal IEL from each individual in the main CMV-seropositive study population (Fig. 1B and S1). As expected,  $\gamma\delta$  T cells were enriched in the duodenal mucosa and consisted mainly of  $V\delta_1$  cells. We observed no difference between PLWH and controls in the frequency of total  $\gamma\delta$  T cells among  $CD3^+$  T cells in both PBMC and IEL, nor in the frequencies of  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  cells among  $\gamma\delta$  T IEL (Fig. 1C), nor in the absolute numbers of  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  (Fig. S2) on microscopic analysis of duodenal biopsies. We confirmed the previously reported inversion of the  $V\delta_1/V\delta_2$  ratio in PLWH blood with an increased frequency of the  $V\delta_1$  subset (median, 31% [IQR, 18.9-37.1]) in PLWH compared to controls (median, 14.3% [IQR, 7-24.6];  $P = 0.01$ , Welch's t-test), accompanied by a decrease in the  $V\delta_2$  subset (median 8.8% [IQR, 5.9-15.8] for PLWH, and 25.6% [IQR, 16.7-35.9] for controls;  $P = 0.004$ , Welch's t-test) (Fig.

1C). The differentiation phenotype of the  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  subsets showed distinct populations in the duodenal epithelium compared to the circulation (Fig. 1D). IEL were almost exclusively either  $CD27^-CD45RA^-$  effector memory cells or  $CD27^-CD45RA^+$  terminally differentiated effector memory (TEMRA) cells.  $V\delta_1$  T cells from PLWH showed an increased frequency of TEMRA cells in both compartments, particularly in the blood where they represented the majority of cells regardless of HIV status. Circulating effector  $V\delta_1$  T cells were characterized by the expression of CX3CR1, which is predominantly expressed on the TEMRA subset. CX3CR1<sup>+</sup> cells were highly enriched in circulating  $V\delta_1$  T cells of PLWH (median 73.5% [IQR, 44-79.5] vs. 42% in controls [IQR, 26.4-67.1],  $P=0.11$ , Welch's test) (Fig. 1E). By contrast, CXCR3 tended to be less expressed in circulating  $V\delta_1$  T cells of PLWH than in controls, while CCR6 and CCR9 were expressed at lower levels, with no difference in frequency between the two groups (Fig. S3). The number of circulating CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  TEMRA cells was increased in PLWH compared to controls (median 17.6 cells/ $\mu$ L [IQR, 4.5-26.3] vs. 2.9 cells/ $\mu$ L [IQR, 1.2-7.5], respectively,  $P=0.04$ , Welch's test; Fig. 1F). Clustering of circulating  $V\delta_1$  T cells using the unsupervised opt-SNE algorithm delineated distinct effector cell phenotypes (Fig. 2A). Cluster 5, which included cells with a TEMRA phenotype expressing CX3CR1, the activator receptor NKG2C, and the activation and exhaustion marker TIM-3, was significantly more frequent in PLWH (median 21% [IQR, 3.7-40.6]) compared to controls (median 7.6% [IQR, 3-14.5];  $P=0.04$ , Welch's t-test). Expression of TIM-3 and NKG2C was increased on blood CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells from PLWH compared to controls (Fig. 2B). Expression of exhaustion markers and especially their co-expression was increased on TEMRA  $V\delta_1$  T cells from PLWH compared to controls (Fig. S4).

Compared to circulating  $V\delta_1$  T cells, duodenal  $V\delta_1$  IEL were globally characterized by the almost ubiquitous expression of the  $\beta 7$  integrin, CD103 ( $\alpha E$ ) and CD69 and higher expression levels of NKG2C and TIM-3 but lower expression of CX3CR1 (Fig. 2C). Compared to controls,  $V\delta_1$  IEL from PLWH showed higher expression of NKG2C (Fig. 2D). The level of NKG2C expression in duodenal  $V\delta_1$  IEL was positively correlated with the inversion of the  $V\delta_1/V\delta_2$  ratio observed in the blood ( $n=30$ , Spearman's  $r=0.39$ ,  $P=0.03$ ; Fig. 2E). Circulating CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells expressing the gut-homing markers  $\beta 7$  and CD103 were

increased in PLWH compared to controls (median 1.1/ $\mu$ L [IQR, 0.6-2.6] vs. 0.2/ $\mu$ L [IQR, 0-0.7] in PLWH and controls, respectively,  $P=0.01$ , Welch's t-test; Fig. 2F), suggesting recirculation of effector  $V\delta_1$  T cells from the gut.

### **Circulating CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA $V\delta_1$ T cells have a highly cytotoxic profile but produce fewer pro-inflammatory cytokines**

We further investigated the functions of the  $V\delta_1$  T cells by intracellular flow cytometry staining. We evaluated cytotoxic effector functions using unstimulated Granzyme B (GzmB) and Perforin staining, and pro-inflammatory cytokine production using PMA/ionomycin-stimulated Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) staining in both circulating and IEL  $V\delta_1$  T cells (Fig. 3A and 3B). Circulating TEMRA  $V\delta_1$  T cells exhibit a cytotoxic phenotype with high production of GzmB and Perforin, particularly for CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA  $V\delta_1$  (median of double positive: 85% [IQR: 71-94]) in both PLWH and controls. In contrast, circulating CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells had the lowest production of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  compared to CX3CR1<sup>-</sup> cells. Duodenal CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  IEL showed much lower GzmB, Perforin, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  production compared to circulating cells. However, although lower than in their circulating counterparts, Perforin expression was higher in  $V\delta_1$  IEL from PLWH compared to controls (median of 26% [IQR, 20-35] vs. 10% [IQR, 9-16] GzmB<sup>+</sup>/Perforin<sup>+</sup> cells, in PLWH vs. controls, respectively;  $P < 0.01$ , Welch's t-test; Fig. S5). To further explore the functional profile of  $V\delta_1$  T cells, we examined the expression of key transcription factors TCF-1, TOX, T-bet, and Eomes in the blood using intra-nuclear flow cytometry staining (Fig. 3C-3E). Effector CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells showed higher expression of T-bet and lower expression of Eomes than other TEMRA  $V\delta_1$  T cells, particularly in PLWH.

### **Circulating $V\delta_1$ T cell transcriptome shifts toward an enhanced cytotoxic effector profile**

Single-cell RNA sequencing (scRNAseq) was performed on sorted circulating  $V\delta_1$  T cells from 6 PLWH and 6 controls to characterize the transcriptional reprogramming that supports the enhanced effector phenotype of  $V\delta_1$  T cells observed in PLWH. An average of 655 single  $V\delta_1$  T cells per donor were

sequenced. Unsupervised analysis revealed clustering of 6 profiles that differed between PLWH and controls (Fig. 4A-4C). Clusters 0 and 1 were more abundant in PLWH, whereas clusters 2 to 5 were more abundant in controls. Clusters 3 to 5 showed an early differentiation profile, with clusters 3 and 5 corresponding to naive T cells expressing high levels of *CD27*, higher levels of *CD28* and *CCR7*, and an important self-renewal potential with the expression of *IL7R*, *LTB*, *TCF7*, *LEF1* (Fig. 4D and 4E). Cluster 4 had preserved but decreased *CD27* expression, and also showed features of effector cells with the expression of cytotoxicity-associated genes (especially *GZMK*, but also *GZMA*, *GZMH*, *PRF1*). In contrast, clusters 0 to 2 presented the most terminally differentiated profile with loss of *CD27*, *CD28*, *CCR7* expression and the highest level of *CX3CR1* expression. They expressed high levels of genes associated with cytotoxicity such as *GZMA*, *GZMB*, *GZMH*, *PRF1*, *GNLY*, the transcription factor *TBX21* and the NK family activator receptor NKG2C gene *NKG7*. Clusters 2 and 4 had higher expression of the pro-inflammatory cytokine gene *IFNG*, which was very low in the other effector-like clusters. Cluster 1 differed from clusters 0 and 2 mainly by a lower expression of the transcription factors *TOX*, associated with immune exhaustion, and of *STAT4* expression. Comparisons of gene expression within each cluster between PLWH and controls revealed a global increase in *FGL2* expression in PLWH, in addition to increased expression of *FNDC3B*, *DOK6*, *FRY*, which are involved in cell proliferation signaling in clusters 0 and 1, of *CD226* (DNAM-1 gene, associated with cell killing pathway) expression in cluster 1, and of *CX3CR1* and *S1PR5* (downregulated gene in resident memory T cells) expression in cluster 3 (Fig. S6). Terminally differentiated clusters co-expressed *ITGAE* and *ITGB7*, encoding CD103 and  $\beta 7$  integrins (Fig. 4E), suggesting recirculation of effector  $V\delta_1$  T cells from the gut.

### **Circulating $V\delta_1$ T cells are clonally expanded in PLWH**

To assess the clonality and diversity of the expanded  $V\delta_1$  TCR repertoire, we performed dimer-avoided multiplex (dam)-PCR and NGS to analyze the CDR3 sequences of the hTRDV chain on sorted blood  $V\delta_1$  T cells from 5 PLWH and 5 controls, and unsorted duodenal IEL (Fig. 5A). Sequenced cells from the blood almost exclusively expressed the TRDV1 gene in accordance with the realized sorting. TRDV1

expressing cells accounted for an average of 54% of the duodenal epithelial  $\gamma\delta$  T cells, and TRDV1 clones also accounted for 54% of the sequenced clonotypes. The number of sequenced  $V\delta_1$  T cells was higher in the PLWH blood samples (mean 5,253 [range 1,461-12,210] for PLWH, and 939 [204-2,001] for controls in blood; 565 [262-824] in PLWH duodenum). CDR3 analysis revealed a clonally focused repertoire in all subjects, although the clonal expansion appeared to be more pronounced in the blood of PLWH. Notably, for one of the 5 PLWH (#8547), the predominant circulating clone (45% of the sequenced  $V\delta_1$  cells) was also found in the duodenal IEL of the same subject, suggesting recirculation between these 2 compartments. We used a diversity index (defined as 100 minus the area under the curve between the percentage of total reads and the percentage of unique CDR3s, when unique CDR3s are sorted by frequency from largest to smallest) and Hill's numbers (for which increasing values of  $q$  make the diversity measure progressively less sensitive to rare haplotypes) to assess the diversity of the TRDV1 clonotypes (Fig. 5B-5C). Rényi's plots of Hill's numbers were used to rank samples according to their degree of genetic complexity, with the highest curves corresponding to the most complex samples. TRDV1 diversity was lower in PLWH blood, compared to both control blood and matched duodenal IEL, and remained lower for all values of  $q$  (representing the order of the diversity). One control (#3124) presented a very low count of  $V\delta_1$  T cells in blood (so only  $n = 204$   $V\delta_1$  T cells were sequenced), leading to the highest diversity index (42.5), the main clone accounting for only 18% of the sequenced repertoire.

### **CMV is associated with $V\delta_1$ T cells expansion in PLWH on ART**

Since CMV has been described as a trigger of  $V\delta_1$  T cell clonal expansion, we investigated the potential role of CMV co-infection in PLWH in the decreased diversity of the  $V\delta_1$  repertoire. The flow cytometric phenotyping results of circulating  $V\delta_1$  T cells obtained from the 15 CMV<sup>+</sup> PLWH and 15 CMV<sup>+</sup> controls were compared with 12 CMV<sup>-</sup> PLWH and 12 CMV<sup>-</sup> controls. There was an increase in the number of circulating  $\gamma\delta$  T cells in CMV-seropositive individuals, especially in PLWH (median of 85.2/ $\mu$ L in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> vs. 39.4/ $\mu$ L in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>-</sup>;  $P = 0.01$ , Welch's t-test) (Fig. 6A). This was mainly related to the

increase in the number and frequency of  $V\delta_1$  T cells in the same groups (median of 24.7/ $\mu$ L in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> vs. 4.5/ $\mu$ L in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>-</sup>;  $P = 0.001$ , Welch's t-test), while the number of  $V\delta_2$  T cells remained unchanged and their frequency among total  $\gamma\delta$  T cells decreased in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> individuals. An inversion of the  $V\delta_1/V\delta_2$  ratio was observed only in the HIV<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> group with a median of 2.6 (IQR, 1.7-4.2), whereas the median ratio was  $< 1$  in all other 3 groups (0.6 for HIV<sup>-</sup>CMV<sup>+</sup> and HIV<sup>+</sup>CMV<sup>-</sup>, 0.5 for HIV<sup>-</sup>CMV<sup>-</sup>) (Fig. 6B). Notably, the frequency of CX3CR1<sup>+</sup> cells among  $V\delta_1$  T cells was highly dependent on CMV status (median of 73.5% in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> vs. 27.6% in HIV<sup>+</sup>CMV<sup>-</sup>;  $P = 0.001$ , Welch's t-test) (Fig. 6C). CMV viremia assessed by qPCR was negative in all CMV-seropositive subjects. The CMV IgG index was used as a surrogate for occult CMV replication and was significantly higher in PLWH compared to controls (median 407.5 vs. 156.3 AU/mL;  $P = 0.025$ , Welch's t-test) (Fig. 6D).

#### **PLWH show changes in the duodenal mucosal and blood-translocated microbiota**

Because of the anatomical interface between the IEL and the gut microbiota and the key role of the IEL in host gut barrier defense, we investigated the potential shift in duodenal mucosal microbiota and blood-translocated microbiota populations in PLWH in search of a trigger for mucosal stimulation and potential recirculation of  $V\delta_1$  T cells. Duodenal biopsies from 24 PLWH and 25 controls, and blood samples from 33 PLWH and 39 controls, from the EP61 GALT study were used to perform pan-bacterial 16S ribosomal RNA PCR and NGS to identify and classify bacterial phyla, classes, orders, families, genera, and species. Overall microbiota diversity, as assessed by multiple indices, showed a higher diversity in the blood and duodenal mucosa of PLWH compared to controls (Fig. S7). The duodenal microbiota showed a higher abundance of several bacteria in PLWH, particularly in the Firmicutes phylum and the *Staphylococcus* genus (Fig. 7A). The blood-translocated microbiota also showed a higher abundance of several bacteria in PLWH, including *Candidatus pelagibacter*, *Arcobacter*, *Lactobacillus*, while few others were relatively more abundant in controls (Fig. 7B).

### **Cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion is associated with the interplay of CMV, microbiota changes, and HIV-1 persistence**

Given the observed shift in translocated and mucosal microbiota in PLWH, and the critical link established between CMV infection and expansion of circulating CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells, we sought a potential interplay between microbiota, CMV residual replication, and V $\delta$ <sub>1</sub> T cell phenotype. The anti-CMV IgG index, used as a surrogate for residual CMV replication, was positively correlated with the frequency of some bacterial genera in the duodenal microbiota as well as with V $\delta$ <sub>1</sub> cytotoxic functions (GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup> cell frequency among both duodenal and circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells, Fig. 8A and 8C). The frequency of these bacteria in the duodenal microbiota was also positively correlated with circulating CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> frequency (e.g. *Porphyromonas* relative abundance in duodenum, Spearman's  $\rho = 0.71$ ; Fig. 8C) and also with circulating V $\delta$ <sub>1</sub> cytotoxic functions (e.g. *Porphyromonas* frequency in duodenum, Spearman's  $\rho = 0.65$ ). The bacteria higher in the translocated microbiota were mainly positively correlated with the frequency and cytotoxicity profile of circulating CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> cells. In contrast, the relative abundance of the genus *Pelomonas* in the translocated microbiota was associated with a less abundant TEMRA and CX3CR1<sup>+</sup> phenotype and a less activatory profile (NKG2C<sup>+</sup>) of circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells (Fig. 8A).

To rule out potential confounding biases related to systemic inflammation caused by CMV co-infection and/or changes in the microbiota, we measured inflammatory biomarkers in the plasma of PLWH (who were all receiving sustained, effective ART) and controls, both with and without CMV co-infection (n = 15 CMV<sup>+</sup> PLWH, 15 CMV<sup>+</sup> controls, 12 CMV<sup>-</sup> PLWH and 12 CMV<sup>-</sup> controls) (Fig. S8). IL-6, TNF- $\alpha$  and IP-10 (CXCL10, ligand of CXCR3) were higher in PLWH than in controls without HIV. There were no significant changes in IL-1 $\beta$  or IL-8. We did not observe an increase in sCD14 in PLWH, despite previous reports describing such an increase. This was confirmed to be due to insufficient statistical power in our study population, as plasma sCD14 was significantly increased when assessed in the entire ANRS EP61 GALT cohort (n = 42 PLWH and 42 controls). There were not significant changes in the inflammatory biomarkers related to CMV status.

We then investigated whether these inflammatory markers were associated with either the CMV IgG index or the relative abundance of bacteria previously linked to V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion. The CMV IgG index did not correlate with any of the assessed biomarkers. Regarding bacterial triggers, there was no overall positive correlation between microbiota bacterial genera and plasma biomarkers, at the exception of a positive tendency between plasma IL-8 and TNF- $\alpha$  levels and *Pelomonas* DNA frequency in blood (Fig. S9). However, *Pelomonas* frequency was negatively correlated with V $\delta$ <sub>1</sub> changes in the blood (Fig. 8A). Therefore, neither occult CMV replication nor bacterial changes associated with V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion seemed to be significant triggers of systemic inflammation in PLWH.

Furthermore, inflammatory plasma biomarkers did not correlate with the frequency or phenotypic changes of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells observed in PLWH, except for a positive association between IL-6 plasma levels and the V $\delta$ <sub>1</sub>/V $\delta$ <sub>2</sub> ratio. However, our findings suggest that this association is not supported by a correlation between IL-6 levels and an increase in circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cell frequency ( $\rho = 0.003$ ,  $P = 0.99$ ), but rather by a correlation with a reduction in V $\delta$ <sub>2</sub> T cell frequency ( $\rho = -0.60$ ,  $P = 0.02$ ) (Fig S9).

Thus, the changes observed in V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in PLWH did not seem to be triggered by non-specific systemic inflammation.

Finally, we examined the relationship between the phenotype of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in PLWH and the HIV-1 reservoir within the same subjects in both the blood and intestinal compartments, specifically the intact fraction of HIV-1 DNA and the cell-associated residual HIV-1 RNA. The mean frequency of intact HIV-1 DNA in the intestine (measured in 3 segments: duodenum, ileum and colon) was associated with a decreased diversity (*i.e.* clonal expansion) of circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells. The cytotoxic functions (frequency of GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup> cells) of circulating CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> T cells were negatively correlated with the frequency of intact proviral DNA in PBMC (Spearman's  $\rho = -0.54$ ), and CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells were also negatively correlated with residual cell-associated HIV-1 RNA in PBMC ( $n=15$ , Spearman's  $\rho = -0.68$ ,  $P=0.007$ ) (Fig. 8B and 8C). Consistently, cytotoxic functions of duodenal V $\delta$ <sub>1</sub> T cells (frequency of GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup> cells) seemed to be negatively correlated with residual HIV-1 RNA in the duodenum (Fig. S10). In contrast, duodenal V $\delta$ <sub>1</sub> T cells producing pro-inflammatory cytokines (frequency of IFN-

$\gamma^+$ TNF- $\alpha^+$  cells), most of which do not express CX3CR1 and do not have cytotoxic properties, seemed to be positively correlated with residual HIV-1 RNA in the duodenum (Fig. S10). Taken together, these results suggest an antiviral potential of cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta_1$  T cells against HIV-1-infected cells. Consistent with a potentially favorable profile of circulating cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta_1$  T cells, they were also positively correlated with CD4<sup>+</sup> T cell frequency and CD4/CD8 T cell ratio in the blood of PLWH on ART (n=15, Spearman's  $\rho = 0.70$ ,  $P=0.048$ ; Fig. S10).

## Discussion

Here we show that the increase in circulating V $\delta_1$  T cells observed in PLWH on ART is mostly a clonal expansion of terminally differentiated effector memory cells expressing the chemokine receptor CX3CR1 and exhibiting a functional profile characterized by high cytotoxicity but low cytokine production. Since V $\delta_1$  T cells are normally located primarily at mucosal barriers, and since we found evidence for trafficking of V $\delta_1$  cells with the gut, we suggest that the gut is likely to be an important trigger site for V $\delta_1$  T cell activation in PLWH. Our data highlight the critical link between occult CMV replication and V $\delta_1$  T cell expansion in PLWH. In addition to this key CMV-induced trigger, species-level changes within the duodenal microbiota composition and within the blood-translocated microbiota in PLWH are also associated with V $\delta_1$  T cell phenotypic changes. The association between the expansion of cytotoxic V $\delta_1$  T cells and the reduction of residual HIV-1 RNA in both blood and duodenal mucosa suggests that these cells may contribute to HIV-1 infection control. Taken together, our results unravel a complex interplay between CMV, bacterial microbiota and the immunological response of V $\delta_1$  T cells to HIV-1 infection.

The expansion of circulating V $\delta_1$  T cells, especially CX3CR1<sup>+</sup> cells, is associated with CMV status and is likely driven by occult CMV replication in PLWH despite being on effective ART with restored circulating CD4<sup>+</sup> T cell counts and undetectable CMV DNA in their blood. Residual CMV replication in PLWH on ART has been clearly established as a persistent driver of immune activation in previous studies and has been associated with inflammatory markers, CD8<sup>+</sup> T cell expansion, lower CD4/CD8 T cell ratio, occurrence of cardiovascular events, and microbial translocation (11,36–41). Interestingly, PLWH are more frequently co-infected with CMV, with higher incidence and prevalence than HIV-seronegative individuals, although the reason remains unclear (42). Analysis of blood samples from CMV-seronegative PLWH confirmed that V $\delta_1$  T cell expansion is associated with CMV serologic status. CMV IgG index has been suggested as a surrogate marker of residual CMV replication and was significantly higher in PLWH than in HIV-seronegative controls in our cohort (43–46). While CD4<sup>+</sup> T cell deficiency is a known factor responsible for CMV replication in immunocompromised individuals, CMV viremia is

almost always undetectable in PLWH on ART when their blood CD4<sup>+</sup> T cell counts are restored. We hypothesize that persistent depletion of mucosal CD4<sup>+</sup> T cells in PLWH may contribute to tissular occult CMV replication even on ART with high blood CD4<sup>+</sup> T cell counts (3,4). In settings other than HIV infection, such as common variable immunodeficiency or renal transplantation, CMV has also been described as a major driver of V $\delta$ <sub>1</sub> T cell clonal expansion (21,47). However, we also show significant correlations between duodenal mucosal microbiota composition and both CMV IgG index and V $\delta$ <sub>1</sub> T cell phenotype. In the context of gut barrier dysfunction in PLWH, it is also possible that CMV may be a confounding factor between mucosal microbiota changes and V $\delta$ <sub>1</sub> T cell activation in the gut. CMV IgG index has been associated with gut epithelial damage and an increase in microbial translocation markers, suggesting that CMV mucosal replication in the gut could reshape the local microbiota, which in turn could trigger an adaptive response by the V $\delta$ <sub>1</sub> subset (41,48). Indeed, we found changes in both the duodenal and blood-translocated microbiota in PLWH, in global diversity as well as species-specific changes. The specificity of the expanded V $\delta$ <sub>1</sub> effector cell clones against CMV, some bacterial species or HIV-1 was not demonstrated in our study. Due to the lack of a TRDV1 CDR3 specificity database, we were unable to link the clonotype sequences to a specific pathogen, nor do we have sufficient numbers of cells to expand the clones *ex vivo* to assess their antiviral properties. Thus, the precise triggers and targets of expanded V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in PLWH could not be formally established here, but our data clearly highlight the key role of CMV co-infection in PLWH. Systemic inflammation does not appear to be a non-specific confounding factor, as inflammatory biomarkers were not significantly associated with the expansion of CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells.

The hypothesis of intestinal activation of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in PLWH is supported by the increased expression of the activator receptor NKG2C in V $\delta$ <sub>1</sub> IEL, which correlated with the V $\delta$ <sub>1</sub>/V $\delta$ <sub>2</sub> ratio in the blood. In addition, increased levels of circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells expressing both  $\beta$ 7 integrin and CD103 ( $\alpha$ E integrin), which are markers of intestinal residence, may indicate increased trafficking of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells with the gut in PLWH. Furthermore, the major circulating clonotype from one subject was also found in the duodenum of the same subject, supporting the idea of the recirculation of intestinal V $\delta$ <sub>1</sub> T cells

secondary to mucosal stimulation. The number of  $V\delta_1$  clonotypes obtained from duodenal epithelium was lower than from blood samples because endoscopic duodenal biopsies only allowed extraction of a limited number of IEL. Thus, it is likely that not all existing duodenal clonotypes were analyzed and additional clones shared between blood and duodenum may have been missed. In addition, our study did not include the examination of clonotypes from other tissues such as skin or lung, which may also be sites of activation and recirculation of  $V\delta_1$  T cells in PLWH (49,50).

CX3CR1 is the receptor for CX3CL1, also known as fractalkine, a chemokine expressed in endothelial and epithelial tissues, including the intestine. CX3CR1 appears to be expressed predominantly by CD27<sup>-</sup> effector T cells, both  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  T cells. A vascular tropism and thus a potential role of CX3CR1<sup>+</sup> T cells in endothelial immune surveillance has been described (17). Increased CX3CR1 expression on CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in PLWH has been associated with CMV co-infection, with an enrichment of CMV-specific populations, some of which target the vascular endothelium (51–54). Mirroring CX3CR1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells, CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells have enhanced cytotoxic functions driven by a similar transcriptional programming (55,56). Our single-cell transcriptomic analyses allowed us to decipher more precisely the effector transcriptional profile of  $V\delta_1$  T cells in PLWH, unraveling the loss of naive  $V\delta_1$  T cells combined with the expansion of two distinct effector subsets in these individuals. Both effector subsets expanded in PLWH expressed high levels of CX3CR1 and the T-bet transcription factor, enabling important cytotoxic functions with high transcription of the *GZMB* and *GZLY* genes in particular, as well as high levels of the  $\beta 7$  integrin, suggesting a link to the gut. These two effector cell subsets could be distinguished in particular by their expression levels of TOX, which promotes the exhaustion pathway. Expanded  $V\delta_1$  T cells in PLWH globally expressed higher levels of activation/exhaustion markers, particularly TIGIT and TIM-3, compared to HIV-seronegative controls. In contrast to the effector subsets expanded in PLWH, those reduced in PLWH were characterized by higher expression of Eomes and pro-inflammatory cytokine production such as IFN- $\gamma$  (57). Thus, CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells in PLWH were shifted toward a more cytotoxic effector profile rather than pro-inflammatory cytokine production, cytotoxic effector CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells maintained a high expression of the transcription factor T-bet. This is similar to the

CX3CR1<sup>hi</sup> CD8 T cell subset, which produces lower levels of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  than the CX3CR1<sup>int</sup> subset (58–60).

HIV-1 may also be a trigger for V $\delta$ <sub>1</sub> T cell activation, as the mean frequency of intact HIV-1 DNA in the gut was associated with clonal expansion of circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells. In addition to being a possible trigger, HIV-1 may also be a target for V $\delta$ <sub>1</sub> T cells, as the frequency of cytotoxic, but not of IFN- $\gamma$ -producing, V $\delta$ <sub>1</sub> T cells appeared to be negatively correlated with residual HIV-1 RNA in both the blood and duodenal compartments, suggesting a possible role for cytotoxic V $\delta$ <sub>1</sub> T cells against reservoir cells with residual HIV-1 RNA transcription. However, the cytotoxic functions of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells were attenuated in the duodenal epithelium, suggesting that inhibitory factors in the tissue microenvironment may regulate the effector functions of tissue-resident T cells, and thus contribute to HIV-1 persistence in tissues of PLWH on ART (61–63).

In conclusion, we found that the inversion of the V $\delta$ <sub>1</sub>/V $\delta$ <sub>2</sub> ratio of  $\gamma\delta$  T cell subsets in the blood of PLWH on ART is due to the clonal expansion of cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> terminally differentiated effector memory V $\delta$ <sub>1</sub> T cells, some of which exhibit trafficking with the gut. V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion appears to be mostly associated with persistent occult CMV replication in PLWH, even on effective ART, but also with changes in the duodenal mucosal and translocated microbiota, which have themselves been reshaped by HIV-1 infection, making the interplay between CMV, bacterial microbiota and HIV-1 key triggers for V $\delta$ <sub>1</sub> T cell activation. These results highlight the importance of CMV co-infection in the chronic immune activation that persists in PLWH, even on ART. CX3CR1<sup>+</sup> effector V $\delta$ <sub>1</sub> T cells may have both deleterious and beneficial effects in this setting, with their trafficking to the vascular endothelium possibly contributing to cardiovascular events, while their cytotoxic properties appear to be associated with HIV-1 replication control in our work.

## **Materials and Methods**

### **Ethic statement**

The study was approved by the Institutional Review Board Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer I (IDRCB: 2016-A00823-48). Written informed consent was obtained from all the participants (trial registration number NCT02906137).

### **Subjects and samples**

The ANRS EP61 GALT study had enrolled 42 PLWH and 42 HIV seronegative controls at the University Hospital of Toulouse, France, from 2017 to 2020. Inclusion and exclusion criteria were previously published (7). Blood samples and intestinal endoscopic biopsies were obtained from these individuals during either upper endoscopy (duodenal biopsies), and/or lower endoscopy (ileal and colonic biopsies). Upper endoscopy was performed primarily for gastroesophageal reflux disease; lower endoscopy was performed primarily for colorectal cancer screening. All subjects were free of inflammatory or lymphoproliferative bowel disease on histopathologic examination. Here, we performed a substudy with blood and duodenal samples from 15 PLWH and 15 controls who were representative of the entire ANRS EP61 GALT cohort and seropositive for CMV IgG, matched for sex ratio and age. In addition, blood samples from 12 PLWH and 12 controls, all CMV seronegative, were selected as a control cohort. All PLWH initiated ART in the chronic stage of infection and had sustained undetectable plasma HIV-1 RNA on ART. Plasma HIV-1 RNA was quantified by Aptima HIV-1 Quant Dx (30 copies/mL cutoff, Hologic), and peripheral blood CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells were measured by flow cytometry as part of routine monitoring.

### **Isolation of intra-epithelial lymphocytes from the duodenal mucosa**

Eight duodenal endoscopic punch biopsies were collected from each individual. Five biopsies were processed to harvest intraepithelial lymphocytes and the remaining 3 biopsies were kept for viral and bacterial DNA/RNA extraction, and paraffin and OCT inclusions, as previously published (7). The 5

biopsies were collected in RPMI with 10% FBS before being pooled in a medium containing 1X HBSS without calcium, magnesium or phenol red, 10 mM HEPES, 1 mM DTT, and 10% FBS, and incubated for 1h at 37°C with 5% CO<sub>2</sub> and gentle shaking. The DTT allows the epithelial cells and IEL to detach into the supernatant. The resulting supernatant was filtered through a 100 µm filter, and spun for 5 minutes at 400 g. The pellet was washed once with PBS and 2% FBS. EasySep EpCAM<sup>+</sup> magnetic sorting (Stemcell) was then performed. This step retained the epithelial cells. The negative fraction contained the IELs. Typically, 500,000 to 1 million IELs were collected per donor and cryopreserved in FBS/DMSO in liquid nitrogen. The IEL recovery rate in subsequent experiments was typically around 50%.

### **Antibodies and flow cytometry**

Vδ<sub>1</sub> and Vδ<sub>2</sub> T cell phenotypes in blood and duodenal mucosa were characterized using core panels to define cells of interest, supplemented by 5 different panels for extracellular expression of activation and exhaustion markers (panel 1) and of homing markers (panel 2); intracellular expression of cytotoxicity effectors (panel 3) and cytokines (panel 4); and intranuclear staining of transcription factors (panel 5). 50,000 IELs and 1 million PBMCs were used per panel for each donor. The markers, fluorochromes, clones and suppliers of the core and supplemental panels are listed in Table S2. The number of PBMC and IEL samples, and the HIV and CMV status of the subjects studied are listed in Table S3. Core panel results were the mean of the different experiments. The number of events acquired in the flow cytometry analyses for the main cell subsets is listed in Table S4.

For the homing marker panel, staining with the chemokine receptor antibodies (anti-CCR6, CCR9, CXCR3, and CX3CR1) was performed with Brilliant Stain Buffer (BD Biosciences) at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> for 2 hours, followed by washing and a second staining for 20 minutes with Brilliant Stain Buffer and the other antibodies in the panel. This prolonged staining allowed for improved detection of membrane-recycled chemokine receptors compared to a standard 20-minute staining. For the cytotoxicity effector, cytokines and transcription factors panels, cells were stained after an overnight culture in RPMI 10% FBS solution at 37°C in 5% CO<sub>2</sub>. Intracellular expression of cytotoxicity effectors staining was

performed without cell stimulation, while cytokines staining was performed after cell stimulation with PMA at 100ng/mL and ionomycin at 1000ng/mL for 6 hours, and the addition of Golgi stop and Golgi plug (BD Biosciences) after 2 hours of stimulation. Intracellular staining was performed after permeabilization with Cytofix/Cytoperm and Perm/Wash buffer (Fixation/Permeabilization kit, BD Biosciences). For intranuclear staining, permeabilization was performed with Foxp3/transcription factor staining buffer set (eBioscience, Invitrogen).

Flow cytometry experiments were performed on a BD Symphony A5 driven by the FACSDiva software (BD Biosciences). Instrument reproducibility was verified for each experiment according to an in-house quality control procedure using CS&T and 8-peak rainbow beads. In addition, the cytometer was standardized to ensure consistency of the results over time according to BD Biosciences application settings. Fluorescence Minus One (FMO) controls were used to improve gating positioning. Analyses were performed using FlowJo software (v10.9.0) and OMIQ software from Dotmatics (<https://www.dotmatics.com/solutions/omiq>) for Opt-SNE analysis and cluster identification using the FlowSOM algorithm. Opt-SNE is a variant of the t-SNE algorithm that features modifications to the Barnes-Hut implementation of t-SNE, including the ability to detect the rate of improvement of the KL divergence and then automatically stop the algorithm when it begins to suffer from diminishing returns in this metric (64). Parameters used for dimensionality reduction included: CD27, CD45RA, CX3CR1, NKG2A, NKG2C, NKp30, NKp44, NKp46, LAG-3, PD-1, TIGIT and TIM-3.

### **Cell sorting**

For  $V\delta_1$  repertoire analysis, cells were stained with LIVE/DEAD Fixable Blue Dead Cell Stain (ThermoFisher), anti-human CD3 BUV395 (UCHT1/BD),  $\gamma\delta$  TCR BB700 (11F2/BD), and  $V\delta_1$  APC Vio770 (REA173/Miltenyi), passed through a 0.7 $\mu$ m cell strainer and sorted using a FACSARIA Fusion or a FACSARIA SORP (BD Biosciences) cell sorter. Sorted  $V\delta_1$  cells were placed in RNAlater (Sigma Aldrich) and frozen.  $V\delta_1$  cells were sorted from PBMC of 5 PLWH and 5 HIV seronegative controls, all CMV seropositive, and from duodenal IEL of the same 5 PLWH.

For V $\delta$ <sub>1</sub> single-cell RNA sequencing, cells were processed identically except for additional staining with TotalSeq-B anti-human hashtags (LNH-94; 2M2/BioLegend) directed against CD298 and  $\beta$ 2-microglobulin (6 different hashtags were used for each donor). Sorted V $\delta$ <sub>1</sub> T cells were stored on ice and immediately processed for single-cell library generation. V $\delta$ <sub>1</sub> cells were sorted from PBMC of 6 PLWH and 6 controls, all CMV seropositive.

### **Single cell RNA sequencing and analysis**

Single-cell libraries were generated using the Chromium iX Single-Cell Instrument and Chromium Next GEM Single Cell 3' Kit v3.1, Chip G Single Cell kit, Dual Index kit TT Set A and NT set A, and 3' Feature Barcode kit (10x Genomics). Briefly, sorted V $\delta$ <sub>1</sub> T cells were immediately diluted if necessary to equilibrate cell concentrations between samples before being pooled in a 19,800 cell solution in the appropriate volume for sample loading. After generation of nanoliter-scale gel bead-in-emulsions, libraries for single cell RNA and hashing antibodies were constructed according to the manufacturer's recommendations. The obtained libraries had an average length of 353bp and a concentration of 14.44nM. Sequencing was then performed on a full SP flow cell 100 cycles (2 lanes) on the Illumina NovaSeq 6000 instrument (Illumina, San Diego, USA) at the GeT-PlaGe site of the Genome and Transcriptome Core Facility (GeT, Genotoul, Toulouse, France), using the NovaSeq 6000 SP Reagent Kit v1.5 (100 cycles) and appropriate run settings (R1: 88 bp, R2: 28 pb, I1: 10, I2: 10), to target approximately 27,500 + 5,000 reads per cell with an estimated cell recovery rate of 50%.

Raw reads were processed using 10x Genomics *Cell Ranger* v.7.0.1 (65) with default parameters. Briefly, GEX reads with valid barcodes were aligned to the Homo sapiens GRCh38 reference genome and Ensembl annotation v.110, while CMO reads were aligned to the HTO reference sequences. Aligned reads with good mapping quality were then counted. Single cell RNA and CMO sequencing counts were analyzed using the R package Seurat v.5.0.1 for R version 4.3.2 (66). For our data we select cells with at least 500 counts per cell, at least 500 expressed genes, a complexity greater than 0.8 and a mitochondrial gene ratio less than 0.2. After filtering to remove empty droplets and dying cells, only

genes expressed in 10 or more cells were retained, resulting in a total of 23,974 unique genes. The hash detection step allowed cells to be associated with their corresponding tag and to identify untagged cells and doublet droplets that were removed (67). Approximately 650 cells were analyzed per individual.

Raw counts were normalized. PCA was performed using the 3,000 most variable features. An integration step was performed using the CCAIntegration method and the UMAP was generated based on the first 30 PCs. Clustering was performed at 0.2 resolution using the Louvain algorithm with multilevel refinement and 50 iterations. A cluster of contaminating monocytes was identified and removed using the CD14, CCR2 and SELL gene expression. We identified 6 clusters and used *propeller* to find differences in cell type proportions between PLWH and controls (68). Pseudobulk counts were generated by aggregating cell counts from each cluster and each patient. Differential expression analyses were performed using the R package DESeq2 v.1.42.1 (69) with default parameters. Differentially expressed genes were identified as genes with an adjusted *P*-value less than 0.05.

### **TCR repertoire analysis**

Sorted V $\delta_1$  T cells from PBMC and duodenal IEL (1,100 - 175,000 cells) were placed in RNAlater (Sigma Aldrich) and frozen. Deep, quantitative and unbiased amplification of TCR $\delta$  sequences was performed using dimer-avoided multiplex (dam)-PCR, followed by MiSeq sequencing (illumina) performed by iRepertoire, Inc. (Huntsville, USA). The sequencing data were error-corrected and V, D, and J gene usage and complementarity-determining region 3 (CDR3) sequences were identified and assigned. Tree maps show each unique CDR3 as a colored rectangle, with the size of each rectangle corresponding to the abundance of each CDR3s within the repertoire. The diversity index was calculated using iRweb tools (iRepertoire, Inc, Huntsville, AL, USA). The higher the diversity of the sample, the closer the overall diversity of the sample fits a diversity model where each clonotype receives equivalent reads. Cleaned nucleotide sequence alignments were used to calculate Hill's numbers, which characterize abundance-based species complexity (70). Hill's numbers represent a set

of numbers of different order (q-value) for which increasing values make the measure of complexity progressively less sensitive to rare haplotypes and at infinity, only the frequency of the dominant haplotype matters. We used Rényi's plots to order the diversity of *TRDV1* clonotypes (71).

### **Bacterial 16S rRNA gene sequencing**

DNA for bacterial 16S rRNA gene sequencing was obtained from intestinal tissue and whole blood by thorough lysis using SK38 glass and ceramic beads in a Precellys 24 homogenizer (Bertin Technologies) for 6 cycles of 30 seconds each at 6500 rpm with 1 minute breaks on ice. The 16S bacterial DNA V3–V4 regions were targeted with 357wf-785R primers and analyzed using MiSeq (RTGenomics, Texas, USA). For each blood and duodenum sample, an average of 23,948 and 55,570 bacterial genome sequences were obtained, respectively. Bioinformatic filters were applied as described previously (72). Cladograms and Linear Discriminant Analysis (LDA) scores were generated using the LDA Effect Size (LEfSe) module of the Huttenhower Lab Galaxy Server (<http://galaxy.biobakery.org>) (73). For cladograms, the alpha value for the factorial Kruskal-Wallis test between classes and the alpha value for the pairwise Wilcoxon test between subclasses were set to 0.01, and the threshold for the logarithmic LDA score for discriminative features was set to 2.0. Principal Component Analysis (PCA) plots were generated and OUT-based diversity indices were calculated using Past 4.17c software (74).

### **Quantification of HIV-1 DNA and RNA in PBMC and intestinal mucosa**

Extraction of DNA and RNA from PBMC and intestinal mucosa and quantification of both total and intact HIV-1 DNA and HIV-1 RNA were performed as previously described (7). Briefly, PBMC and intestinal biopsies were gently lysed with CK14 ceramic beads using a Precellys 24 homogenizer (Bertin Technologies) for a short time (10s twice) and at low speed (5000 rpm) to minimize DNA shearing and to obtain high molecular weight (HMW) DNA, which was isolated using the Gentra Puregene kit (Qiagen). RNA was isolated using the RNeasy micro kit with an on-column DNase treatment (Qiagen).

HIV-1 DNA (LTR region) was quantified by real-time PCR (LightCycler 480 system, Roche) from DNA extracted from PBMC and intestinal biopsies using the Generic HIV DNA Cell kit (Biocentric). Diploid cell equivalents were quantified by real-time PCR of the GAPDH gene. The frequency of intact HIV-1 proviruses in circulating and intestinal CD4<sup>+</sup> T cells was determined by the intact proviral DNA assay (IPDA) as previously described (7,75). Briefly, two multiplex ddPCRs were performed in parallel on a QX200 ddPCR system (Bio-Rad) to quantify intact and defective HIV-1 proviruses in the first ddPCR, and DNA shear and diploid cell equivalents in the second ddPCR. Four to eight replicates of ddPCR were performed for HIV-1 provirus quantification, each from 750 ng of HMW DNA. Duplicates of RPP30 ddPCR were performed, using 70 ng of HMW DNA. Replicate wells were pooled and results were analyzed using QuantaSoft software (1.6.6.0320).

RNA extracted from PBMC and intestinal biopsies was reverse transcribed into cDNA using the Superscript IV (ThermoFisher Scientific) with random hexamers (1.25  $\mu$ M) and oligo(dT)20 primers (1.25  $\mu$ M). Tissue and cell-associated HIV-1 RNA (LTR region) was quantified by real-time PCR (LightCycler 480 system, Roche) from the cDNA using the Generic HIV DNA Cell kit (Biocentric) and a standard curve derived from a sample with a known concentration of HIV-1 RNA. Results are reported as cell-associated HIV-1 RNA copies per million PBMC, and HIV-1 RNA copies per  $\mu$ g of total intestinal tissue RNA, for each intestinal segment and as a mean value for the different intestinal segments of a given subject.

### **Immunofluorescence staining**

Immunohistochemistry was performed on paraffin-embedded duodenal biopsies. Briefly, 4  $\mu$ m tissue section slides were deparaffinized and antigen retrieval was performed in a pH 9 citrate solution for 20 minutes at 95°C. Non-specific binding was blocked with MAXblock Blocking Medium (Active Motif) for 2 hours at room temperature. Anti- $\gamma\delta$  TCR (5A6.E9/Thermo Fisher), anti-V $\delta_1$  (TS8.2/Thermo Fisher), and anti-V $\delta_2$  (15D/Thermo Fisher) monoclonal mouse IgG1 anti-human monoclonal antibodies were used at 1/50 dilution for primary staining overnight at 4°C. Samples were then washed in PBS-Tween

0.01% and incubated for 1 hour at room temperature in a dark chamber with a goat anti-mouse IgG1 secondary antibody coupled to Alexa Fluor 555 (A-32727/Thermo Fisher) at 1/500 dilution. Cell nuclei were stained with DAPI (homemade preparation). Slides were mounted with ProLong Glass Antifade Mountant (Invitrogen, Thermo Fisher). Data were acquired using a Zeiss Apotome.2 wide field microscope for cell counting and a Leica SP8-STED 3X confocal microscope. Cytoplasmic staining associated with a DAPI-stained nucleus was counted using an automated algorithm in ImageJ and then applied to the total area of each observed sample to obtain a count per area measure.

### **Plasma inflammatory biomarkers**

Plasma inflammatory biomarkers were measured by electrochemiluminescence using the V-plex human biomarkers 1 assay (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) and the V-plex custom chemokine panel 1 (IP-10) assay, both from Meso Scale Discovery. Plates were read using a MESO QuickPlex SQ 120 reader. The data were analyzed using Methodical Mind Analysis software. For sCD14 measurement, a human CD14 ELISA Quantikine kit (R&D Systems) was used.

### **Statistical analysis**

Quantitative variables were compared using the Welch's t-test for unequal variances. The paired t-test was used to compare paired intra-individual samples from the blood and intestinal compartments. Correlations between quantitative variables were estimated using Spearman's rank correlation coefficients. All tests were 2-sided, and *P* values <0.05 were considered statistically significant. Statistical analyses were performed using Stata SE 16.1. Graphs were generated using GraphPad Prism 10.0. Chord diagrams were generated using the Circlize package in R (76). Statistical analyses used to analyze flow cytometry, single-cell RNAseq, TCR repertoire, and bacterial genome data are described in the corresponding sections.

**Data availability**

The sequence data supporting the findings of this study are available in the Sequence Read Archive (SRA) database under the identifiers PRJNA1293388 for  $\gamma\delta$  TCR repertoires, and PRJNA1284601 for blood and duodenum microbiota. The processed single-cell RNA sequencing data have been deposited in the Gene Expression Omnibus (GEO) database at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and are accessible through the GEO Series accession number GSE303439. For more detailed data relating to individual samples, please contact the corresponding author.

**Role of the funding source**

ANRS MIE was the sponsor of the ANRS EP61 GALT study. ANRS-MIE and Sidaction provided grants to finance the project.

## Supporting Information

### Supplementary Tables

**S1 Table. Clinical characteristics of the study population.** Quantitative data are median (IQR). <sup>a</sup>Self-reported by the study participants, but none of them identified themselves as transgender. <sup>b</sup>Time on ART: time since the first antiretroviral therapy. <sup>c</sup>Duration of aviremia: time with continuous undetectable viral load prior to sampling.

**S2 Table. Antibodies used in flow cytometry panels.**

**S3 Table. Number of samples processed per cytometry panel.**

**S4 Table. Mean number of events acquired in flow cytometry analyses for the main subsets.**

### Supplementary Figures

**S1 Fig. Flow cytometry gating strategy for  $\gamma\delta$  T cells in IELs.** Flow cytometric analysis of  $\gamma\delta$  T cells among CD3<sup>+</sup> T cells and V $\delta$ <sub>1</sub> and V $\delta$ <sub>2</sub> subsets in a PLWH duodenal sample.

**S2 Fig. V $\delta$ <sub>1</sub> T cell numbers are not significantly altered in the duodenum of PLWH on ART.** (A) Representative immunofluorescence staining for V $\delta$ <sub>1</sub> TCR (red) and DAPI (blue) in duodenal tissue from PLWH. Scale bars, 22 $\mu$ m. (B) Violin plots of the number of V $\delta$ <sub>1</sub><sup>+</sup> T and V $\delta$ <sub>2</sub><sup>+</sup> cells per surface area of duodenal tissue surface (n = 15 PLWH and 15 controls). Comparisons were made using Welch's t-test.

**S3 Fig. Chemokine receptors expression on blood V $\delta$ 1 T cells.** Violin plots of the chemokine receptors CXCR3, CCR6 and CCR9 frequencies among circulating V $\delta$ 1 T cells (n = 15 PLWH and 15 controls).

**S4 Fig. TEMRA  $\gamma\delta$  T cells show high expression of activation and exhaustion markers in PLWH on ART.**

Each colored circle represents the proportion of the given marker expression among TEMRA (CD27<sup>-</sup> CD45RA<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> or V $\delta$ <sub>2</sub> T cells as measured by flow cytometry (median for n = 15 PLWH and 15 controls). Overlay of colored circles represents co-expression of markers.

**S5 Fig. Duodenal V $\delta$ <sub>1</sub> T cells express higher levels of Perforin<sup>+</sup>Gzmb<sup>-</sup> cells in PLWH on ART.** Dot plots of the frequencies of Perforin<sup>+</sup>Gzmb<sup>-</sup> among CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in the IEL (n = 5 PLWH and 5 controls). Comparison was made using Welch's t-test.

**S6 Fig. Differentially expressed genes within V $\delta$ <sub>1</sub> T cell clusters in PLWH on ART.** Volcano plots of pseudobulk differential gene expression between PLWH and controls (increased or decreased expression in PLWH vs. controls are shown in red and blue, respectively) for the total sequenced cells, clusters 0, 1 (increased frequency in PLWH), and 3 (decreased frequency in PLWH).

**S7 Fig. Differential microbiota profiling reveals increased diversity in blood and duodenum of PLWH on ART.** Principal component difference analysis and diversity indices between PLWH (red) and controls (green) in (A) blood samples (n = 33 PLWH and 39 controls); (B) duodenal biopsies (n = 24 PLWH and 25 controls). Two-way ANOVA followed by Benjamini, Krieger, and Yekutieli two-stage linear step-up procedure to correct for multiple comparisons by controlling for false discovery rate (<0.05). P-value of \*\*<0.01, \*\*\*<0.001, and \*\*\*\*<0.0001.

**Supplementary Fig. 8. Increase in inflammatory biomarkers is related to HIV status rather than CMV status.** (A) Dot plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14 and IP-10 according to

HIV-1 status. n = 15 CMV+ PLWH (blue), 15 CMV+ controls (brown), 12 CMV- PLWH (purple) and 12 CMV- controls (green). (B) Violin plots of sCD14 plasma concentration in the entire ANRS EP61 GALT cohort (n = 42 PLWH and 42 controls). (C) Dot plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14, and IP-10 according to CMV status. (D) Violin plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14 and IP-10 according to both CMV and HIV-1 status. Bars are median and interquartile range. Comparisons were made using Welch's t-test.

**Supplementary Fig. 9. Inflammatory biomarkers do not correlate with CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells expansion.**

(A) Correlation matrix of plasma inflammatory biomarkers and (left panel) relative abundance of some bacteria genera in the blood and duodenum microbiota ; and (right panel) the phenotype of circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells. Color scale indicates Spearman's correlation coefficient. P-values of \*<0.05, \*\*<0.01, and \*\*\*<0.001. (B) Correlations between plasma IL-6 and V $\delta$ <sub>1</sub>/V $\delta$ <sub>2</sub> ratio, V $\delta$ <sub>1</sub>, and V $\delta$ <sub>2</sub> T cell frequencies in blood. Spearman's correlation coefficients ( $\rho$ ) and P-values are shown (n = 15 CMV<sup>+</sup> PLWH).

**Supplementary Fig. 10. Cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion seems to be associated with reduced cell-associated HIV-1 RNA and higher T CD4 cell frequency in blood.** Correlations between cell-associated HIV-1 RNA in the duodenum and (left upper panel) the frequency of duodenal cytotoxic (Gzmb<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> cells, and (right upper panel) the frequency of duodenal IFN $\gamma$ <sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> cells (n=5 PLWH); correlations between the frequency of circulating cytotoxic (Gzmb<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> cells and (left lower panel) the blood CD4/CD8 ratio, and (right lower panel) the frequency of CD4 T cells in the blood (n=15 PLWH). Spearman's correlation coefficients ( $\rho$ ) and P-values are shown.

**Acknowledgments**

This project was supported by grants from the French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis and Emerging Infectious Diseases (ANRS EP61 GALT) and Sidaction. We thank the patients

who participated in this study. We also thank S. Lagarrigue, A. Frelat, and C. Pomes for their help in monitoring the study; M-P. Panero, I. Da Silva, M. Pucelle and L. Staes for their help with the technical experiments. Flow cytometry experiments were performed at the INFINITY-INSERM UMR1291 core facility connected to the Toulouse Réseau Imagerie network, member of the France-BioImaging national infrastructure supported by the French National Research Agency (ANR-10-INBS-04). The authors thank V. Duplan-Eche, H. Garnier and F.-E. L'Faqihi for their help with flow cytometry; N. Jeanne for bioinformatics assistance; M. Zahm for transcriptomic bioinformatics analysis; A. Chaubet for help with single cell experiments; E. Lhuillier (GeT, Genotoul, Toulouse, France) for help with NGS experiments; ANEXPLO US06 Purpan histopathology platform; and L. Lobjois for help with microscopy. Illustrations were made in BioRender. Vellas, C. (2025) <https://BioRender.com/e91f817> and <https://BioRender.com/d39b132>.

## **Author Contributions**

**Conceptualization:** Pierre Delobel

**Data curation:** Nived Collercandy, Camille Vellas, Mary Requena, Manon Nayrac

**Formal analysis:** Nived Collercandy, Camille Vellas, Mary Requena, Matteo Serino, Pierre Delobel

**Funding acquisition:** Pierre Delobel

**Investigation:** Nived Collercandy, Camille Vellas, Manon Nayrac, Mary Requena, Thomas Richarme, Anne-Laure Iscache

**Methodology:** Nived Collercandy, Pierre Delobel

**Project administration:** Nived Collercandy, Pierre Delobel

**Resources:** Karl Barange, Laurent Alric, Guillaume Martin-Blondel, Pierre Delobel

**Software:** Justine Latour

**Supervision:** Pierre Delobel

**Validation:** Nived Collercandy, Camille Vellas, Mary Requena, Pierre Delobel

**Visualization:** Nived Collercandy, Matteo Serino

**Writing – original draft:** Nived Collercandy, Pierre Delobel

**Writing – review & editing:** Nived Collercandy, Pierre Delobel, Matteo Serino, Anne-Laure Iscache, Jacques Izopet

## References

1. Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, Price DA, Taylor JH, Beilman GJ, et al. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*. 20 sept 2004;200(6):749-59.
2. Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, Horowitz A, Hurley A, Hogan C, et al. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*. 20 sept 2004;200(6):761-70.
3. Mavigner M, Cazabat M, Dubois M, L'Faqihi FE, Requena M, Pasquier C, et al. Altered CD4+ T cell homing to the gut impairs mucosal immune reconstitution in treated HIV-infected individuals. *J Clin Invest*. janv 2012;122(1):62-9.
4. Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, Jean-Pierre P, Manuelli V, Lopez P, et al. Lack of Mucosal Immune Reconstitution during Prolonged Treatment of Acute and Early HIV-1 Infection. *PLOS Medicine*. 5 déc 2006;3(12):e484.
5. Dillon SM, Lee EJ, Kotter CV, Austin GL, Dong Z, Hecht DK, et al. An altered intestinal mucosal microbiome in HIV-1 infection is associated with mucosal and systemic immune activation and endotoxemia. *Mucosal Immunology*. juill 2014;7(4):983-94.
6. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. déc 2006;12(12):1365-71.
7. Vellas C, Nayrac M, Collercandy N, Requena M, Jeanne N, Latour J, et al. Intact proviruses are enriched in the colon and associated with PD-1+TIGIT- mucosal CD4+ T cells of people with HIV-1 on antiretroviral therapy. *EBioMedicine*. févr 2024;100:104954.
8. Pollack RA, Jones RB, Pertea M, Bruner KM, Martin AR, Thomas AS, et al. Defective HIV-1 Proviruses Are Expressed and Can Be Recognized by Cytotoxic T Lymphocytes, which Shape the Proviral Landscape. *Cell Host & Microbe*. 12 avr 2017;21(4):494-506.e4.
9. Imamichi H, Smith M, Adelsberger JW, Izumi T, Scrimieri F, Sherman BT, et al. Defective HIV-1 proviruses produce viral proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 18 févr 2020;117(7):3704-10.
10. Singh K, Natarajan V, Dewar R, Rupert A, Badralmaa Y, Zhai T, et al. Long-term persistence of transcriptionally active 'defective' HIV-1 proviruses: implications for persistent immune activation during antiretroviral therapy. *AIDS*. 15 nov 2023;37(14):2119.
11. Freeman ML, Mudd JC, Shive CL, Younes SA, Panigrahi S, Sieg SF, et al. CD8 T-Cell Expansion and Inflammation Linked to CMV Coinfection in ART-treated HIV Infection. *Clin Infect Dis*. 1 févr 2016;62(3):392-6.

12. Fenwick C, Joo V, Jacquier P, Noto A, Banga R, Perreau M, et al. T-cell exhaustion in HIV infection. *Immunological Reviews*. 2019;292(1):149-63.
13. Lundqvist C, Baranov V, Hammarström S, Athlin L, Hammarström ML. Intra-epithelial lymphocytes. Evidence for regional specialization and extrathymic T cell maturation in the human gut epithelium. *Int Immunol*. sept 1995;7(9):1473-87.
14. Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat Rev Immunol*. oct 2014;14(10):667-85.
15. Suzuki H, Jeong KI, Itoh K, Doi K. Regional Variations in the Distributions of Small Intestinal Intraepithelial Lymphocytes in Germ-Free and Specific Pathogen-Free Mice. *Experimental and Molecular Pathology*. 1 juin 2002;72(3):230-5.
16. Nielsen MM, Witherden DA, Havran WL.  $\gamma\delta$  T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues. *Nat Rev Immunol*. déc 2017;17(12):733-45.
17. Davey MS, Willcox CR, Baker AT, Hunter S, Willcox BE. Recasting Human V $\delta$ 1 Lymphocytes in an Adaptive Role. *Trends in Immunology*. juin 2018;39(6):446-59.
18. Castro CD, Boughter CT, Broughton AE, Ramesh A, Adams EJ. Diversity in recognition and function of human  $\gamma\delta$  T cells. *Immunological Reviews*. 2020;298(1):134-52.
19. Davey MS, Willcox CR, Joyce SP, Ladell K, Kasatskaya SA, McLaren JE, et al. Clonal selection in the human V $\delta$ 1 T cell repertoire indicates  $\gamma\delta$  TCR-dependent adaptive immune surveillance. *Nat Commun*. avr 2017;8(1):14760.
20. von Borstel A, Chevour P, Arsovski D, Krol JMM, Howson LJ, Berry AA, et al. Repeated *Plasmodium falciparum* infection in humans drives the clonal expansion of an adaptive  $\gamma\delta$  T cell repertoire. *Science Translational Medicine*. déc 2021;13(622):eabe7430.
21. Chan S, Morgan B, Yong MK, Margetts M, Farchione AJ, Lucas EC, et al. Cytomegalovirus drives V $\delta$ 1+  $\gamma\delta$  T cell expansion and clonality in common variable immunodeficiency. *Nat Commun*. 20 mai 2024;15(1):4286.
22. Fujishima N, Hirokawa M, Fujishima M, Yamashita J, Saitoh H, Ichikawa Y, et al. Skewed T cell receptor repertoire of Vdelta1(+) gammadelta T lymphocytes after human allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and the potential role for Epstein-Barr virus-infected B cells in clonal restriction. *Clin Exp Immunol*. juill 2007;149(1):70-9.
23. Déchanet J, Merville P, Lim A, Retière C, Pitard V, Lafarge X, et al. Implication of  $\gamma\delta$  T cells in the human immune response to cytomegalovirus. *J Clin Invest*. 15 mai 1999;103(10):1437-49.
24. Hunter S, Willcox CR, Davey MS, Kasatskaya SA, Jeffery HC, Chudakov DM, et al. Human liver infiltrating  $\gamma\delta$  T cells are composed of clonally expanded circulating and tissue-resident populations. *Journal of Hepatology*. sept 2018;69(3):654-65.
25. Reis BS, Darcy PW, Khan IZ, Moon CS, Kornberg AE, Schneider VS, et al. TCR-V $\gamma$  $\delta$  usage distinguishes protumor from antitumor intestinal  $\gamma\delta$  T cell subsets. *Science*. 15 juill 2022;377(6603):276-84.

26. Poles MA, Barsoum S, Yu W, Yu J, Sun P, Daly J, et al. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Induces Persistent Changes in Mucosal and Blood  $\gamma\delta$  T Cells despite Suppressive Therapy. *J Virol.* 2003;77:12.
27. Cimini E, Agrati C, D'Offizi G, Vlasi C, Casetti R, Sacchi A, et al. Primary and Chronic HIV Infection Differently Modulates Mucosal V $\delta$ 1 and V $\delta$ 2 T-Cells Differentiation Profile and Effector Functions. *Eberl M, éditeur. PLoS ONE.* 18 juin 2015;10(6):e0129771.
28. Olson GS, Moore SW, Richter JM, Garber JJ, Bowman BA, Rawlings CA, et al. Increased frequency of systemic pro-inflammatory V $\delta$ 1+  $\gamma\delta$  T cells in HIV elite controllers correlates with gut viral load. *Sci Rep.* déc 2018;8(1):16471.
29. Pihl RMF, Smith-Mahoney EL, Olson A, Yuen RR, Asundi A, Lin N, et al. V $\delta$ 1 Effector and V $\delta$ 2  $\gamma\delta$  T-Cell Subsets Shift in Frequency and Are Linked to Plasma Inflammatory Markers During Antiretroviral Therapy-Suppressed HIV Infection. *J Infect Dis.* 15 mai 2024;229(5):1317-27.
30. Griffith GL, Machmach K, Jian N, Kim D, Costanzo MC, Creegan M, et al. CD16 and CD57 expressing gamma delta T cells in acute HIV-1 infection are associated with the development of neutralization breadth. *PLoS Pathog.* janv 2025;21(1):e1012916.
31. Walker EM, Slisarenko N, Gerrets GL, Grasperge BF, Mattison JA, Kissinger PJ, et al. Dysregulation of IL-17/IL-22 Effector Functions in Blood and Gut Mucosal Gamma Delta T Cells Correlates With Increase in Circulating Leaky Gut and Inflammatory Markers During cART-Treated Chronic SIV Infection in Macaques. *Front Immunol.* 25 févr 2021;12:647398.
32. Nilssen DE, Brandtzaeg P. Intraepithelial  $\gamma\delta$  T Cells Remain Increased in the Duodenum of AIDS Patients Despite Antiretroviral Treatment. *Nixon DF, éditeur. PLoS ONE.* 4 janv 2012;7(1):e29066.
33. Harris LD, Klatt NR, Vinton C, Briant JA, Tabb B, Ladell K, et al. Mechanisms underlying  $\gamma\delta$  T-cell subset perturbations in SIV-infected Asian rhesus macaques. *Blood.* 18 nov 2010;116(20):4148-57.
34. Fausther-Bovendo H, Wauquier N, Cherfils-Vicini J, Cremer I, Debré P, Vieillard V. NKG2C is a major triggering receptor involved in the V[delta]1 T cell-mediated cytotoxicity against HIV-infected CD4 T cells. *AIDS.* 11 janv 2008;22(2):217-26.
35. Field KR, Wragg KM, Kent SJ, Lee WS, Juno JA.  $\gamma\delta$  T cells mediate robust anti-HIV functions during antiretroviral therapy regardless of immune checkpoint expression. *Clin Transl Immunology.* 29 janv 2024;13(2):e1486.
36. Smith DM, Nakazawa M, Freeman ML, Anderson CM, Oliveira MF, Little SJ, et al. Asymptomatic CMV Replication During Early Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection Is Associated With Lower CD4/CD8 Ratio During HIV Treatment. *Clin Infect Dis.* 1 déc 2016;63(11):1517-24.
37. Vasilieva E, Gianella S, Freeman M. Novel Strategies to Combat CMV-Related Cardiovascular Disease. *Pathogens & immunity [Internet].* 20 sept 2020 [cité 28 janv 2025];5(1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33089035/>
38. Chen B, Morris SR, Panigrahi S, Michaelson GM, Wyrick JM, Komissarov AA, et al. Cytomegalovirus Coinfection Is Associated with Increased Vascular-Homing CD57+ CD4 T Cells in HIV Infection. *J Immunol.* 15 mai 2020;204(10):2722-33.

39. Freeman ML, Lederman MM, Gianella S. Partners in Crime: The Role of CMV in Immune Dysregulation and Clinical Outcome During HIV Infection. *Curr HIV/AIDS Rep.* févr 2016;13(1):10-9.
40. Caby F, Guihot A, Lambert-Niclot S, Guiguet M, Boutolleau D, Agher R, et al. Determinants of a Low CD4/CD8 Ratio in HIV-1-Infected Individuals Despite Long-term Viral Suppression. *Clin Infect Dis.* 15 mai 2016;62(10):1297-303.
41. Ramendra R, Isnard S, Lin J, Fombuena B, Ouyang J, Mehraj V, et al. Cytomegalovirus Seropositivity Is Associated With Increased Microbial Translocation in People Living With Human Immunodeficiency Virus and Uninfected Controls. *Clin Infect Dis.* 12 sept 2020;71(6):1438-46.
42. Robain M, Carré N, Dussaix E, Salmon-Ceron D, Meyer L, Group TSS. Incidence and Sexual Risk Factors of Cytomegalovirus Seroconversion in HIV-Infected Subjects. *Sexually Transmitted Diseases.* oct 1998;25(9):476.
43. Lichtner M, Cicconi P, Vita S, Cozzi-Lepri A, Galli M, Lo Caputo S, et al. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *J Infect Dis.* 15 janv 2015;211(2):178-86.
44. Hoffmann U, Lu MT, Foldyna B, Zanni MV, Karady J, Taron J, et al. Assessment of Coronary Artery Disease With Computed Tomography Angiography and Inflammatory and Immune Activation Biomarkers Among Adults With HIV Eligible for Primary Cardiovascular Prevention. *JAMA Netw Open.* 29 juin 2021;4(6):e2114923.
45. Hsue PY, Hunt PW, Sinclair E, Brecht B, Franklin A, Killian M, et al. Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS.* 28 nov 2006;20(18):2275-83.
46. Parrinello CM, Sinclair E, Landay AL, Lurain N, Sharrett AR, Gange SJ, et al. Cytomegalovirus Immunoglobulin G Antibody Is Associated With Subclinical Carotid Artery Disease Among HIV-Infected Women. *J Infect Dis.* 15 juin 2012;205(12):1788-96.
47. Halary F, Pitard V, Dlubek D, Krzysiek R, de la Salle H, Merville P, et al. Shared reactivity of V $\delta$ 2neg  $\gamma\delta$  T cells against cytomegalovirus-infected cells and tumor intestinal epithelial cells. *J Exp Med.* 16 mai 2005;201(10):1567-78.
48. Sheridan BS, Romagnoli PA, Pham QM, Fu HH, Alonzo F, Schubert WD, et al.  $\gamma\delta$  T Cells Exhibit Multifunctional and Protective Memory in Intestinal Tissues. *Immunity.* juill 2013;39(1):184-95.
49. Khairallah C, Chu TH, Sheridan BS. Tissue Adaptations of Memory and Tissue-Resident Gamma Delta T Cells. *Front Immunol.* 27 nov 2018;9:2636.
50. Ogongo P, Steyn AJC, Karim F, Dullabh KJ, Awala I, Madansein R, et al. Differential skewing of donor-unrestricted and  $\gamma\delta$  T cell repertoires in tuberculosis-infected human lungs. *Journal of Clinical Investigation.* 25 nov 2019;130(1):214-30.
51. Morris SR, Chen B, Mudd JC, Panigrahi S, Shive CL, Sieg SF, et al. Inflammascent CX3CR1+CD57+CD8+ T cells are generated and expanded by IL-15. *JCI Insight.* 4 juin 2020;5(11):e132963, 132963.

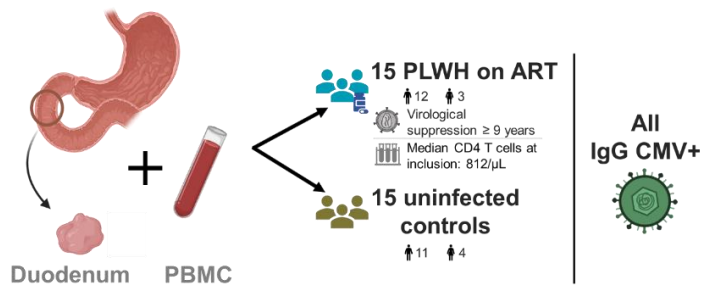
52. Pachnio A, Ciauriz M, Begum J, Lal N, Zuo J, Beggs A, et al. Cytomegalovirus Infection Leads to Development of High Frequencies of Cytotoxic Virus-Specific CD4+ T Cells Targeted to Vascular Endothelium. *PLoS Pathog.* sept 2016;12(9):e1005832.
53. Abana CO, Pilkinton MA, Gaudieri S, Chopra A, McDonnell WJ, Wanjalla C, et al. Cytomegalovirus (CMV) Epitope-Specific CD4+ T Cells Are Inflated in HIV+ CMV+ Subjects. *J Immunol.* 1 nov 2017;199(9):3187-201.
54. Panigrahi S, Chen B, Fang M, Potashnikova D, Komissarov AA, Lebedeva A, et al. CX3CL1 and IL-15 Promote CD8 T cell chemoattraction in HIV and in atherosclerosis. *PLoS Pathog.* sept 2020;16(9):e1008885.
55. Pizzolato G, Kaminski H, Tosolini M, Franchini DM, Pont F, Martins F, et al. Single-cell RNA sequencing unveils the shared and the distinct cytotoxic hallmarks of human TCRV $\delta$ 1 and TCRV $\delta$ 2  $\gamma\delta$  T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 juin 2019;116(24):11906-15.
56. McMurray JL, von Borstel A, Taher TE, Syrimi E, Taylor GS, Sharif M, et al. Transcriptional profiling of human V $\delta$ 1 T cells reveals a pathogen-driven adaptive differentiation program. *Cell Rep.* 24 mai 2022;39(8):110858.
57. Lino CNR, Barros-Martins J, Oberdörfer L, Walzer T, Prinz I. Eomes expression reports the progressive differentiation of IFN- $\gamma$ -producing Th1-like  $\gamma\delta$  T cells. *Eur J Immunol.* juin 2017;47(6):970-81.
58. Paley MA, Kroy DC, Odorizzi PM, Johnnidis JB, Dolfi DV, Barnett BE, et al. Progenitor and Terminal Subsets of CD8+ T Cells Cooperate to Contain Chronic Viral Infection. *Science.* 30 nov 2012;338(6111):1220-5.
59. Gerlach C, Moseman EA, Loughhead SM, Alvarez D, Zwijnenburg AJ, Waanders L, et al. The Chemokine Receptor CX3CR1 Defines Three Antigen-Experienced CD8 T Cell Subsets with Distinct Roles in Immune Surveillance and Homeostasis. *Immunity.* 20 déc 2016;45(6):1270-84.
60. Zwijnenburg AJ, Pokharel J, Varnaitè R, Zheng W, Hoffer E, Shryki I, et al. Graded expression of the chemokine receptor CX3CR1 marks differentiation states of human and murine T cells and enables cross-species interpretation. *Immunity.* 8 août 2023;56(8):1955-1974.e10.
61. Zhang N, Bevan MJ. Transforming growth factor- $\beta$  signaling controls the formation and maintenance of gut-resident memory T cells by regulating migration and retention. *Immunity.* 17 oct 2013;39(4):687-96.
62. Kiniry BE, Ganesh A, Critchfield JW, Hunt PW, Hecht FM, Somsouk M, et al. Predominance of weakly cytotoxic, T-bet<sup>Low</sup>Eomes<sup>Neg</sup> CD8+ T-cells in human gastrointestinal mucosa: implications for HIV infection. *Mucosal Immunol.* juill 2017;10(4):1008-20.
63. Kiniry BE, Li S, Ganesh A, Hunt PW, Somsouk M, Skinner PJ, et al. Detection of HIV-1-specific gastrointestinal tissue resident CD8+ T-cells in chronic infection. *Mucosal Immunol.* mai 2018;11(3):909-20.
64. Belkina AC, Ciccolella CO, Anno R, Halpert R, Spidlen J, Snyder-Cappione JE. Automated optimized parameters for T-distributed stochastic neighbor embedding improve visualization and analysis of large datasets. *Nat Commun.* 28 nov 2019;10(1):5415.

65. Zheng GXY, Terry JM, Belgrader P, Ryvkin P, Bent ZW, Wilson R, et al. Massively parallel digital transcriptional profiling of single cells. *Nat Commun.* 16 janv 2017;8(1):14049.
66. Butler A, Hoffman P, Smibert P, Papalexi E, Satija R. Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species. *Nat Biotechnol.* mai 2018;36(5):411-20.
67. McGinnis CS, Patterson DM, Winkler J, Conrad DN, Hein MY, Srivastava V, et al. MULTI-seq: sample multiplexing for single-cell RNA sequencing using lipid-tagged indices. *Nat Methods.* juill 2019;16(7):619-26.
68. Phipson B, Sim CB, Porrello ER, Hewitt AW, Powell J, Oshlack A. propeller: testing for differences in cell type proportions in single cell data. *Bioinformatics.* 15 oct 2022;38(20):4720-6.
69. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 5 déc 2014;15(12):550.
70. Hill MO. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology.* 1973;54(2):427-32.
71. Rényi A. On measure of entropy and information. In: Neyman J, ed *Proceedings of the 4th Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability* Berkeley, CA, USA: University of California Press; 1961.
72. Nicolas S, Blasco-Baque V, Fournel A, Gilleron J, Klopp P, Waget A, et al. Transfer of dysbiotic gut microbiota has beneficial effects on host liver metabolism. *Mol Syst Biol.* 16 mars 2017;13(3):921.
73. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology.* 24 juin 2011;12(6):R60.
74. Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. 2001.
75. Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, Bender AM, Kwon KJ, Sengupta S, et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses. *Nature.* févr 2019;566(7742):120-5.
76. Gu Z, Gu L, Eils R, Schlesner M, Brors B. circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics.* 1 oct 2014;30(19):2811-2.

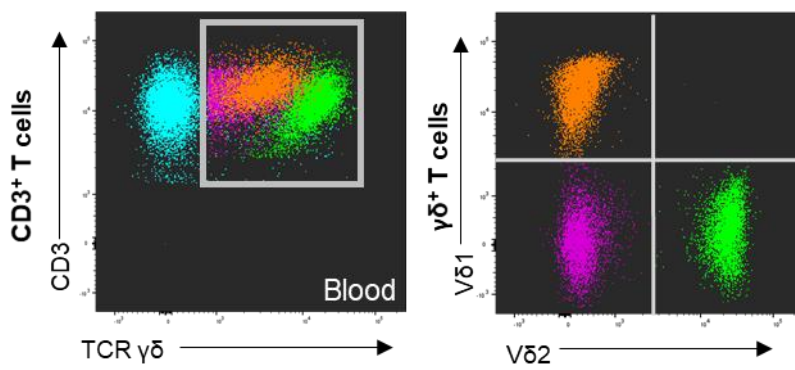
# Figures

Fig. 1

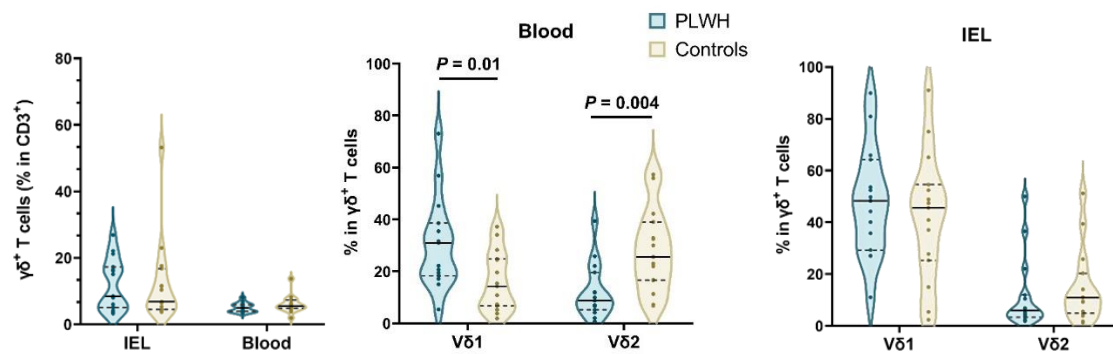
A



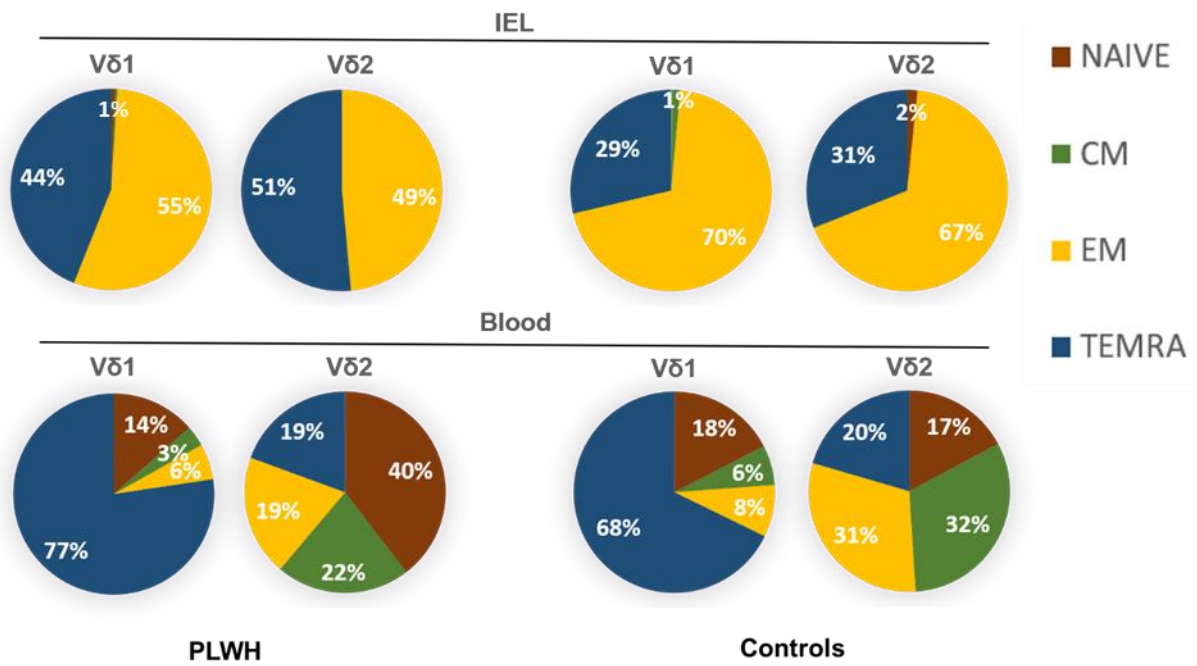
B



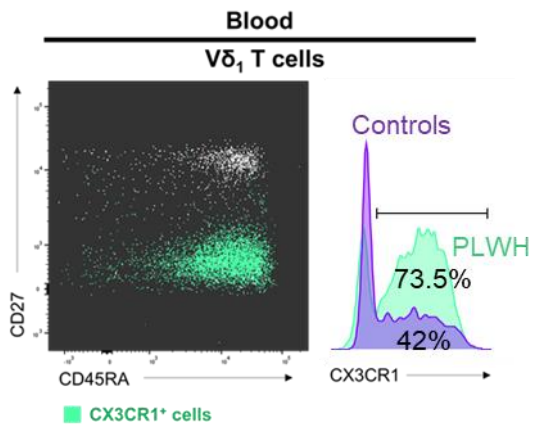
C



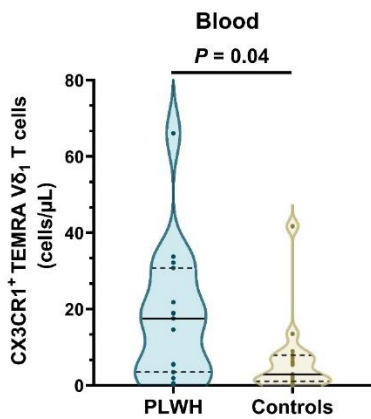
**D**



**E**



**F**

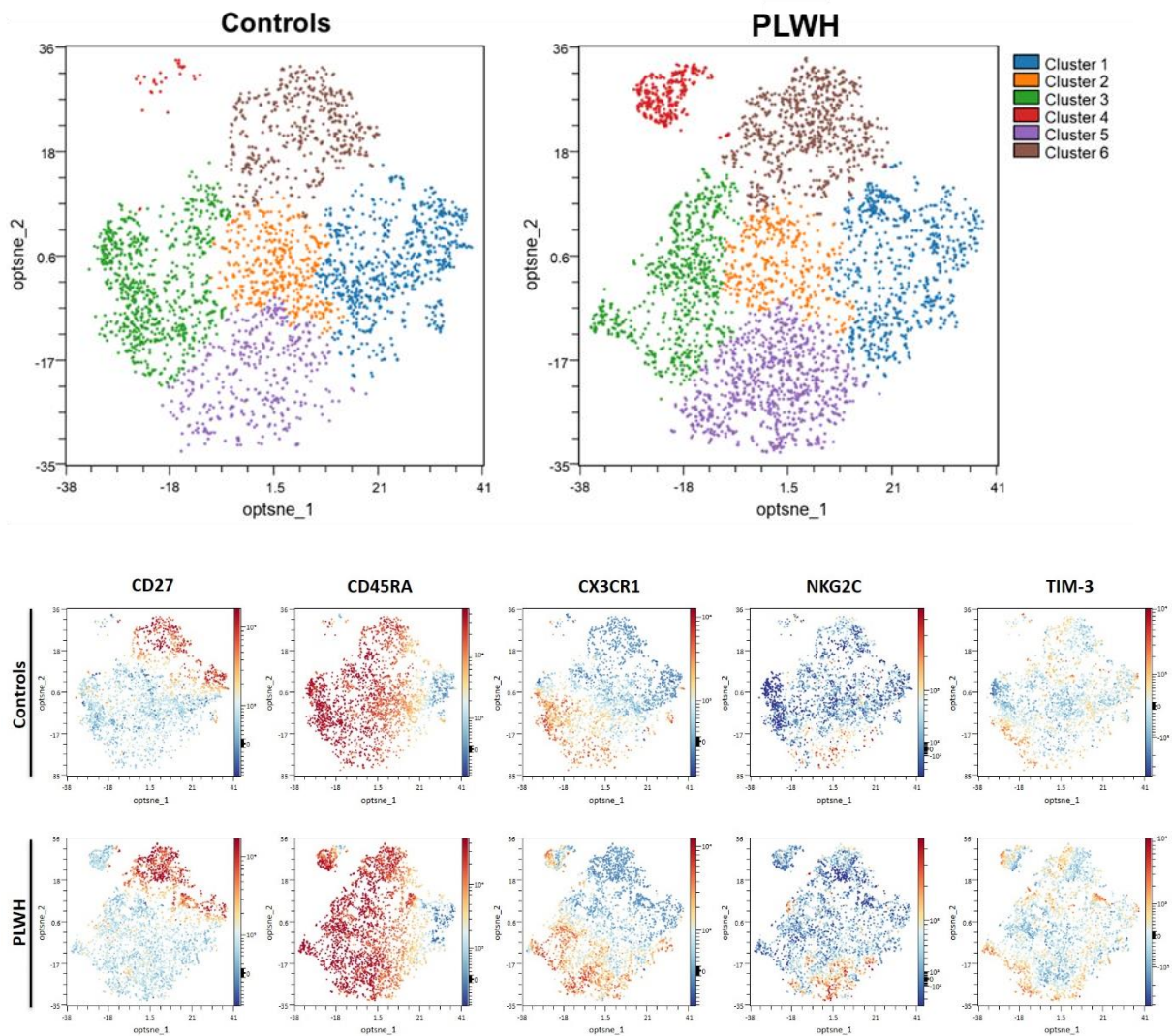


**Fig. 1: Increased frequency of V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in the blood of PLWH is associated with the expansion of cells with a CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA phenotype in the blood**

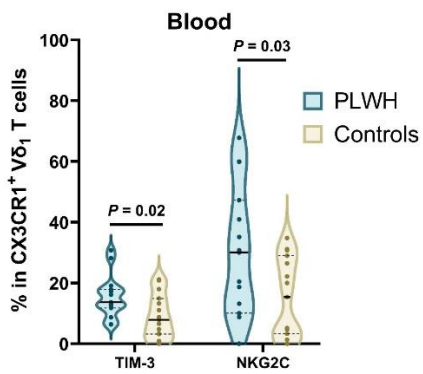
(A) Schematic representation of sample origin. Duodenal endoscopic biopsies (n=8) were either stored in RNA-later for subsequent sequential lysis and viral and bacterial RNA and DNA extraction, or processed and cryopreserved for subsequent analysis of IEL. (B) Flow cytometric analysis of  $\gamma\delta$ <sup>+</sup> T cells among CD3<sup>+</sup> T cells and V $\delta$ <sub>1</sub> and V $\delta$ <sub>2</sub> subsets in a PLWH blood sample. (C) Violin plots of the frequencies of  $\gamma\delta$ <sup>+</sup> T cells among CD3<sup>+</sup> T cells, and their V $\delta$ <sub>1</sub> and V $\delta$ <sub>2</sub> subsets in IEL and blood from PLWH and HIV seronegative controls (n = 15 PLWH and 15 controls, all CMV seropositive). Comparisons were made using Welch's t-test. The graphs show the median (solid bar) and the first and third quartiles (dashed bars). (D) Proportions of naive (CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>), central memory (CM; CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>), effector memory (EM; CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>), and terminally differentiated effector memory (TEMRA; CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>) of the V $\delta$ <sub>1</sub> and V $\delta$ <sub>2</sub> subsets in IEL and blood of PLWH and HIV seronegative controls. (E) Representative dot plot of CX3CR1 expression among V $\delta$ <sub>1</sub> T cells in PLWH blood according to their CD27 and CD45RA expression, and histogram of the median percentage of CX3CR1<sup>+</sup> among circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells. (F) Violin plots of TEMRA CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cell counts in blood (n = 15 PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). Comparison was made using Welch's t-test.

Fig. 2

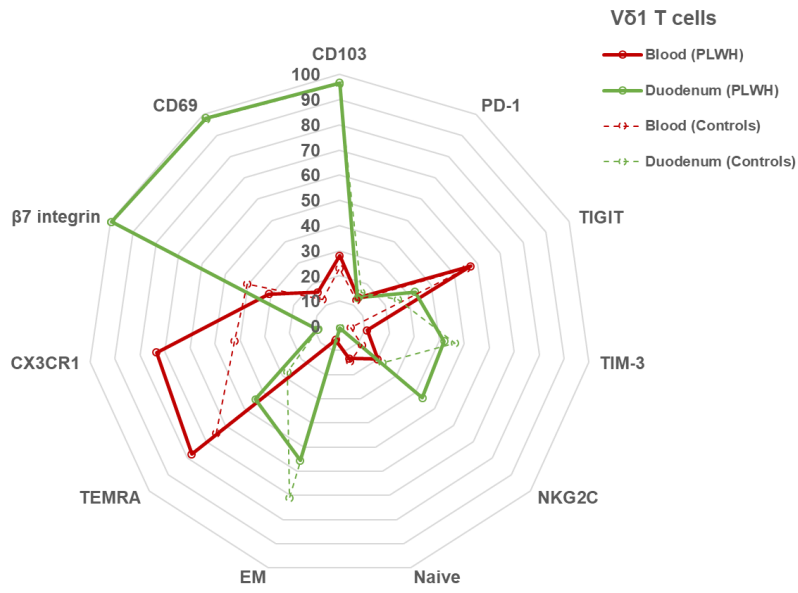
A



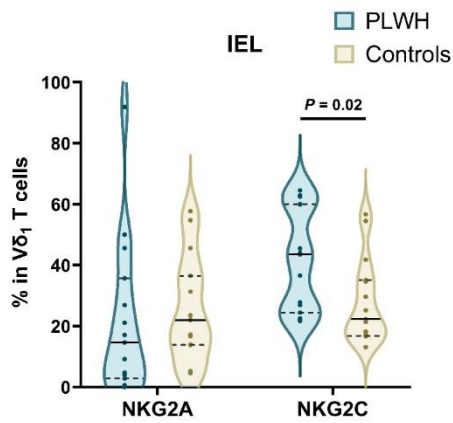
B



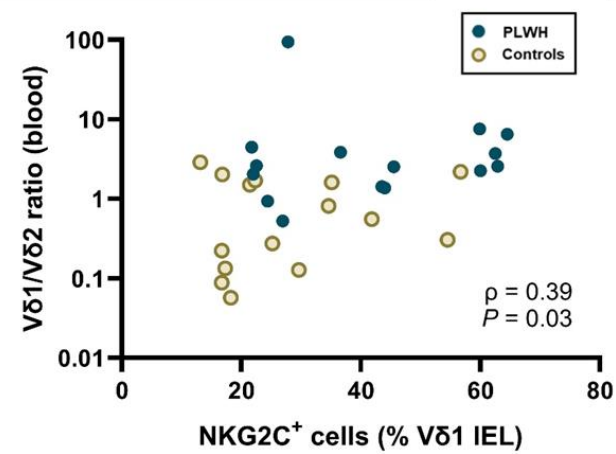
C

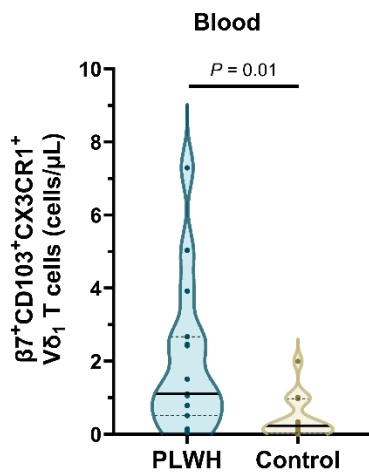


D



E



**F**

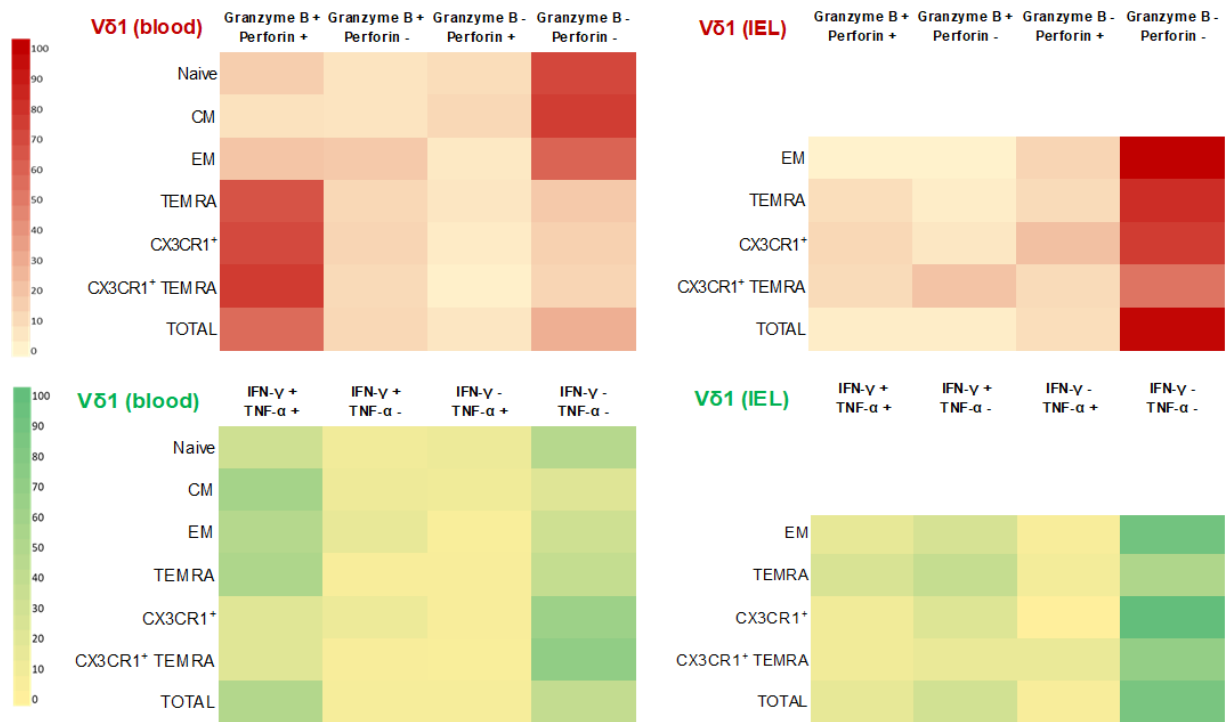
**Fig. 2:  $V\delta_1$  T cells of PLWH present higher expression of NKG2C in both the blood and the duodenum**

(A) Opt-SNE representation of  $V\delta_1$  T cell clustering obtained from flow cytometric data. Clustering was performed on a total of  $n=15$  PLWH and  $n=15$  HIV seronegative controls combined, all CMV seropositive.  $V\delta_1$  T cell counts were equalized between individuals after a subsampling step. Expression of CD27, CD45, CX3CR1, NKG2C and TIM-3 in the clusters is shown with a color gradient (each marker has a different color scale to optimize the gradient visualization). (B) Violin plots of the frequencies of TIM-3<sup>+</sup> and NKG2C<sup>+</sup> cells among CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$ <sup>+</sup> T cells in blood ( $n = 15$  PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). Comparisons were made using the Welch's t-test. (C) Radar plot of phenotypic markers distinguishing blood and duodenal epithelial  $V\delta_1$  T cells. Values are median percentages of expression of each marker among  $V\delta_1$  T cells. (D) Violin plots of the frequencies of NKG2A and NKG2C among  $V\delta_1$ <sup>+</sup> T cells in the IEL ( $n = 15$  PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). Comparisons were made using Welch's t-test. (E) Positive correlation between blood  $V\delta_1/V\delta_2$  ratio and NKG2C expression in IEL  $V\delta_1$ <sup>+</sup> T cells ( $n = 15$  PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). Spearman's correlation coefficient ( $r_s$ ) and P-

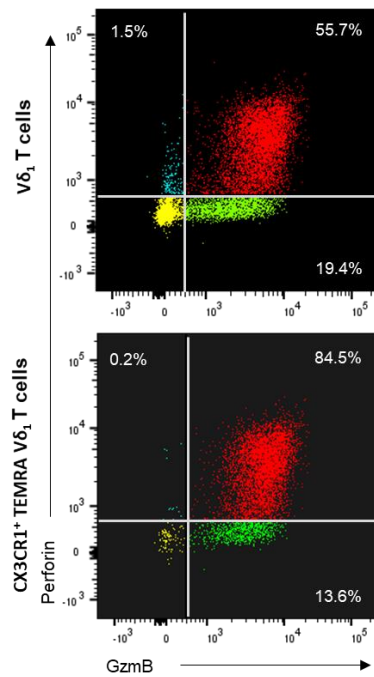
value are shown. (F) Violin plots of blood counts of  $\beta 7^+$  CD103<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta_1$  T cells (n = 15 PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). Comparison was made using the Welch's t-test. See also Fig. S4 for the median co-expression of activation/exhaustion markers PD-1, TIM-3 and TIGIT.

**Fig. 3**

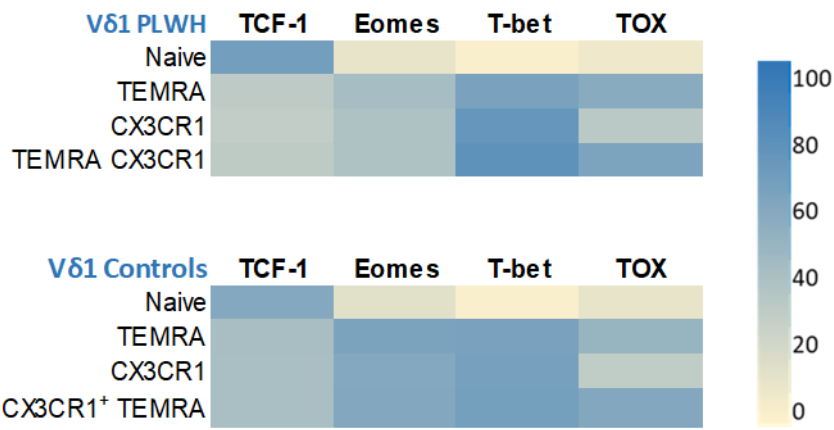
**A**



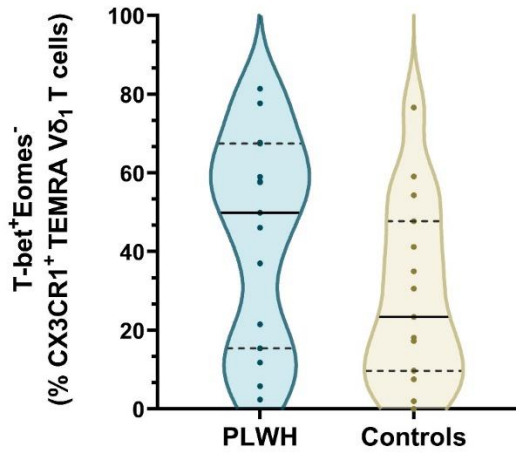
**B**



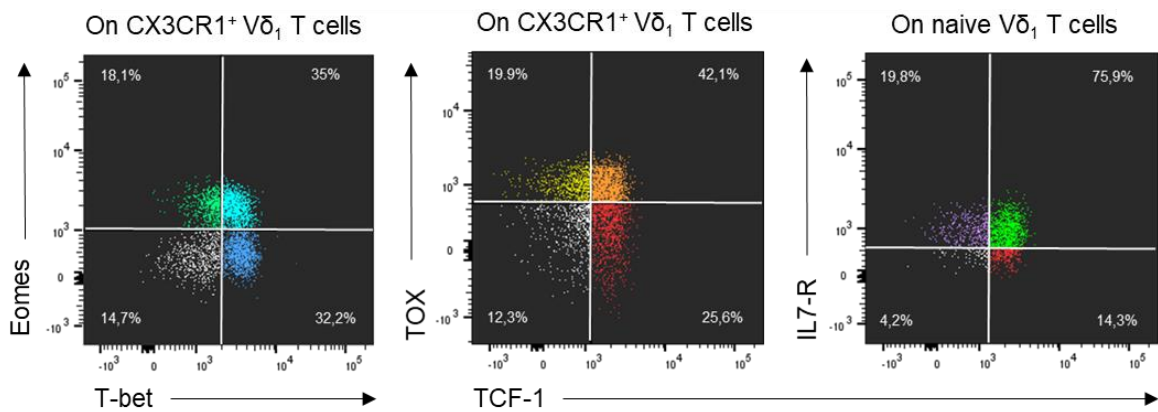
C



D



E

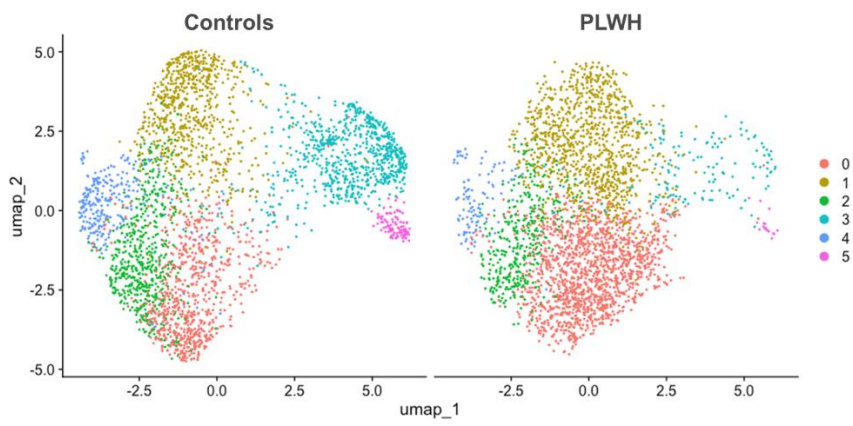


**Fig. 3: Circulating CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ 1 T cells have a highly cytotoxic profile but produce few pro-inflammatory cytokines.**

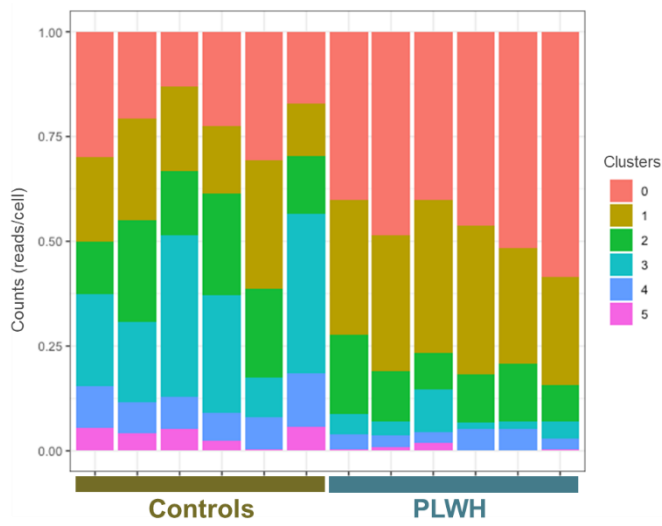
(A) Heatmaps of the mean percentage expression of Granzyme B, Perforin, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  among V $\delta$ 1 T cells. The red and green heatmaps are the results of 2 different flow cytometry panels. The same panels were used for both PBMC and IEL staining. Blood staining was performed on n=15 PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive. IEL staining was performed on n=5 PLWH and n=5 HIV seronegative controls, all CMV seropositive. Results shown are the mean of PLWH and HIV seronegative controls combined. (B) Representative dot plots of Granzyme B (GzmB) and Perforin expression in V $\delta$ 1 T cells and CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ 1 T cells. (C) Heatmaps of the median percentage expression of the transcription factors TCF-1, Eomes, T-bet and TOX among blood V $\delta$ 1 T cells. Results are from a single flow cytometry panel. Blood staining was performed on n=15 PLWH and n=15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive. (D) Violin plots of CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA T-bet<sup>+</sup> Eomes<sup>-</sup> V $\delta$ 1 T cell percentages in blood (n = 15 PLWH and 15 HIV seronegative controls, all CMV seropositive). (E) Representative dot plots of Eomes, T-bet, TOX and TCF-1 expression in blood CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ 1 T cells and naive (CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) V $\delta$ 1 T cells. See also Fig. S5 for duodenal cytotoxic function.

**Fig. 4**

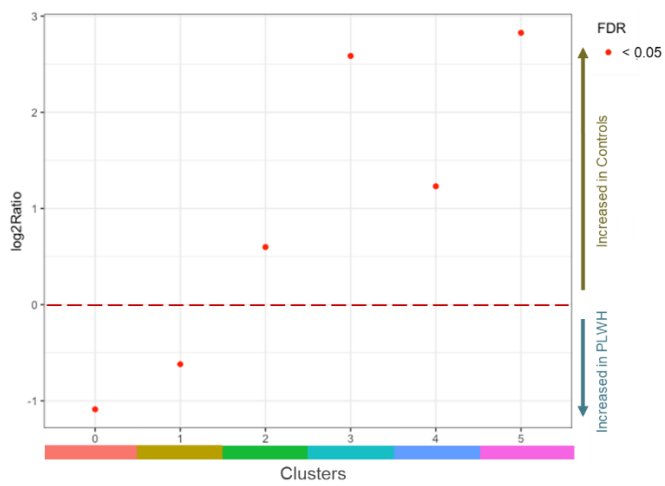
**A**

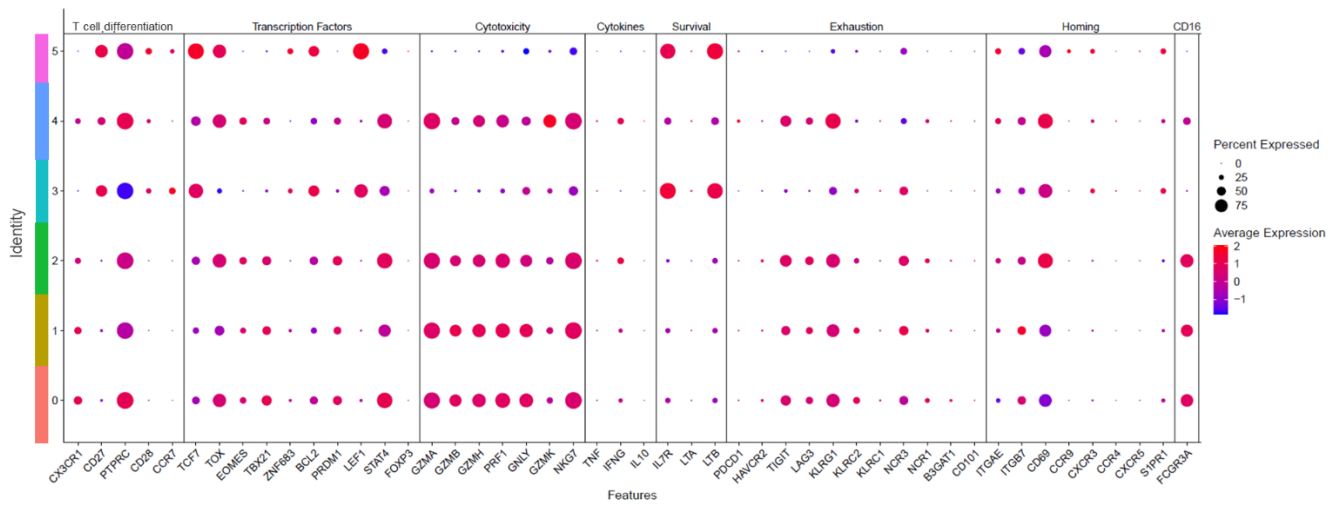
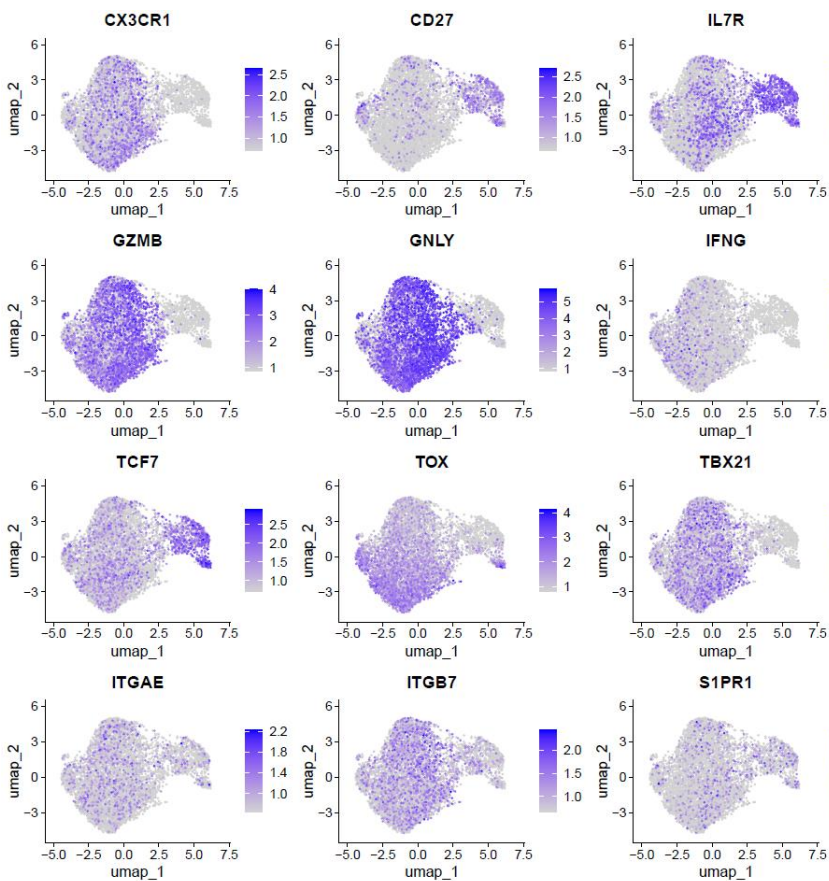


**B**



**C**



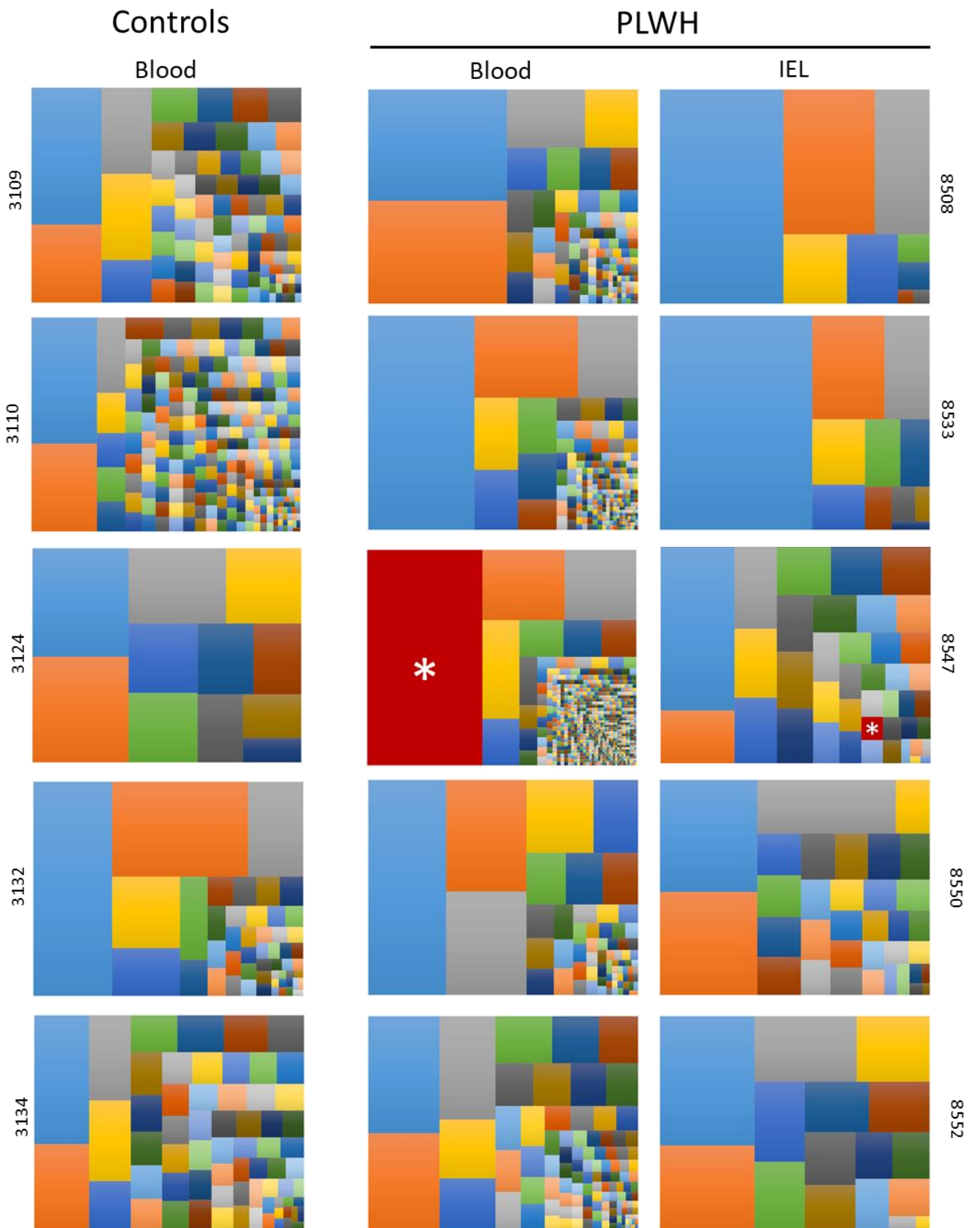
**D****E**

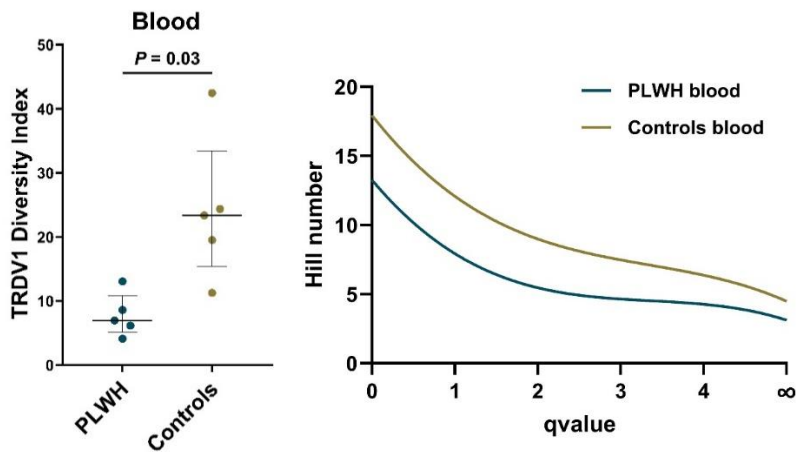
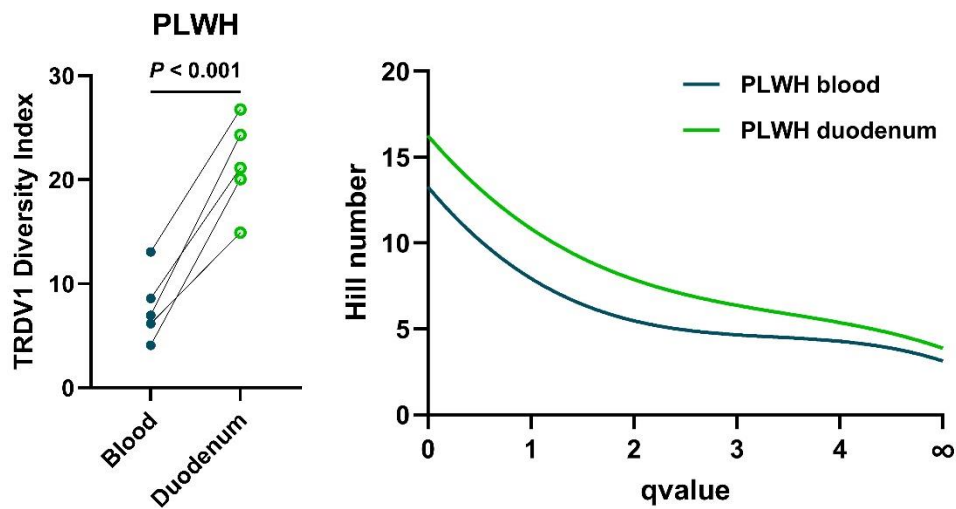
**Fig. 4: Circulating V $\delta$ 1 T cell transcriptome shifts toward an enhanced cytotoxic effector profile.**

Data shown are the result of a single-cell RNA sequencing experiment performed on n=7,865 sorted V $\delta$ 1 T cells from the blood of 6 PLWH and 6 HIV seronegative controls, all CMV seropositive. (A) UMAP representation of single V $\delta$ 1 T cells according to their transcriptomic profile, which allowed to distinguish 6 clusters of interest. (B) Proportion of each cluster for each individual donor. (C) Log 2 ratio of each cluster according to its status (PLWH versus HIV seronegative control). A positive value was associated with an increased frequency in HIV seronegative controls compared to PLWH, and a negative value was associated with an increased frequency in PLWH compared to HIV seronegative controls. All log 2 ratios were significantly associated with an increased frequency of the corresponding cluster in either PLWH or HIV seronegative controls (false discovery rate (FDR) < 0.05). (D) Dot plot of the expression of genes of interest according to each cluster. Each dot size represents the percentage of cells expressing the corresponding gene within the cluster, and the color range indicates the average scaled expression level of the gene. (E) UMAP representation of the given gene expression level. The intensity of the purple color represents the level of RNA expression (quantified by the number of reads per cell for each gene) for the chemokine receptor CX3CR1, differentiation marker CD27, IL-7 receptor (CD127), cytotoxic effectors GzmB, granulysin, cytokine IFN- $\gamma$ , transcription factors TCF7 (TCF-1), TOX, TBX21 (T-bet), homing integrins  $\alpha$ E (CD103) and  $\beta$ 7, and sphingosine-1-phosphate receptor (S1PR1). See also Fig. S6 for volcano plots of the differentially expressed genes between PLWH and HIV seronegative controls.

Fig. 5

A



**B****C**

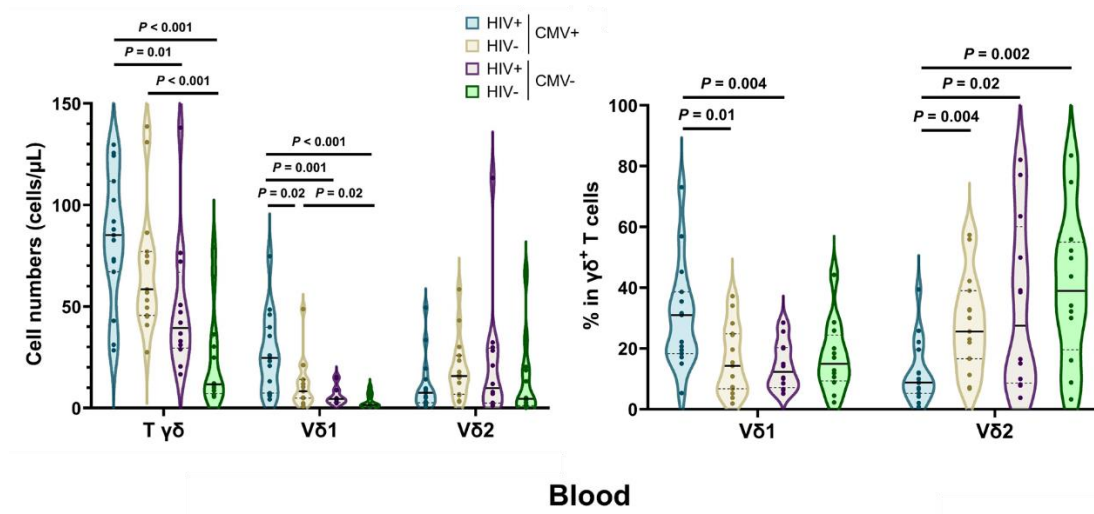
**Fig. 5: Circulating  $V\delta_1$  T cells are clonally expanded in PLWH.**

Unsorted duodenal IEL and sorted  $V\delta_1$  T cells from PBMC of the same 5 PLWH and sorted  $V\delta_1$  T cells from PBMC of 5 HIV seronegative controls, all CMV seropositive, were used to sequence the TRDV1 chain repertoire. (A) Tree maps of unique CDR3 clonotypes. Each CDR3 color is randomly chosen and does not match between plots, except for the clonotype marked with a white asterisk and colored in red, which represents an identical clonotype. Each colored square size represents the proportion of the clonotype within the total TRDV1 chain CDR3

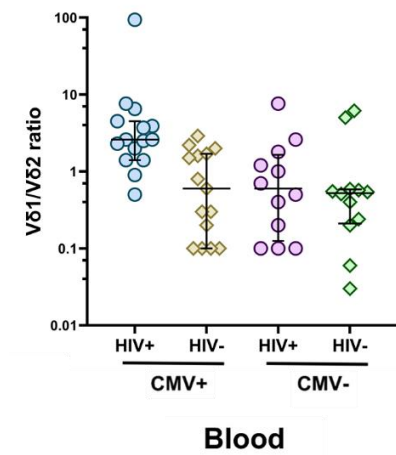
repertoire. (B) Diversity index (function of the frequency of each CDR3 and the total number of unique CDR3s) for the TRDV1 chain in blood and Rényi's plot of mean Hill's numbers of order  $q = 0$  to  $q = \infty$ , showing lower diversity in blood from PLWH ( $n=5$ ) than in HIV seronegative controls ( $n=5$ ). *P*-values are the result of Welch's t-test. (C) Diversity index for TRDV1 chain in the duodenal IEL and Rényi's plot of mean Hill's numbers of order  $q = 0$  to  $q = \infty$ , showing higher diversity in duodenum ( $n=5$ ) than in blood of PLWH ( $n=5$ ). *P*-values are the result of paired t-test.

**Fig. 6**

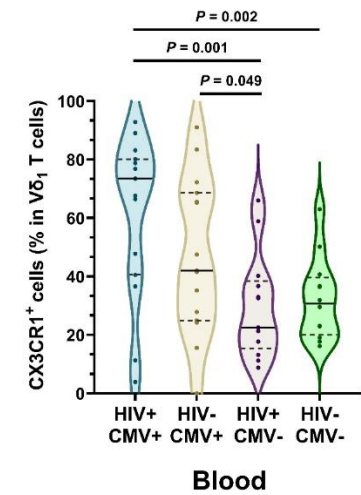
**A**



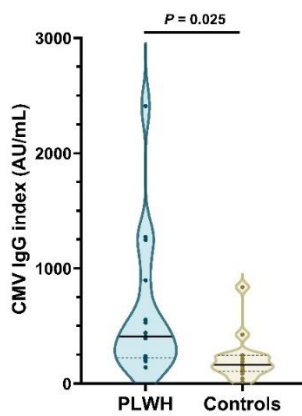
**B**



**C**



D

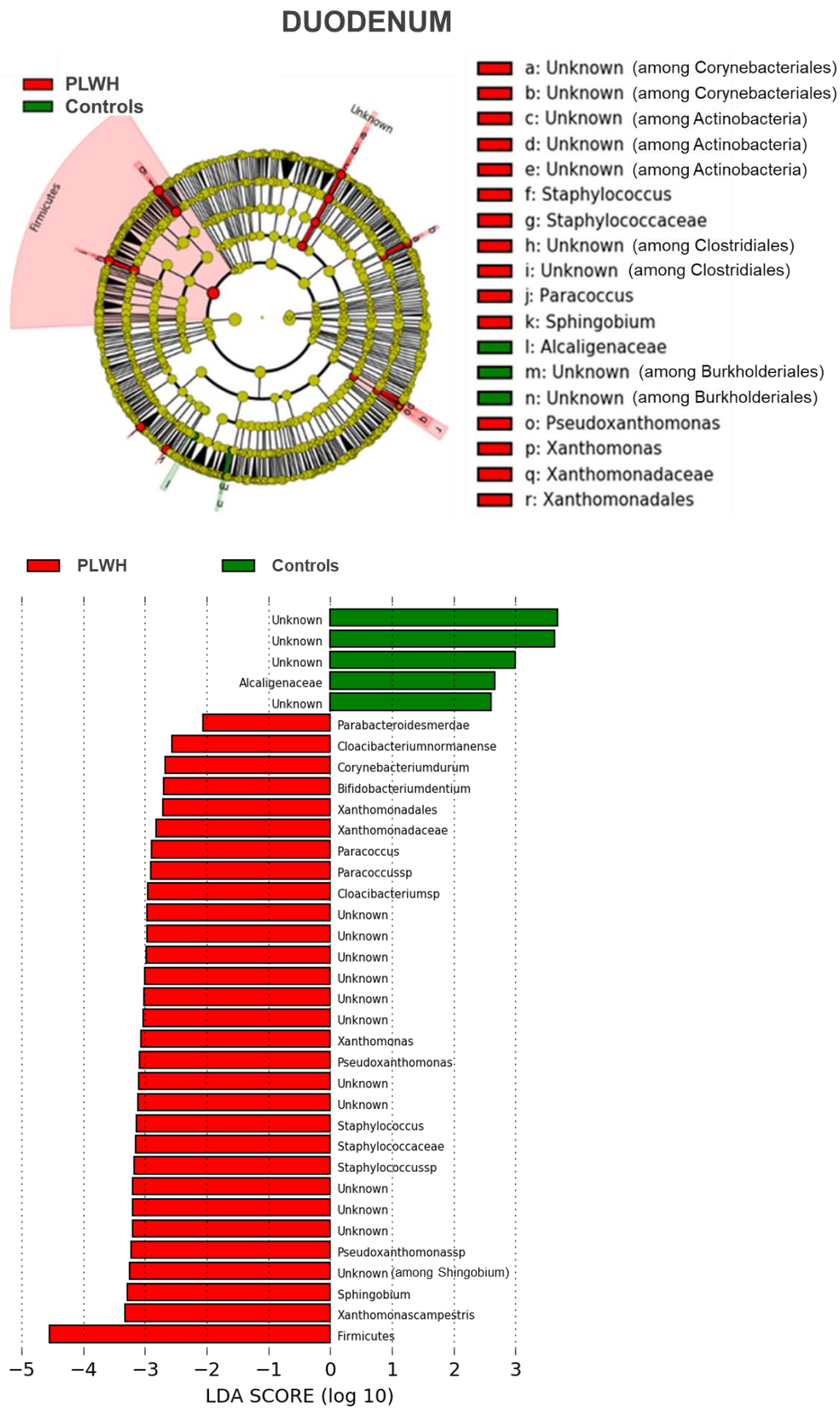


**Fig. 6: CMV is associated with  $V\delta_1$  T cells expansion in PLWH on ART.**

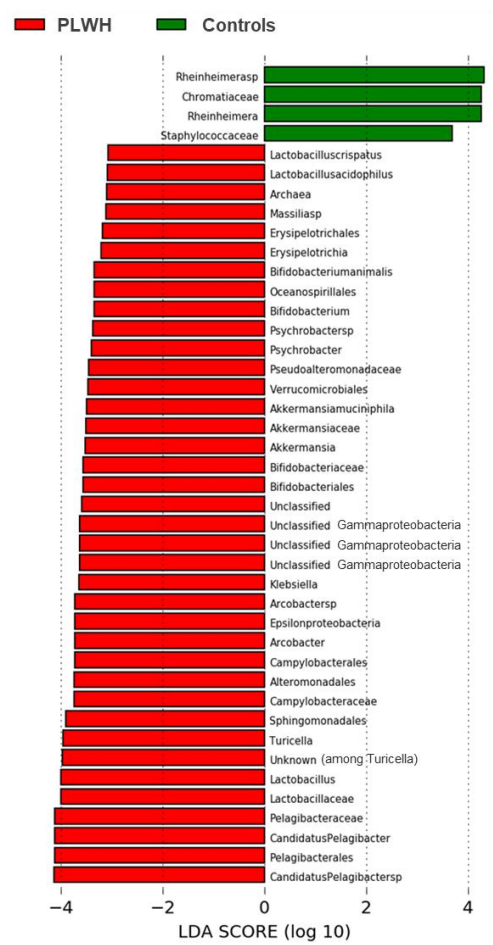
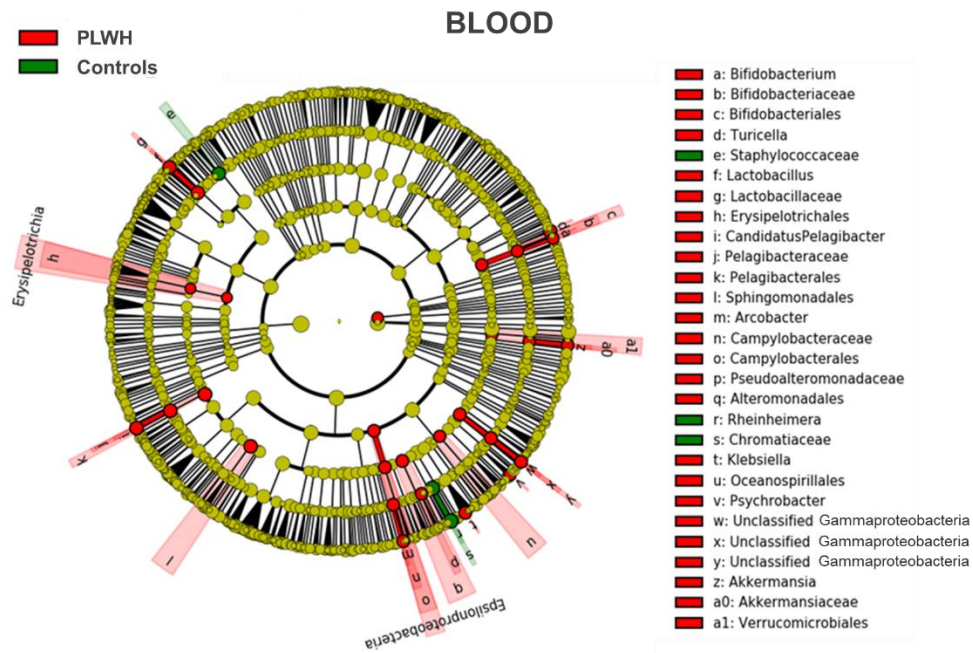
(A) Violin plots of the number of  $\gamma\delta^+$  T cells and of their  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  subsets, and the frequencies of  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  subsets among  $\gamma\delta^+$  T cells in the blood according to HIV and CMV infection status ( $n = 15$  HIV<sup>+</sup> CMV<sup>+</sup> /  $n=15$  HIV<sup>-</sup> CMV<sup>+</sup> /  $n=12$  HIV<sup>+</sup> CMV<sup>-</sup> /  $n=12$  HIV<sup>-</sup> CMV<sup>-</sup> individuals). Comparisons were made using Welch's t-test. The violin plots show the median (solid bar) and the first and third quartiles (dashed bars). (B)  $V\delta_1/V\delta_2$  subset ratio among  $\gamma\delta^+$  T cells in the blood according to HIV and CMV infection status. (C) Violin plots of CX3CR1<sup>+</sup> cell frequencies among  $V\delta_1$  T cells in the blood according to HIV and CMV infection status. Comparisons were made using Welch's t-test. (D) Violin plots of CMV IgG index in HIV<sup>+</sup> CMV<sup>+</sup> ( $n=15$ ) and HIV<sup>-</sup> CMV<sup>+</sup> individuals ( $n=15$ ). Comparisons were made using Welch's t-test. See also Fig. S8 for plasma biomarkers comparisons between the same groups.

Fig. 7

A



B

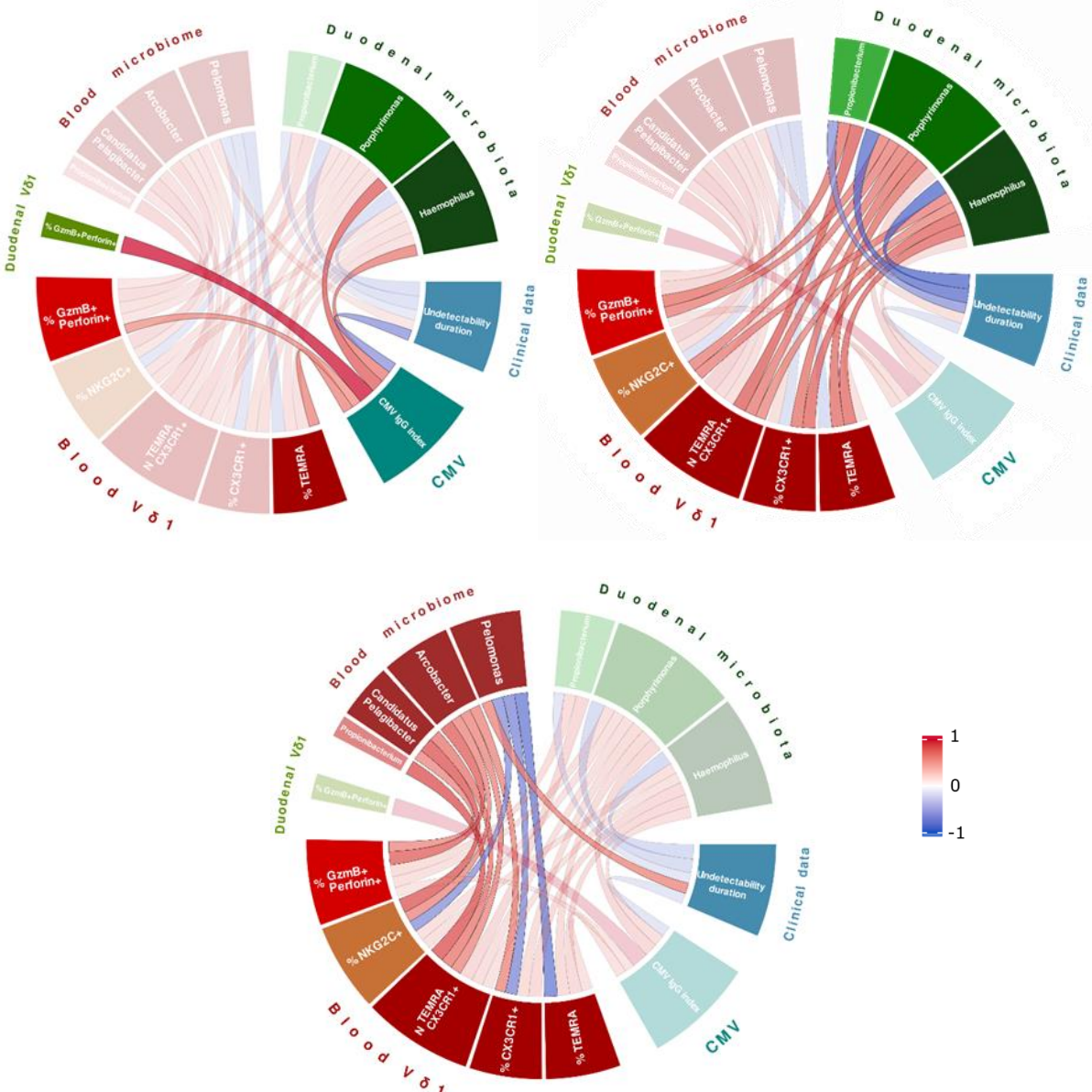


**Fig. 7: PLWH show changes in duodenal mucosal and blood translocated microbiota.**

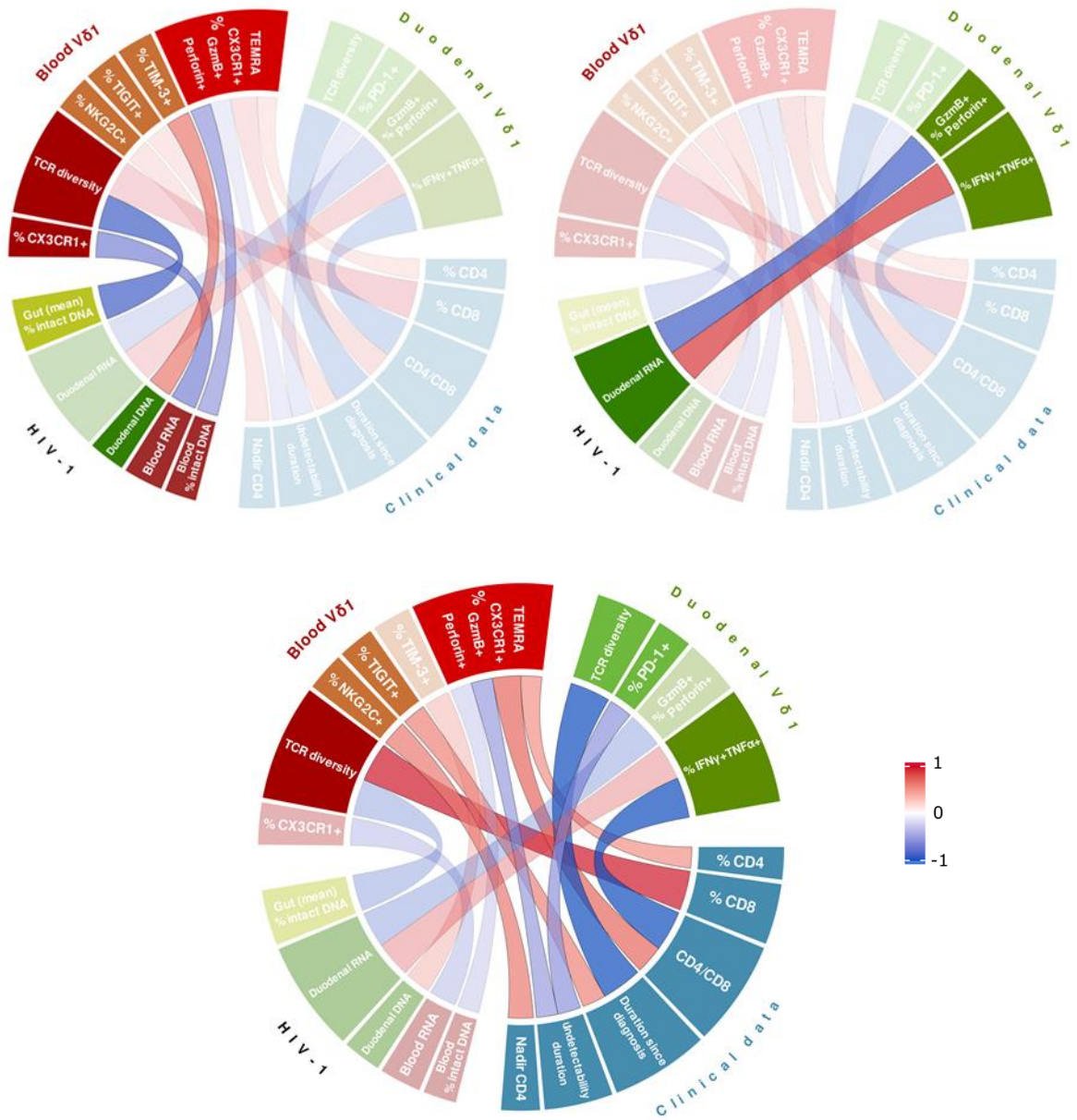
Cladogram of phylogenetic relationships of bacterial lineages associated with HIV status and histogram of the linear discriminant analysis (LDA) scores for differentially abundant bacterial phyla, classes, orders, families and genera between PLWH and HIV seronegative controls. The taxonomic level in the cladograms is represented by phylum in the inner ring and genus in the outer ring, with each circle representing a taxon within that level. LDA scores represent the size and ranking of each differentially abundant taxon. Positive values (in green) represent higher abundance in HIV seronegative controls and negative values (in red) represent higher abundance in PLWH. (A) Duodenal biopsies (n=24 PLWH and n=25 HIV seronegative controls). LDA scores shown are \* $P < 0.05$ ; (B) Blood samples (n=33 PLWH and n=39 HIV seronegative controls). LDA scores shown have threshold  $> 3$  and \*\* $P < 0.01$ . See also Fig. S7 for principal component analysis and diversity indices.

Fig. 8

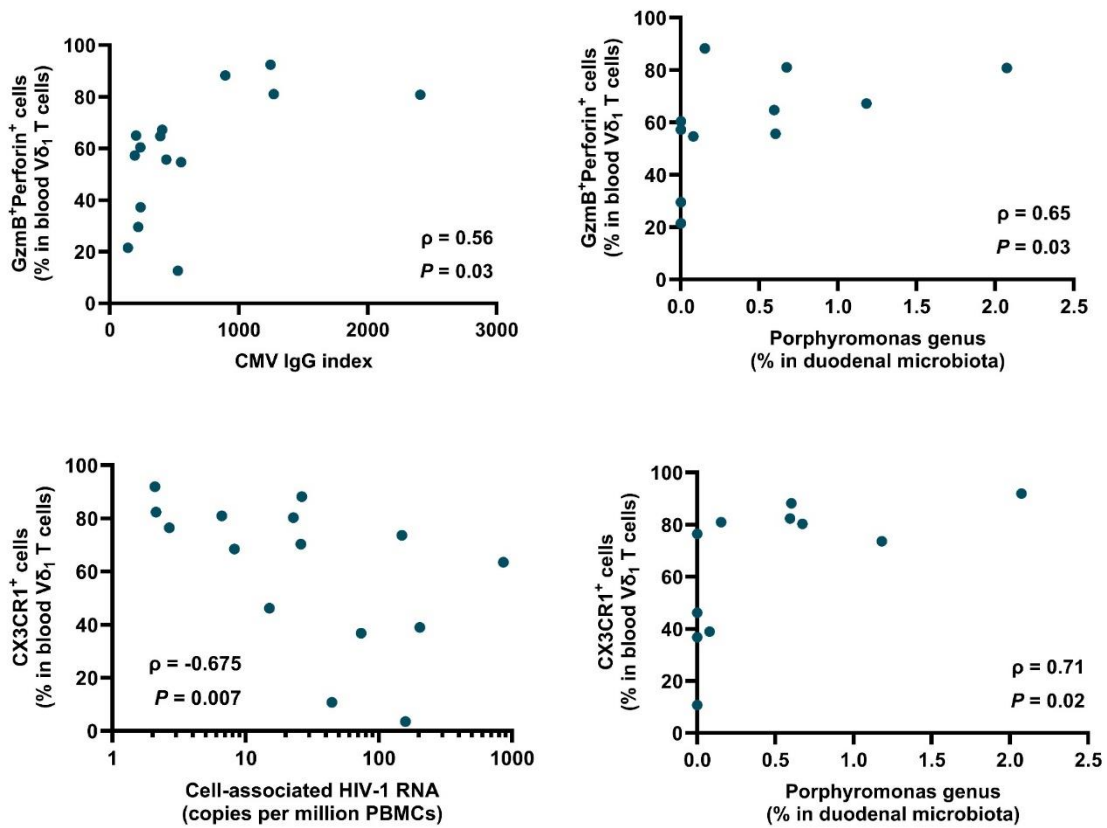
A



B



C



**Fig. 8: Cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA Vδ<sub>1</sub> T cell expansion is associated with the interplay of CMV, microbiota changes and HIV-1 persistence.**

(A) Chord diagrams of the associations in PLWH between (i) CMV IgG index, changes in (ii) duodenal microbiota (relative abundance of some Proteobacteria: *Haemophilus* ; Bacteroidetes: *Porphyromonas* ; and Actinobacteria: *Propionibacterium*), (iii) the blood microbiota (relative abundance of some Proteobacteria: *Candidatus pelagibacter*, *Arcobacter*, *Pelomonas* ; and Actinobacteria: *Propionibacterium*), and the phenotype of circulating and duodenal Vδ<sub>1</sub> T cells (CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA Vδ<sub>1</sub> T cells and their cytotoxic or activating profile). Color scale indicates Spearman's correlation coefficient ( $P < 0.05$ ). Positive correlations are shown in red and negative correlations are shown in blue. (B) Chord diagrams of the

associations between the phenotype of circulating and duodenal V $\delta$ <sub>1</sub> T cells (CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> T cells and their cytotoxic, activating or exhausted profile) and their clonal expansion (inverse of TCR diversity), virological parameters of the HIV-1 reservoir (frequency of intact proviral DNA among total HIV-1 DNA in (i) PMBC and (ii) gut; cell-associated HIV-1 RNA in PBMC and duodenal mucosa) and (iii) clinico-biological parameters of PLWH (percentage of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, CD4/CD8 ratio, and nadir of CD4<sup>+</sup> T cell count in blood; duration between HIV-1 diagnosis and enrollment; duration of consecutive undetectable HIV viral load prior to enrollment). Color scale indicates Spearman's correlation coefficient ( $P < 0.05$ ). Positive correlations are shown in red and negative correlations are shown in blue. (C) Dot plots of correlations between the frequency of circulating cytotoxic (GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> cells and (first panel) the CMV IgG index (n=15 PLWH), and (second panel) *Porphyromonas* relative abundance in the duodenal mucosa (n=11 PLWH); correlations between the frequency of circulating CX3CR1<sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> T cells and (third panel) cell-associated HIV-1 RNA in PBMC (copies per million of PBMC, n=15), and (fourth panel) *Porphyromonas* relative abundance in the duodenal mucosa (n=11 PLWH). Spearman's correlation coefficients ( $\rho$ ) and P-values are shown. See also Fig. S9 for correlations with plasma inflammatory biomarkers.

## Supplementary data

**Supplementary Table 1. Clinical characteristics of the study population.** Quantitative data are median (IQR). <sup>a</sup>Self-reported by the study participants, but none of them identified themselves as transgender. <sup>b</sup>Time on ART: time since the first antiretroviral therapy. <sup>c</sup>Duration of aviremia: time with continuous undetectable viral load prior to sampling.

	CMV+		CMV-	
	PLWH	Controls	PLWH	Controls
<b>N</b>	15	15	12	12
<b>Age (years)</b>	54 (50-61)	58 (49-63)	62 (58-65)	59 (55-69)
<b>Sex ratio<sup>a</sup> (F/M)</b>	3/12	4/11	5/7	5/7
<b>Time since HIV diagnosis (years)</b>	23 (18-30)	-	28 (23-30)	-
<b>Blood CD4 T cell count nadir (cells/<math>\mu</math>L)</b>	207 (156-373)	-	214 (177-329)	-
<b>Time on ART<sup>b</sup> (years)</b>	20 (12-22)	-	24 (13-18)	-
<b>Duration of aviremia<sup>c</sup> (years)</b>	9 (5-14)	-	16 (12-21)	-
<b>Blood CD4 T cell count (cells/<math>\mu</math>L)</b>	812 (590-956)	744 (662-810)	803 (561-965)	685 (549-794)
<b>Blood CD4/CD8 T cell ratio</b>	1 (0.9-1.1)	1.5 (1.4-2.9)	1.8 (1.3-2.6)	2.2 (1.8-3.1)
<b>Plasma viral load (copies/mL)</b>	<30	-	<30	-

## Supplementary Table 2. Antibodies used in flow cytometry panels.

### Core panel

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD3	BUV395	UCHT1	BD
TCR pan $\gamma\delta$	BB700	11F2	BD
TCR V $\delta$ 1	APC Vio770	REA173	Miltenyi
TCR V $\delta$ 2	BUV661	B6	BD
CD27	BV510	M-T271	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
CX3CR1	BV605	2A9-1	BD

+

### Panel 1: Activation/exhaustion

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
NKG2A	PE Vio770	REA110	Miltenyi
NKG2C	BUV496	134591	BD
NKp30	BV711	P30-15	Ozyme
NKp44	PE	Z231	Beckman
NKp46	BV421	900	eBioscience
LAG-3	FITC	Polyclonal	R&D
PD-1	PE CF594	EH12,1	BD
TIGIT	BV786	741182	BD
TIM-3	BUV737	7D3	BD

or

### Panel 2: Homing

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD69	BUV496	FN50	BD
CD103	PE Cy7	Ber-ACT8	Ozyme
$\beta$ 7	BB515	FIB504	BD
CCR6	BV711	11A9	BD
CCR9	PE	112509	R&D
CXCR3	BV421	1C6/CXCR3	BD

### Core panel

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD3	BUV395	UCHT1	BD
TCR pan $\gamma\delta$	BB700	11F2	BD
TCR V $\delta$ 1	APC Vio770	REA173	Miltenyi
TCR V $\delta$ 2	BUV661	B6	BD
CD27	BV510	M-T271	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
CX3CR1	BV605	2A9-1	BD
NKG2C	BUV496	134591	BD
PD-1	PE CF594	EH12,1	BD
TIGIT	BV786	741182	BD
TIM-3	BUV737	7D3	BD

+

### Panel 3: Cytotoxicity effectors

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
GzmB	PE	GB11	BD
Perforin	Alexa 488	B-D48	BioLegend

or

### Panel 4: Cytokines

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
IFN- $\gamma$	Alexa 700	B27	BD
TNF- $\alpha$	PE Cy7	Mab11	BD
IL-10	Alexa 488	JES3-9D7	BioLegend
IL-17A	PE	eBio64DEC17	eBioscience

### Transcription factors

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD3	BUV395	UCHT1	BD
TCR pan $\gamma\delta$	BB700	11F2	BD
TCR V $\delta$ 1	APC Vio770	REA173	Miltenyi
CD27	BV510	M-T271	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
CX3CR1	BV605	2A9-1	BD
CD127	FITC	R34.34	Beckman Coulter
TOX	PE	TXRX10	ThermoFisher
TCF-1	PE Cy7	C63D9	Cell Signaling
T-bet	APC	eBio4B10	ThermoFisher
Eomes	PE-eFluor 610	WD1928	ThermoFisher
Bcl-2	V450	Bcl-2/100	BD

**Supplementary Table 3. Number of samples processed per cytometry panel.**

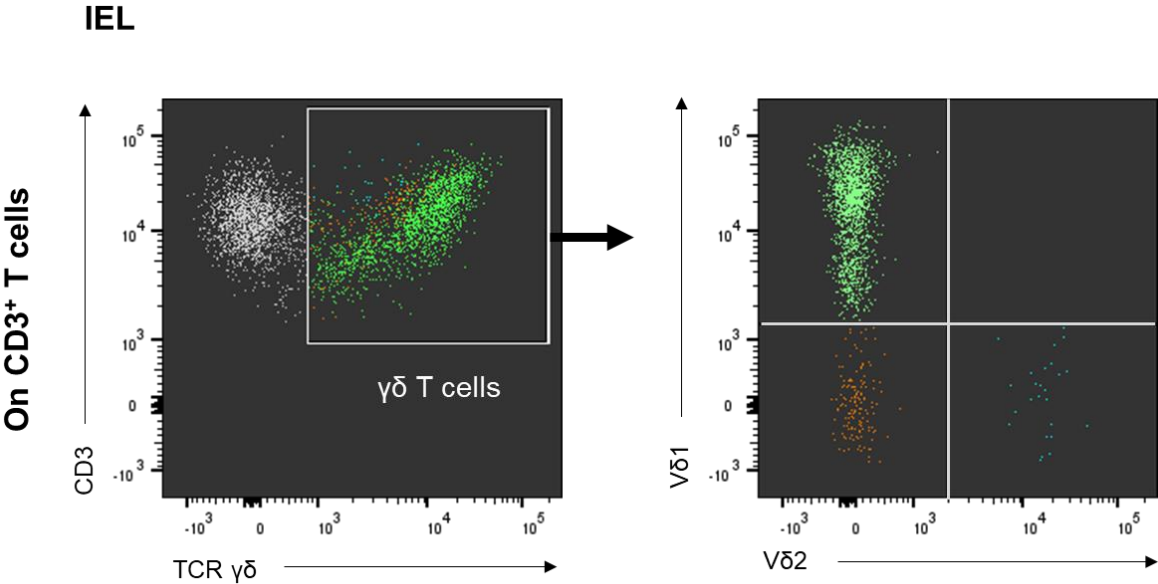
<b>BLOOD</b>	<b>CMV+</b>		<b>CMV-</b>	
	<b>HIV+</b>	<b>HIV-</b>	<b>HIV+</b>	<b>HIV-</b>
<b>Panel 1: Activation/exhaustion</b>	15	15	12	12
<b>Panel 2: Homing</b>	15	15	-	-
<b>Panel 3: Cytotoxicity</b>	15	15	-	-
<b>Panel 4: Cytokines</b>	15	15	-	-
<b>Panel 5: Transcription factors</b>	15	15	-	-
<b>IEL</b>	<b>CMV+</b>		<b>CMV-</b>	
	<b>HIV+</b>	<b>HIV-</b>	<b>HIV+</b>	<b>HIV-</b>
<b>Panel 1: Activation/exhaustion</b>	15	15	-	-
<b>Panel 2: Homing</b>	15	15	-	-
<b>Panel 3: Cytotoxicity</b>	5	5	-	-
<b>Panel 4: Cytokines</b>	5	5	-	-
<b>Panel : Transcription factors</b>	-	-	-	-

**Supplementary Table 4. Mean number of events acquired in flow cytometry analyses for the main subsets.**

Subset	Mean number of events
<b>IEL</b>	
γδ T cells	1515
Vδ1 T cells	829
Vδ2 T cells	191
CX3CR1 <sup>+</sup> Vδ1 T cells	56
Naive Vδ1 T cells	8
CM Vδ1 T cells	9
EM Vδ1 T cells	503
TEMRA Vδ1 T cells	309
NKG2C <sup>+</sup> Vδ1 T cells	166
NKG2A <sup>+</sup> Vδ1 T cells	149
<b>PBMC</b>	
γδ T cells	10038
Vδ1 T cells	3224
Vδ2 T cells	1764
CX3CR1 <sup>+</sup> Vδ1 T cells	2452
Naive Vδ1 T cells	420
CM Vδ1 T cells	88
EM Vδ1 T cells	144
TEMRA Vδ1 T cells	2572
CX3CR1 <sup>+</sup> TEMRA Vδ1 T cells	2289
NKG2C <sup>+</sup> Vδ1 T cells	467
TIM-3 <sup>+</sup> Vδ1 T cells	162
CX3CR1 <sup>+</sup> β7 <sup>+</sup> CD103 <sup>+</sup> Vδ1 T cells	287

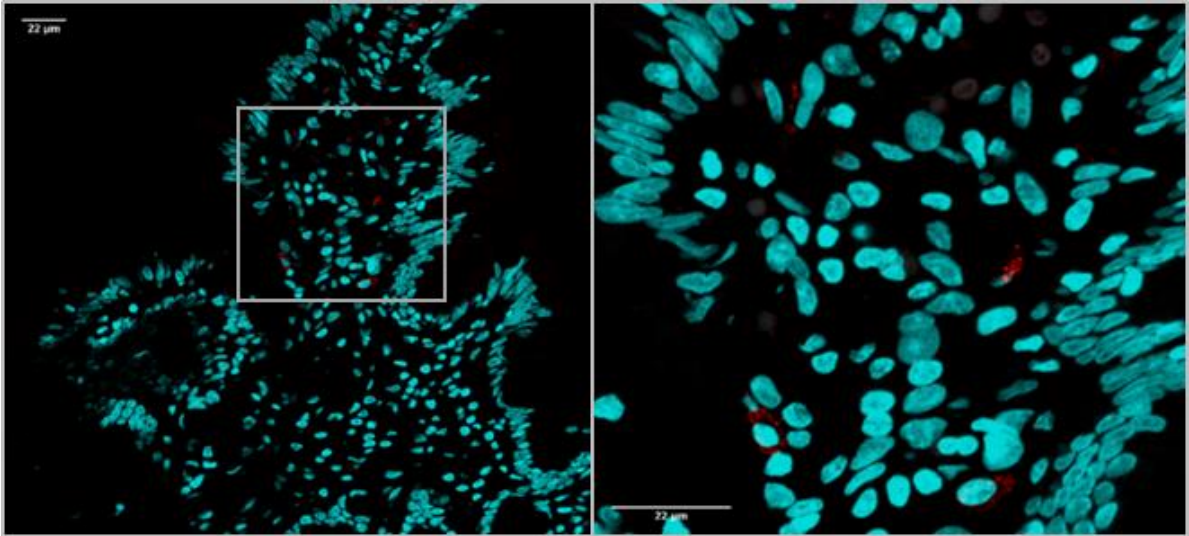
**Supplementary Fig. 1. Flow cytometry gating strategy for  $\gamma\delta$  T cells in IELs**

Flow cytometric analysis of  $\gamma\delta^+$  T cells among  $CD3^+$  T cells and  $V\delta_1$  and  $V\delta_2$  subsets in a PLWH duodenal sample.

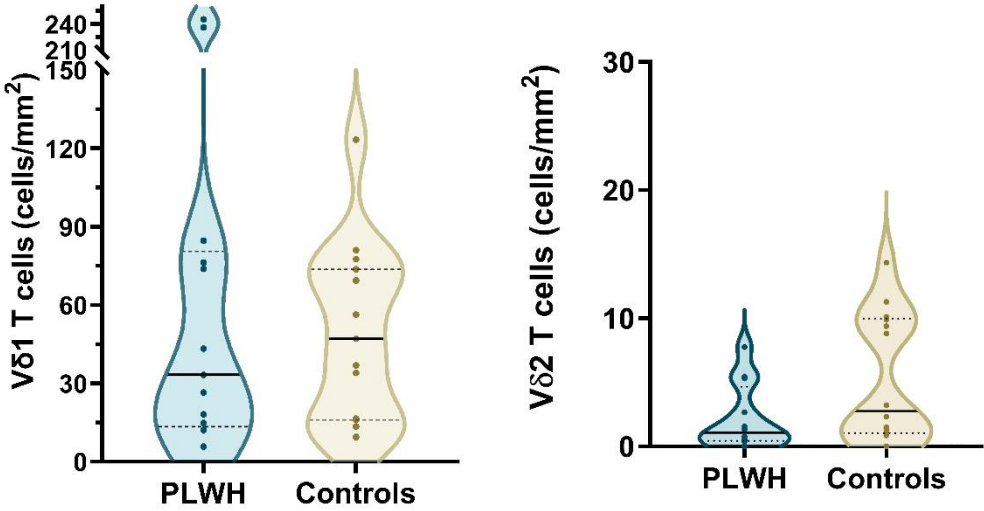


**Supplementary Fig. 2.  $V\delta_1$  T cell numbers are not significantly altered in the duodenum of PLWH on ART.** (a) Representative immunofluorescence staining for  $V\delta_1$  TCR (red) and DAPI (blue) in duodenal tissue from PLWH. Scale bars,  $22\mu\text{m}$ . (b) Violin plots of the number of  $V\delta_1^+$  and  $V\delta_2^+$  T cells per surface area of duodenal tissue surface ( $n = 15$  PLWH and  $15$  controls). Comparisons were made using Welch's t-test.

**A**

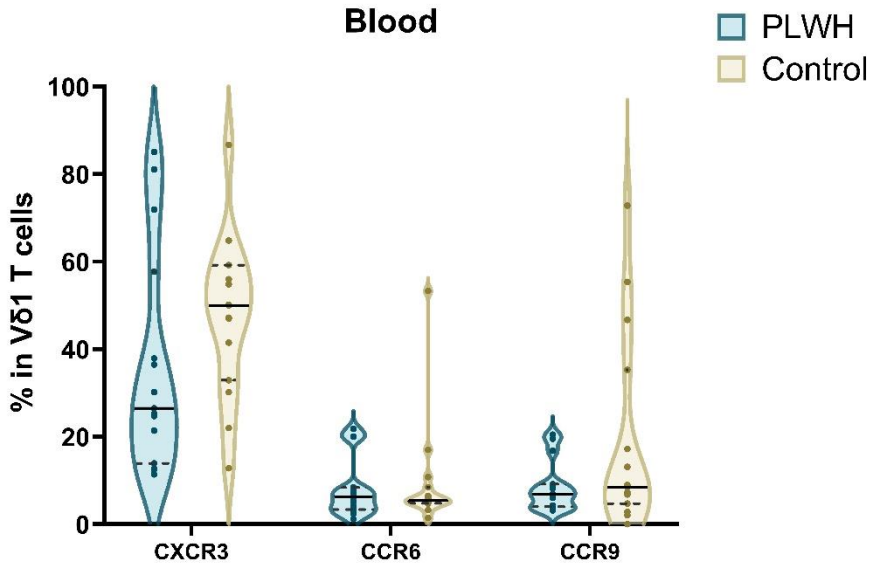


**B**

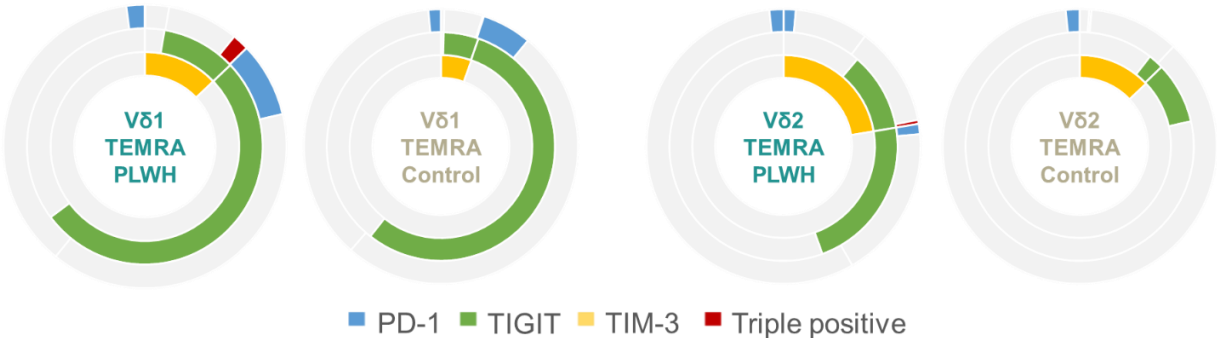


**Supplementary Fig. 3. Chemokine receptors expression on blood V $\delta$ <sub>1</sub> T cells**

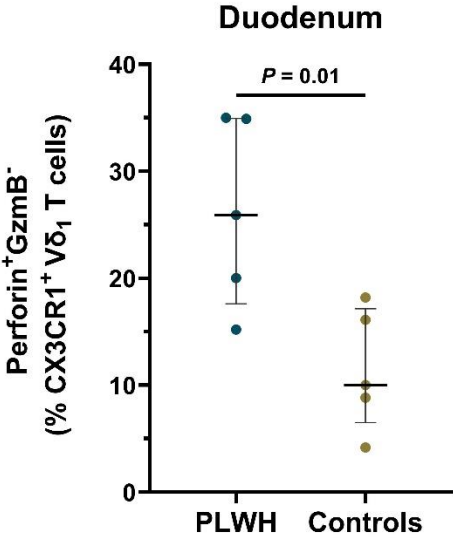
Violin plots of the chemokine receptors CXCR3, CCR6 and CCR9 frequencies among circulating V $\delta$ <sub>1</sub> T cells (n = 15 PLWH and 15 controls).



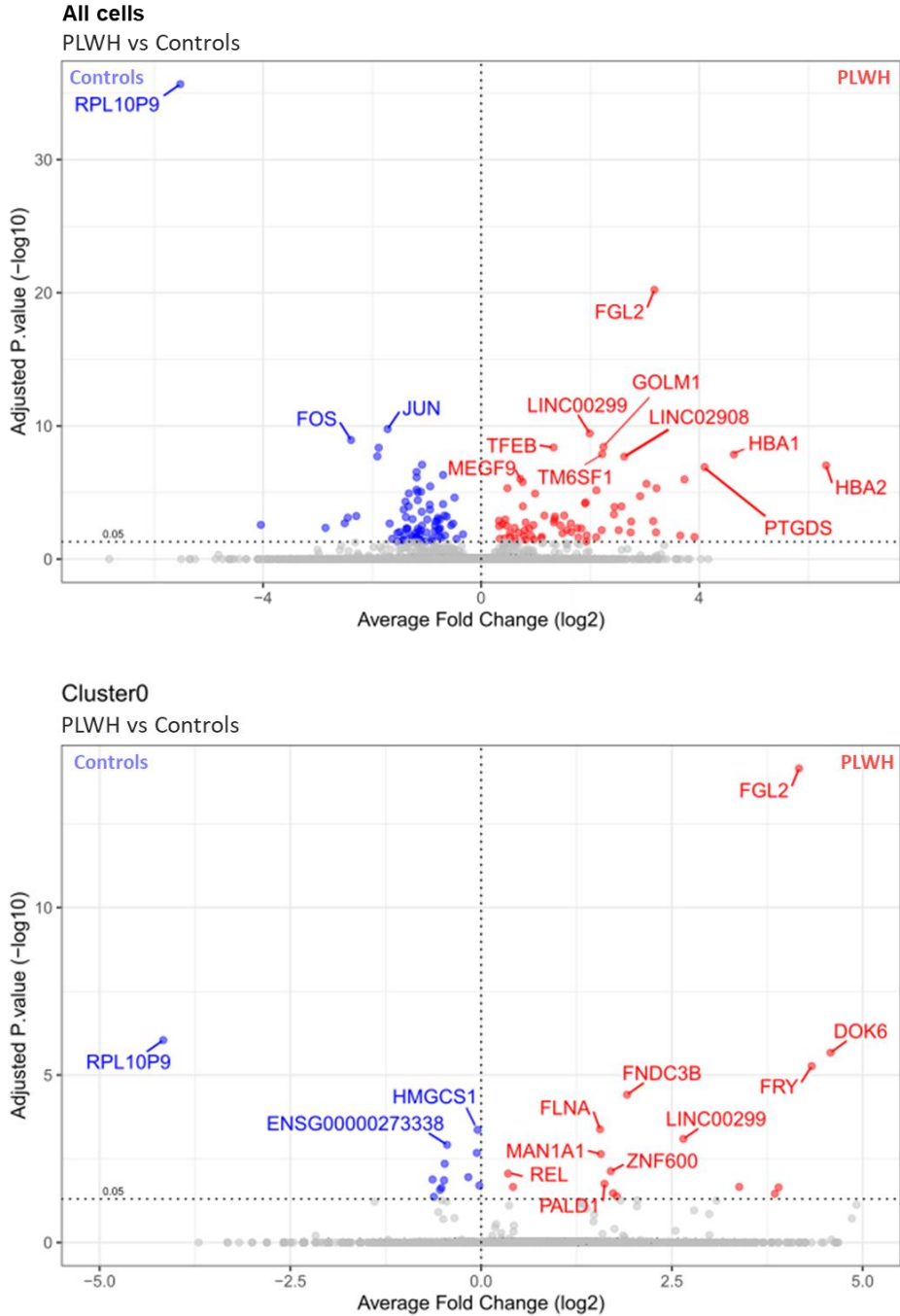
**Supplementary Fig. 4. TEMRA  $\gamma\delta$  T cells show high expression of activation and exhaustion markers in PLWH on ART.** Each colored circle represents the proportion of the given marker expression among TEMRA (CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> or V $\delta$ <sub>2</sub> T cells as measured by flow cytometry (median for n = 15 PLWH and 15 controls). Overlay of colored circles represents co-expression of markers.

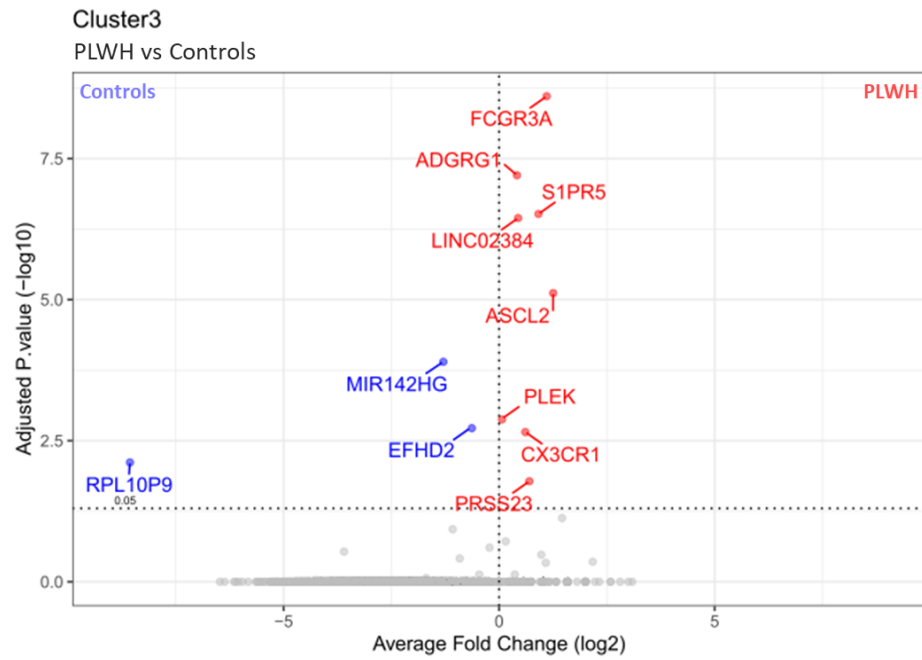
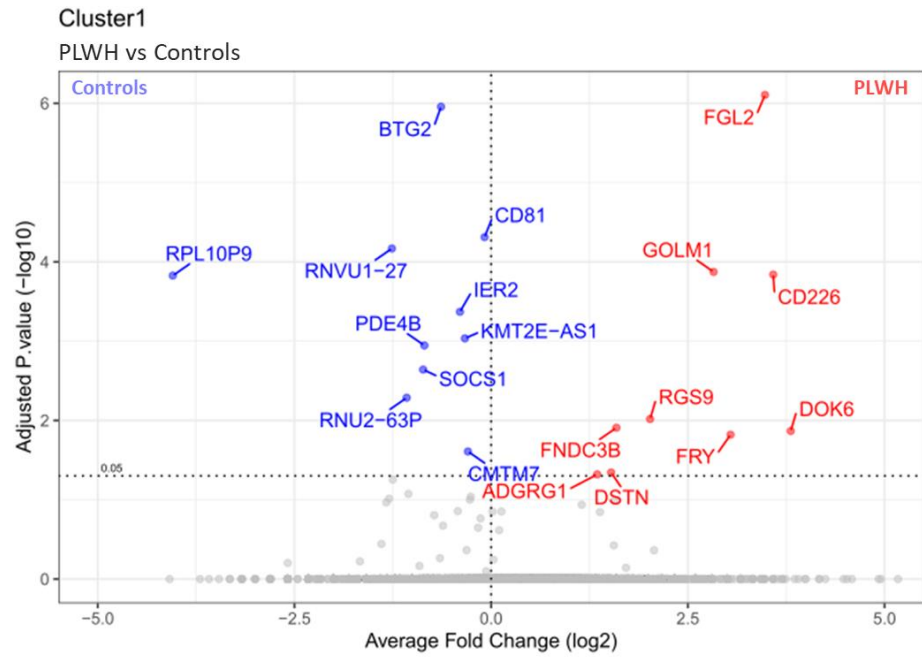


**Supplementary Fig. 5. Duodenal  $V\delta_1$  T cells express higher levels of Perforin<sup>+</sup>GzmB<sup>-</sup> cells in PLWH on ART.** Dot plots of the frequencies of Perforin<sup>+</sup>GzmB<sup>-</sup> among CX3CR1<sup>+</sup>  $V\delta_1$  T cells in the IEL (n = 5 PLWH and 5 controls). Comparison was made using Welch's t-test.



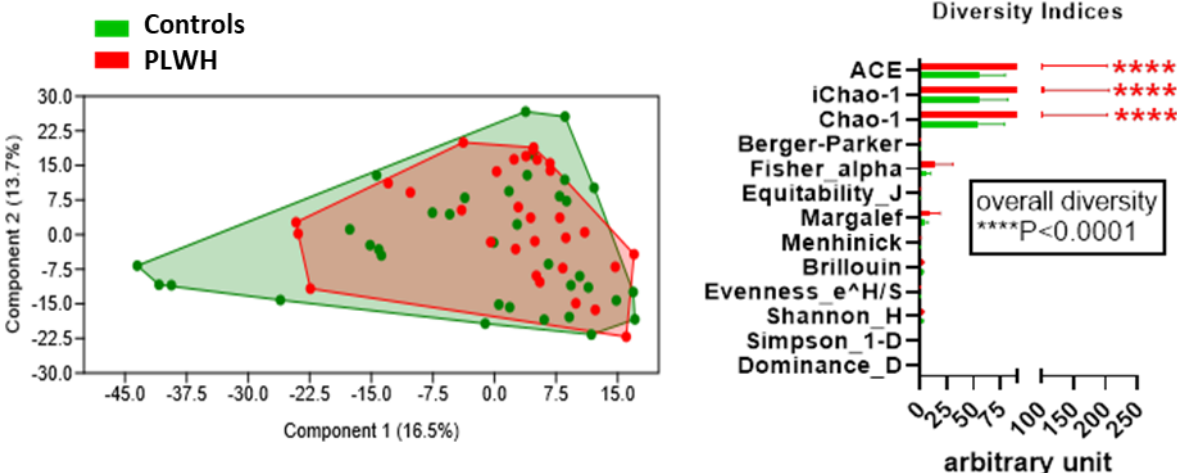
**Supplementary Fig. 6. Differentially expressed genes within V $\delta$ <sub>1</sub> T cell clusters in PLWH on ART.** Volcano plots of pseudobulk differential gene expression between PLWH and controls (increased or decreased expression in PLWH vs. controls are shown in red and blue, respectively) for the total sequenced cells, clusters 0, 1 (increased frequency in PLWH), and 3 (decreased frequency in PLWH).



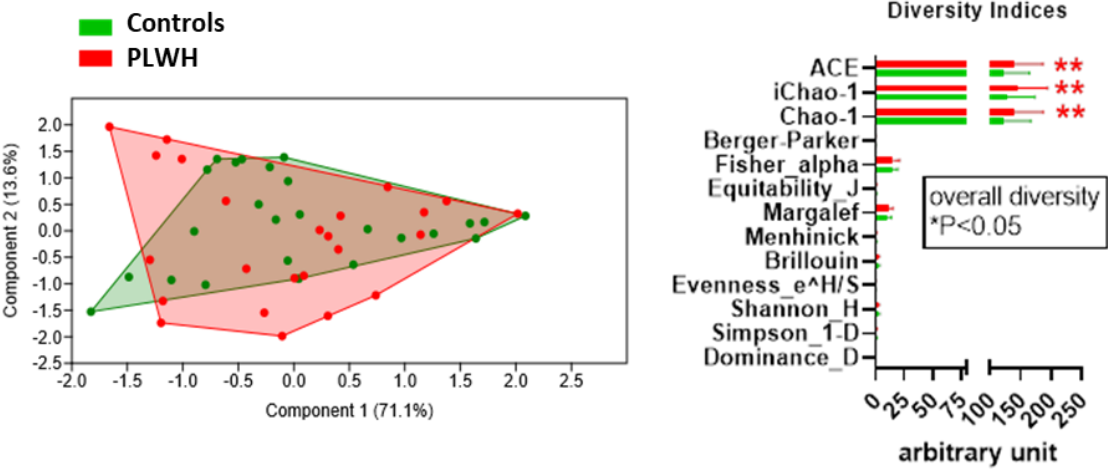


**Supplementary Fig. 7. Differential microbiota profiling reveals increased diversity in blood and duodenum of PLWH on ART.** Principal component difference analysis and diversity indices between PLWH (red) and controls (green) in (a) blood samples (n = 33 PLWH and 39 controls); (b) duodenal biopsies (n = 24 PLWH and 25 controls). Two-way ANOVA followed by Benjamini, Krieger, and Yekutieli two-stage linear step-up procedure to correct for multiple comparisons by controlling for false discovery rate (<0.05). *P*-value of \*\*<0.01, \*\*\*<0.001, and \*\*\*\*<0.0001.

**A**

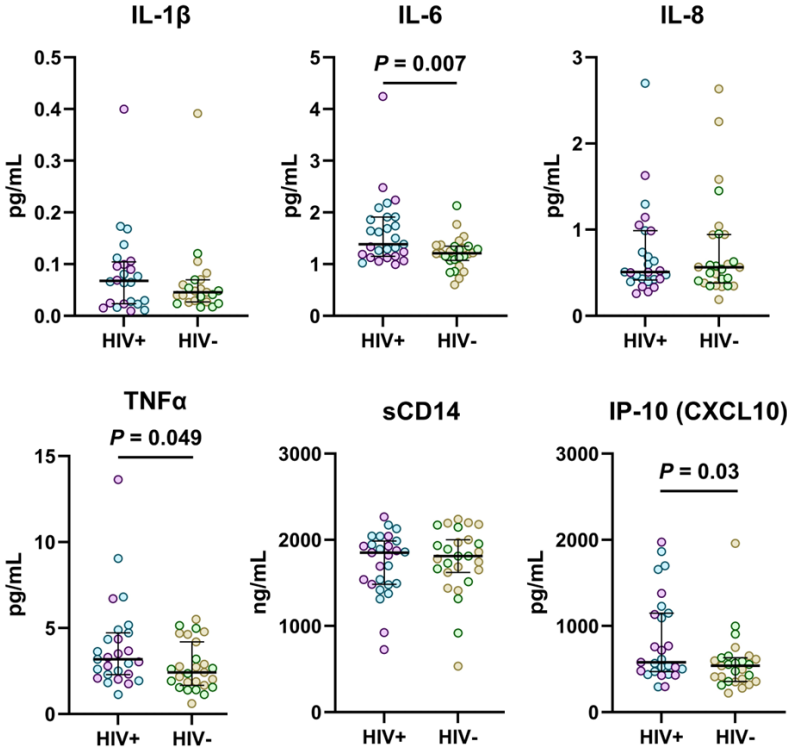


**B**

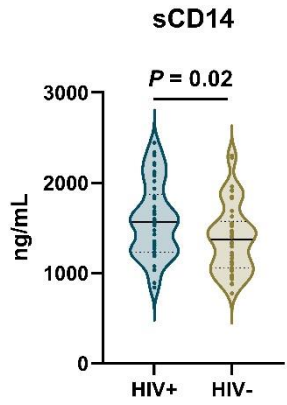


**Supplementary Fig. 8. Increase in inflammatory biomarkers is related to HIV status rather than CMV status.** (A) Dot plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14 and IP-10 according to HIV-1 status. n = 15 CMV+ PLWH (blue), 15 CMV+ controls (brown), 12 CMV- PLWH (purple) and 12 CMV- controls (green). (B) Violin plots of sCD14 plasma concentration in the entire ANRS EP61 GALT cohort (n = 42 PLWH and 42 controls). (C) Dot plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14, and IP-10 according to CMV status. (D) Violin plots of plasma concentration of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , sCD14 and IP-10 according to both CMV and HIV-1 status. Bars are median and interquartile range. Comparisons were made using Welch's t-test.

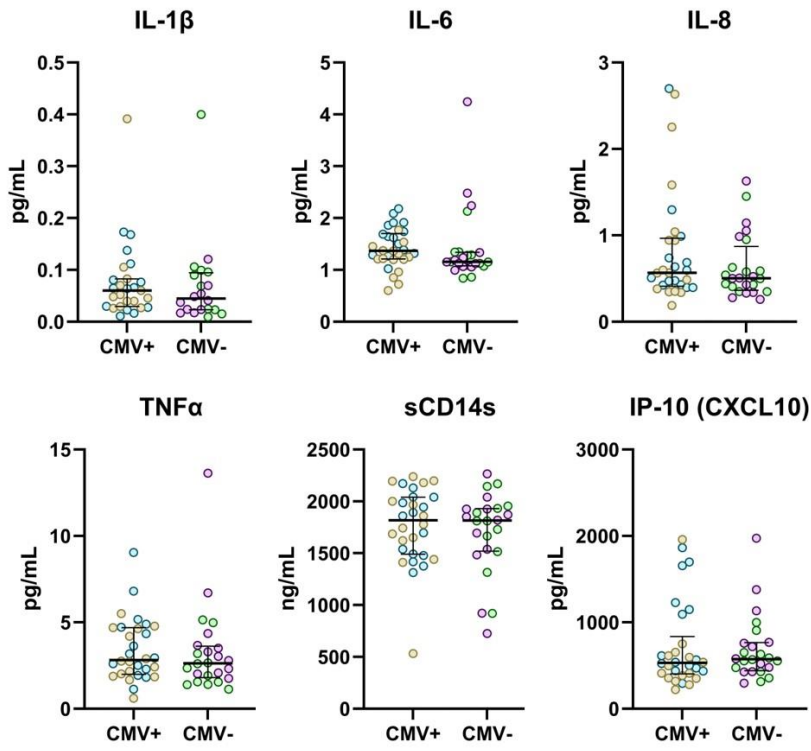
**A**



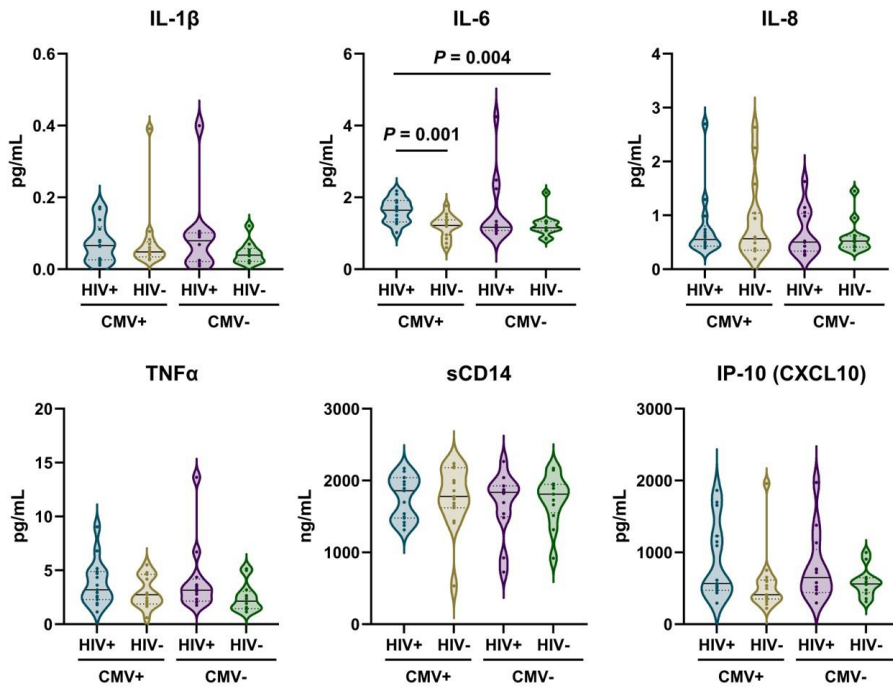
**B**



C



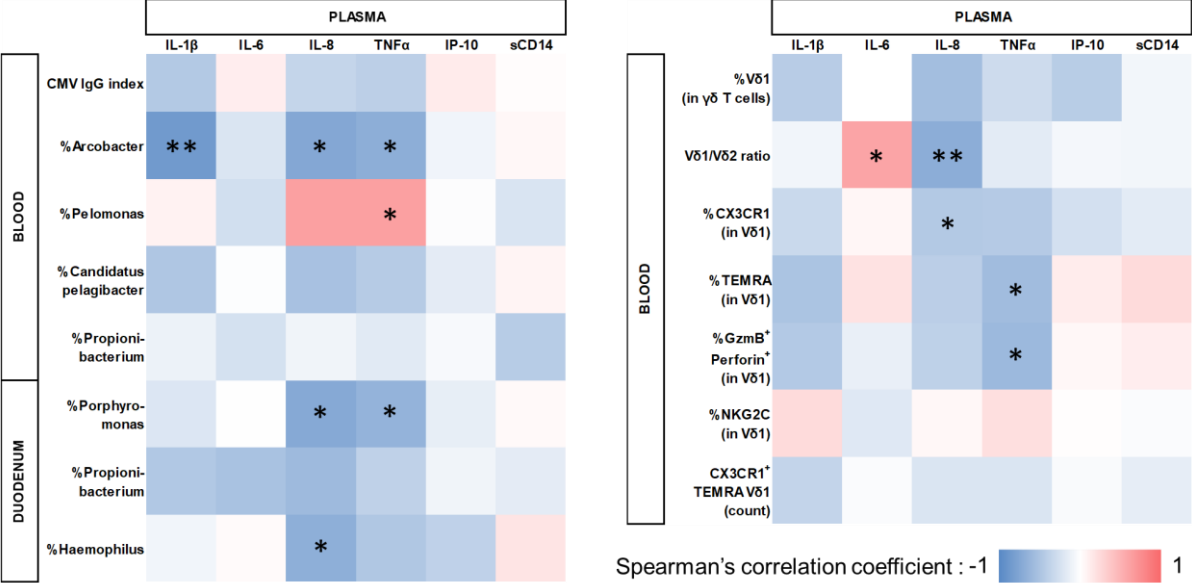
D



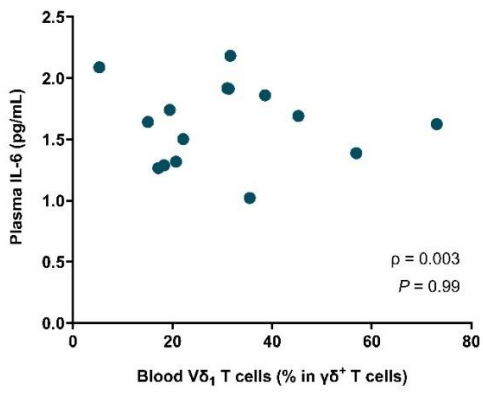
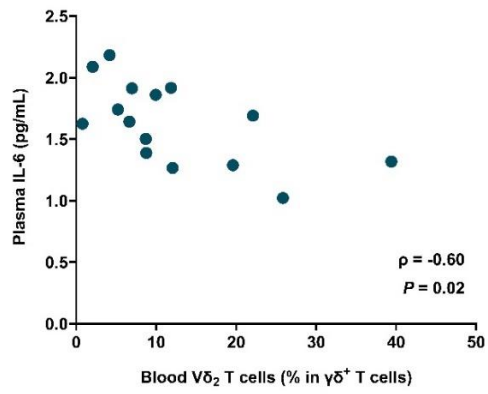
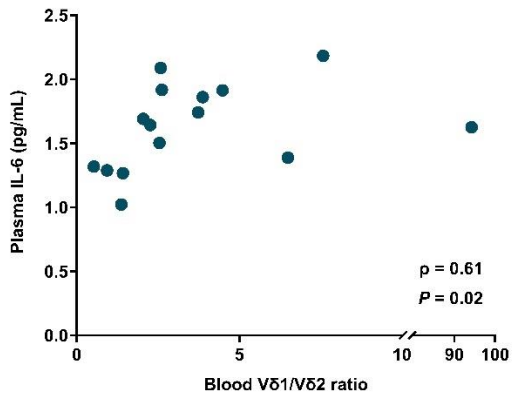
**Supplementary Fig. 9. Inflammatory biomarkers do not correlate with CX3CR1<sup>+</sup> Vδ<sub>1</sub> T cells expansion.** (A) Correlation matrix of plasma inflammatory biomarkers and (left panel) relative abundance of some bacteria genera in the blood and duodenum microbiota ; and (right panel) the phenotype of circulating Vδ<sub>1</sub> T cells. Color scale indicates Spearman’s correlation coefficient. *P*-values of \**P*<0.05, \*\**P*<0.01, and \*\*\**P*<0.001. (B) Correlations between plasma IL-6 and Vδ<sub>1</sub>/Vδ<sub>2</sub> ratio, Vδ<sub>1</sub>, and Vδ<sub>2</sub> T cell frequencies in blood. Spearman’s correlation coefficients (ρ) and *P*-values are shown (n = 15 CMV<sup>+</sup> PLWH).

**A**

In CMV seropositive PLWH:

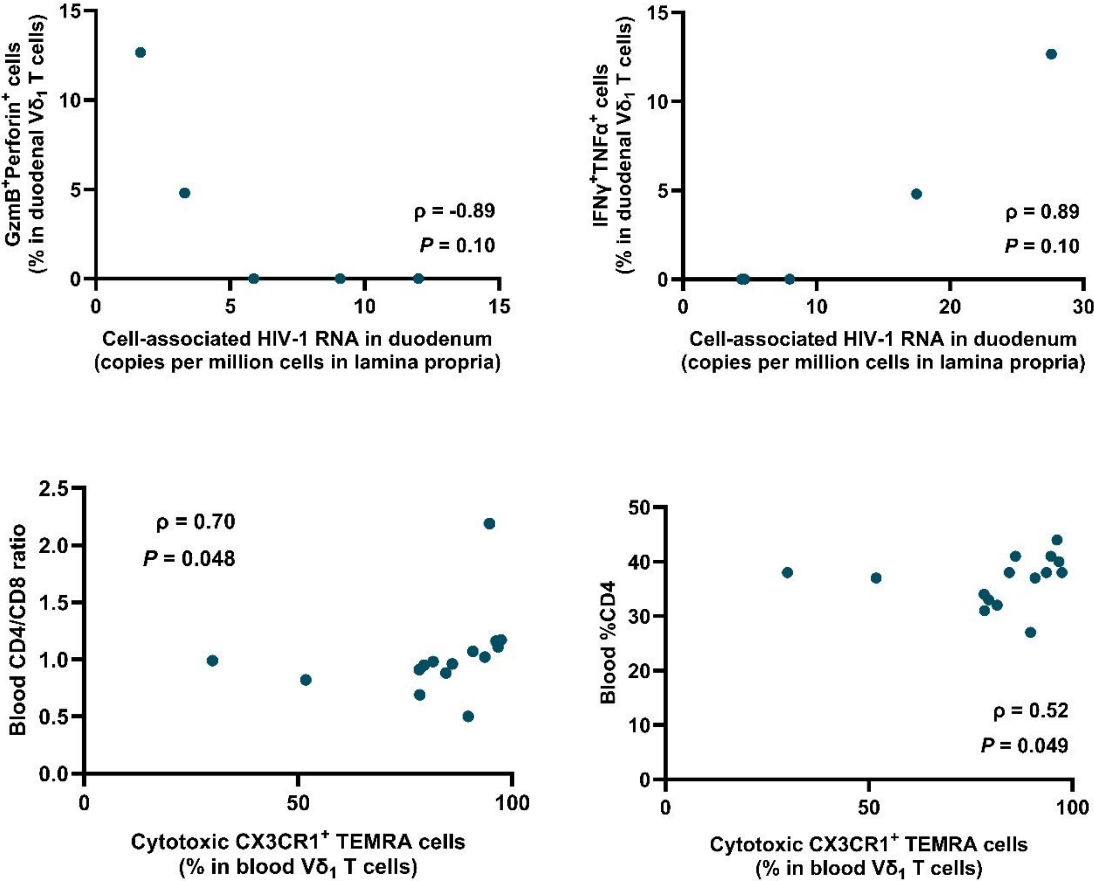


**B**



**Supplementary Fig. 10. Cytotoxic CX3CR1<sup>+</sup> TEMRA V $\delta$ <sub>1</sub> T cell expansion seems to be associated with reduced cell-associated HIV-1 RNA and higher T CD4 cell frequency in blood.**

Correlations between cell-associated HIV-1 RNA in the duodenum and (left upper panel) the frequency of duodenal cytotoxic (GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> cells, and (right upper panel) the frequency of duodenal IFN $\gamma$ <sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> V $\delta$ <sub>1</sub> cells (n=5 PLWH); correlations between the frequency of circulating cytotoxic (GzmB<sup>+</sup>Perforin<sup>+</sup>) V $\delta$ <sub>1</sub> cells and (left lower panel) the blood CD4/CD8 ratio, and (right lower panel) the frequency of CD4 T cells in the blood (n=15 PLWH). Spearman's correlation coefficients ( $\rho$ ) and P-values are shown.



## RESULTATS II. La déplétion en lymphocytes T CD8 résidents mémoire effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> est associée au réservoir viral du VIH-1 dans le colon sous traitement antirétroviral.

*Ce travail fera l'objet d'une publication sous forme d'article original dont le manuscrit est en cours de préparation.*

### A. OBJECTIFS

L'infection par le VIH-1 peut induire l'expansion dans la circulation d'une population de cellules CX3CR1<sup>+</sup> « inflammescents » CD57<sup>+</sup> associée aux mécanismes inflammatoires de l'athérosclérose observée chez ces patients (Morris *et al.* 2020). Outre leur rôle dans l'inflammation systémique, nous avons pu montrer qu'une population de lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> expansus, parmi les lymphocytes  $\gamma\delta$  V $\delta_1$ , était hautement cytotoxique et associée à une réduction du réservoir viral VIH-1 dans la circulation et dans le duodénum. L'expansion de cette population CX3CR1<sup>+</sup> était notablement liée au statut sérologique pour le CMV, qui est également un facteur majeur dans l'expansion des CD8 CX3CR1<sup>+</sup> au cours de l'infection par le VIH-1 (Winchester *et al.* 2024). Nous suspectons ainsi que des stimuli communs puissent participer à l'expansion de différentes populations lymphocytaires exprimant toutes le récepteur CX3CR1.

Par ailleurs, les lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> sont caractérisés par des propriétés fonctionnelles cytotoxiques, en particulier celles présentant un haut niveau d'expression de CX3CR1 (CX3CR1<sup>hi</sup>) (Zwijnenburg *et al.* 2023). Ces propriétés confèreraient à ces cellules un fort potentiel antiviral, pouvant être impliqué dans le cadre de l'infection par le VIH-1 ou la réactivation du CMV qui y est associée. Elles présenteraient un phénotype « transitoire » entre des cellules à potentiel de prolifération et des cellules épuisées, et seraient moins sensibles aux signaux d'épuisement lymphocytaire induit par le micro-environnement, en faisant des cibles d'intérêt dans les stratégies d'immunothérapie visant à réduire les réservoirs du VIH-1 (Hudson *et al.* 2019; Yamauchi *et al.* 2021). Le ligand de CX3CR1, CX3CL1, est exprimé dans les différents organes au niveau de l'endothélium, et de certains épithéliums tel que l'épithélium intestinal. Cette large expression permet la migration de cellules effectrices CX3CR1<sup>+</sup> dans de nombreux tissus, et ainsi de cibler le réservoir viral tissulaire du VIH-1.

L'axe CX3CR1-CX3CL1 pourrait donc être associé à la régulation de la réponse immunitaire cellulaire effectrice qui est cruciale pour le contrôle de l'infection par le VIH-1.

Dans le cadre de l'étude EP61 GALT ayant permis de recruter 42 personnes vivant avec le VIH-1 et 42 témoins non infectés, nous avons cherché à caractériser les lymphocytes effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> circulants et intestinaux, afin d'établir un lien entre ces populations, leurs propriétés, et le réservoir viral du VIH-1 que nous avons préalablement caractérisé dans la même population. Nous avons mis en évidence un enrichissement en ADN proviral intact dans le colon (Vellas *et al.* 2024). Nous avons dans une première partie étudié le profil phénotypique et fonctionnel des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> exprimant CX3CR1 par cytométrie de flux multiparamétrique sur des échantillons sanguins et intestinaux de *lamina propria* multi-étagés (duodénum, iléum, colon). Nous avons notamment étudié le profil d'activation/épuisement de ces cellules, ainsi que leur état de différenciation et de résidence tissulaire. Nous avons étudié la spécificité des lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> circulants, en particulier ceux présentant un phénotype de tropisme digestif, contre des peptides du VIH-1 (Gag, Nef, Env) et du CMV (pp65) par stimulation et mesure de la capacité de réponse inflammatoire (production d'IFN $\gamma$ ) et de dégranulation (CD107a). Nous terminons également actuellement une caractérisation par single-cell RNA sequencing du profil transcriptomique des populations CX3CR1<sup>+</sup> de chaque segment intestinal et dans le sang, et nous prévoyons également d'étudier les caractéristiques in situ de cette population et son lien avec CX3CL1 par immunofluorescence spatiale multiplexée dans les biopsies intestinales.

Nous avons également réalisé des expériences préliminaires dans le but d'identifier les facteurs modulant l'expression de CX3CL1 au niveau de l'épithélium intestinal dans des expériences *ex vivo* à partir de biopsies coliques afin de mieux appréhender les mécanismes responsables de la migration, de la rétention ou de la recirculation de ces lymphocytes. Nous avons développé un modèle de culture de cellules épithéliales sur transwell afin d'identifier les cytokines et ligands de TLR favorisant l'expression ou le clivage de CX3CL1, ainsi qu'un modèle de culture d'explants intestinaux afin de déterminer l'effet de l'infection virale par le VIH-1 ou le CMV sur l'expression et le clivage de CX3CL1.

## A. METHODES

### **Sujets et échantillons**

L'étude ANRS EP61 a recruté 42 PvVIH et 42 témoins séronégatifs pour le VIH au CHU de Toulouse, France, entre 2017 et 2020. Les critères d'inclusion et d'exclusion ont été précédemment décrits. Les échantillons sanguins et les biopsies endoscopiques intestinales ont été obtenues à partir de ces individus au cours d'une endoscopie haute (biopsies duodénales) et/ou basse (biopsie iléales et coliques). Les endoscopies hautes ont été principalement réalisées pour des symptomatologies de reflux gastro-oesophagien et les endoscopies basses ont été réalisées dans le cadre de dépistage de cancers colorectaux. Tous les sujets étaient indemnes de maladies inflammatoires ou lymphoproliférative des intestins à l'examen anatomo-pathologique. Tous les PvVIH ont initié les ARV au stade chronique avec le maintien d'une charge virale plasmatique indétectable pour le VIH-1 sous traitement. Les niveaux de VIH-1 plasmatique ont été quantifiés par Aptima® HIV-1 Quant Dx (seuil de 30 copies/mL, Hologic), et les LT CD4 et CD8 du sang périphérique ont été mesurés par cytométrie en flux dans le cadre de leur suivi de routine.

*Le traitement des biopsies intestinales a été précédemment décrit dans une section dédiée.* Les échantillons intestinaux utilisés pour ce projet correspondaient tous aux cellules récupérées à partir du tri magnétique positif CD2<sup>+</sup> après digestion à la collagénase, recueillant les lymphocytes de la lamina propria.

39/42 PvVIH et 19/42 témoins étaient également séropositifs pour le CMV. Pour étudier les variations de la réponse immunitaire parmi les sujets séronégatifs pour le CMV, 9 PvVIH supplémentaires ont été recrutées dans le cadre d'une sous-étude avec prélèvement de sang au cours de leurs bilans biologiques de suivi habituel. Leurs caractéristiques ont été décrites dans le tableau S1 de l'article 1.

### **Anticorps et cytométrie en flux**

La caractérisation phénotypique extra et intra-cellulaire a été réalisée par cytométrie de flux au moyen d'un BD Symphony A5 piloté par le logiciel FACSDiva (BD Biosciences). La reproductibilité de chaque expérience a été vérifiée par une procédure de contrôle qualité utilisant des billes CS&T et 8-pics rainbow. Par ailleurs, le cytomètre était standardisé pour assurer l'uniformité des résultats dans le temps en utilisant les réglages de BD Biosciences. Nous avons utilisé des contrôles par Fluorescence Minus One (FMO) pour améliorer les positions de gating. Les analyses ont été réalisées en utilisant les logiciels FlowJo (v10.10.0).

Les panels utilisés sont décrits en Annexes. Deux panels ont été utilisés pour les marquages extra-cellulaire dans le sang (Panel 1) et l'intestin (Panel 2) ; et pour les marquages intra-cellulaires avec mesure d'effecteurs cytotoxiques (Panel 3) et de cytokines (Panel 4). Le panel 3 a été réalisé sans stimulation préalable, tandis que le panel 4 a été réalisé après stimulation par PMA (100ng/mL) et Ionomycine (1000ng/mL). En cas de stimulation, de la monensine (GolgiStop) et de la brefeldine A (GolgiPlug, BD Biosciences) ont été ajoutées après la 1<sup>ère</sup> heure. Les marquages intra-cellulaires ont été faits après décongélation la veille et incubation overnight à 37°C 5% de CO<sub>2</sub>, et après une perméabilisation/fixation par Cytotfix/Cytoperm et Perm/Wash buffer (Fixation/Permeabilization kit, BD Biosciences). Les marquages ont été réalisés en présence de Brilliant Stain Buffer (BD Biosciences). Les marquages des récepteurs de chimiokines ont été réalisés par un protocole de marquage prolongé pendant 2h au lieu de 20 minutes permettant d'améliorer la détection de ces protéines membranaires recyclées en permanence avec des phases d'internalisation.

### **Mesure de la spécificité anti-VIH-1 et anti CMV**

Des cellules issues de PBMC cryopréservés ont été décongelées et incubées pendant une nuit à 37°C 5% de CO<sub>2</sub> avant d'être stimulés pendant 6h à la concentration de 1 million de cellules/ml par des peptides de 15 acides aminés couvrant les protéines Gag, Env et Nef du VIH-1 de sous-type B (NIH AIDS Reagent Program), en présence d'anticorps de co-stimulation anti-CD28/CD49d (BD FastImmune, 1 µg/ml). Les échantillons sélectionnés provenaient de PvVIH infectés par un virus de sous-type B. Des contrôles négatifs ont été réalisés en l'absence de stimulation peptidique avec du DMSO et des contrôles positifs ont été réalisés en utilisant une entérotoxine B de staphylocoque (Toxin technology). Après la première heure de stimulation, de la monensine (GolgiStop) et de la brefeldine A (GolgiPlug, BD Biosciences) ont été ajoutées. Le marquage par anticorps anti-CX3CR1 était débuté 2h avant la fin de la stimulation. Le reste du marquage extra-cellulaire était réalisé 20 minutes avant la fin de la stimulation, avant une étape de perméabilisation et de fixation par Cytotfix/Cytoperm et Perm/Wash buffer (Fixation/Permeabilization kit, BD Biosciences) pour la réalisation des marquages intra-cellulaires (Panel 5, Annexes). Les cellules spécifiques ont ensuite été mesurées par cytométrie de flux tel que décrit précédemment, en comptabilisant le pourcentage de cellules ayant dégranulé (CD107a<sup>+</sup>) ou ayant produit des cytokines pro-inflammatoires (IFN $\gamma$ <sup>+</sup>), après avoir soustrait la réaction non spécifique observée dans la condition non stimulée de chaque individu.

### **Dosages protéiques par électrochimiluminescence**

Les mesures des concentrations protéiques dans le milieu de digestion des biopsies intestinales ont été réalisées par électrochimiluminescence avec la technologie Meso Scale Discovery (MSD), au moyen des kits S-PLEX Human IFN $\gamma$  et U-PLEX Custom Immuno-Oncology Group 1 en suivant les instructions du fournisseur. Une incubation overnight a été réalisée comme recommandé par le fournisseur pour améliorer la sensibilité de la technique. La lecture des résultats a été réalisée sur un lecteur Quick Plex SQ120MM piloté par le logiciel Methodical Mind.

### **Dosages de la fractalkine soluble plasmatiques par ELISA**

La mesure de CX3CL1 dans le plasma des 84 sujets inclus dans EP61 a été réalisée au cours d'une même expérience à partir de plasmas congelés n'ayant jamais subis de cycle de congélation/décongélation antérieur, au moyen d'un kit ELISA (human CX3CL1/Fractalkine Quantikine, R&D) en suivant les instructions du fournisseur.

### **Quantification de l'ADN et de l'ARN VIH-1 dans les PBMC et la muqueuse intestinale**

*Les méthodes de quantification du matériel génétique viral ont été décrites dans la méthodologie de l'article 1.*

### **Analyses statistiques**

Les variables quantitatives ont été comparées en utilisant le t test de Welch pour des variances variables. Un t-test apparié a été utilisé pour comparer des données intra-individuelles. Les corrélations entre variables quantitatives ont été calculées en utilisant le coefficient de corrélation de Spearman. Tous les tests étaient bivariés, et les valeurs de  $P$  values  $<0.05$  ont été considérées comme statistiquement significatives. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Stata SE 16.1. Les graphiques ont été générés en utilisant GraphPad Prism 10.0. Les chord diagrams ont été générés en utilisant le package Circlize dans R.

Les **illustrations** ont été réalisées avec Biorender.

## B. RESULTATS

### **L'infection par le VIH-1 entraîne l'accumulation de LT CD8 effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> dans la muqueuse colique au détriment la population résidente mémoire**

Nous avons évalué l'effet de l'infection chronique par le VIH-1 sous ARV sur les différentes populations lymphocytaires de la muqueuse intestinale par cytométrie en flux. Au niveau des segments intestinaux disponibles, et notamment au niveau du colon pour lequel nous avons des prélèvements pour 35 PvVIH et 32 témoins, nous avons pu observer une augmentation de la fréquence des lymphocytes T CD8 par rapport à des sujets non infectés (médiane PvVIH 51% IQR 42-56 vs témoins 34%, IQR 28-45 ;  $P < 0.001$ ), comme cela peut être observé dans le sang (Figure 1A-B). En revanche, dans le colon, parmi les LT CD8 expandus, on observait une diminution de la fraction de T résidentes mémoires (CD69<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>) parmi les PvVIH (médiane 38%, IQR 27-49) par rapport aux témoins (51%, IQR 37-59) ( $P = 0.003$ ).

Les lymphocytes T CD8 expandus dans le colon présentaient une proportion plus importante d'expression de CX3CR1 (médiane 31% vs 26%,  $P = 0.01$ ) (Figure 1C). La fréquence de CX3CR1 était augmentée parmi les T<sub>RM</sub> (médiane 27% vs 23%,  $P = 0.01$ ) et les non T<sub>RM</sub> (médiane 35% vs 27%,  $P < 0.001$ ), mais l'enrichissement en cellules CX3CR1<sup>+</sup> était plus important dans les non-T<sub>RM</sub>. En comparant la fraction T<sub>RM</sub> par rapport aux non T<sub>RM</sub> (CD69<sup>-</sup>CD103<sup>-</sup>) parmi les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup>, il apparaissait au cours de l'infection par le VIH-1 un déséquilibre entre les T<sub>RM</sub> et les non T<sub>RM</sub> au profit des non T<sub>RM</sub>, lié soit à une diminution des T<sub>RM</sub> ou à une augmentation préférentielle des non T<sub>RM</sub> (médiane T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup>, PvVIH 33% [IQR25-43] vs témoins 46% [IQR 36-55] ;  $P < 0.001$ ).

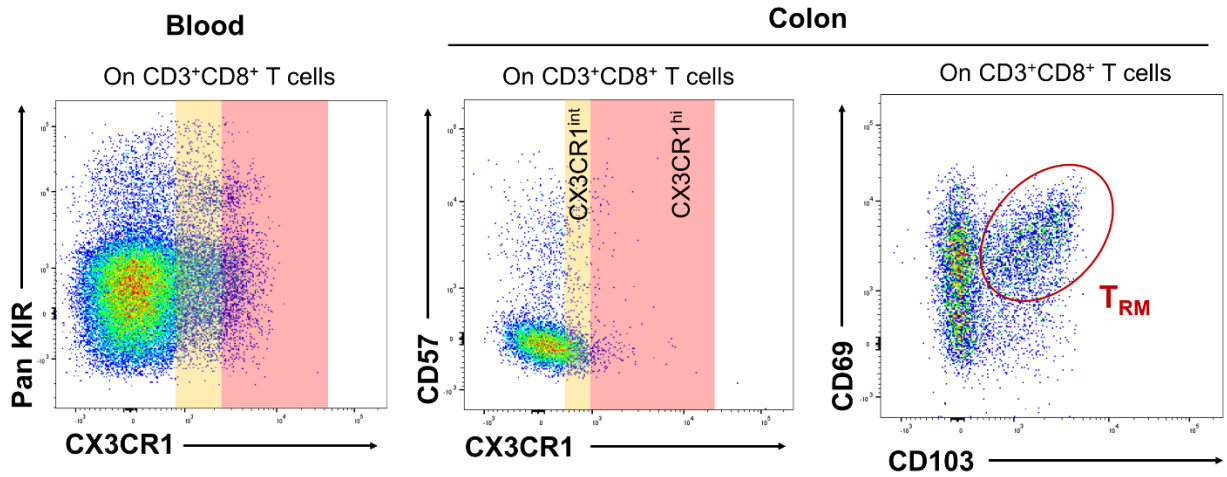
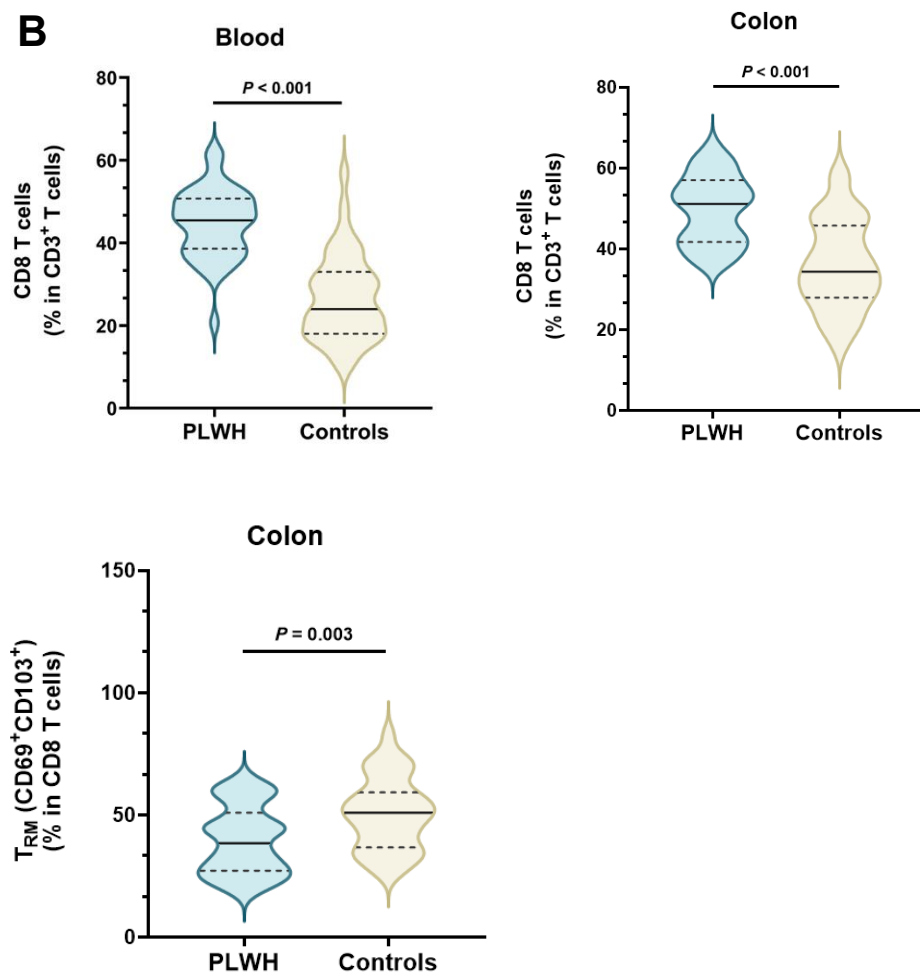
### **Les lymphocytes coliques CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> non-résidents mémoire sont moins fonctionnels et plus épuisés que la population résidente mémoire résiduelle**

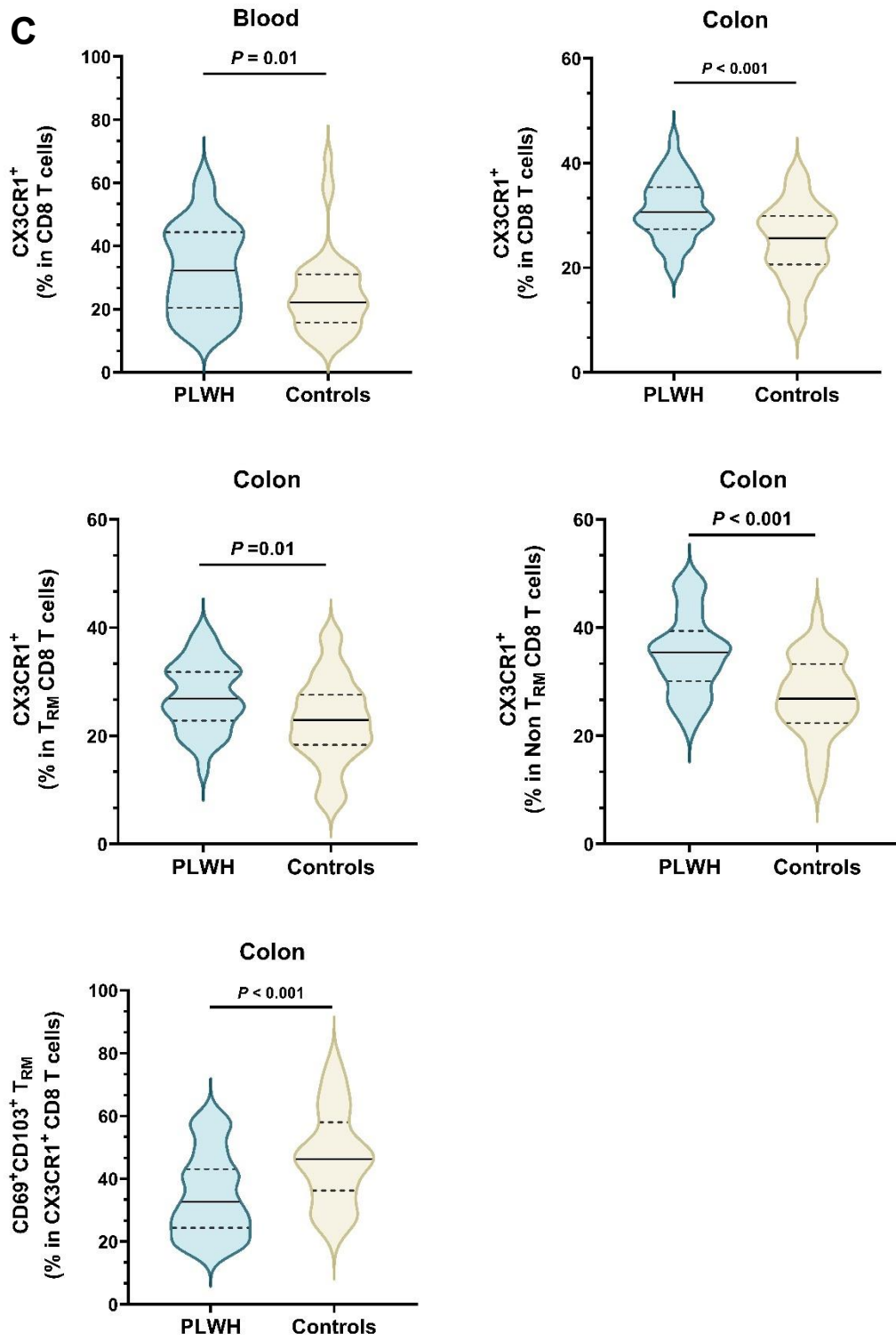
Nous avons caractérisé le phénotype d'activation/épuisement et différenciation des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> dans le sang et dans le colon (Figure 1D). Cette population exprimait davantage les marqueurs d'activation/épuisement TIM-3 et LAG-3, associés à un épuisement terminal, dans le colon par rapport au sang. CD101, marqueur de T<sub>RM</sub>, était fortement exprimé dans le colon (médiane 55%), ainsi que CD39, exprimé quasi exclusivement dans le colon (médiane 24% vs 0.5% dans le sang). Les marqueurs d'activation/épuisement TIGIT et PD-1 étaient eux davantage exprimés dans le sang. Des marqueurs d'immuno-sénescence étaient fortement exprimés par les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> circulants, notamment CD57 (41%) et KLRG1 (74%), mais l'étaient plus faiblement dans le colon. Enfin les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> circulants avaient un

phénotype de différenciation terminal (TEMRA) plus marqué (médiane 47% dans le sang, vs 11% dans le colon). La majorité des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> du colon étaient des effecteurs mémoires CD27<sup>-</sup> (74%).

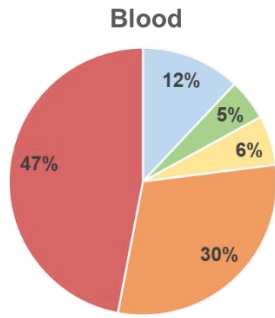
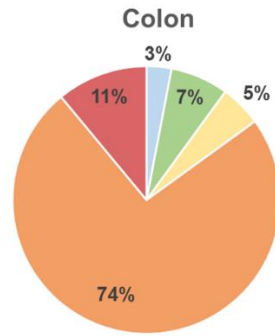
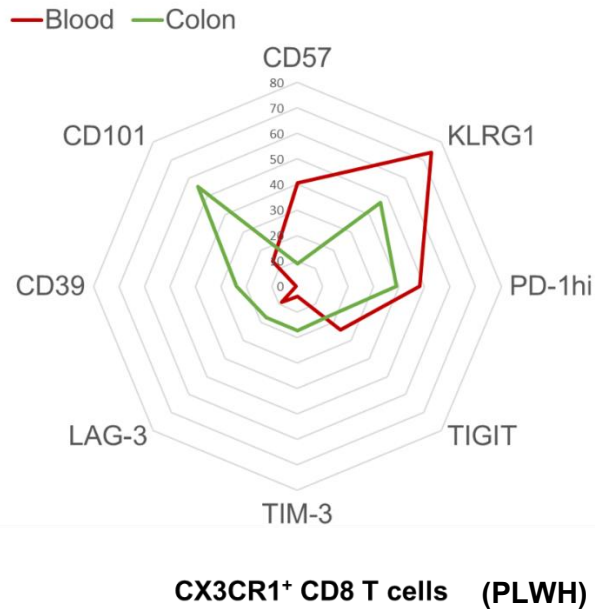
Nous avons également étudié le profil fonctionnel de ces cellules en analysant par cytométrie en flux la production d'effecteurs cytotoxiques GzmB et Perforine, ainsi que de cytokines pro-inflammatoires IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$  chez 5 PvVIH et 5 témoins dans le colon et 15 PvVIH et 15 témoins dans le sang (Figure 1E-F). Comme cela avait été décrit dans le sang (Zwijnenburg *et al.* 2023), le niveau d'expression de CX3CR1 était associé au profil fonctionnel des LT CD8 circulants, les cellules CX3CR1<sup>hi</sup> produisant davantage d'effecteurs cytotoxiques et les cellules CX3CR1<sup>int</sup> davantage de cytokines pro-inflammatoires. Dans le colon, si les LT CD8 CX3CR1<sup>neg</sup> possédaient un plus haut niveau de production de cytokines pro-inflammatoires, les CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> produisaient bien davantage d'effecteurs cytotoxiques que les populations CX3CR1<sup>int/neg</sup>. La population CX3CR1<sup>int</sup> semble montrer une tendance à une production de cytokines plus élevée que les CX3CR1<sup>hi</sup>, mais non significative. Parmi les T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup>, on observait également un potentiel effecteur plus important que les non T<sub>RM</sub>, avec une production de perforine et d'IFN $\gamma$  plus importante chez les T<sub>RM</sub> quel que soit le statut sérologique pour le VIH-1 (médiane perforine, T<sub>RM</sub> 32% vs 12% pour les non T<sub>RM</sub> ; médiane IFN $\gamma$ , 8% vs 2%). Ces niveaux restaient globalement inférieurs à ceux observés dans le sang, y compris dans d'autres segments intestinaux (Figure S1).

Dans le colon, les T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> présentaient un phénotype distinct des non T<sub>RM</sub>. Celui-ci se caractérisait par une expression plus importante de CD101, CD39, légèrement plus importante de CD127, tandis que les non T<sub>RM</sub> exprimaient davantage CD57, KLRG1, PD-1, TIGIT, TIM-3, LAG-3, faisant évoquer un profil d'épuisement terminal, immunosénescent, qui s'associe à un profil fonctionnel diminué comparativement aux T<sub>RM</sub>. La fréquence des T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> dans le colon était par ailleurs associé à un ratio CD4/CD8 dans le sang plus important, qui est un marqueur généralement associé à une moindre inflammation systémique. La fréquence des lymphocytes CX3CR1<sup>hi</sup> du sang était associée au nadir des LT CD4, signant probablement qu'une évolution plus avancée de l'infection par le VIH-1 pourrait être associée à la perte de la fraction CX3CR1<sup>hi</sup>, population la plus fonctionnelle sur le plan cytotoxique.

**A****B**

**C**

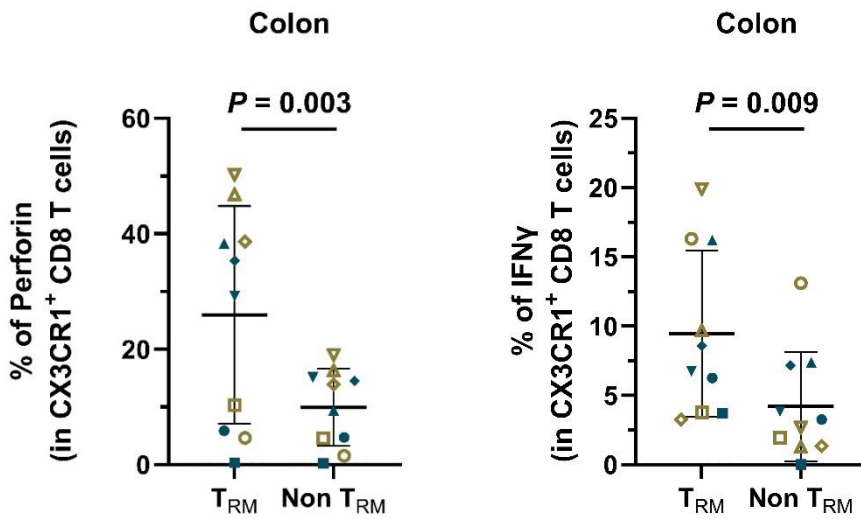
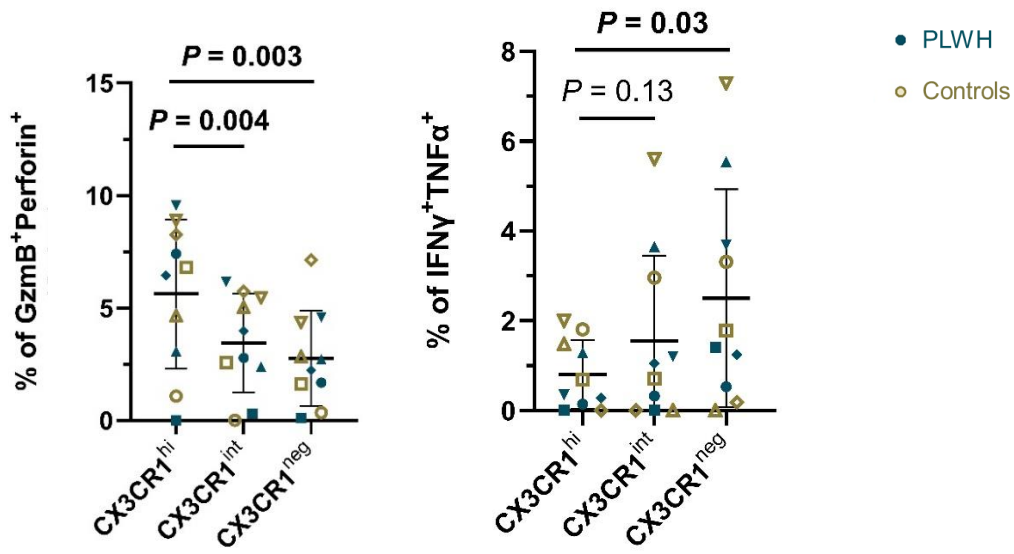
**D**



- Naive
- TM/CM
- EM CD27+
- EM CD27-
- TEMRA

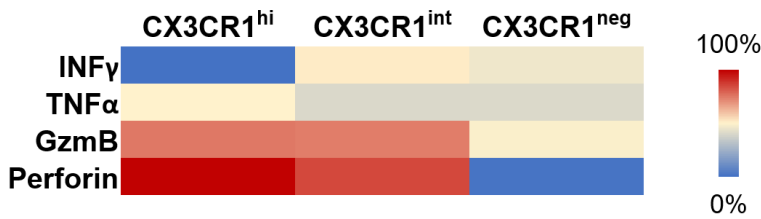
**E**

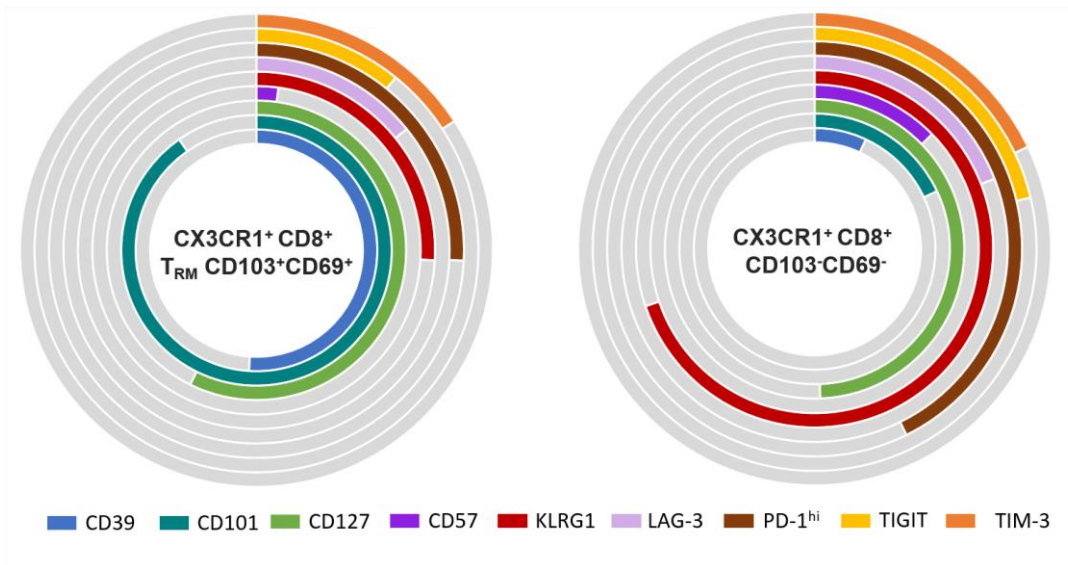
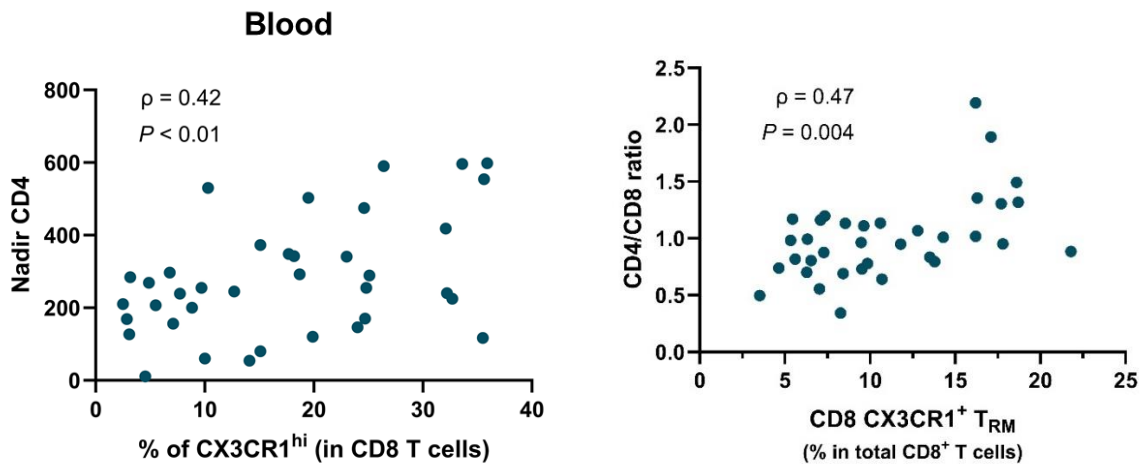
**In colon CD8 T cells**



**F**

**Blood – CD8 T cells**



**G****H**

**Figure 1. La fréquence des lymphocytes T CD8 effecteurs CX3CR1<sup>+</sup> est augmentée dans le sang et dans le colon au cours de l'infection chronique par le VIH-1 sous ARV, mais s'accompagne d'une déplétion de la population des lymphocytes T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> dans le colon.** Toutes les comparaisons ont été réalisées en utilisant le test de Welch. (A) Stratégie de gating en cytométrie en flux pour la sélection des populations de LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> (divisés en CX3CR1<sup>neg</sup>, CX3CR1<sup>int</sup> et CX3CR1<sup>hi</sup>) dans le sang et dans le colon ainsi que de CD8 T<sub>RM</sub> (CD69<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>) dans colon chez un même PvVIH. (B) Violin plots de la fréquence des LT CD8 parmi les LT CD3<sup>+</sup> du sang et du colon, et des T<sub>RM</sub> (CD69<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>) parmi les LT CD8 du colon (n = 42 PvVIH et 42 témoins pour le sang, et 35 PvVIH et 32 témoins pour le colon). Les traits pleins représentent la médiane et les traits en pointillés les 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles. (C) Violin plots de la fréquence des cellules CX3CR1<sup>+</sup> parmi les LT CD8<sup>+</sup> du sang et du colon, parmi les CD8 T<sub>RM</sub> et les non T<sub>RM</sub> (CD69<sup>-</sup>CD103<sup>-</sup>) du colon, et fréquence des T<sub>RM</sub> parmi les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> du colon (n = 42 PvVIH et 42 témoins pour le sang, et 35 PvVIH et 32 témoins pour le colon). (D) Radar plot de marqueurs phénotypiques d'activation/épuiement et sénescence distinctifs des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> du sang et du colon, les valeurs représentées correspondant à la médiane du pourcentage d'expression de chaque marqueur au sein de la population CD8<sup>+</sup>CX3CR1<sup>+</sup>; et proportion des lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> naïves (CD27<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>), centrales mémoires/mémoires transitoires (CM/TM; CD27<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>), effectrices mémoires CD27<sup>+</sup> (EM CD27<sup>+</sup>; CD27<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>), effectrices mémoires CD27<sup>-</sup> (EM CD27<sup>-</sup>; CD27<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>), et effectrices mémoires terminales (TEMRA; CD27<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>) dans le sang et dans le colon de PvVIH. (E) Fréquence des cellules productrices des effecteurs cytotoxiques Granzyme B (GzmB) et Perforine et de cytokines pro-inflammatoires IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$  parmi les LT CD8 du colon en fonction de leur niveau d'expression de CX3CR1 (négatif/intermédiaire/high) ainsi que la fréquence de cellules productrices de Perforine ou d'IFN $\gamma$  parmi les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> du colon selon leur phénotype T<sub>RM</sub>, mesurée par cytométrie en flux (n = 5 PvVIH et 5 témoins). Les barres représentent la moyenne et la déviation standard. (F) Heatmap du pourcentage médian d'expression d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GzmB, et Perforine parmi les LT CD8 du sang selon leur niveau d'expression de CX3CR1. Les résultats proviennent de 2 panels distincts de cytométrie en flux (réalisés sur n = 15 PvVIH et 15 témoins). (G) Chaque portion de cercle colorée représente la proportion du marqueur correspondant parmi la population de LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> T<sub>RM</sub> ou non T<sub>RM</sub> dans le colon (valeur médiane mesurée par cytométrie en flux, n = 35 PvVIH et 32 témoins). Un cercle entier représente 100% d'expression du marqueur. La superposition de chaque cercle est indépendante d'une éventuelle co-expression entre les marqueurs. (H) Corrélations positives entre le nadir CD4 dans le sang et le pourcentage de cellules CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans le sang, ainsi qu'entre le ratio CD4/CD8 dans le sang et la fréquence des T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> dans le colon (n = 42 PvVIH). Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la P-value sont indiqués.

## **Les populations T CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> et T<sub>RM</sub> CX3CR1<sup>+</sup> sont enrichies en cellules spécifiques du VIH-1 et du CMV**

Afin de déterminer le rôle des cellules CD8 CX3CR1<sup>+</sup> au cours de l'infection par le VIH-1, nous avons mesuré le niveau de spécificité de ces cellules envers des peptides viraux du VIH-1. Au moyen des peptides Env, Nef et Gag, nous avons stimulé des lymphocytes circulants et mesuré le pourcentage de cellules spécifiques par évaluation de leur dégranulation ou de la production d'IFN $\gamma$  pour 7 PvVIH (Figure 2A). Nous avons pu observer que les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> étaient enrichis en cellules spécifiques du VIH-1 (CD107a<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>), comparativement aux cellules CX3CR1<sup>int</sup> ou CX3CR1<sup>neg</sup>. L'effet de la stimulation par peptides viraux sur la mono-expression de CD107a et de l'IFN $\gamma$  est présentée en Annexes (Figure S1). Les CD8 CX3CR1<sup>+</sup> circulants « gut-tropic », exprimant des marqueurs associés avec la résidence tissulaire intestinale ( $\beta$ 7<sup>hi</sup> CD103<sup>+</sup>), et pouvant signer une origine ou une destination intestinale, étaient également particulièrement enrichies cellules spécifiques du peptide Env du VIH-1 (moyenne 17%). CX3CR1 est donc un marqueur de la réponse antivirale au cours de l'infection par le VIH-1.

## **Les lymphocytes T<sub>RM</sub> CX3CR1<sup>+</sup> sont associés à un moindre réservoir viral total du VIH-1, en particulier par leur fraction CD39<sup>+</sup>**

Pour comprendre l'effet de ces lymphocytes spécifiques du VIH-1 sur l'évolution de l'infection, nous avons mis en relation la fréquence de la population de T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> avec le réservoir viral préalablement caractérisé dans le même compartiment. Nous avons pu mettre en évidence que cette population était négativement corrélée à l'ADN VIH-1 total dans le colon ( $\rho = -0.41$  ;  $P = 0.032$ ) (Figure 2B). La fréquence d'expression de CD39, augmentée parmi les LT CX3CR1 coliques au cours de l'infection par le VIH-1 (médiane 51% [IQR 37-68] contre 41% chez les témoins [IQR 23-56] ;  $P = 0.04$ ) était particulièrement associée à cette corrélation négative. La population de T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> exprimant CD101, ou CD127, étaient également corrélées négativement avec le réservoir ADN VIH-1 colique (Figure S1).

## **La réplication résiduelle du CMV au cours de l'infection par le VIH-1 semble associée à l'expansion des lymphocytes T CX3CR1<sup>+</sup> dans la circulation**

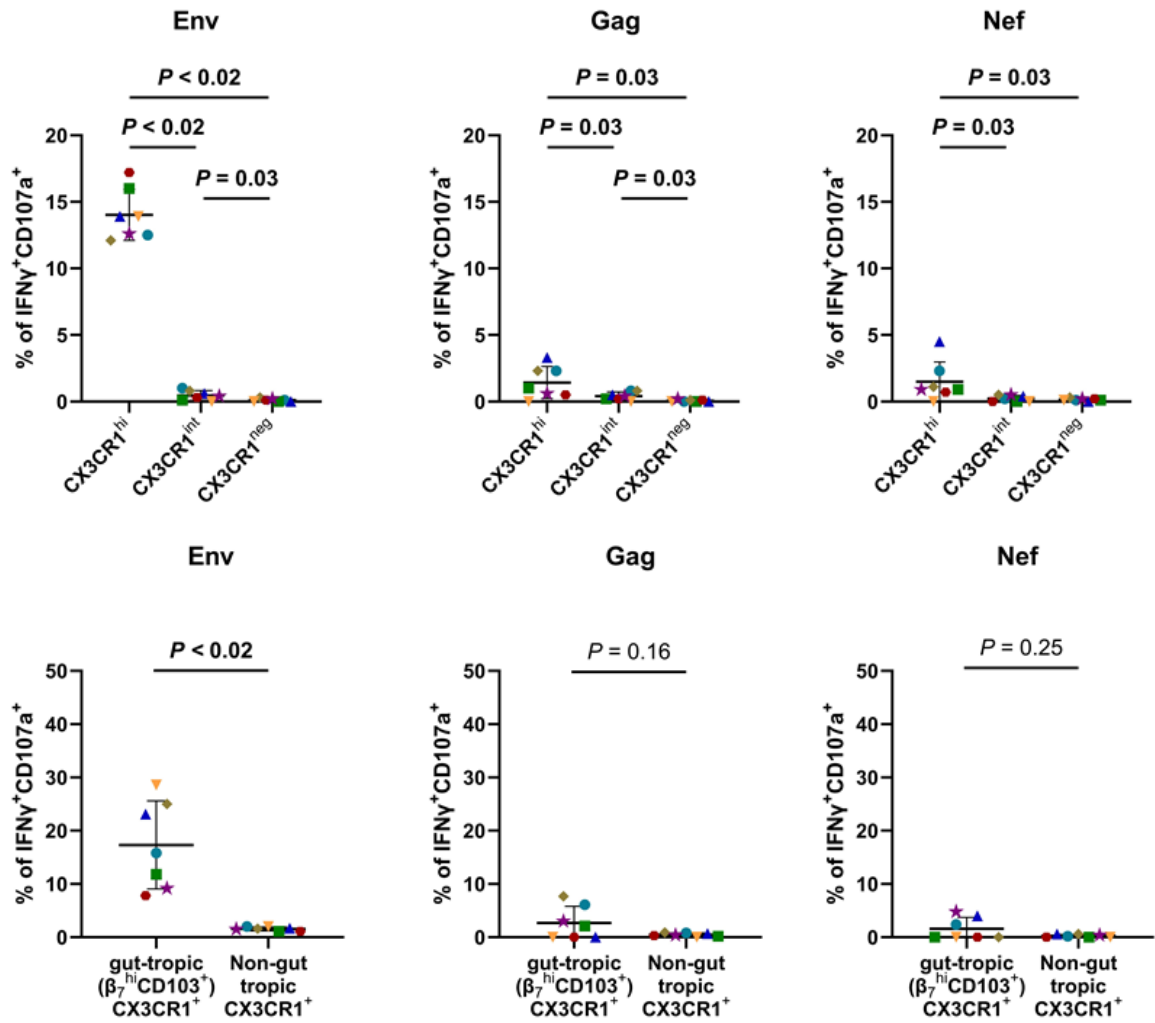
Nous avons utilisé l'index IgG CMV chez les PvVIH et témoins séropositifs pour le CMV comme substitut pour approximer la réplication résiduelle du CMV (Figure 2C). Le niveau d'IgG était significativement plus important chez les PvVIH (médiane 554 UA) par rapport aux témoins (médiane 164 UA). Par ailleurs les LT CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> circulantes étaient également

enrichis en cellules spécifiques anti-CMV, après stimulation par le peptide viral pp65 (Figure 2D). L'index IgG CMV, sous réserve d'une faible puissance, semblait évoluer dans le même sens que la réponse spécifique (IFN $\gamma$ <sup>+</sup>) anti-CMV chez les LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> « gut-tropic » ( $\rho = 0.72$  ;  $P = 0.077$ ), et qu'avec le niveau de CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans le sang (Figure 2E). L'index IgG CMV corrélait significativement avec la fréquence des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> et TEMRA dans le sang, et corrélait négativement avec la durée de prise d'ARV et la durée de contrôle virologique sous traitement (Figure 2F). La stimulation immunitaire liée au CMV diminue donc logiquement en parallèle de la reconstitution immunitaire des LT CD4 sous ARV, mais sans disparaître totalement néanmoins, suggérant une réplication occulte persistante du CMV.

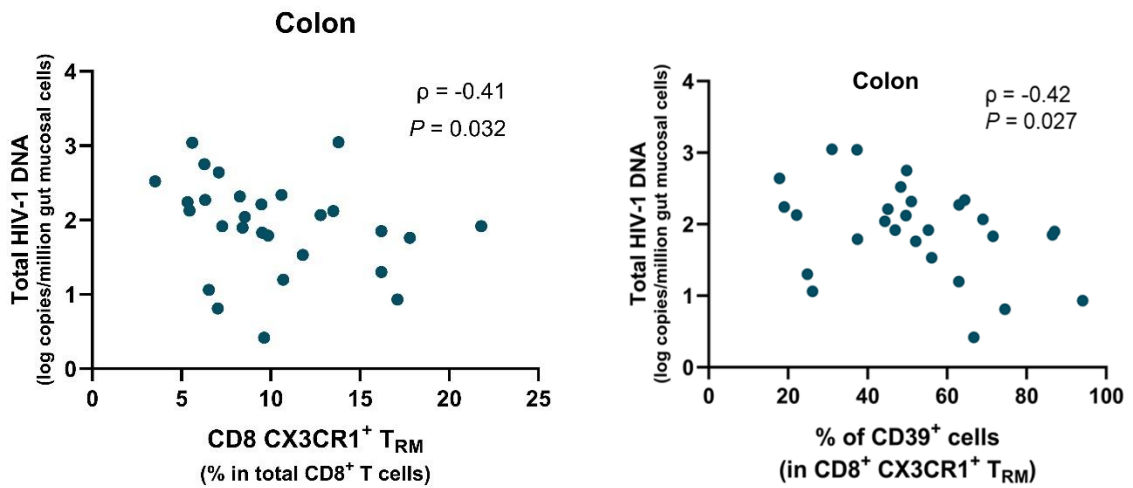
Nous avons cherché à confirmer l'effet induit par le CMV en étudiant la fréquence de cellules CX3CR1<sup>+</sup> parmi des sujets non infectés par le CMV (Figure S2). L'étude de 12 PvVIH séronégatifs pour le CMV a permis de mettre en évidence une augmentation des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>  $\alpha\beta$  CX3CR1<sup>+</sup> principalement chez les personnes doublement séropositives pour le VIH-1 et le CMV, et dans une moindre mesure chez les personnes séropositives pour le CMV mais séronégatives pour le VIH, comme nous avons pu le montrer avec les lymphocytes  $\gamma\delta$ . L'expansion de la population CX3CR1<sup>+</sup> serait donc principalement dépendante de la réplication résiduelle du CMV, en particulier au cours de l'infection par le VIH-1, suggérant une réplication plus importante du CMV dans le contexte de l'infection par le VIH. Le statut CMV est par ailleurs associé au ratio CD4/CD8, celui-ci étant plus bas en cas de co-infection VIH/CMV. L'infection par le CMV participerait donc à l'expansion de LT CD8, en particulier CX3CR1<sup>hi</sup> au cours de l'infection par le VIH-1, y compris sous ARV.

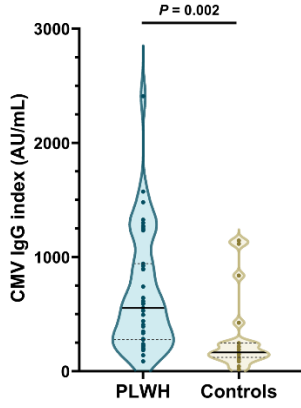
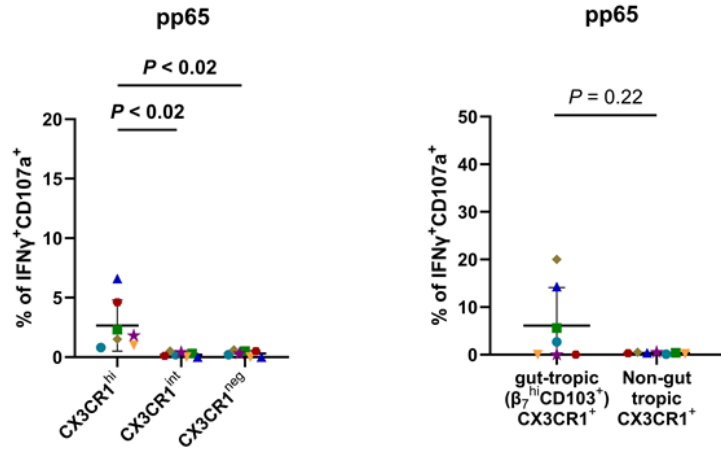
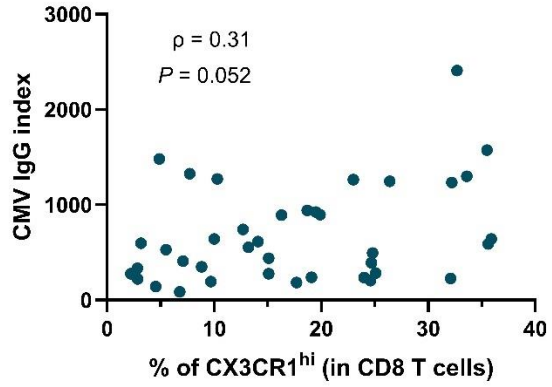
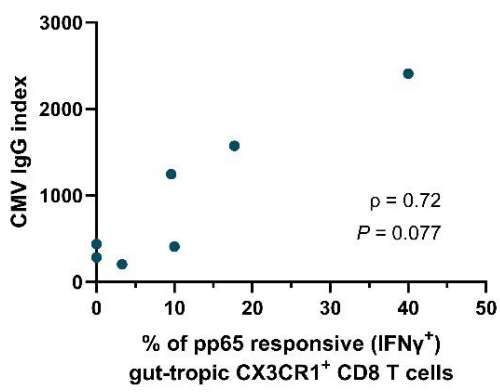
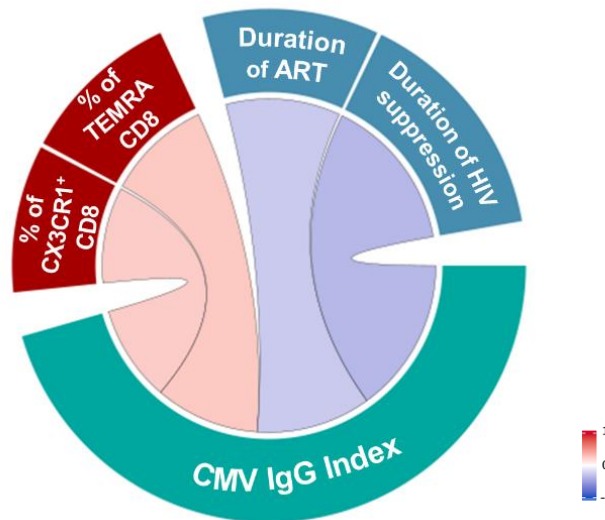
# A

On CD8 T cells :



# B

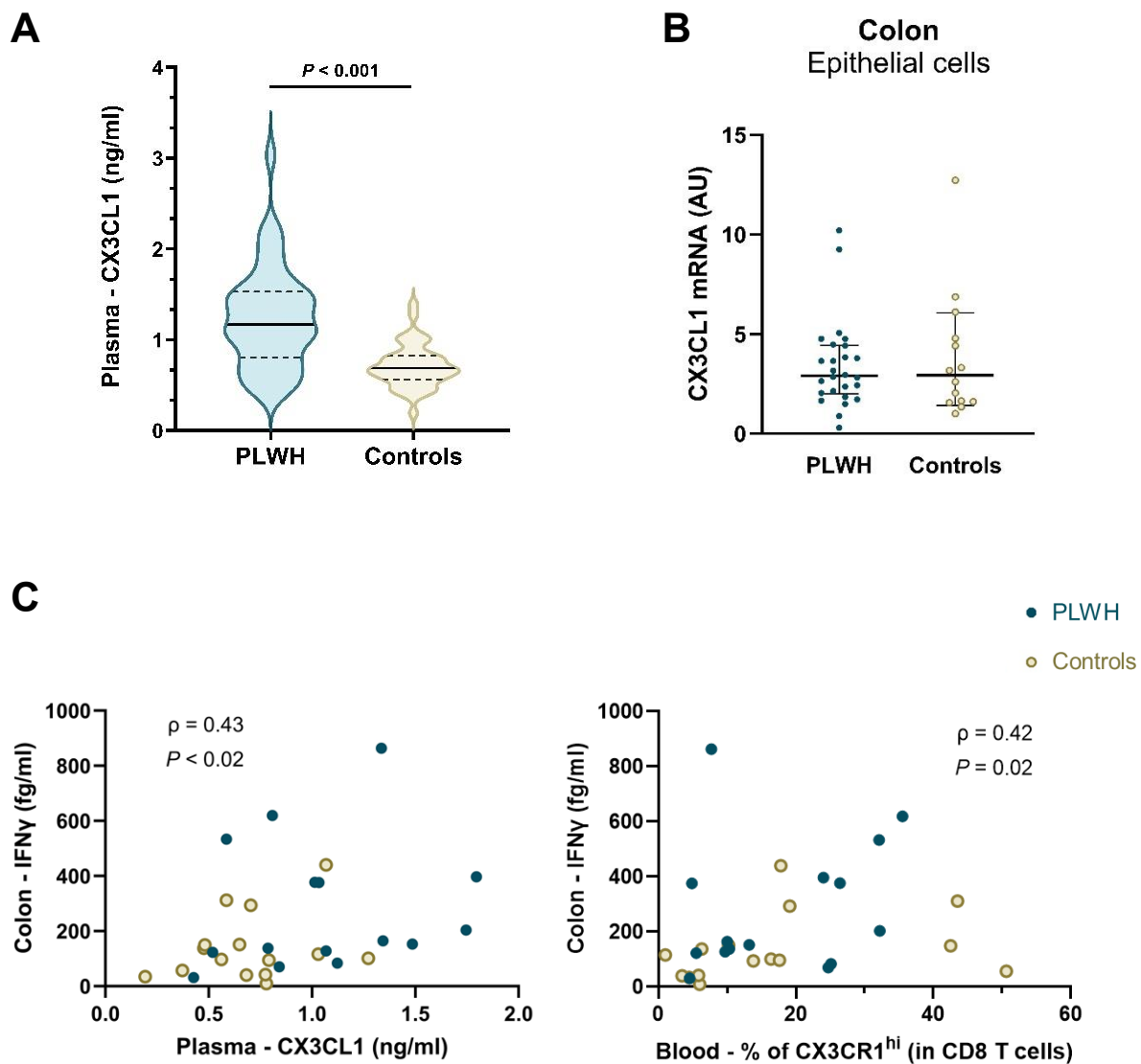


**C****D****E****F**

**Figure 2. Les lymphocytes T CD8 CX3CR1+, notamment leur population à tropisme digestif, sont enrichis en cellules spécifiques anti-VIH-1 et anti-CMV, et sont associés à la diminution du réservoir viral VIH-1 dans le colon.** (A) Fréquence des cellules CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> circulantes spécifiques anti- VIH-1, identifiées après 6h de stimulation par des peptides des protéines virales Env, Gag, et Nef, puis analyse par cytométrie en flux des cellules productrices d'IFN $\gamma$  et de CD107a (marqueur de dégranulation), après soustraction de la production d'IFN $\gamma$  et de CD107a observée en l'absence de stimulation chez le même individu. N = 7 PvVIH. Chaque individu est représenté par le même symbole. Les barres représentent la moyenne et la déviation standard (B) Corrélations négatives entre la fréquence de T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> ou la fréquence d'expression de CD39 dans cette population et le réservoir viral du VIH-1 dans le colon mesuré par l'ADN VIH-1 total (n = 28 PvVIH). Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la P-value sont indiqués. (C) Violin plot de l'index IgG CMV parmi les sujets VIH<sup>+</sup>CMV<sup>+</sup> (n = 39) et VIH<sup>+</sup>CMV<sup>-</sup> (n = 19). (D) Fréquence des cellules CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> circulantes spécifiques anti-CMV (peptides de la protéine pp65). N = 7 PvVIH. (E) Corrélations entre l'index IgG CMV des PvVIH séropositifs pour le CMV et la réponse antivirale T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> $\beta$ 7<sup>hi</sup>CD103<sup>+</sup> mesurée par la fréquence de cellules productrices d'IFN $\gamma$  après stimulation par des peptides de la protéine pp65, ainsi qu'avec la fréquence des cellules T CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans le sang. Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la P-value sont indiqués. (F) Chord diagram des associations parmi les PvVIH séropositifs pour le CMV, entre l'index IgG CMV, la durée de traitement ARV, la durée de traitement efficace avec charge virale VIH-1 indétectable en continu, et la fréquence de LT CD8 TEMRA ou CX3CR1<sup>+</sup> dans le sang (n = 39).

### **La fractalkine soluble est augmentée dans le plasma au cours de l'infection chronique par le VIH-1, et est associée aux cytokines pro-inflammatoires intestinales**

Pour comprendre l'expansion de la population de lymphocytes T CD8 exprimant le récepteur de chimiokine CX3CR1, nous avons mesuré le ligand de CX3CR1, la chimiokine soluble CX3CL1, dans le plasma des 42 PvVIH et 42 témoins (Figure 3A). Le niveau de fractalkine soluble était augmenté dans le plasma des PvVIH (médiane 1.17 ng/mL [IQR 0.81-1.51]) par rapport aux témoins (0.68ng/mL [IQR 0.56-0.82] ;  $P < 0.001$ ). Ceci pourrait participer à un gradient de chimiotactisme impliquant les cellules CX3CR1<sup>+</sup>, mais provient également vraisemblablement d'un clivage augmenté de la forme membranaire de CX3CL1. Nous avons mesuré l'activité de transcription de la fractalkine des cellules épithéliales intestinales coliques parmi des PvVIH et des témoins non infectés *in vivo* par RT-qPCR de cellules épithéliales EpCAM<sup>+</sup> préalablement triées et cryopréservées (Figure 3B). Il n'y avait pas de différence d'induction de la transcription de CX3CL1 chez les PvVIH par rapport aux témoins, allant donc également dans le sens d'une augmentation du clivage post-transcriptionnel pour expliquer l'augmentation de la forme soluble dans le plasma. Le niveau d'IFN $\gamma$  mesuré dans le milieu de digestion des biopsies coliques chez 15 PvVIH et 15 témoins corrélait avec la concentration plasmatique de CX3CL1 ainsi qu'avec la fréquence des LT CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> circulants, suggérant un rôle potentiel du compartiment intestinal dans l'augmentation du niveau plasmatique de la fractalkine (Figure 3C).



**Figure 3. Modulation de l'axe CX3CL1 soluble/CX3CR1 par le microenvironnement intestinal.** (A) Violin plots de la mesure de la concentration de CX3CL1 soluble plasmatique (ng/ml) ( $n = 42$  PvVIH et 42 témoins). Les violin plots présentent la médiane (trait continu) et le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> quartile (traits en pointillés). Les comparaisons ont été réalisées en utilisant le test de Welch. (B) Expression de l'ARNm de CX3CL1 dans les cellules épithéliales coliques en unité arbitraire (calculé à partir de la différence de Ct par rapport au gène de ménage GAPDH rapporté à la différence de Ct avec le témoin ayant le  $\Delta$ Ct le plus élevé) ( $n = 30$  PvVIH et 14 témoins). Les barres sont la médiane et l'écart interquartile. (C) Corrélations entre la concentration d'IFN $\gamma$  mesurée dans les milieux de digestion des biopsies coliques et la concentration plasmatique de CX3CL1 ainsi que des LT CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans le sang. Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la P-value sont indiqués.

## C. PERSPECTIVES – RESULTATS PRELIMINAIRES

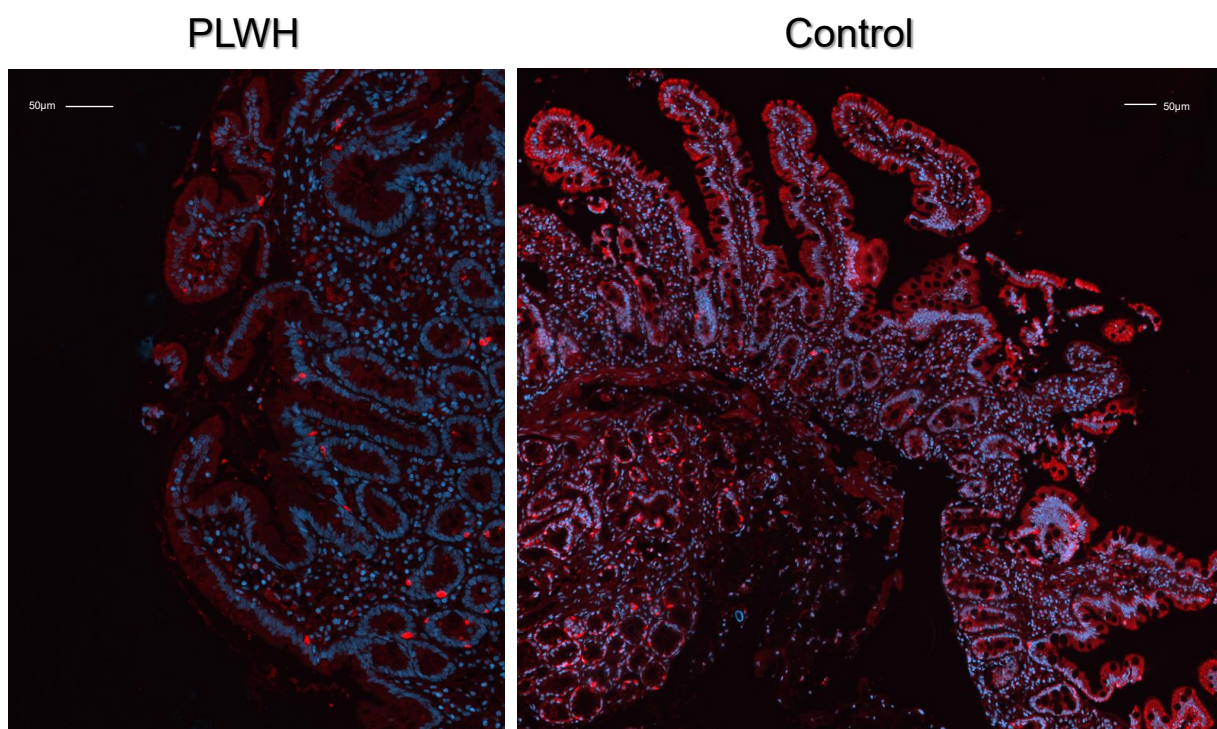
Plusieurs expérimentations sont actuellement en cours dans le but de compléter les résultats obtenus et mieux appréhender la régulation de l'axe CX3CR1/CX3CL1 au niveau intestinal.

### Single-cell RNA sequencing (Cyte-seq)

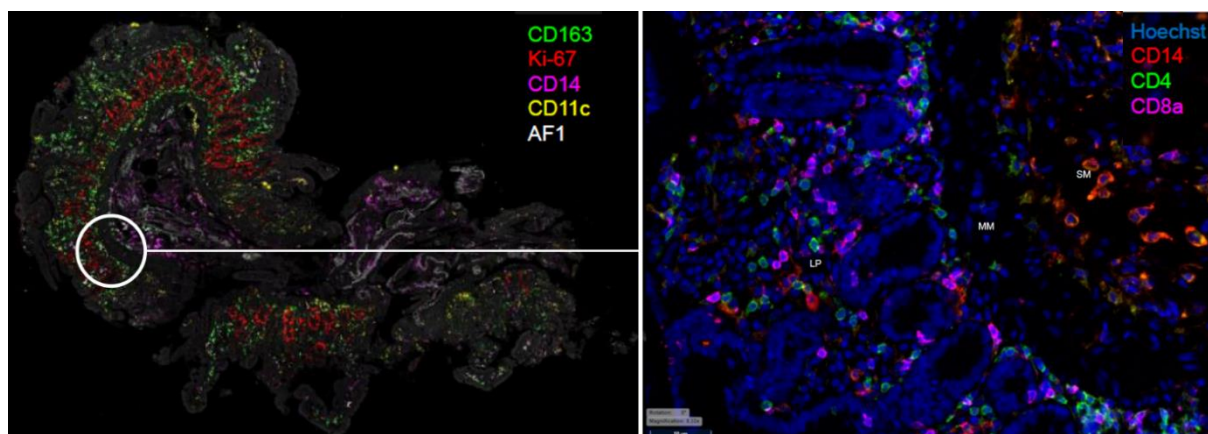
Nous avons réalisé et séquencé des bibliothèques d'ADN à partir du transcriptome de cellules uniques triées ( $CD3^+$   $TCR\gamma\delta^-$   $CD56^-$  Viabilité $^+$ ) issues de PBMC, de cellules de la *lamina propria* du duodénum de l'iléum et du colon (n = 8 PLWH, donneurs identiques pour chaque compartiment et 8 témoins par compartiment, donneurs pouvant différer selon le segment intestinal), marquées par des séquences de barcoding extra-cellulaires permettant d'identifier le donneur, l'expression de la protéine CX3CR1, la protéine CD103, ainsi que les protéines  $\beta_7$  (pour les cellules sanguines) ou CD69 (pour les cellules intestinales), et permettant d'établir le répertoire TCR des cellules séquencées (kit Chromium GEM-X Single Cell 5' v3 with Feature Barcode technology for Cell Surface Protein, référence CG000734, 10X Genomics / séquençage réalisé sur 2 lignes de flowcell S4 200 cycle Illumina NovaSeq6000, Illumina au Genome and Transcriptome Core Facility, GeT Genotoul, Toulouse, France). L'analyse de ces données est actuellement en cours. Nous pourrions ainsi décrire le transcriptome des cellules CX3CR1 $^+$  et TRM CX3CR1 $^+$  comparativement aux cellules CX3CR1 $^-$  et non TRM CX3CR1 $^+$ , entre les segments intestinaux, et entre le sang et l'intestin.

### Immunohistochimie

Nous avons réalisé un marquage duodéal de PvVIH et de témoins non infectés sur des sections de biopsie par des techniques d'immunohistochimie au moyen d'un anticorps anti-CX3CL1 (8 $\mu$ g/ml, polyclonal/Abcam) (dilution 1/1000, Ac de chèvre anti-lapin AF7555, Invitrogen) (Figure 4). L'intensité du marquage épithélial de CX3CL1 semblait moins importante chez les PvVIH par rapport aux témoins, suggérant une moindre expression de cette protéine à la surface de l'épithélium, ou un clivage augmenté. Des cellules émettant un signal très intense correspondent probablement à des cellules caliciformes. Nous confirmerons ces résultats par immunohistochimie multiplexée au moyen du microscope Orion (Rarecyte) en collaboration avec l'institut Curie (Paris) (Figure 5). Cette technologie nous permettra d'associer l'études de multiples caractéristiques cellulaires à l'expression épithéliale de CX3CL1 et d'éventuellement la protéine p24 virale du VIH-1 (n prévisionnel = 15 PvVIH et 15 témoins, sur des coupes coliques et duodénales).



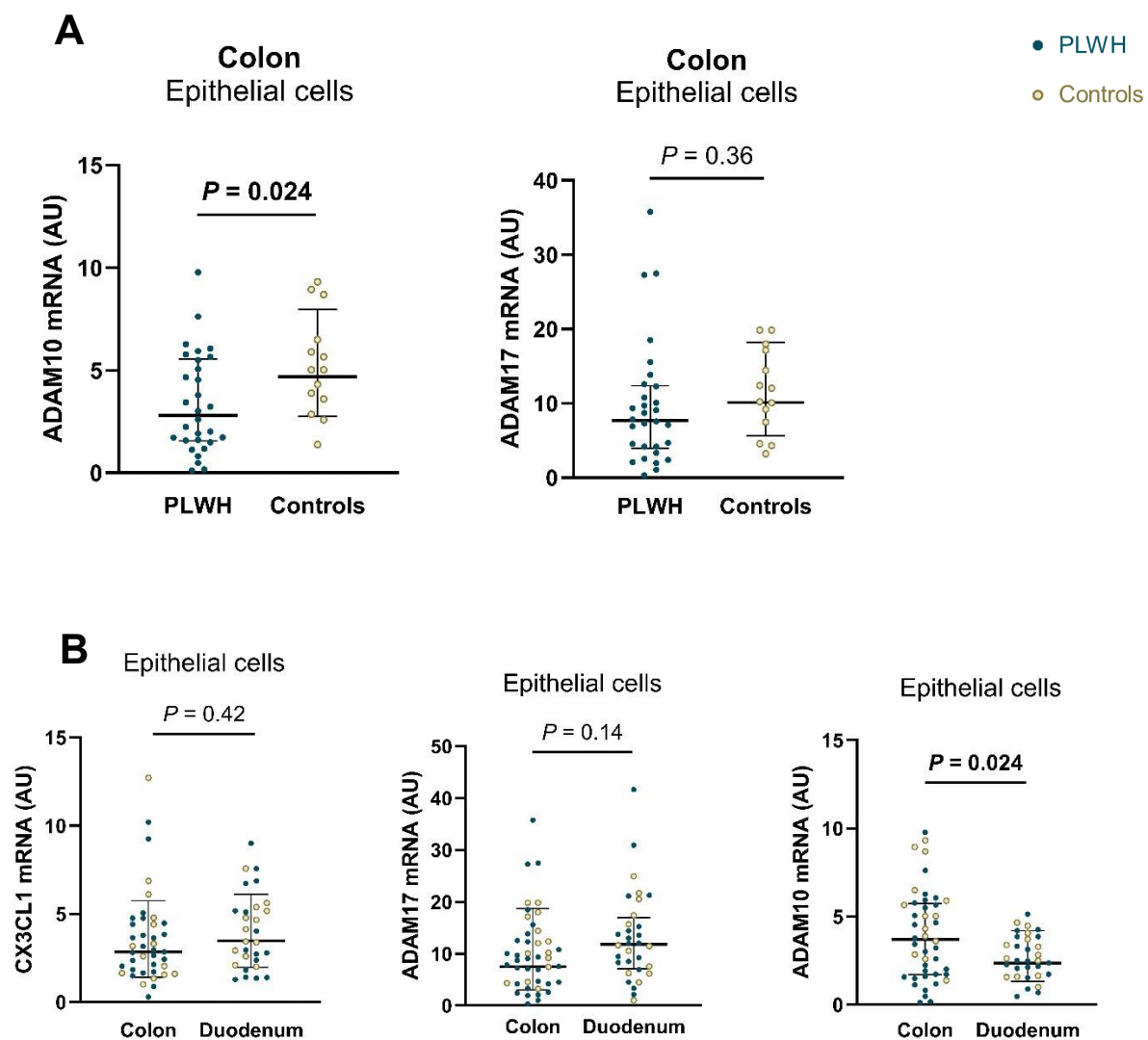
**Figure 4. Coupes immunohistochimiques de biopsies duodénales.** Marquage par anticorps anti-CX3CL1 et anticorps secondaire couplé à l'AF7555 chez un PvVIH et un témoin non infecté (rouge) et marquage nucléaire au DAPI (bleu), réalisé en microscopie à champ large (Apotome, Zeiss Axio-observer).



**Figure 5. Exemple d'image réalisée avec la technologie d'imagerie multiplexée.** Coupe duodénale d'un PvVIH, avec un marquage préliminaire par anticorps anti CD163, Ki-67, CD14, CD11c, CD4, CD8a pour identifier les populations de lymphocytes T et cellules myéloïdes associé à un marquage nucléaire (Hoechst) (Orion, Rarecyte).

### **Transcription des protéases associées à son clivage parmi les cellules épithéliales *in vivo***

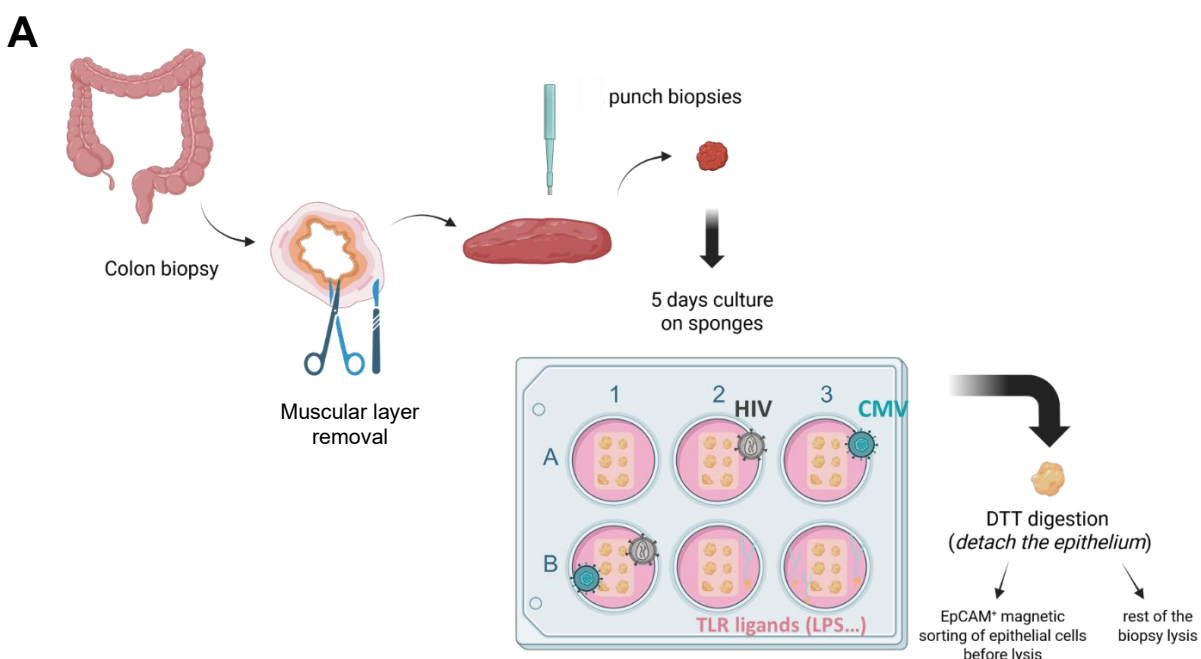
Devant l'absence de modification évidente de la transcription de CX3CL1 au niveau des cellules épithéliales coliques, et dans l'hypothèse d'une augmentation de son clivage, nous avons également mesuré l'activité transcriptomique des cellules épithéliales intestinales coliques concernant les métalloprotéases associées au clivage de la fractalkine, parmi les cellules épithéliales (Figure 6A). Nous observons une diminution paradoxale de la transcription d'ADAM10, et une absence de modification significative de celle d'ADAM17, en défaveur d'une implication de ces métalloprotéases dans le clivage de CX3CL1 pouvant expliquer la hausse de CX3CL1 soluble. Par ailleurs, nous avons cherché à vérifier l'absence d'augmentation de transcription des protéines de clivage dans un autre segment intestinal, le duodénum, mais ne trouvons pas des niveaux supérieurs de transcription ni de CX3CL1 ni des métalloprotéases ADAM17 ou ADAM10 (Figure 6B). En outre le niveau plasmatique de CX3CL1 corrélait négativement avec les résultats des RT-qPCR d'ADAM10 et ADAM17 sur les cellules épithéliales coliques, en défaveur de l'hypothèse d'un rôle de ces métalloprotéases dans le clivage de la forme membranaire épithéliale intestinale de CX3CL1 pour augmenter la forme soluble dans le sang (Figure S3). Nous compléterons ces résultats par des RT-qPCR d'autres protéases : MMP2, MMP9, et la Cathepsine S.



**Figure 6. Transcription de CX3CL1, ADAM10 et ADAM17 au cours de l'infection chronique par le VIH-1 sous ARV, au sein de l'épithélium intestinal.** (A) Expression des ARNm d'ADAM17 et d'ADAM10 dans les cellules épithéliales coliques et (B) comparaison des expressions d'ARNm de CX3CL1, ADAM10 et ADAM17 entre les segments intestinaux duodénaux et coliques, en unités arbitraires (calculé à partir de la différence de Ct par rapport au gène de ménage GAPDH rapporté à la différence de Ct avec le témoin ayant le  $\Delta Ct$  le plus élevé) (n = 30 PvVIH et 14 témoins). Les barres sont la moyennes géométriques et la déviation standard géométrique.

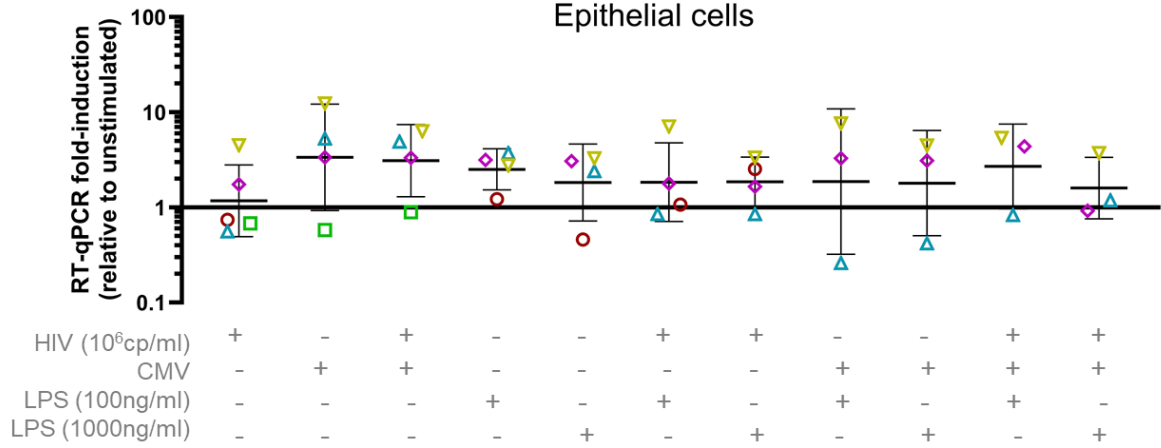
## Culture d'explants coliques *ex-vivo*

Dans le but d'étudier l'effet induit par l'infection virale à VIH-1 ou à CMV, en respectant la complexité de la structure intégrale de la muqueuse intestinale, nous avons utilisé un modèle d'explant intestinal *ex vivo* (Figure 6). Ce modèle permet l'utilisation de biopsies préservant la structure intestinale et l'ensemble des cellules la constituant, qui seront donc infectables par les virus d'intérêt. Ce modèle permet de modéliser des infections productives dont les données sont analysées à J5 suivant l'infection. Nous avons pu analyser par RT-qPCR la transcription de CX3CL1, ADAM10 et ADAM17 au niveau des cellules épithéliales d'une part, et du reste de la muqueuse d'autre part (cellules non épithéliales), après infection des explants par le VIH-1, le CMV, co-infection VIH-1 et CMV. Nous avons également étudié l'effet d'un ligand de TLR, le LPS, composant de la paroi des bactéries gram négatif présentes dans l'intestin sur la transcription des mêmes gènes. Nous observons une induction nette d'ADAM10 et ADAM17 en réponse à l'infection par le CMV (5 fois en moyenne) au niveau des cellules épithéliales, mais pas des cellules non-épithéliales. Il faut néanmoins noter que cela est observé en contexte d'infection virale aiguë répliquative et donc sous l'effet d'une réplication virale plus importante qu'en cas de réplication résiduelle chronique. L'infection par le VIH-1 et le LPS étaient également associés à une induction de ces métalloprotéases, mais dans une moindre mesure que le CMV. D'autres expériences seront ajoutées à ces données, notamment pour pouvoir interpréter une éventuelle induction de CX3CL1 dans ces conditions. Au vu des résultats *in vivo*, nous compléterons également ces expérimentations par RT-qPCR des protéases MMP2, MMP9 et Cathepsine S. Nous pourrons enfin mesurer dans le surnageant l'effet de l'induction de ces protéases sur le clivage et la libération de la forme libre de CX3CL1.

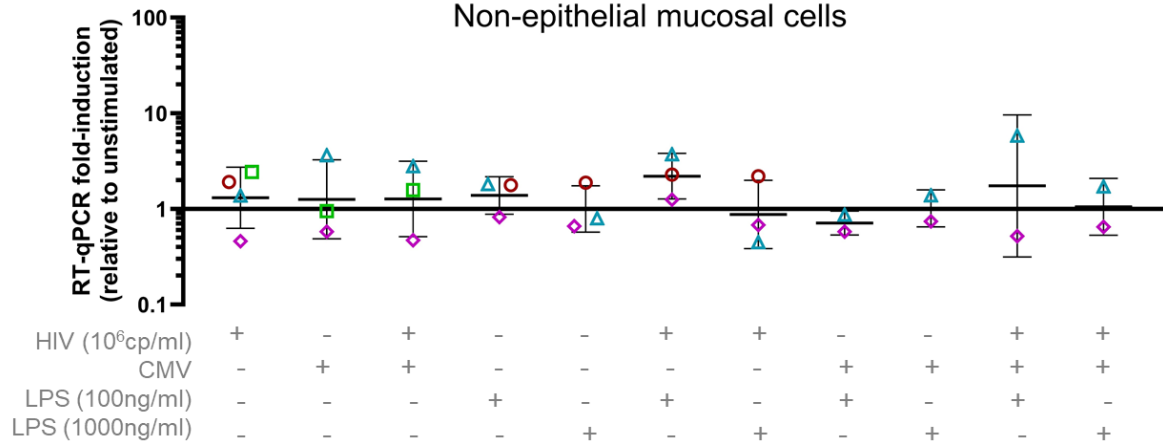


**B****ADAM10**

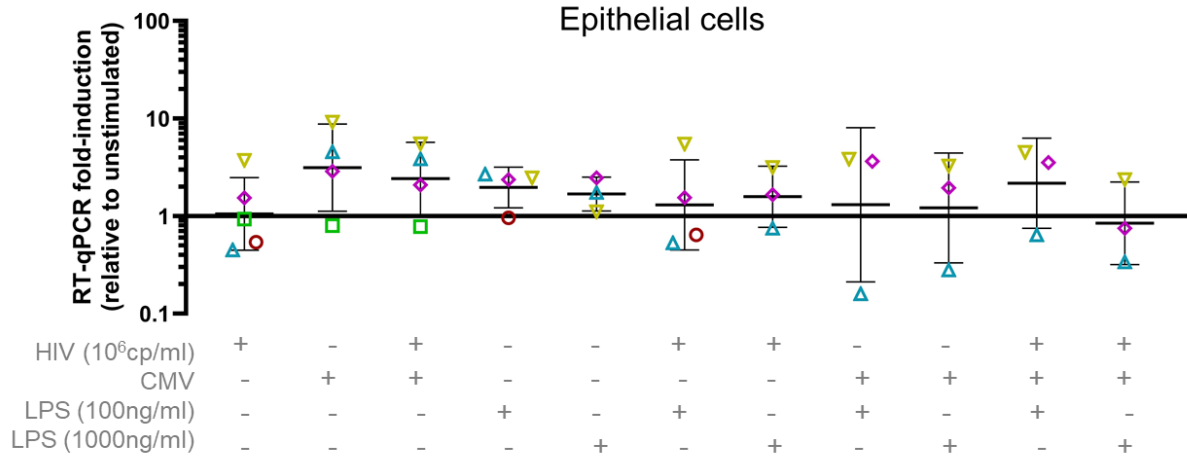
Epithelial cells

**ADAM10**

Non-epithelial mucosal cells

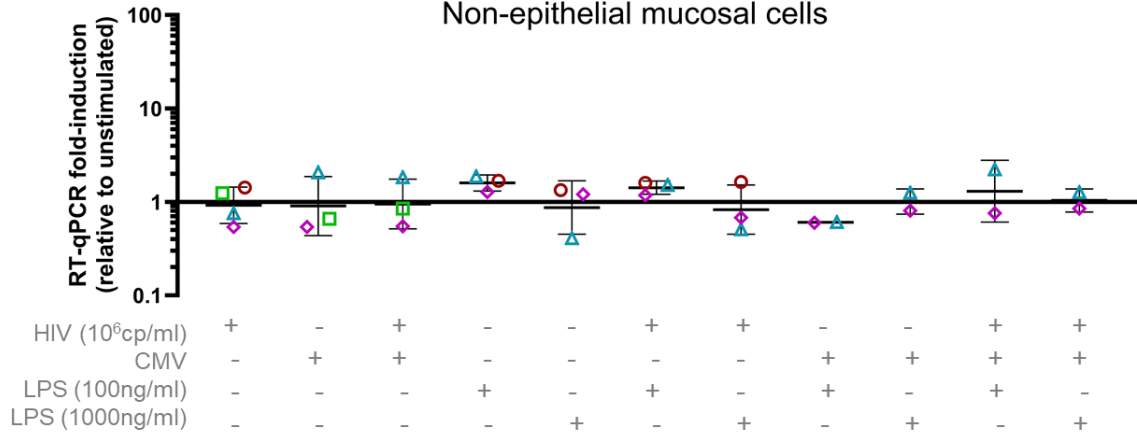
**ADAM17**

Epithelial cells



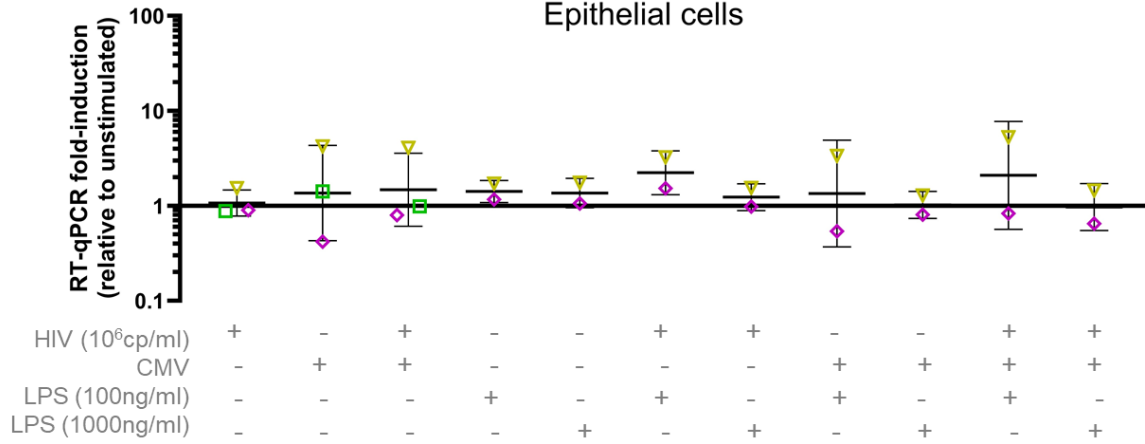
### ADAM17

Non-epithelial mucosal cells



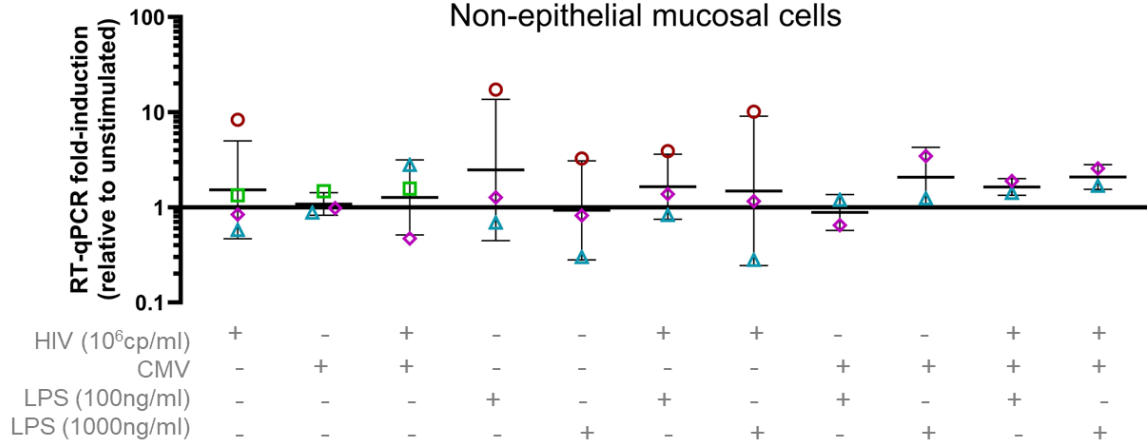
### CX3CL1

Epithelial cells



### CX3CL1

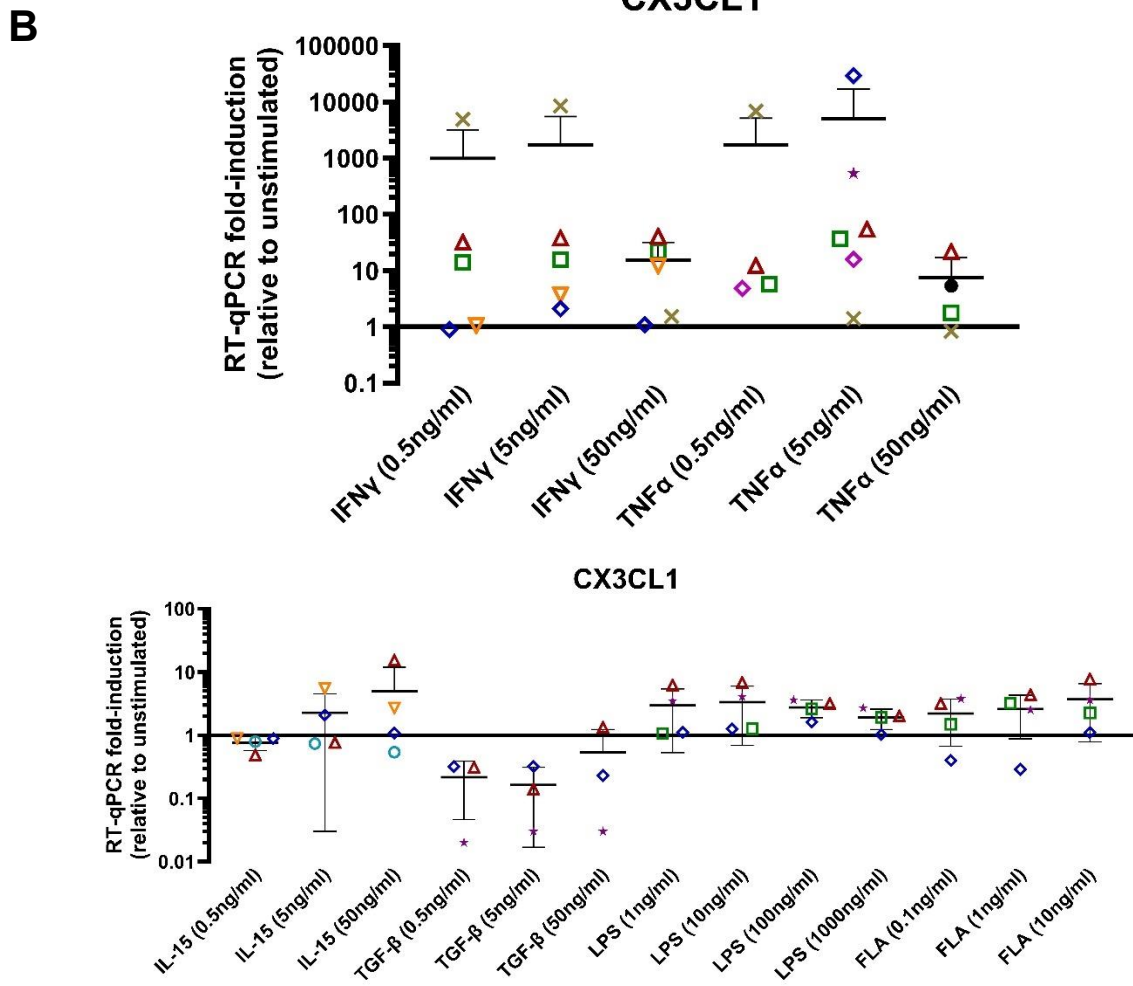
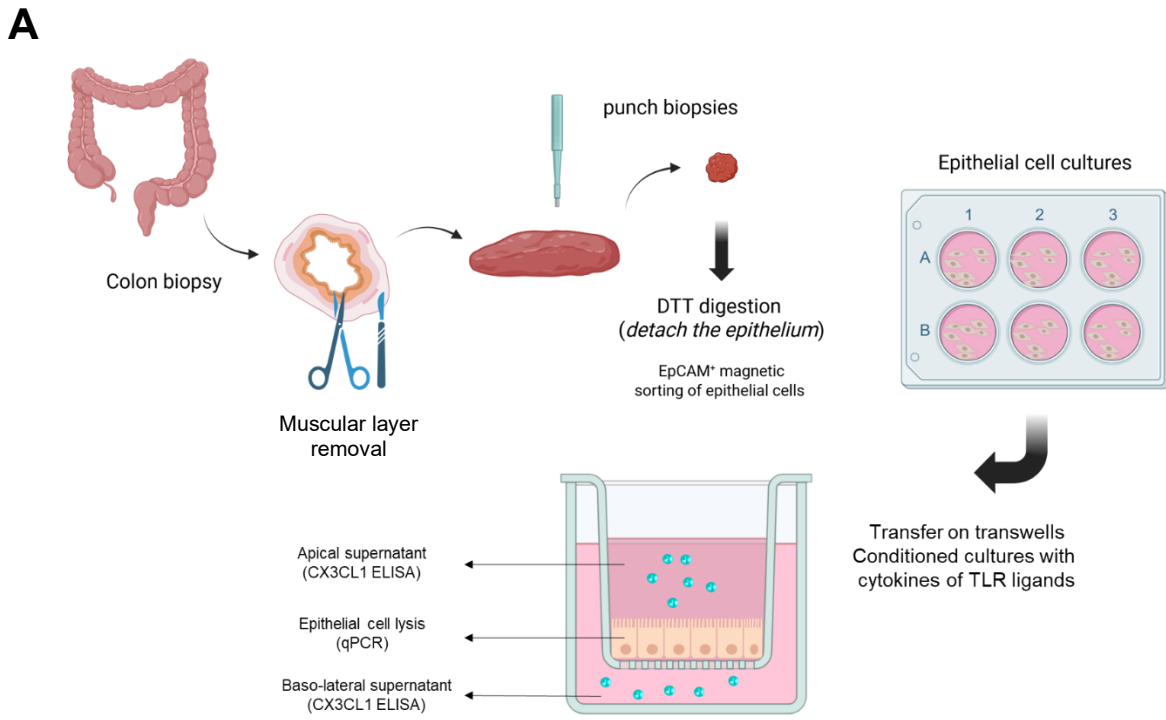
Non-epithelial mucosal cells



**Figure 7. Modèle de culture de cellules épithéliales coliques et stimulation cytokinique sur inserts.** (A) Procédure expérimentale. Une biopsie colique est disséquée pour retirer la couche musculaire et mettre à plat la muqueuse obtenue. Des punch de 4mm sont utilisés pour prélever des fragments qui seront ensuite déposés sur une éponge de gélatine imbibée de milieu de culture (6 explants par éponge, une condition de stimulation par éponge). Les explants pourront être infectés à J0 par le VIH-1 ou le CMV, et stimulés par du LPS à J4. Les explants sont prélevés à J5 et seront ensuite digérés doucement au DTT pour décoller l'épithélium. Le surnageant sera récolté pour réaliser un tri magnétique EpCAM<sup>+</sup> permettant de sélectionner les cellules épithéliales qui seront ensuite lysées pour extraire leur ARN. Le reste de l'explant sera poolé avec les 5 autres explants de la même condition puis lysé par des billes de céramique pour permettre l'extraction d'ARN des cellules non épithéliales. (B) Induction de transcription d'ADAM10, ADAM17 et CX3CL1 (différence de Ct par rapport au gène de ménage GAPDH et au  $\Delta$ Ct de la condition sans stimulation) en réponse à des stimuli par le VIH-1 (souche Bal diluée à 10<sup>6</sup> copies/ml), et/ou le CMV (quantification virale standardisée) et/ou du LPS (100 ou 1000ng/ml), à partir des extraits de cellules épithéliales ou de la partie restante de l'explant. Chaque symbole identique représente une expérience à partir d'un même donneur. Les barres représentent la moyenne géométrique et la déviation standard géométrique.

### **Cultures d'inserts de cellules épithéliales *ex-vivo***

Nous avons également développé un modèle de culture de cellules épithéliales sur insert *ex vivo* à partir de biopsies colique (Figure 8). Ces modèles permettent d'étudier l'induction de la transcription de CX3CL1 et des protéases associées au niveau des cellules épithéliales coliques en fonctions de différentes conditions de culture, mais aussi de mesurer la forme soluble clivée à partir de l'épithélium aux pôles apical et baso-latéral des transwells. Nos expérimentations semblent confirmer que l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$  sont inducteurs de la transcription de CX3CL1 au niveau de l'épithélium, mais nous ne retrouvons que peu ou pas d'effet des autres conditions testées.



**Figure 8. Modèle de culture de cellules épithéliales coliques et stimulation cytokinique sur inserts.** (A) Procédure expérimentale. Une biopsie colique est disséquée pour retirer la couche musculaire et mettre à plat la muqueuse obtenue. Des punch de 4mm sont utilisés pour prélever des fragments qui seront ensuite digérés doucement au DTT pour décoller l'épithélium. Le surnageant sera récolté pour réaliser un tri magnétique EpCAM<sup>+</sup> permettant de sélectionner les cellules épithéliales qui seront ensuite mises en culture et formeront des nappes confluentes mono-étagées. Ces cultures pourront être repiquées sur des inserts et stimulées par l'adjonction de cytokines ou ligands de TLR dans leur milieu de culture. Le surnageant apical et baso-latéral pourront être prélevés pour des dosages de protéines solubles. (B) Induction de transcription de CX3CL1 (différence de Ct par rapport au gène de ménage GAPDH et au  $\Delta$ Ct de la condition sans stimulation) en réponse à des stimuli par IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-15, TGF- $\beta$ , LPS, flagelline (FLA) à des concentrations croissantes. Chaque symbole identique représente une expérience à partir d'un même donneur. Les barres représentent la moyenne géométrique et la déviation standard géométrique.

### **Migration des lymphocytes CX3CR1 selon le gradient de CX3CL1 sur milieux conditionnés**

Afin d'étudier l'effet de différentes conditions cytokiniques sur la migration des lymphocytes CD8 CX3CR1<sup>+</sup> en réponse à un gradient de leur chimiokine CX3CL1, un modèle de migration sur transwell a été développé. Les cellules CX3CR1<sup>+</sup> sont déposées au pôle apical de la membrane. Des concentrations croissantes de CX3CL1 peuvent être déposées au pôle basal (témoin positif), ou des milieux issus de différentes conditions de culture contenant des concentrations de chimiokines variables, et le nombre de cellules dans chaque compartiment (apical et basal) pourra être compté afin de déterminer la migration des populations CX3CR1<sup>+</sup>. Notre modèle confirme la migration croissante des cellules à des concentrations croissantes de CX3CL1. Les conditions expérimentales les plus pertinentes sélectionnées à partir des résultats des expériences précédentes seront utilisées par la suite. Des anticorps bloquant de CX3CL1 peuvent bloquer efficacement le gradient de chimiokine pour confirmer le rôle de CX3CL1 dans l'effet de migration observé (données non présentées).

## D. DISCUSSION

Nous avons pu mettre en évidence une augmentation d'une population de lymphocytes T effecteurs CD8 CX3CR1<sup>+</sup> à la fois dans le sang périphérique et dans la lamina propria de la muqueuse colique, chez des PVVIH sous traitement antirétroviral. Le rôle des lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans la réponse antivirale est soutenu par la mise en évidence d'un enrichissement important en lymphocytes spécifiques du VIH-1, mais aussi du CMV, parmi cette population dans le sang circulant, et notamment sa fraction exprimant des marqueurs de tropisme pour l'intestin.

Nous avons montré que cette augmentation des lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> dans la muqueuse colique se faisait au détriment d'une population résidente mémoire (T<sub>RM</sub>) de CD8, comparativement moins épuisée et moins sénescence, et davantage fonctionnelle que la population non-T<sub>RM</sub>. La perte de cette population T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> dans la muqueuse colique, et en particulier de sa fraction exprimant CD39, apparaît corrélée à la taille du réservoir viral ADN VIH-1 total dans le même segment intestinal. Cette corrélation négative pourrait donc suggérer que la population effectrice des T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> a une efficacité antivirale plus importante que la fraction non-T<sub>RM</sub>. Une autre hypothèse pourrait être que l'infection par le VIH-1 induise, dans le microenvironnement de la muqueuse intestinale, une évolution des proportions entre T<sub>RM</sub> et non-T<sub>RM</sub> au profit des non-T<sub>RM</sub>. Pour mieux discriminer entre ces deux possibilités, il serait donc nécessaire d'évaluer la spécificité et l'efficacité anti-VIH-1 des T<sub>RM</sub> vs. non-T<sub>RM</sub> de la muqueuse du colon, mais ces explorations sont limitées par le nombre de cellules intestinales analysables.

Dans des travaux encore non publiés (Vellas *et al.*, CROI 2024, manuscrit en préparation) nous avons pu montrer que la perte en lymphocytes T<sub>RM</sub> intestinaux touche à la fois les lymphocytes T CD4 et CD8. Cette perte en T<sub>RM</sub> était corrélée au nadir des T CD4, et également aux marqueurs de persistance du VIH-1 sous ARV. Par ailleurs, la population T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> du colon apparaît corrélée au ratio CD4/CD8 dans le sang, marqueur d'une reconstitution immunitaire équilibrée avec une moindre inflammation systémique. La déplétion de cette population est donc au contraire associée à une inflammation systémique plus marquée.

La perte des T<sub>RM</sub> dans la muqueuse colique pourrait être expliquée par différents mécanismes : infection et destruction préférentielle des lymphocytes T<sub>RM</sub> CD4 ; mort cellulaire induite par le microenvironnement ; défaut de reconstitution de la population T<sub>RM</sub>, ou perte des signaux de localisation tissulaire. Le fait que la perte des T<sub>RM</sub> concerne également la fraction CD8, et pas uniquement les T<sub>RM</sub> CD4, suggère qu'un mécanisme non directement viral soit impliqué, seul

ou associé à un mécanisme d'infection virale des  $T_{RM}$  CD4. Un mécanisme impliquant une perte des signaux de résidence tissulaire, et donc une recirculation de ces cellules, est possible mais n'est pas bien établi à ce jour, du fait de la faible propension des  $T_{RM}$  à recirculer dans le sang, bien que des populations qualifiées d'ex- $T_{RM}$  aient été récemment décrites (Sathaliyawala *et al.* 2013; Rodger *et al.* 2024). De façon notable, si l'on observe une perte de la fraction résidente mémoire des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup>, la population globale des LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> est quant à elle augmentée, avec une augmentation en particulier de la population non  $T_{RM}$ . Ainsi, il pourrait être envisagée préférentiellement un défaut de différenciation en  $T_{RM}$  tandis que l'axe de chimiotactisme via CX3CR1 resterait fonctionnel, ou une déplétion préférentielle in situ des cellules de phénotype  $T_{RM}$ .

L'augmentation des lymphocytes non- $T_{RM}$  CD8 CX3CR1<sup>+</sup>, au détriment des  $T_{RM}$ , concerne une population moins fonctionnelle, avec une moindre production d'effecteurs cytotoxiques tels que la Perforine, ou de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN $\gamma$ . La population non- $T_{RM}$  de CD8 CX3CR1<sup>+</sup> présentait également un phénotype d'épuisement immunitaire plus marqué, avec notamment une plus forte expression de CD57 et KLRG1, associés à la senescence, et une expression plus importante des « checkpoints » immunitaires PD-1<sup>hi</sup>, TIGIT, TIM-3, et LAG-3, correspondant à un niveau plus important d'épuisement immunitaire. La population  $T_{RM}$  CD8 CX3CR1<sup>+</sup> quant à elle exprimait davantage CD39, une ATPase participant avec CD73 au clivage de l'ATP en ADP + AMPc, cette dernière ayant des propriétés immunosuppressives. CD39 était initialement considéré comme un marqueur d'épuisement immunitaire, particulièrement lorsqu'associé aux  $T_{reg}$ , mais il a été montré plus récemment qu'il pouvait également s'agir d'un marqueur de CD8 effecteurs et fonctionnels, activés après stimulation par leur antigène, et exprimé par les  $T_{RM}$  (Isaacs *et al.* 2024). La population  $T_{RM}$  CD8 CX3CR1<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> était particulièrement associée à un moindre niveau du réservoir VIH-1 dans le colon. CD101 était également davantage exprimé à la surface de la population  $T_{RM}$  CD8 CX3CR1<sup>+</sup>. CD101 est habituellement considéré comme un marqueur d'épuisement terminal, mais d'autres études montrent que CD101 serait simplement un marqueur phénotypique des  $T_{RM}$  CD8 (Kumar *et al.* Cell Rep 2017). Les population  $T_{RM}$  CD8 CX3CR1<sup>+</sup>CD101<sup>+</sup> et CX3CR1<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup> étaient également associées à un moindre niveau du réservoir VIH, pouvant suggérer que CD101 serait ici davantage un marqueur d'activation que d'épuisement immunitaire des  $T_{RM}$  CD8, dans ce contexte de faible expression des autres checkpoints immunitaires, s'inscrivant dans un continuum entre les marqueurs d'activation et d'épuisement immunitaire. L'expression de CD127 suggère par ailleurs une capacité de prolifération cellulaire de cette population, ce qui soutient son caractère effecteur plus qu'épuisé.

L'expression de CX3CR1 a été associée à un phénotype de cellules effectrices hautement cytotoxiques, et est un marqueur notable de cellules T CD4 spécifiques du CMV (Pachnio *et al.* 2016; Abana *et al.* 2017; Wanjalla *et al.* 2021). Nous montrons ici que la population circulante de lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> est enrichie d'une part en lymphocytes spécifiques du CMV, soulignant le rôle de ce virus dans l'expansion de ces cellules, mais également en lymphocytes spécifiques du VIH-1. La majorité des lymphocytes CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>hi</sup> anti-VIH-1 retrouvés dans notre étude avaient une spécificité anti-Env, alors que la fréquence des lymphocytes anti-Gag et anti-Nef était moindre. Ceci pourrait être dû au fait que la protéine Env est la plus exposée au système immunitaire au cours de l'infection virale, entraînant ainsi une plus forte immunogénicité, en tout cas dans le contexte que nous avons étudié d'expression antigénique résiduelle sous ARV, et notamment dans le tissu intestinal. Ces résultats confirment donc le rôle des lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> dans la réponse anti-virale et leur potentiel dans le contrôle du réservoir du VIH-1. Néanmoins, les cellules intestinales, plus fragiles et moins nombreuses dans nos prélèvements, n'ont pas pu être directement analysées afin de vérifier la spécificité des T<sub>RM</sub> et non-T<sub>RM</sub> CD8 CX3CR1<sup>+</sup> envers le VIH-1. Nous avons en revanche pu approximer la spécificité des T CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> intestinaux en analysant la réponse à la stimulation par des peptides du VIH-1 parmi la population de lymphocytes T CD8 de phénotype  $\beta 7^{\text{hi}}$  et CD103<sup>+</sup> dans les PBMCs. Ces marqueurs de tropisme intestinal permettent d'identifier des cellules à destination de l'intestin ou recirculantes. Cette population cellulaire apparaît augmentée au cours de l'infection par le VIH-1. Nos résultats retrouvent un enrichissement en cellules anti-VIH-1 parmi les cellules circulantes CD8 CX3CR1<sup>+</sup>  $\beta 7^{\text{hi}}$  CD103<sup>+</sup> ayant un tropisme intestinal. Par ailleurs, la population de LT CD8 CX3CR1<sup>hi</sup> circulante était négativement corrélée avec le nadir de CD4, suggérant qu'une infection à un stade avancé était associée à une moindre expansion de cette population.

La réplication résiduelle du CMV au cours de l'infection par le VIH-1 est un facteur pouvant également participer à l'expansion de la population de LT CD8 CX3CR1. En utilisant un marqueur indirect de cette réplication, l'index IgG anti-CMV, nous avons pu mettre en évidence une association entre cet index et l'expansion des LT CD8 dans le sang, notamment CX3CR1<sup>+</sup> et effecteurs terminaux. Ce marqueur indirect corrélait bien avec le niveau de lymphocytes CX3CR1<sup>hi</sup> spécifiques du CMV, en faisant un substitut acceptable pour représenter le niveau de réponse immunitaire globale anti-CMV. Le CMV pourrait notamment participer à la modulation de l'axe de chimiotactisme CX3CR1/CX3CL1 par l'induction de différentes cytokines pro-inflammatoires dans le colon, telle que l'IFN $\gamma$  qui peut induire la transcription du gène codant pour la protéine CX3CL1. Le niveau d'IFN $\gamma$  dans le milieu de digestion du colon corrélait par ailleurs avec le niveau de CX3CL1 plasmatique au niveau de la cohorte entière,

en englobant l'ensemble des statuts sérologiques pour le VIH-1. L'absence d'association significative parmi les seuls PvVIH pourrait être liée à une puissance insuffisante.

CX3CL1 était augmenté dans le plasma des PvVIH sous sa forme soluble. Celle-ci provient d'un clivage de la forme membranaire, exprimée de façon diffuse dans l'endothélium mais aussi certains épithéliums tel que l'épithélium intestinal. Cette forme soluble augmentée est donc probablement en lien avec une augmentation du clivage, mais dont le site d'origine, potentiellement multiple, ne peut être déterminé. Il existait néanmoins une corrélation négative entre CX3CL1 dans le plasma et CX3CL1 dans le milieu de digestion du duodénum. Des analyses complémentaires d'IHC seront nécessaires pour confirmer que la diminution de CX3CL1 mesuré dans le milieu de digestion correspond à une diminution de la forme membranaire, ce qui pourrait alors suggérer que l'intestin pourrait être l'un des sites de clivage de CX3CL1. Ce clivage pourrait impacter le recrutement et la rétention tissulaire des cellules CX3CR1<sup>+</sup>. Afin de mieux déterminer les conditions participant au clivage de CX3CL1, nous avons réalisé des expérimentations préliminaires sur explants intestinaux, où nous avons pu montrer que l'infection par le VIH-1 et le CMV de biopsies coliques entraînait une forte induction dans l'épithélium de la transcription du gène de la métalloprotéase ADAM10, et à un plus faible niveau d'ADAM17, connus comme pouvant cliver CX3CL1. Néanmoins, nous n'avons pas retrouvé *in vivo* d'induction de la transcription d'ADAM10 ou d'ADAM17 chez les PvVIH sous ARV étudiés, comparativement à des témoins non infectés, et la transcription était même paradoxalement à des niveaux inférieurs chez les PvVIH. Cependant, nous n'avons pas analysé l'expression d'ADAM10 et ADAM17 chez des PVVIH non traités par ARV. Au vu de nos données dans les explants intestinaux infectés *ex-vivo*, ces métallo-protéases pourraient avoir un rôle important au cours de l'infection VIH-1 répliquative, avant l'initiation du traitement ARV. Un rétrocontrôle négatif pourrait ensuite se mettre en place en situation de contrôle virologique sous ARV, expliquant la diminution paradoxale de leur niveau de transcription, et le clivage de CX3CL1 pourrait alors impliquer d'autres protéases telles que MMP-2, MMP-9 ou la Cathepsine S, que nous évaluerons par la suite.

L'une des principales limites de notre étude est l'effet d'échantillonnage au regard d'un nombre plus limité de cellules analysées au niveau digestif comparativement au sang, du fait de la petite taille des biopsies intestinales obtenues. Néanmoins, l'accès à ces tissus digestifs de PvVIH *in vivo* reste précieux et ne pourrait être envisagé de façon quantitativement plus importante dans cette population. Ces données *in vivo* ont l'avantage de permettre d'estimer l'effet réel de l'infection par le VIH-1 chez l'Homme en se prémunissant des biais qui seraient liés à des modèles expérimentaux animaux ou *in vitro*. Néanmoins, elles ne permettent que d'associer les différents paramètres observés uniquement de façon corrélative.

Notre modèle d'explants intestinaux nous permet de compléter les observations réalisées sur les échantillons issus de notre cohorte directement sur du tissu intestinal humain frais, et reproduit une muqueuse complète, représentative de la complexité des liens entre les différentes cellules immunitaires et le tissu conjonctif et épithélial sous-jacent. Ce modèle *ex vivo* sera utile pour mieux appréhender les déterminants des modifications observées *in vivo*. Néanmoins ce modèle ne permet que de refléter des effets aigus d'une infection répliquative et non les effets d'une infection virale contrôlée sous ARV.

En conclusion, nous avons mis en évidence l'importance d'une population effectrice de lymphocytes T<sub>RM</sub> CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> coliques et son rôle potentiel dans le contrôle du réservoir viral du VIH-1 local et envisageons qu'une modulation de l'axe de chimiotactisme CX3CR1/CX3CL1 par l'infection VIH-1 ou par la co-infection CMV au niveau intestinal pourrait participer à la déplétion de cette population, favorisant la persistance d'un des réservoirs majeurs du VIH-1. Des analyses complémentaires d'immunofluorescence *in situ*, d'analyse du répertoire et du transcriptome des T<sub>RM</sub> et non-T<sub>RM</sub> coliques et des expérimentations complémentaires *ex vivo* nous permettront d'étayer ces hypothèses.

## ANNEXES

### Séquence des amorces et sondes utilisées pour les RT-qPCR :

#### **CX3CL1 forward primer**

> 5'-CCTTCTGCCATCTGACTGTC-3'

#### **CX3CL1 reverse primer**

> 5'-TGGTTCTGTTGATAGTGGATGAG-3'

#### **CX3CL1 sonde**

> 5'-CGGTGTGACGAAATGCAACATCACG-3'

#### **ADAM17 forward primer**

> 5'-AAATGGCAGGACTTCTTCAC-3'

#### **ADAM17 reverse primer**

> 5'-CCCATCTGTGTTGATTCTG-3'

#### **ADAM17 sonde**

> 5'-ACATCATCATCTCTTATGTGGGCTAGAACC-3'

#### **ADAM10 forward primer**

> 5'-TACCTCCCAAAGTCTCTCAC-3'

#### **ADAM10 reverse primer**

> 5'-GTGCACTCTGTTCCAGAATC-3'

#### **ADAM10 sonde**

> 5'-CAAAGTTATGTCCAACCTTCGTGAGCAAAAG-3'

## Anticorps utilisés en cytométrie de flux :

### Core panel

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
Lineage CD16	BUV615	3G8	BD
Lineage CD19	BUV615	HIB19	BD
Lineage CD56	BUV615	B159	BD
Lineage TCR pan $\gamma\delta$	BUV615	11F2	BD
Lineage CD66	BUV615	B1.1/CD66	BD
Lineage CD14	BUV615	M5E2	BD
CD3	BUV395	UCHT1	BD
CD4	BUV496	RPA-T4	BD
CD8	BV510	RPA-T8	BD
CX3CR1	BV750	2A9-1	BD
CD103	PerCP Cy5.5	Ber-ACT8	Ozyme
CD27	BV421	M-T271	BD
CD28	BV650	CD28.2	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
PD1	PE-CF594	EH12.1	BD
TIGIT	BV786	741182	BD
TIM-3	BUV737	7D3	BD
LAG3	BV605	T47-530	BD
CD39	BUV563	TU66	BD
CD57	BV711	QA17A04	Biologend
KLRG1	APC-Vio770	REA261	Miltenyi
CXCR3	BUV661	1C6/CXCR3	BD

### Panel 1 : Blood

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD101	PE	V7.1	BD
Beta7	BB515	FIB504	BD
KIR2D	PE-Vio770	REA1042	Miltenyi
KIR3DL1/DL2	PE-Vio770	REA970	Miltenyi
CCR7	AF700	FAB197N	R&D

+

### Panel 2 : Gut

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD101	io bright FITC	BB27	Miltenyi
CD69	AF700	FN50	BD
CD25	PE-Cy7	M-A251	BD
CD127	PE	R34.34	Beckman

+

### Core panel

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD3	BUV395	UCHT1	BD
CD4	Pacific Blue	RPA-T4	BD
CD8	FITC	RPA-T8	BD
CX3CR1	BV750	2A9-1	BD
CD69	BUV496	FN50	BD
CD103	BUV661	Ber-ACT8	BD
CD27	BV510	M-T271	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
PD1	PE-CF594	EH12.1	BD
TIGIT	BV786	741182	BD
TIM-3	BUV737	7D3	BD
CD57	BV711	QA17A04	Biologend
KLRG1	APC-Vio770	REA261	Miltenyi
KIR2D	PE-Cy7	REA1042	Miltenyi
KIR3D	PE-Cy7	REA970	Miltenyi

### Panel 3 : Cytotoxicity

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
AF700	Perforine	B-D48	BioLegend
PE	Granzyme B	GB11	BD

+

### Panel 4 : Cytokines

Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
AF700	IFN $\gamma$	B27	BD
BV605	TNF $\alpha$	MAB11	BD
PE	IL-17	eBio64DEC17	ebiosciences
PerCP Cy5.5	IL-10	JES3-9D7	BioLegend

+

### Panel 5 : Viral peptides stimulation

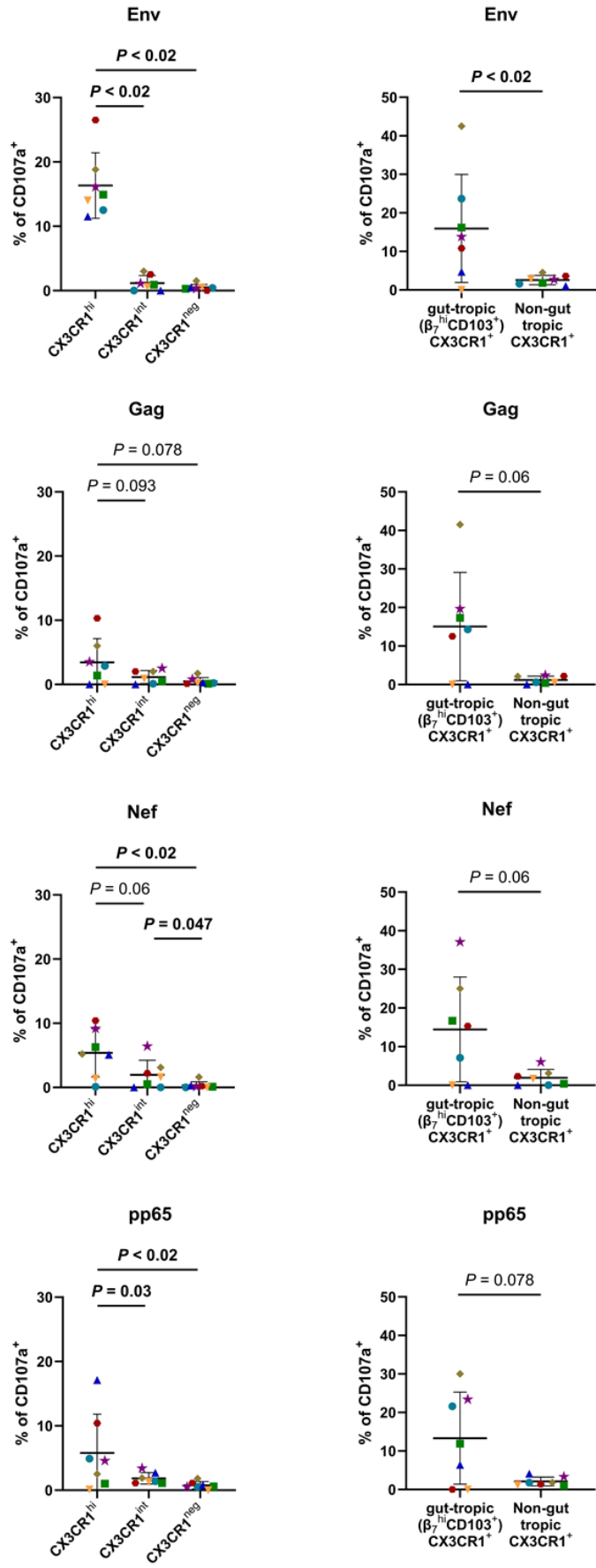
Specificity	Fluorochrome	Clone	Vendor
CD3	BUV395	UCHT1	BD
CD45RA	BUV805	HI100	BD
CD8	BV510	RPA-T8	BD
CD4	BUV496	RPA-T4	BD
CD27	BV421	M-T271	BD
CD28	BV650	CD28.2	BD
$\beta$ 7	BB515	FIB504	BD
CD103	PerCP Cy5.5	Ber-ACT8	ozyme
LIVE/DEAD	DAPI	-	Thermo Fisher
CX3CR1	BV750	2A9-1	BD
CD107a	PE	H4A3	Miltenyi
IFN $\gamma$	AF700	B27	BD
TNF $\alpha$	PE-Cy7	MAB11	BD

## Données supplémentaires

**Figure supplémentaire 1. Les lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> sont enrichis en cellules spécifiques du VIH-1 et du CMV.** Fréquence des cellules CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> circulantes spécifiques anti-VIH-1 (Env, Gag, Nef) ou anti-CMV (pp65), identifiés après 6h de stimulation par des peptides des protéines virales, puis analyse par cytométrie en flux des cellules productrices (A) de CD107a et (B) d'IFN $\gamma$ , après soustraction de la production respectivement de CD107a et d'IFN $\gamma$  observé en l'absence de stimulation chez le même individu. N = 7 PvVIH. (C) Fréquence des cellules productrices des effecteurs cytotoxiques Granzyme B (GzmB) et Perforine et de cytokines pro-inflammatoires IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$  parmi les LT CD8 du duodénum en fonction de leur niveau d'expression de CX3CR1 (négatif/intermédiaire/high), mesurée par cytométrie en flux (n = 5 PvVIH et 5 témoins). Les barres représentent la moyenne et la déviation standard. (D) Corrélations négatives entre l'ADN VIH-1 total colique et la fréquence de CD101 et de CD127 parmi les TRM CD8<sup>+</sup> CX3CR1<sup>+</sup> du colon (n = 28 PvVIH). Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la P-value sont indiqués.

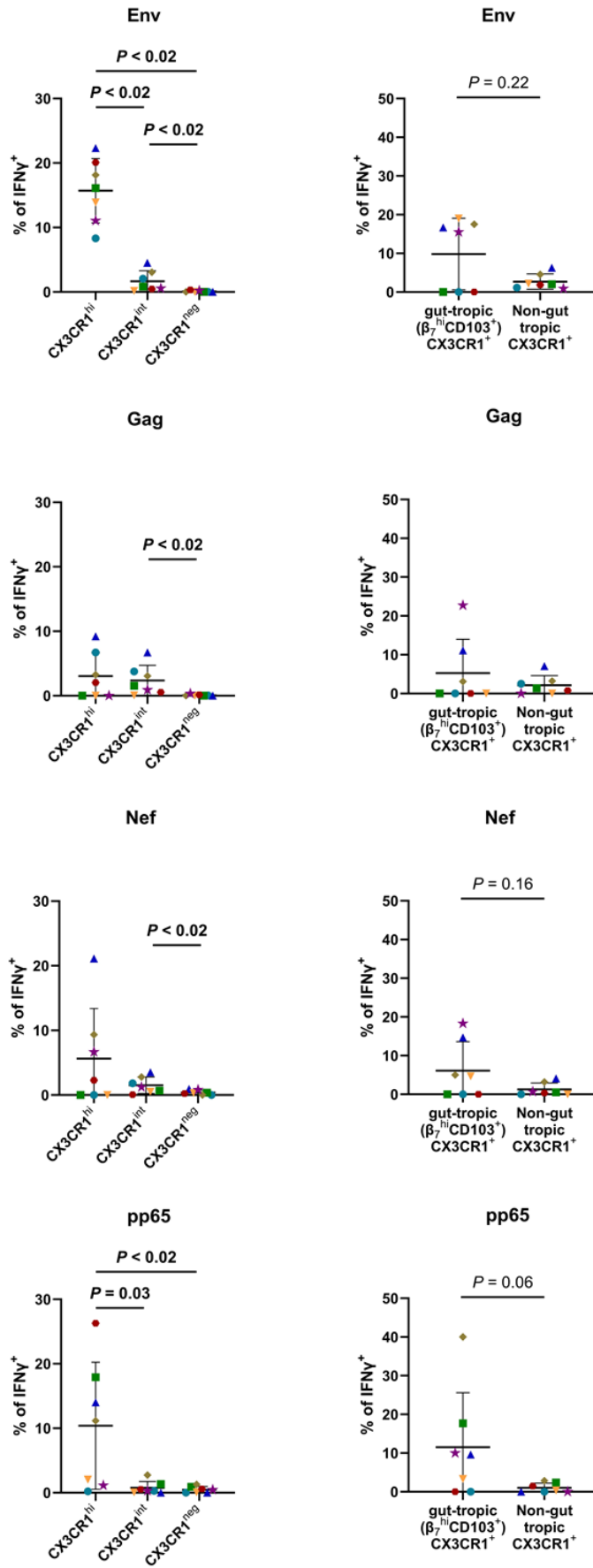
**A**

On CD8 T cells :



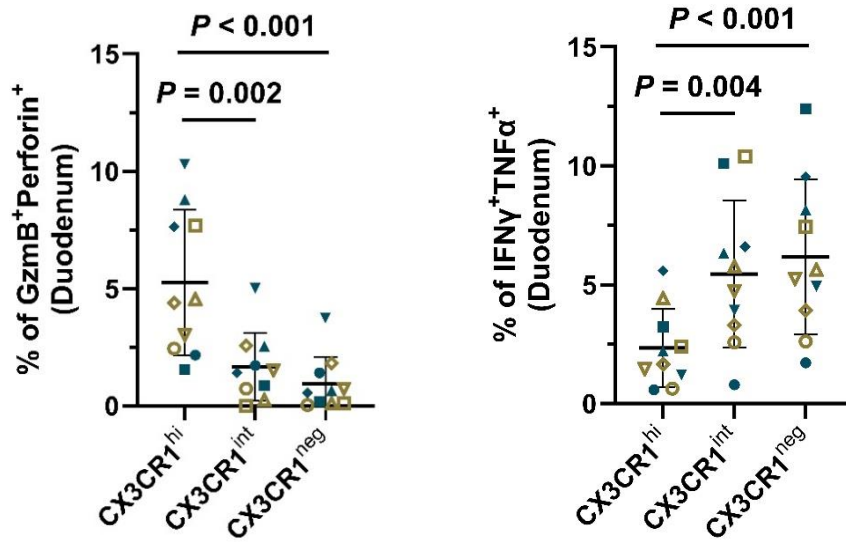
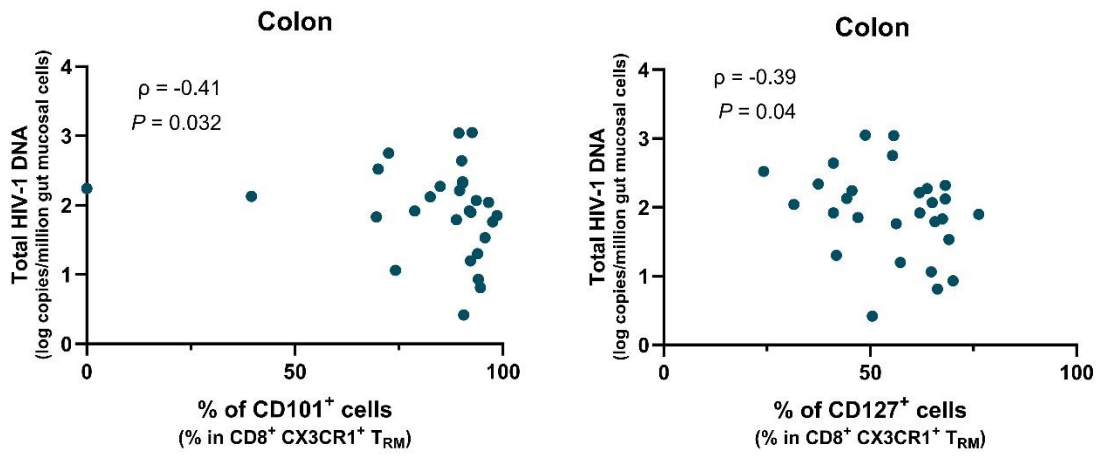
**B**

On CD8 T cells :

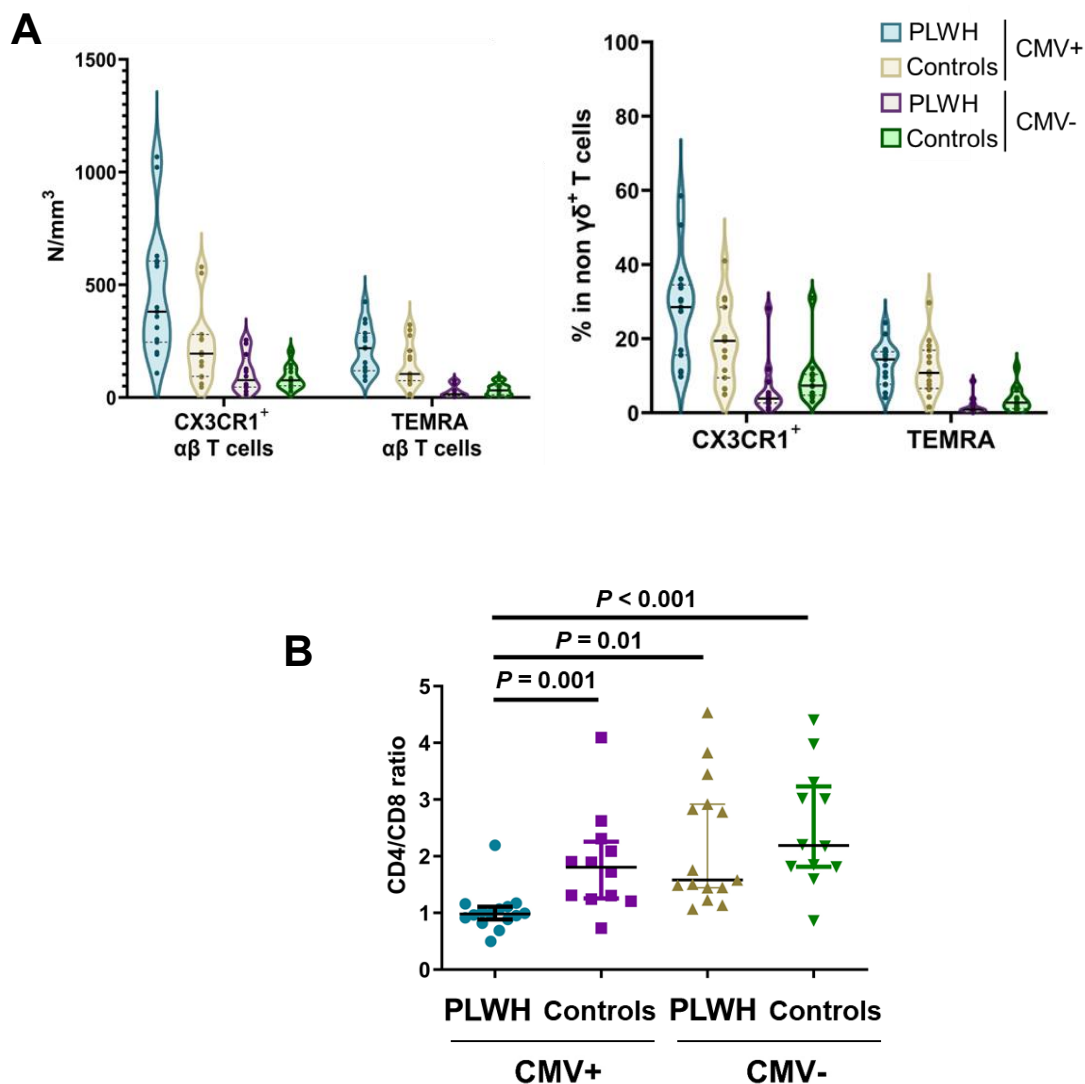


**C**

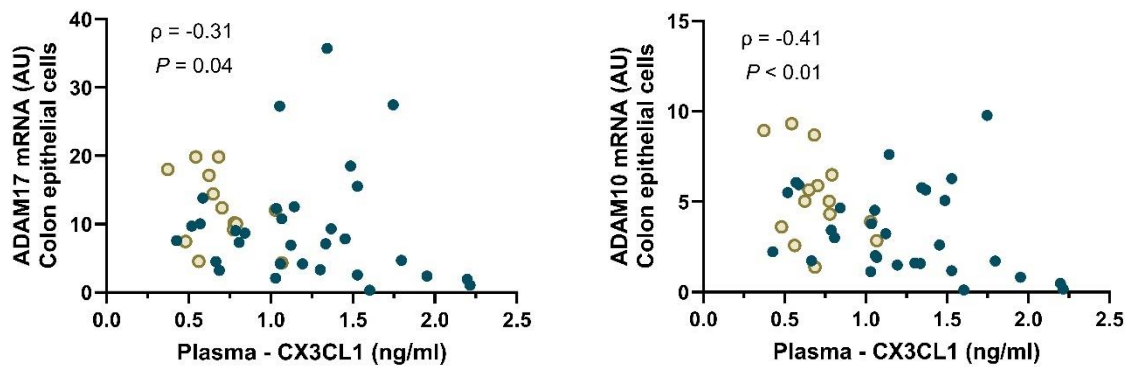
In CD8 T cells

**D**

**Figure supplémentaire 2. L'expansion des lymphocytes T CX3CR1<sup>+</sup> est dépendante du statut sérologique pour le CMV et majorée en cas de co-infection VIH/CMV. (A)** Violin plot du nombre (gauche) et de la fréquence (droite) de lymphocytes T  $\alpha\beta$  (CD3<sup>+</sup> TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup>) exprimant CX3CR1 et de phénotype TEMRA (CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>) selon leur statut sérologique pour le VIH-1 et le CMV (n = 15 HIV<sup>+</sup> CMV<sup>+</sup> / 15 HIV<sup>-</sup> CMV<sup>+</sup> / 12 HIV<sup>+</sup> CMV<sup>-</sup> / 12 HIV<sup>-</sup> CMV<sup>-</sup>). Les violin plots présentent la médiane (trait continu) et le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> quartile (traits en pointillés). (B) Ratio CD4/CD8 selon le statut sérologique pour le VIH-1 et le CMV. Les comparaisons ont été réalisées en utilisant le test de Welch.



**Figure supplémentaire 3. Le niveau plasmatique de CX3CL1 corrèle négativement avec le niveau de transcription d'ADAM10 et 17 dans les cellules épithéliales coliques.** Corrélations négatives entre la concentration de CX3CL1 soluble dans le plasma et l'expression d'ARNm d'ADAM17 et d'ADAM10 dans les cellules épithéliales coliques en unité arbitraire (différence de Ct par rapport au gène de ménage GAPDH rapporté à la différence de Ct avec le témoin ayant le  $\Delta$ Ct le plus élevé) (n = 30 PvVIH et 14 témoins). Le coefficient de corrélation de Spearman ( $\rho$ ) et la *P*-value sont indiqués.



## LISTE DES AUTRES PUBLICATIONS REALISEES SUR LA PERIODE 2022-2025 CONCERNANT L'ETUDE EP61 GALT

Vellas C, Nayrac M, **Collercandy N**, Requena M, Jeanne N, Latour J, Dimeglio C, Cazabat M, Barange K, Alric L, Carrere N, Martin-Blondel G, Izopet J, Delobel P. Intact proviruses are enriched in the colon and associated with PD-1+TIGIT- mucosal CD4+ T cells of people with HIV-1 on antiretroviral therapy. *EBioMedicine*. 2024 Feb;100:104954. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104954. PMID: 38160480; PMCID: PMC10792747.

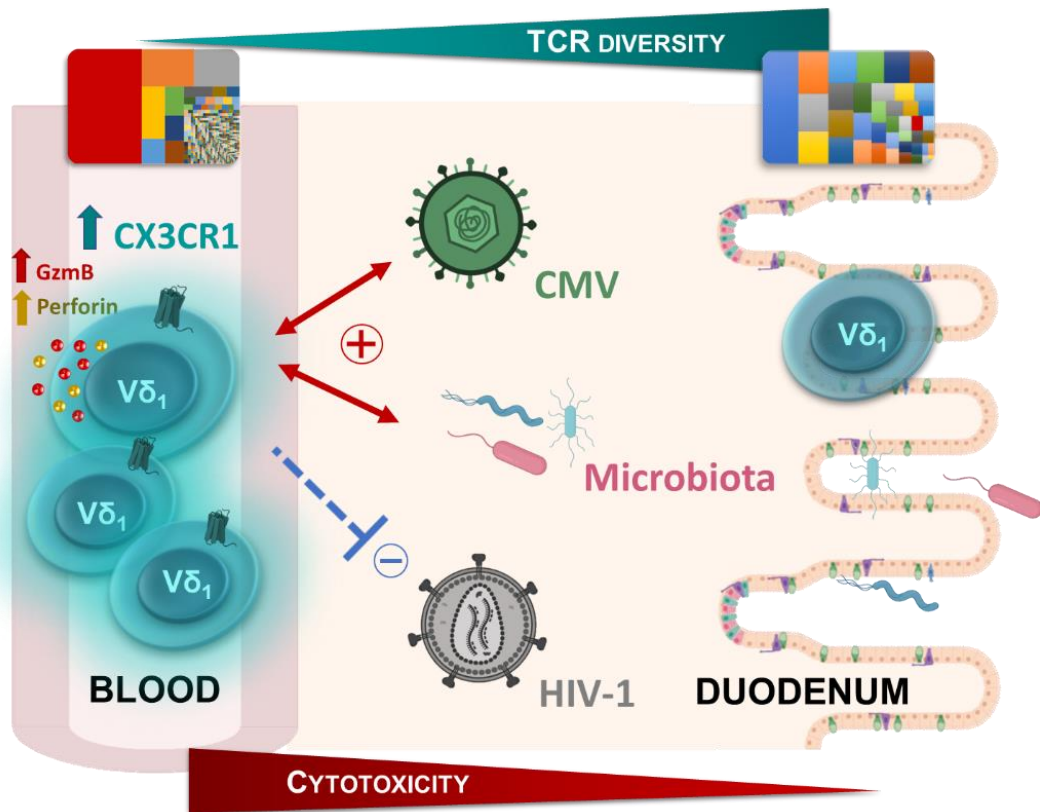
Vellas C, Martres D, Requena M, Nayrac M, **Collercandy N**, Latour J, Barange K, Alric L, Martin-Blondel G, Izopet J, Lagane B, Delobel P. Compartmentalized Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reservoir in Intestinal Monocytes/Macrophages on Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis*. 2025 Mar 17;231(3):611-621. doi: 10.1093/infdis/jiae557. PMID: 39561178.

# DISCUSSION

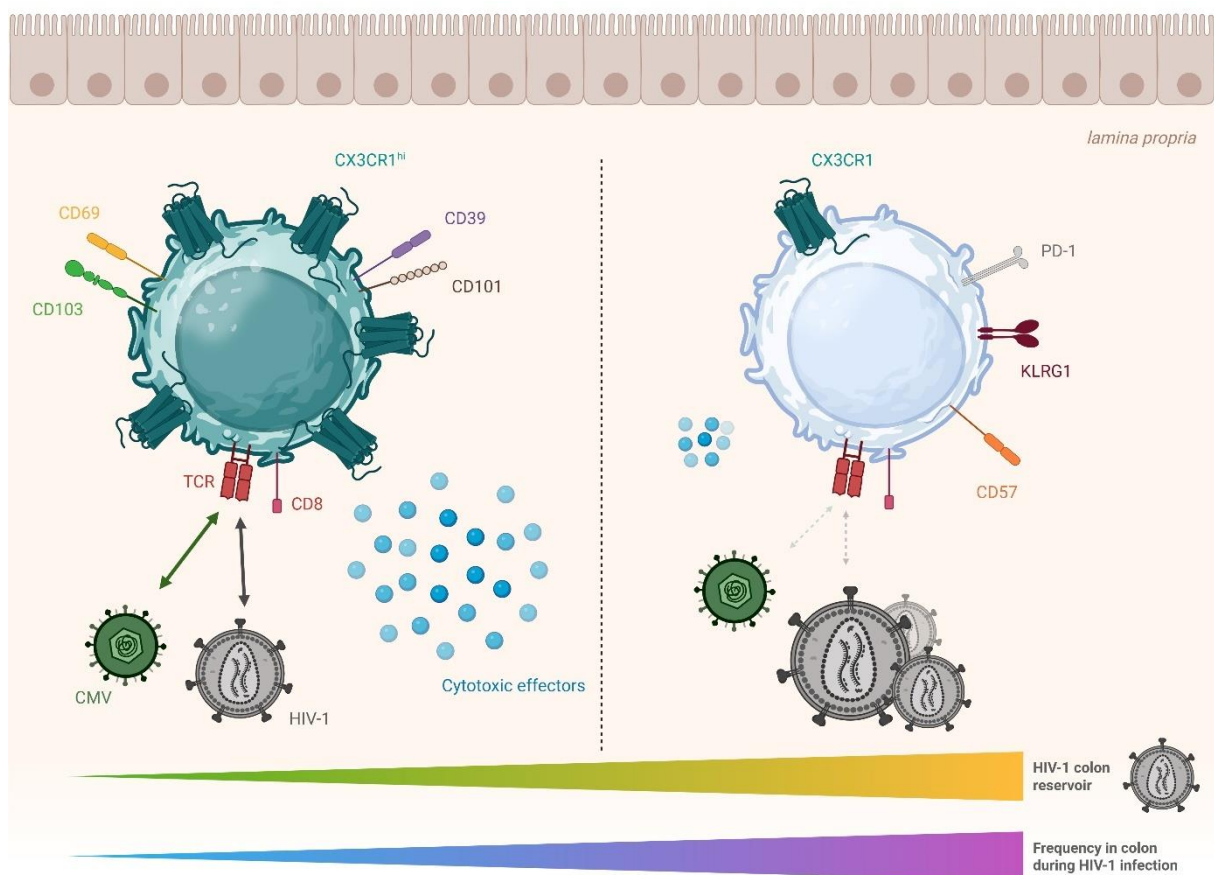
L'intestin, et en particulier le colon, est un site majeur de persistance du VIH-1 (Vellas *et al.* 2024). Celui-ci est particulièrement enrichi en provirus intacts, qui sont la source du rebond de l'infection en cas d'arrêt du traitement par ARV, et constituent donc la cible privilégiée des stratégies de guérison de l'infection par le VIH. Une meilleure compréhension des interactions entre la persistance du VIH-1 et la réponse immunitaire de l'hôte est un enjeu important afin d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant le réservoir pour espérer aboutir à une guérison, ou tout au moins une rémission, de l'infection par le VIH. A ce jour, ceci ne peut être obtenu de façon prolongée par les moyens thérapeutiques actuels, en dehors de cas exceptionnels.

Dans ce travail, nous avons contribué à caractériser au niveau sanguin et au niveau tissulaire, une réponse immunitaire cellulaire cytotoxique en lien avec l'axe de chimiotactisme CX3CR1/CX3CL1 et dirigée contre le VIH-1 mais aussi le CMV, dans une cohorte de PvVIH sous ARV et de témoins non infectés. Nous avons étudié différents effecteurs lymphocytaires exprimant CX3CR1, et notamment les lymphocytes  $T\gamma\delta V\delta 1$ , et les lymphocytes T CD8, et mis en évidence qu'ils présentaient des caractéristiques communes (Figure 38 et Figure 39).

La quantification et la caractérisation du réservoir viral au niveau intestinal au sein de la même cohorte avaient été réalisées au préalable dans l'équipe (Vellas *et al.* eBioMedicine 2024). Le réservoir proviral intact ainsi que les virus défectifs en 5' et 3' avaient notamment été quantifiés par la technique Intact Proviral DNA Assay (Bruner *et al.* 2019), ainsi que la transcription résiduelle d'ARN VIH-1 associé aux cellules, dans les segments duodénaux, iléaux et coliques des PvVIH de l'étude ANRS EP61 GALT. Il avait notamment été montré que le réservoir viral intact était augmenté dans le colon et associé à la population de  $LT CD4 PD-1^+TIGIT^-$ . Dans ce travail, nous nous sommes attachés à mettre en lien la réponse immunitaire effectrice avec les données virologiques préalablement obtenues.



**Figure 38. Modèle proposé des populations de LT Vδ<sub>1</sub> sanguins et duodénaux au cours de l'infection chronique par le VIH-1 sous ARV.** Au cours de l'infection par le VIH-1, on observe une expansion clonale de la population de LT Vδ<sub>1</sub> sanguins exprimant CX3CR1, associée à des propriétés cytotoxiques importantes. Cette expansion est dépendante à la fois de la co-infection par le CMV, mais également du microbiote intestinal et des translocations bactériennes dans la circulation. Cette population de LT Vδ<sub>1</sub> pourrait présenter un effet antiviral, à la fois dans le compartiment sanguin et le compartiment intestinal.



**Figure 39. Modèle proposé des populations de lymphocytes T CD8 CX3CR1<sup>+</sup> dans le compartiment colique au cours de l'infection chronique par le VIH-1 sous ARV.** Les lymphocytes T CD8 résidents mémoires (CD69<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>) exprimant CX3CR1 sont associées à une réduction du réservoir viral VIH-1 (ADN viral) dans le colon, compartiment enrichi en provirus intacts. Cette population se caractérise notamment par une expression importante de CD39 et de CD101, ainsi que par des propriétés cytotoxiques marquées. Les homologues « gut-tropic » de ces cellules dans la circulation sanguines sont enrichies en cellules anti-VIH-1 et anti-CMV, en particulier celles exprimant un haut niveau de CX3CR1 (CX3CR1<sup>hi</sup>). Néanmoins, au cours de l'infection par le VIH-1, cette population semble déplétée dans le compartiment colique au profit d'une population de LT CD8 CX3CR1<sup>+</sup> non T<sub>RM</sub>, avec un profil d'épuisement (PD-1<sup>+</sup>, KLRG1<sup>+</sup>) et de sénescence (CD57<sup>+</sup>) plus marqué, ainsi qu'avec une activité cytotoxique moindre. La spécificité anti-VIH-1 et anti-CMV des LT CD8 résidents mémoires coliques et CX3CR1<sup>+</sup> reste à évaluer directement.

Les individus inclus dans ce travail présentaient des profils relativement homogènes. La plupart recevaient une trithérapie, constitué de 2 INTI, mais le 3<sup>ème</sup> agent pouvait différer, principalement entre un INI (n = 17) ou un INNTI (n = 20). Aujourd'hui, l'évolution de la stratégie de prise en charge a augmenté la proportion de PvVIH recevant un INI. Par ailleurs, le biais de recrutement a été limité en incluant dans les deux groupes, PvVIH et contrôles non-infectés, des sujets réalisant pour la plupart des endoscopies de dépistage systématique et étant asymptomatiques sur le plan digestif. Les indications les plus fréquentes concernaient, pour les gastroscopies, la surveillance d'un reflux gastro-oesophagien, et pour les coloscopies, un dépistage du cancer colorectal, souvent suite à des antécédents familiaux. Les sujets présentant notamment des maladies intestinales inflammatoires étaient exclus, afin d'éviter que d'autres causes sans rapport avec l'infection par le VIH-1 ne puissent être des facteurs confondants. Notre population d'étude était globalement représentative de la majorité de la population suivie pour une infection par le VIH-1 en France, sous ARV débutés au stade chronique de l'infection, avec une charge virale indétectable, et un âge médian (54 ans) en augmentation du fait de l'amélioration du pronostic de l'infection sous traitement par ARV. Il s'agit du profil des personnes chez lesquels une réduction du réservoir viral est un élément clé à atteindre dans l'objectif d'une rémission de l'infection. Ceci permettra de transposer nos résultats aux populations qui pourraient être étudiées dans de futurs essais thérapeutiques ciblant les réservoirs du VIH.

Notre cohorte est l'une des rares à avoir inclus des prélèvements intestinaux humains de différents segments chez un même individu, permettant une comparaison des spécificités de chaque étage intestinal. Il a en effet été montré que la richesse en cellules immunitaires et la composition du microbiote étaient sensiblement différents selon les étages du tube digestif. Néanmoins, seuls les segments accessibles par voie endoscopique, haute (duodenum) ou basse (iléon et colon), ont pu être prélevés et des spécificités propres aux sites non prélevés (jéjunum) ne pourront être mises en évidence. Les trois segments étudiés offrent malgré tout des profils très différents, permettant d'avoir un aperçu des variations pouvant survenir du segment le plus proximal, au contact direct du bol alimentaire, vers le segment le plus distal. Par ailleurs, les prélèvements dont nous disposons ne permettaient pas d'avoir un aperçu de l'évolution des paramètres mesurés dans le temps, s'agissant d'une étude transversale où chaque individu n'était prélevé qu'une fois (pour minimiser les variations nyctémérales, tous les patients ont été prélevés le matin, à jeun). Des prélèvements longitudinaux permettraient d'estimer les dynamiques pouvant être liées d'une part au vieillissement, mais aussi à l'évolution de l'infection chronique par le VIH-1. Une approximation de ces dynamiques a pu être réalisée dans notre étude en associant certains paramètres cliniques comme la durée

depuis le diagnostic, ou la durée d'évolution sous traitement ARV suppressif aux mesures effectuées. Dans l'étude GALT-2 actuellement en préparation, nous prévoyons d'inclure des PVVIH ayant été inclus dans l'étude GALT précédente, et devant renouveler une coloscopie de dépistage du cancer colorectal 5 ans après la précédente, ce qui permettra une appréciation longitudinale.

Nous avons pu montrer dans notre cohorte que la perte des  $T_{RM}$  était associée au nadir des LT CD4, soit le niveau le plus avancé de l'infection par le VIH-1 atteint pour un patient donné. Le défaut de reconstitution complète de cette population cellulaire, essentielle à l'homéostasie de la muqueuse intestinale et au contrôle de l'infection par le VIH-1, malgré un traitement ARV prolongé, signifie que la déplétion ayant lieu avant l'initiation du traitement ARV n'est que partiellement réversible. Il a ainsi été montré que la mise en place retardé d'ARV chez des PvVIH menait à une déplétion irréversible des  $T_{RM}$  au niveau de la peau (Saluzzo *et al.* 2021). L'analyse du répertoire TCR des  $T_{RM}$  montrait que les cellules partiellement reconstituées en cas de mise en route d'un traitement de façon précoce étaient d'origine systémique. Certaines populations, notamment les  $T_{RM}$  CXCR3 au niveau de la peau, n'étaient jamais reconstituées et leur perte était associée à un sur-risque de lésions pré-cancéreuses liées au papillomavirus.

L'absence de reconstitution immunitaire complète au niveau intestinal sous traitement ARV touche principalement les LT CD4 de la *lamina propria*, contrastant avec une reconstitution plus satisfaisante des LT CD4 du sang et des tissus lymphoïdes organisés (ganglions ou plaques de Peyer) (Guadalupe *et al.* 2003; Mavigner *et al.* 2012). La déplétion des LT CD4 intestinaux est précoce, et liée à l'infection préférentielle au cours de la primo-infection des LT CD4 CCR5<sup>+</sup> activés (Brenchley *et al.* 2004). Si la survenue des infections opportunistes est globalement dépendante du niveau des LT CD4 sanguins (<200 cellules/ $\mu$ L), il peut néanmoins être envisagé que localement, l'immunodépression relative persistante dans la muqueuse intestinale pourrait favoriser une réplication persistante de certains pathogènes dans ce compartiment. La maladie à CMV n'est ainsi généralement pas observée en cas de restauration des LT CD4 sanguins, mais de nombreuses données sont en faveur d'une réplication résiduelle occulte du CMV persistante malgré une bonne reconstitution des LT CD4 sanguins sous traitement ARV (Maidji *et al.* 2017). Nous avons retrouvé, de façon concordante à la littérature, une augmentation marquée de l'index IgG anti-CMV chez les PvVIH séropositives pour le CMV comparativement à des personnes non infectées par le VIH-1 mais également séropositives pour le CMV. Cette production plus élevée d'IgG spécifiques du CMV pourrait s'expliquer par une stimulation antigénique chronique persistante. Ces IgG ont été

proposées comme étant un substitut fiable pour estimer le niveau de réplication chronique du CMV, qui reste indétectable dans le sang par PCR. Nous avons montré que les IgG anti-CMV sont également corrélées au niveau de réponse immunitaire cellulaire spécifique du CMV. L'hypothèse d'une réplication résiduelle persistante du CMV au niveau tissulaire, et en particulier dans l'intestin du fait de cette immunodépression relative, paraît ainsi vraisemblable. Le niveau de réplication tissulaire du CMV, probablement très faible, reste difficile à authentifier directement. Nous avons cherché à détecter par ddPCR l'ADN du CMV au niveau des biopsies duodénales de PvVIH et de témoins séronégatifs pour le VIH, tous séropositifs pour le CMV. Dans les limites de la faible sensibilité de la technique utilisée, de l'ADN CMV a pu être détecté dans le duodénum d'un PvVIH mais chez aucun des témoins étudiés. La réplication résiduelle du CMV pourrait ainsi participer à minima au niveau intestinal à une activation immunitaire persistante, participant à l'inflammation de muqueuses intestinale. Dans nos travaux, nous avons pu montrer que la réponse immunitaire anti-CMV était corrélée à l'abondance de multiples espèces bactériennes au sein du microbiote tissulaire, ainsi qu'au taux de plusieurs cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN $\gamma$  dans le compartiment intestinal. Par ailleurs, s'il serait utile de mesurer les effets directement liés à la réplication résiduelle du CMV en comparant la réponse immunitaire de PvVIH séropositives et séronégatives pour le CMV, ces analyses sont limitées par la rareté des individus séronégatifs pour le CMV parmi les PvVIH, où la séropositivité pour le CMV atteint 90%. La raison de cette prévalence élevée n'est pas clairement identifiée à ce jour. Nous avons néanmoins pu recruter des PvVIH séronégatifs pour le CMV (avec des prélèvements sanguins mais pas de prélèvements intestinaux) afin de confirmer, dans la 1<sup>ère</sup> partie de notre travail, que l'infection par le CMV jouait un rôle majeur dans l'expansion des cellules V $\delta$ <sub>1</sub><sup>+</sup> et notamment des cellules CX3CR1<sup>+</sup> observée chez les PvVIH. Cette expansion pourrait être liée à une activation directe par le CMV, mais également être indirecte, par les interactions entre le CMV, le microbiote tissulaire intestinal et la réponse inflammatoire, qui pourraient à leur tour moduler l'axe de chimiotactisme de CX3CL1. Il est à noter que dans nos modèles d'explants intestinaux, où l'on retrouve une induction de métalloprotéases clivant CX3CL1 en cas d'infection par le CMV, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre dans le milieu de culture des explants limite les effets imputables au microbiote directement.

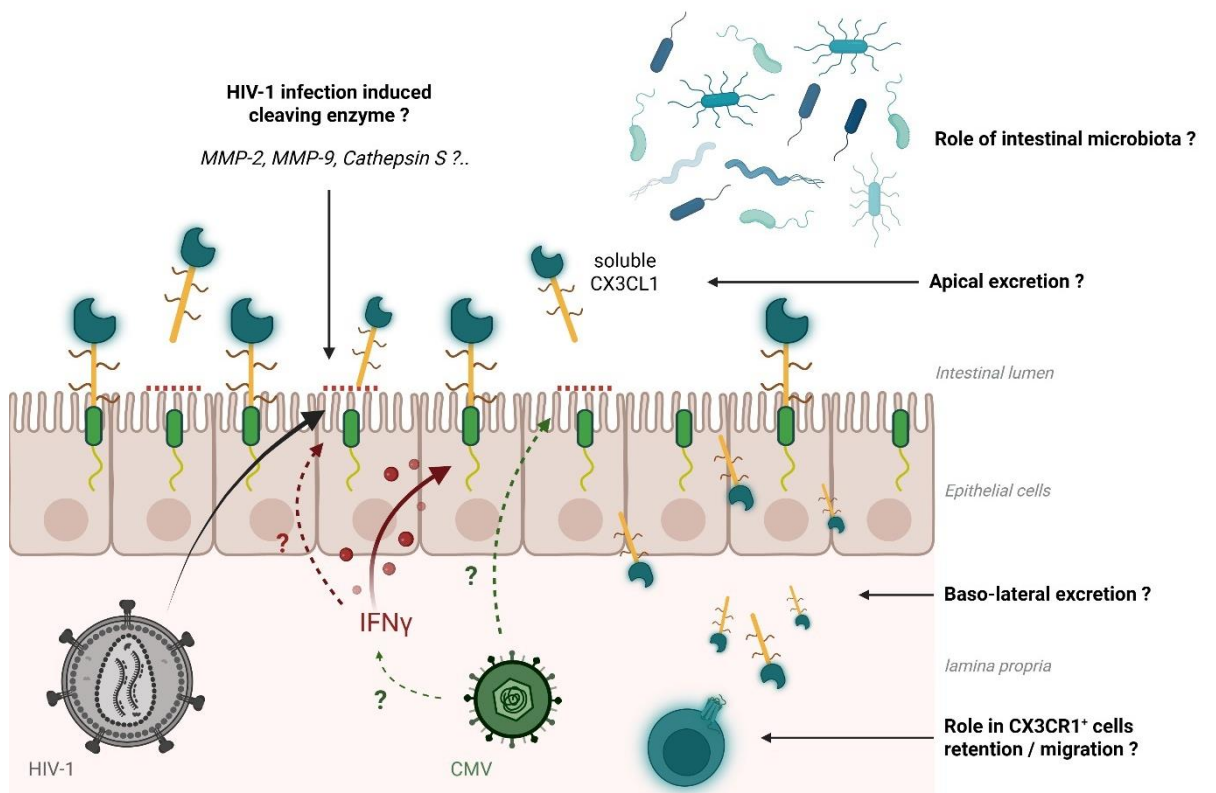
Les liens observés entre signaux intestinaux et l'expansion des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> circulants concorde avec l'idée d'une recirculation de ces cellules à partir de compartiments tissulaires tels que l'intestin. Nous avons, dans les deux parties de ce travail, proposé que les cellules circulantes ayant un phénotype CD103<sup>+</sup> (marqueur de résidence tissulaire, notamment intestinal), et  $\beta$ <sub>7</sub><sup>high</sup> (intégrine permettant l'extravasation des cellules à travers l'endothélium

intestinal) puissent correspondre à des cellules ex-T<sub>RM</sub> recirculantes d'origine intestinale, en nous basant sur les données existantes concernant les ex-T<sub>RM</sub> cutanés (Klicznik *et al.* 2019; Fonseca *et al.* 2020). Ces cellules à tropisme digestif étaient augmentées chez les PVVIH. S'il n'est pas possible de formellement distinguer des cellules à destinée intestinale de cellules recirculantes, ces données confortent néanmoins un lien entre les cellules expandues CD8 ou V $\delta$ <sub>1</sub> CX3CR1<sup>+</sup> et le compartiment intestinal. Nous avons pu mettre en évidence un enrichissement en cellules spécifiques du VIH-1 et du CMV dans les LT circulants CD103<sup>+</sup>  $\beta$ <sub>7</sub><sup>high</sup> à tropisme intestinal, ainsi que des corrélations entre ces populations et un moindre niveau du réservoir viral intestinal. Il reste délicat néanmoins d'extrapoler que la spécificité anti-virale des LT CD8 CX3CR1 circulants serait identique dans la même population intestinale. En complément des analyses réalisées après stimulation par des pools de peptides du VIH-1 et du CMV, nous prévoyons de réaliser des tests de confirmation par des dextramères spécifiques d'épitopes de Gag et Nef chez quelques PVVIH ayant des phénotypes HLA concordants. L'étude du répertoire TCR des cellules CX3CR1<sup>+</sup> circulantes et intestinales, en cours, pourra également permettre de mieux appréhender les phénomènes de recirculation de ces cellules. Les mécanismes sous-tendant la potentielle recirculation des lymphocytes CX3CR1 restent à élucider. Une modulation de l'axe CX3CL1/CX3CR1 pourrait être une hypothèse envisageable au vu des données existantes dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Sans *et al.* 2007; Kobayashi *et al.* 2007). L'expression de CX3CL1, au niveau de l'endothélium mais aussi de l'épithélium intestinal, participe en effet au recrutement des lymphocytes effecteurs, et pourrait également participer à leur rétention. Il pourrait être envisagée qu'un clivage accru de la chimiokine, notamment au niveau de l'épithélium, puisse supprimer un signal de rétention tissulaire et favoriser leur recirculation (Figure 40).

CX3CR1 a été récemment rapporté comme un marqueur de différenciation cellulaire, et dont le niveau d'expression pourrait être un reflet du continuum de différenciation vers un phénotype effecteur mémoire terminal, mais aussi du type de réponse associée (Zwijnenburg *et al.* 2023). Nous retrouvons de façon concordante qu'au cours de l'infection par le VIH-1, les cellules CX3CR1<sup>hi</sup> présentent le phénotype le plus cytotoxique, et sont par ailleurs les plus enrichies en cellules spécifiques du VIH-1. Cependant, nos données suggèrent également que CX3CR1 ne serait pas uniquement un marqueur de cellule effectrice mais également un récepteur directement impliqué dans la modulation de la réponse effectrice, par les multiples mécanismes pouvant réguler de façon commune le recrutement de lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> en influant sur l'expression et le clivage de CX3CL1. Outre leur tropisme pour les épithéliums, notamment intestinal, les lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> contribuent également à assurer l'immuno-

surveillance endothéliale, où est fortement exprimée la fractalkine, en particulier contre le CMV capable de se répliquer à ce niveau.

Si les lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> semblent avoir plutôt un phénotype effecteur et pro-inflammatoire, les macrophages CX3CR1<sup>+</sup> semblent eux avoir au contraire un profil plutôt immuno-régulateur, suggérant une régulation fine de l'axe CX3CL1-CX3CR1 entre cellules myéloïdes et lymphoïdes dans les tissus.



**Figure 40. Hypothèses restant à explorer sur la modulation de l'axe de chimiotactisme CX3CL1/CX3CR1 au cours de l'infection par le VIH-1.** Nous avons pu mettre en évidence une augmentation du clivage épithélial intestinal de CX3CL1 et une augmentation de la forme soluble dans le plasma au cours de l'infection par le VIH-1. L'expression de CX3CL1 au niveau épithélial est par ailleurs induite par certaines cytokines telle que l'IFN- $\gamma$ . Nous n'avons en revanche pas retrouvé d'induction des enzymes ADAM10 ou ADAM17 au niveau des cellules épithéliales intestinales *in vivo*, bien qu'elles puissent être induites par le VIH-1 et le CMV *in vitro*. L'enzyme responsable de ce clivage altéré reste donc à identifier. Son induction pourrait être directement, ou indirectement lié à l'infection par le VIH-1. L'effet de ce clivage sur le chimiotactisme et la rétention des cellules CX3CR1<sup>+</sup> au niveau intestinal reste également à élucider.

# **CONCLUSION & PERSPECTIVES**

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis de mettre en évidence une association entre la fréquence des lymphocytes T CD8 et V $\delta$ <sub>1</sub> CX3CR1<sup>+</sup>, ainsi que leurs propriétés effectrices notamment cytotoxiques, et un moindre niveau du réservoir viral du VIH-1, en particulier au niveau tissulaire, dans le compartiment intestinal. Ces résultats pourraient donc suggérer un rôle de ces populations effectrices dans la lutte contre les cellules infectées par le VIH, en particulier dans la muqueuse intestinale. L'expansion de cette population semble avoir de nombreux déterminants en sus du VIH-1 lui-même, en particulier la réplication résiduelle du CMV et la dysbiose intestinale que l'on retrouve chez les PVVIH du fait de l'altération de la barrière immunitaire muqueuse intestinale (atteinte de l'intégrité de l'épithélium, lymphopénie CD4 muqueuse, translocation microbienne persistante). L'inflammation persistante du microenvironnement intestinal chez les PVVIH pourrait impacter l'axe de chimiotactisme CX3CR1/CX3CL1 en modulant l'expression de la fractalkine au niveau intestinal, notamment au niveau de son épithélium, et son clivage par des protéases tissulaires. La modulation de l'expression membranaire ou soluble de CX3CL1 est ensuite susceptible d'impacter le recrutement et la rétention des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> au niveau tissulaire, mais également au niveau systémique en favorisant l'expansion et la recirculation de ces cellules dans le sang. Nos données suggèrent que l'intestin pourrait être un compartiment clé à la fois comme site d'induction des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup>, mais également comme tissu cible de ces cellules effectrices dans le contexte de persistance du VIH-1 sous ARV.

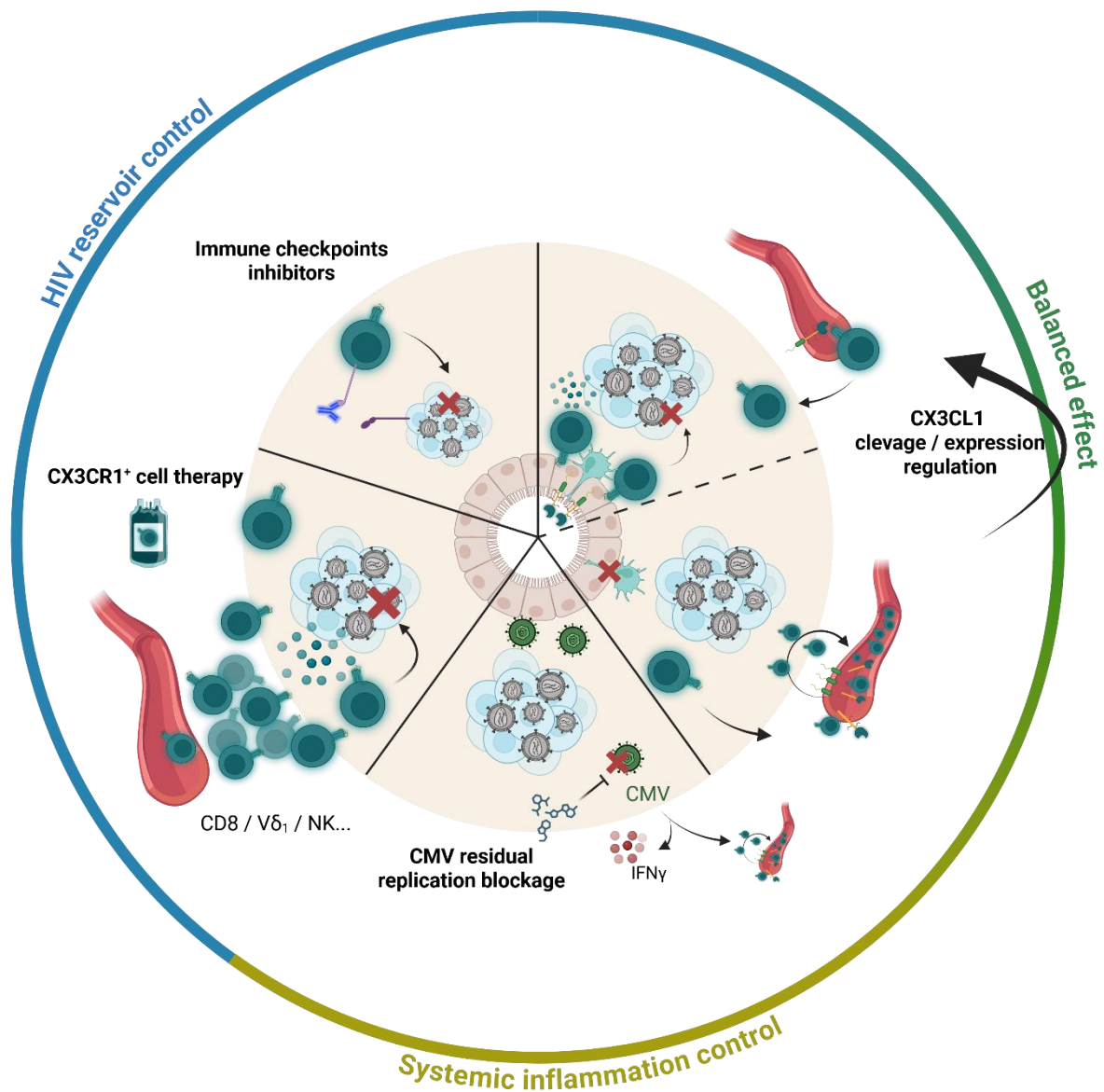
La persistance du VIH-1 dans des sites sanctuaires est l'une des clés du rebond viral en cas d'arrêt de traitement ARV. Une meilleure compréhension des réservoirs viraux et des mécanismes permettant leur contrôle est donc cruciale afin d'envisager des stratégies de guérison fonctionnelle de l'infection par le VIH (Figure 41). Les lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> pourraient être des candidats potentiels pour des stratégies d'immunothérapie visant à optimiser la réponse immunitaire effectrice antivirale, en particulier dans les tissus. Ils pourraient ainsi être utilisés pour le volet « kill » des stratégies « shock and kill » pour éliminer les cellules infectées après réactivation du réservoir viral latent. L'utilisation thérapeutique de la réponse effectrice médiée par les lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> pourrait se faire d'une part dans le cadre de stratégies de thérapie cellulaire, par apport direct de cellules cytotoxiques exprimant CX3CR1, ou en stimulant ces cellules directement in vivo, par exemple au moyen d'inhibiteurs de checkpoints immunitaires pouvant activer les cellules qui subiraient les phénomènes d'épuisement induits par le microenvironnement, ou en améliorant leur recrutement et leur localisation au plus près des cellules réservoirs au moyen d'une modulation de l'expression de CX3CL1. Ces cellules hautement cytotoxiques présentent des propriétés

intéressantes au-delà de l'infection par le VIH-1 et sont actuellement à l'étude en oncologie pour améliorer la réponse antitumorale et l'accès à la tumeur, notamment avec le développement de nouvelles générations de CAR-T cells (Trinh *et al.* 2023).

Dans ce cadre, d'autres populations cellulaires effectrices exprimant CX3CR1 pourraient participer à ces stratégies d'immunothérapie, notamment les lymphocytes NK, et de futures études pourraient s'intéresser à leur recrutement dans les compartiments tissulaires et leurs propriétés fonctionnelles, notamment dans le cadre de l'infection par le VIH-1. Une meilleure compréhension des cellules réservoirs du VIH-1 sera également nécessaire, afin d'améliorer le ciblage de celles-ci, ainsi que la réversion de leur latence. Enfin, les propriétés des cellules résidentes mémoires semblent primordiales pour assurer une réponse immunitaire tissulaire efficace mais pourraient également être en elles-mêmes un siège du réservoir viral (Cantero-Pérez *et al.* 2019). L'effet de l'infection par le VIH-1 sur la déplétion des T<sub>RM</sub> et les mécanismes favorisant leur reconstitution sera ainsi un enjeu important dans les stratégies thérapeutiques futures. Dans tous les cas, les thérapies cellulaires ciblant le VIH-1 devront prendre en compte les spécificités du microenvironnement tissulaire et notamment intestinal, inflammatoire, dysbiotique, et pouvant induire une perte de fonction des cellules effectrices.

Si la réponse immunitaire effectrice des cellules exprimant CX3CR1 semble intéressante sur des stratégies à court terme, ces cellules pro-inflammatoires restent expandues dans la circulation de façon chronique, et pourraient participer à l'inflammation systémique favorisant notamment, de par leur tropisme vasculaire, les effets délétères cardio-vasculaires observés chez les PvVIH à long terme. Un autre axe de modulation de ces cellules pourrait donc viser à prévenir leur expansion chronique dans la circulation, afin d'améliorer le vieillissement en bonne santé des PvVIH. Le contrôle de la réplication résiduelle du CMV, qui semble participer à l'activation et l'accumulation de ces cellules dans le sang, est l'un des axes actuellement à l'étude pour limiter cette expansion, mais d'autres pistes telles que la modulation de l'expression et du clivage de CX3CL1 pourraient être des alternatives à considérer.

Ces travaux contribuent donc à mettre en évidence l'importance du compartiment intestinal à la fois comme un siège de réservoir viral, et une source de réponse immunitaire effectrice, mais aussi d'inflammation systémique devant s'équilibrer entre elles, et qui seront à prendre en compte dans l'objectif d'une rémission prolongée de l'infection par le VIH-1.



**Figure 41. Interventions thérapeutiques hypothétiques pour la modulation de l'axe CX3CR1/CX3CL1 au cours de l'infection par le VIH-1.** Parmi les interventions thérapeutiques modulant l'axe de chimiotactisme CX3CR1/CX3CL1 imaginables au cours de l'infection par le VIH-1, certaines pourraient participer à un meilleur contrôle de l'infection par une action antivirale dirigée vers les réservoirs tissulaires, notamment intestinaux : l'administration de thérapie cellulaire à base de lymphocytes CD8, Vδ<sub>1</sub> ou NK surexprimant CX3CR1 pourrait permettre un meilleur adressage de cellules au potentiel antiviral vers certains tissus réservoirs ; les cellules effectrices exprimant CX3CR1 pourraient également être mieux activées directement *in situ* par l'utilisation d'inhibiteurs de checkpoints immunitaires ciblant ceux exprimés en particulier par cette population. D'autres interventions pourraient viser à réguler les effets inflammatoires systémiques des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup>, notamment en ciblant la réplication résiduelle du CMV qui participe à l'activation et l'expansion de ces cellules. Enfin, la régulation de l'expression et du clivage de CX3CL1 pourrait avoir des effets mixtes, la migration des cellules CX3CR1<sup>+</sup> dépendant d'un équilibre du niveau de clivage pour être optimale. Un clivage excessif pourrait au cours de l'infection par le VIH-1 amener à une perte de rétention des lymphocytes CX3CR1<sup>+</sup> résidents mémoires, présentant un potentiel antiviral plus important, et une recirculation des cellules tissulaires entraînant une expansion de ces cellules dans la circulation. Des modulateurs de ce clivage pourraient contribuer à une meilleure migration et rétention des cellules mémoires.

# REFERENCES

- Abana C.O., Pilkinton M.A., Gaudieri S., Chopra A., McDonnell W.J., Wanjalla C., Barnett L., Gangula R., Hager C., Jung D.K., Engelhardt B.G., Jagasia M.H., Klenerman P., Phillips E.J., Koelle D.M., Kalams S.A. & Mallal S.A. 2017. — Cytomegalovirus (CMV) Epitope-Specific CD4+ T Cells Are Inflated in HIV+ CMV+ Subjects. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 199 (9): 3187–3201. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700851>
- Abreu M.T. 2010. — Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews. Immunology* 10 (2): 131–144. <https://doi.org/10.1038/nri2707>
- Adams D.H. & Eksteen B. 2006. — Aberrant homing of mucosal T cells and extra-intestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology* 6 (3): 244–251. <https://doi.org/10.1038/nri1784>
- Agosto L.M., Herring M.B., Mothes W. & Henderson A.J. 2018. — HIV-1-Infected CD4+ T Cells Facilitate Latent Infection of Resting CD4+ T Cells through Cell-Cell Contact. *Cell Reports* 24 (8): 2088–2100. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.079>
- Akhtar S., Sagar K., Roy A., Hote M.P., Arava S. & Sharma A. 2024. — CCR5-mediated homing of regulatory T cells and monocytic-myeloid derived suppressor cells to dysfunctional endothelium contributes to early atherosclerosis. *Immunology* 173 (4): 712–729. <https://doi.org/10.1111/imm.13859>
- Alter G., Heckerman D., Schneidewind A., Fadda L., Kadie C.M., Carlson J.M., Oniangue-Ndza C., Martin M., Li B., Khakoo S.I., Carrington M., Allen T.M. & Altfeld M. 2011. — HIV-1 adaptation to NK cell mediated immune pressure. *Nature* 476 (7358): 96–100. <https://doi.org/10.1038/nature10237>
- Ananworanich J., Chomont N., Eller L.A., Kroon E., Tovanabutra S., Bose M., Nau M., Fletcher J.L.K., Tipsuk S., Vandergeeten C., O’Connell R.J., Pinyakorn S., Michael N., Phanuphak N. & Robb M.L. 2016. — HIV DNA Set Point is Rapidly Established in Acute HIV Infection and Dramatically Reduced by Early ART. *EBioMedicine* 11: 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.07.024>
- Ancuta P., Rao R., Moses A., Mehle A., Shaw S.K., Luscinskas F.W. & Gabuzda D. 2003. — Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. *The Journal of Experimental Medicine* 197 (12): 1701–1707. <https://doi.org/10.1084/jem.20022156>
- Anderson A.C., Joller N. & Kuchroo V.K. 2016. — Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory Receptors with Specialized Functions in Immune Regulation. *Immunity* 44 (5): 989–1004. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.001>
- Apostolakis S. & Spandidos D. 2013. — Chemokines and atherosclerosis: focus on the CX3CL1/CX3CR1 pathway. *Acta Pharmacologica Sinica* 34 (10): 1251–1256. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.92>
- Appay V. & Sauce D. 2008. — Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *The Journal of Pathology* 214 (2): 231–241. <https://doi.org/10.1002/path.2276>
- Appay V., Dunbar P.R., Callan M., Klenerman P., Gillespie G.M.A., Papagno L., Ogg G.S., King A., Lechner F., Spina C.A., Little S., Havlir D.V., Richman D.D., Gruener N., Pape G., Waters A., Easterbrook P., Salio M., Cerundolo V., McMichael A.J. & Rowland-Jones S.L. 2002. — Memory CD8+ T cells vary in differentiation phenotype in different persistent virus infections. *Nature Medicine* 8 (4): 379–385. <https://doi.org/10.1038/nm0402-379>

- Appay V. & Sauce D. 2017. — Assessing immune aging in HIV-infected patients. *Virulence* 8 (5): 529–538. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1195536>
- Armani-Tourret M., Gao C., Hartana C.A., Sun W., Carrere L., Vela L., Hochroth A., Bellefroid M., Sbrolla A., Shea K., Flynn T., Roseto I., Rassadkina Y., Lee C., Giguél F., Malhotra R., Bushman F.D., Gandhi R.T., Yu X.G., Kuritzkes D.R. & Lichterfeld M. 2024. — Selection of epigenetically privileged HIV-1 proviruses during treatment with panobinostat and interferon- $\alpha$ 2a. *Cell* 187 (5): 1238-1254.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.01.037>
- Autran B., Carcelain G., Li T.S., Blanc C., Mathez D., Tubiana R., Katlama C., Debré P. & Leibowitch J. 1997. — Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science (New York, N.Y.)* 277 (5322): 112–116. <https://doi.org/10.1126/science.277.5322.112>
- Avettand-Fènoël V., Hocqueloux L., Ghosn J., Cheret A., Frange P., Melard A., Viard J.-P. & Rouzioux C. 2016. — Total HIV-1 DNA, a Marker of Viral Reservoir Dynamics with Clinical Implications. *Clinical Microbiology Reviews* 29 (4): 859–880. <https://doi.org/10.1128/CMR.00015-16>
- Babendreyer A., Molls L., Drey Mueller D., Uhlig S. & Ludwig A. 2017. — Shear Stress Counteracts Endothelial CX3CL1 Induction and Monocytic Cell Adhesion. *Mediators of Inflammation* 2017: 1515389. <https://doi.org/10.1155/2017/1515389>
- Bailey J.R., Sedaghat A.R., Kieffer T., Brennan T., Lee P.K., Wind-Rotolo M., Haggerty C.M., Kamireddi A.R., Liu Y., Lee J., Persaud D., Gallant J.E., Cofrancesco J., Quinn T.C., Wilke C.O., Ray S.C., Siliciano J.D., Nettles R.E. & Siliciano R.F. 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): 6441–6457. <https://doi.org/10.1128/JVI.00591-06>
- Bain C.C., Bravo-Blas A., Scott C.L., Gomez Perdiguero E., Geissmann F., Henri S., Malissen B., Osborne L.C., Artis D. & Mowat A.M. 2014. — Constant replenishment from circulating monocytes maintains the macrophage pool in the intestine of adult mice. *Nature Immunology* 15 (10): 929–937. <https://doi.org/10.1038/ni.2967>
- Banga R., Procopio F.A., Ruggiero A., Noto A., Ohmiti K., Cavassini M., Corpataux J.-M., Paxton W.A., Pollakis G. & Perreau M. 2018. — Blood CXCR3+ CD4 T Cells Are Enriched in Inducible Replication Competent HIV in Aviremic Antiretroviral Therapy-Treated Individuals. *Frontiers in Immunology* 9: 144. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00144>
- Barber G.N. 2001. — Host defense, viruses and apoptosis. *Cell Death and Differentiation* 8 (2): 113–126. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400823>
- Barlic J., McDermott D.H., Merrell M.N., Gonzales J., Via L.E. & Murphy P.M. 2004. — Interleukin (IL)-15 and IL-2 reciprocally regulate expression of the chemokine receptor CX3CR1 through selective NFAT1- and NFAT2-dependent mechanisms. *The Journal of Biological Chemistry* 279 (47): 48520–48534. <https://doi.org/10.1074/jbc.M406978200>
- Barré-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., Nugeyre M.T., Chamaret S., Gruest J., Dautet C., Axler-Blin C., Vézinet-Brun F., Rouzioux C., Rozenbaum W. & Montagnier L. 1983. — Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science (New York, N.Y.)* 220 (4599): 868–871. <https://doi.org/10.1126/science.6189183>

- Barton K., Winckelmann A. & Palmer S. 2016. — HIV-1 Reservoirs During Suppressive Therapy. *Trends in Microbiology* 24 (5): 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.006>
- Batista N.V., Chang Y.-H., Chu K.-L., Wang K.C., Girard M. & Watts T.H. 2020. — T Cell–Intrinsic CX3CR1 Marks the Most Differentiated Effector CD4+ T Cells, but Is Largely Dispensable for CD4+ T Cell Responses during Chronic Viral Infection. *ImmunoHorizons* 4 (11): 701–712. <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.2000059>
- Baxter A.E., Russell R.A., Duncan C.J.A., Moore M.D., Willberg C.B., Pablos J.L., Finzi A., Kaufmann D.E., Ochsensbauer C., Kappes J.C., Groot F. & Sattentau Q.J. 2014. — Macrophage infection via selective capture of HIV-1-infected CD4+ T cells. *Cell Host & Microbe* 16 (6): 711–721. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.10.010>
- Bazan J.F., Bacon K.B., Hardiman G., Wang W., Soo K., Rossi D., Greaves D.R., Zlotnik A. & Schall T.J. 1997. — A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* 385 (6617): 640–644. <https://doi.org/10.1038/385640a0>
- Belkina A.C., Starchenko A., Drake K.A., Proctor E.A., Pihl R.M.F., Olson A., Lauffenburger D.A., Lin N. & Snyder-Cappione J.E. 2018. — Multivariate Computational Analysis of Gamma Delta T Cell Inhibitory Receptor Signatures Reveals the Divergence of Healthy and ART-Suppressed HIV+ Aging. *Frontiers in Immunology* 9: 2783. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02783>
- Benaroch P., Billard E., Gaudin R., Schindler M. & Jouve M. 2010. — HIV-1 assembly in macrophages. *Retrovirology* 7: 29. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-29>
- Bendelac A., Killeen N., Littman D.R. & Schwartz R.H. 1994. — A subset of CD4+ thymocytes selected by MHC class I molecules. *Science (New York, N.Y.)* 263 (5154): 1774–1778. <https://doi.org/10.1126/science.7907820>
- Bensch B., Johnson A.L., Kurachi M., Odorizzi P.M., Pauken K.E., Attanasio J., Stelekati E., McLane L.M., Paley M.A., Delgoffe G.M. & Wherry E.J. 2016. — Bioenergetic Insufficiencies Due to Metabolic Alterations Regulated by the Inhibitory Receptor PD-1 Are an Early Driver of CD8(+) T Cell Exhaustion. *Immunity* 45 (2): 358–373. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.07.008>
- Bennasser Y., Le S.-Y., Benkirane M. & Jeang K.-T. 2005. — Evidence that HIV-1 encodes an siRNA and a suppressor of RNA silencing. *Immunity* 22 (5): 607–619. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.03.010>
- Berger E.A., Doms R.W., Fenyö E.M., Korber B.T., Littman D.R., Moore J.P., Sattentau Q.J., Schuitemaker H., Sodroski J. & Weiss R.A. 1998. — A new classification for HIV-1. *Nature* 391 (6664): 240. <https://doi.org/10.1038/34571>
- Bertagnolli L.N., Varriale J., Sweet S., Brockhurst J., Simonetti F.R., White J., Beg S., Lynn K., Mounzer K., Frank I., Tebas P., Bar K.J., Montaner L.J., Siliciano R.F. & Siliciano J.D. 2020. — Autologous IgG antibodies block outgrowth of a substantial but variable fraction of viruses in the latent reservoir for HIV-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (50): 32066–32077. <https://doi.org/10.1073/pnas.2020617117>
- Betts M.R., Nason M.C., West S.M., De Rosa S.C., Migueles S.A., Abraham J., Lederman M.M., Benito J.M., Goepfert P.A., Connors M., Roederer M. & Koup R.A. 2006. — HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T cells. *Blood* 107 (12): 4781–4789. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-12-4818>

- Biradar S., Lotze M.T. & Mailliard R.B. 2020. — The Unknown Unknowns: Recovering Gamma-Delta T Cells for Control of Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Viruses* 12 (12): 1455. <https://doi.org/10.3390/v12121455>
- Blackard J.T. 2012. — HIV compartmentalization: a review on a clinically important phenomenon. *Current HIV research* 10 (2): 133–142. <https://doi.org/10.2174/157016212799937245>
- Blanchet F.P., Moris A., Nikolic D.S., Lehmann M., Cardinaud S., Stalder R., Garcia E., Dinkins C., Leuba F., Wu L., Schwartz O., Deretic V. & Piguet V. 2010. — Human immunodeficiency virus-1 inhibition of immunoamphisomes in dendritic cells impairs early innate and adaptive immune responses. *Immunity* 32 (5): 654–669. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.04.011>
- Blazkova J., Trejbalova K., Gondois-Rey F., Halfon P., Philibert P., Guiguen A., Verdin E., Olive D., Van Lint C., Hejnar J. & Hirsch I. 2009. — CpG methylation controls reactivation of HIV from latency. *PLoS pathogens* 5 (8): e1000554. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000554>
- Böhnlein E., Lowenthal J.W., Siekevitz M., Ballard D.W., Franza B.R. & Greene W.C. 1988. — The same inducible nuclear proteins regulates mitogen activation of both the interleukin-2 receptor-alpha gene and type 1 HIV. *Cell* 53 (5): 827–836. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90099-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90099-2)
- Boismenu R. & Havran W.L. 1994. — Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells. *Science (New York, N.Y.)* 266 (5188): 1253–1255. <https://doi.org/10.1126/science.7973709>
- Bolik J., Krause F., Stevanovic M., Gandraß M., Thomsen I., Schacht S.-S., Rieser E., Müller M., Schumacher N., Fritsch J., Wichert R., Galun E., Bergmann J., Röder C., Schafmayer C., Egberts J.-H., Becker-Pauly C., Saftig P., Lucius R., Schneider-Brachert W., Barikbin R., Adam D., Voss M., Hitzl W., Krüger A., Strilic B., Sagi I., Walczak H., Rose-John S. & Schmidt-Arras D. 2021. — Inhibition of ADAM17 impairs endothelial cell necroptosis and blocks metastasis. *Journal of Experimental Medicine* 219 (1): e20201039. <https://doi.org/10.1084/jem.20201039>
- Borgognone A., Noguera-Julian M., Oriol B., Noël-Romas L., Ruiz-Riol M., Guillén Y., Parera M., Casadellà M., Duran C., Puertas M.C., Català-Moll F., De Leon M., Knodel S., Birse K., Manzardo C., Miró J.M., Clotet B., Martínez-Picado J., Moltó J., Mothe B., Burgener A., Brander C., Paredes R., Benet S., Brander C., Cedeño S., Clotet B., Coll P., Llano A., Martínez-Picado J., Marszalek M., Morón-López S., Mothe B., Paredes R., Puertas M.C., Rosás-Umbert M., Ruiz-Riol M., Escrig R., Gel S., López M., Miranda C., Moltó J., Muñoz J., Perez-Alvarez N., Puig J., Revollo B., Toro J., Barriocanal A.M., Perez-Reche C., Farré M., Valle M., Manzardo C., Ambrosioni J., Ruiz I., Rovira C., Hurtado C., Ligeró C., Fernández E., Sánchez-Palomino S., Miró J.M., Carrillo A., Meulbroek M., Pujol F., Saz J., Borthwick N., Crook A., Wee E.G., Hanke T., & The BCN02 Study Group 2022. — Gut microbiome signatures linked to HIV-1 reservoir size and viremia control. *Microbiome* 10 (1): 59. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01247-6>
- Borrow P., Lewicki H., Wei X., Horwitz M.S., Peffer N., Meyers H., Nelson J.A., Gairin J.E., Hahn B.H., Oldstone M.B.A. & Shaw G.M. 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): 205–211. <https://doi.org/10.1038/nm0297-205>
- Böttcher J.P., Beyer M., Meissner F., Abdullah Z., Sander J., Höchst B., Eickhoff S., Rieckmann J.C., Russo C., Bauer T., Flecken T., Giesen D., Engel D., Jung S., Busch D.H., Protzer U., Thimme R., Mann M., Kurts C., Schultze J.L., Kastenmüller W. & Knolle P.A. 2015. — Functional classification of memory CD8+ T cells by CX3CR1 expression. *Nature Communications* 6 (1): 8306. <https://doi.org/10.1038/ncomms9306>

- Bourd-Boittin K., Basset L., Bonnier D., L'helgoualc'h A., Samson M. & Théret N. 2009. — CX3CL1/fractalkine shedding by human hepatic stellate cells: contribution to chronic inflammation in the liver. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 13 (8A): 1526–1535. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00787.x>
- Boyette L.B., Macedo C., Hadi K., Elinoff B.D., Walters J.T., Ramaswami B., Chalasani G., Taboas J.M., Lakkis F.G. & Metes D.M. 2017. — Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS One* 12 (4): e0176460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176460>
- Braathen L.R., Ramirez G., Kunze R.O.F. & Gelderblom H. 1987. — Langerhans cells as primary target cells for HIV infection. *The Lancet* 330 (8567): 1094. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)91526-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)91526-1)
- Bracq L., Xie M., Benichou S. & Bouchet J. 2018. — Mechanisms for Cell-to-Cell Transmission of HIV-1. *Frontiers in Immunology* 9: 260. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00260>
- Brenchley J.M., Paiardini M., Knox K.S., Asher A.I., Cervasi B., Asher T.E., Scheinberg P., Price D.A., Hage C.A., Kholi L.M., Khoruts A., Frank I., Else J., Schacker T., Silvestri G. & Douek D.C. 2008. — Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. *Blood* 112 (7): 2826–2835. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-159301>
- Brenchley J.M., Price D.A., Schacker T.W., Asher T.E., Silvestri G., Rao S., Kazzaz Z., Bornstein E., Lambotte O., Altmann D., Blazar B.R., Rodriguez B., Teixeira-Johnson L., Landay A., Martin J.N., Hecht F.M., Picker L.J., Lederman M.M., Deeks S.G. & Douek D.C. 2006. — Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine* 12 (12): 1365–1371. <https://doi.org/10.1038/nm1511>
- Brenchley J.M., Price D.A., Schacker T.W., Asher T.E., Silvestri G., Rao S., Kazzaz Z., Bornstein E., Lambotte O., Altmann D., Blazar B.R., Rodriguez B., Teixeira-Johnson L., Landay A., Martin J.N., Hecht F.M., Picker L.J., Lederman M.M., Deeks S.G. & Douek D.C. 2006. — Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine* 12 (12): 1365–1371. <https://doi.org/10.1038/nm1511>
- Brenchley J.M., Schacker T.W., Ruff L.E., Price D.A., Taylor J.H., Beilman G.J., Nguyen P.L., Khoruts A., Larson M., Haase A.T. & Douek D.C. 2004. — CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *The Journal of Experimental Medicine* 200 (6): 749–759. <https://doi.org/10.1084/jem.20040874>
- Brown D. & Mattapallil J.J. 2014. — Gastrointestinal tract and the mucosal macrophage reservoir in HIV infection. *Clinical and vaccine immunology: CVI* 21 (11): 1469–1473. <https://doi.org/10.1128/CVI.00518-14>
- Bruner K.M., Murray A.J., Pollack R.A., Soliman M.G., Laskey S.B., Capoferri A.A., Lai J., Strain M.C., Lada S.M., Hoh R., Ho Y.-C., Richman D.D., Deeks S.G., Siliciano J.D. & Siliciano R.F. 2016. — Defective proviruses rapidly accumulate during acute HIV-1 infection. *Nature Medicine* 22 (9): 1043–1049. <https://doi.org/10.1038/nm.4156>
- Bruner K.M., Wang Z., Simonetti F.R., Bender A.M., Kwon K.J., Sengupta S., Fray E.J., Beg S.A., Antar A.A.R., Jenike K.M., Bertagnoli L.N., Capoferri A.A., Kufera J.T., Timmons A., Nobles C., Gregg J., Wada N., Ho Y.-C., Zhang H., Margolick J.B., Blankson J.N., Deeks S.G., Bushman F.D., Siliciano J.D., Laird G.M. & Siliciano R.F. 2019. — A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses. *Nature* 566 (7742): 120–125. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0898-8>

- Buisson S., Benlahrech A., Gazzard B., Gotch F., Kelleher P. & Patterson S. 2009. — Monocyte-derived dendritic cells from HIV type 1-infected individuals show reduced ability to stimulate T cells and have altered production of interleukin (IL)-12 and IL-10. *The Journal of Infectious Diseases* 199 (12): 1862–1871. <https://doi.org/10.1086/599122>
- Buzon M.J., Sun H., Li C., Shaw A., Seiss K., Ouyang Z., Martin-Gayo E., Leng J., Henrich T.J., Li J.Z., Pereyra F., Zurakowski R., Walker B.D., Rosenberg E.S., Yu X.G. & Lichterfeld M. 2014. — HIV-1 persistence in CD4+ T cells with stem cell-like properties. *Nature Medicine* 20 (2): 139–142. <https://doi.org/10.1038/nm.3445>
- Caby F., Guihot A., Lambert-Niclot S., Guiguet M., Boutolleau D., Agher R., Valantin M.-A., Tubiana R., Calvez V., Marcelin A.-G., Carcelain G., Autran B., Costagliola D. & Katlama C. 2016. — Determinants of a Low CD4/CD8 Ratio in HIV-1-Infected Individuals Despite Long-term Viral Suppression. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 62 (10): 1297–1303. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw076>
- Caligiuri M.A. 2008. — Human natural killer cells. *Blood* 112 (3): 461–469. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>
- Cambien B., Pomeranz M., Schmid-Antomarchi H., Millet M.-A., Breittmayer V., Rossi B. & Schmid-Alliana A. 2001. — Signal transduction pathways involved in soluble fractalkine-induced monocytic cell adhesion. *Blood* 97 (7): 2031–2037. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.7.2031>
- Camodeca C., Cuffaro D., Nuti E. & Rossello A. 2019. — ADAM Metalloproteinases as Potential Drug Targets. *Current Medicinal Chemistry* 26 (15): 2661–2689. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180326164104>
- Campbell J.H., Hearps A.C., Martin G.E., Williams K.C. & Crowe S.M. 2014. — The importance of monocytes and macrophages in HIV pathogenesis, treatment, and cure. *AIDS (London, England)* 28 (15): 2175–2187. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000408>
- Campbell J.H., Hearps A.C., Martin G.E., Williams K.C. & Crowe S.M. 2014. — The importance of monocytes and macrophages in HIV pathogenesis, treatment, and cure. *AIDS (London, England)* 28 (15): 2175–2187. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000408>
- Cantero-Pérez J., Grau-Expósito J., Serra-Peinado C., Rosero D.A., Luque-Ballesteros L., Astorga-Gamaza A., Castellví J., Sanhueza T., Tapia G., Lloveras B., Fernández M.A., Prado J.G., Solé-Sedeno J.M., Tarrats A., Lecumberri C., Mañalich-Barrachina L., Centeno-Mediavilla C., Falcó V., Buzon M.J. & Genescà M. 2019. — Resident memory T cells are a cellular reservoir for HIV in the cervical mucosa. *Nature Communications* 10 (1): 4739. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12732-2>
- Carrington M. & Alter G. 2012. — Innate Immune Control of HIV. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (7): a007070. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007070>
- Carriquí-Madroñal B., Sheldon J., Duven M., Stegmann C., Cirksena K., Wyler E., Zapatero-Belinchón F.J., Vondran F.W.R. & Gerold G. 2023. — The matrix metalloproteinase ADAM10 supports hepatitis C virus entry and cell-to-cell spread via its sheddase activity. *PLoS pathogens* 19 (11): e1011759. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011759>
- Cartwright E.K., Spicer L., Smith S.A., Lee D., Fast R., Paganini S., Lawson B.O., Nega M., Easley K., Schmitz J.E., Bosinger S.E., Paiardini M., Chahroudi A., Vanderford T.H., Estes J.D., Lifson J.D., Derdeyn C.A. & Silvestri G. 2016. — CD8(+) Lymphocytes Are Required for Maintaining Viral

- Suppression in SIV-Infected Macaques Treated with Short-Term Antiretroviral Therapy. *Immunity* 45 (3): 656–668. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.08.018>
- Castro C.D., Boughter C.T., Broughton A.E., Ramesh A. & Adams E.J. 2020. — Diversity in recognition and function of human  $\gamma\delta$  T cells. *Immunological Reviews* 298 (1): 134–152. <https://doi.org/10.1111/imr.12930>
- Cavarelli M., Foglieni C., Hantour N., Schorn T., Ferrazzano A., Dispinseri S., Desjardins D., Elmore U., Dereuddre-Bosquet N., Scarlatti G. & Le Grand R. 2022. — Identification of CX3CR1+ mononuclear phagocyte subsets involved in HIV-1 and SIV colorectal transmission. *iScience* 25 (6): 104346. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104346>
- Carboni C., Neri F., Casartelli N., Zingoni A., Cosman D., Rossi P., Santoni A. & Doria M. 2007. — Human immunodeficiency virus 1 Nef protein downmodulates the ligands of the activating receptor NKG2D and inhibits natural killer cell-mediated cytotoxicity. *The Journal of General Virology* 88 (Pt 1): 242–250. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82125-0>
- Chaillon A., Gianella S., Dellicour S., Rawlings S.A., Schlub T.E., De Oliveira M.F., Ignacio C., Porrachia M., Vrancken B. & Smith D.M. 2020. — HIV persists throughout deep tissues with repopulation from multiple anatomical sources. *The Journal of Clinical Investigation* 130 (4): 1699–1712. <https://doi.org/10.1172/JCI134815>
- Chakravorty S.J., Cockwell P., Girdlestone J., Brooks C.J. & Savage C.O.S. 2002. — Fractalkine expression on human renal tubular epithelial cells: potential role in mononuclear cell adhesion. *Clinical and Experimental Immunology* 129 (1): 150–159. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.01906.x>
- Chan S., Morgan B., Yong M.K., Margetts M., Farchione A.J., Lucas E.C., Godsell J., Giang N.A., Slade C.A., Von Borstel A., Bryant V.L. & Howson L.J. 2024. — Cytomegalovirus drives V $\delta$ 1+  $\gamma\delta$  T cell expansion and clonality in common variable immunodeficiency. *Nature Communications* 15 (1): 4286. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48527-3>
- Chandrasekar B., Mummidi S., Perla R.P., Bysani S., Dulin N.O., Liu F. & Melby P.C. 2003. — Fractalkine (CX3CL1) stimulated by nuclear factor kappaB (NF-kappaB)-dependent inflammatory signals induces aortic smooth muscle cell proliferation through an autocrine pathway. *The Biochemical Journal* 373 (Pt 2): 547–558. <https://doi.org/10.1042/BJ20030207>
- Chang Y.-H., Wang K.C., Chu K.-L., Clouthier D.L., Tran A.T., Perez M.S.T., Zhou A.C., Abdul-Sater A.A. & Watts T.H. 2017. — Dichotomous Expression of TNF Superfamily Ligands on Antigen-Presenting Cells Controls Post-priming Anti-viral CD4+ T Cell Immunity. *Immunity* 47 (5): 943–958.e9. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.10.014>
- Chen B., Morris S.R., Panigrahi S., Michaelson G.M., Wyrick J.M., Komissarov A.A., Potashnikova D., Lebedeva A., Younes S.-A., Harth K., Kashyap V.S., Vasilieva E., Margolis L., Zidar D.A., Sieg S.F., Shive C.L., Funderburg N.T., Gianella S., Lederman M.M. & Freeman M.L. 2020. — Cytomegalovirus Coinfection Is Associated with Increased Vascular-Homing CD57+ CD4 T Cells in HIV Infection. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 204 (10): 2722–2733. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900734>
- Cheynier R., Henrichwark S., Hadida F., Pelletier E., Oksenhendler E., Autran B. & Wain-Hobson S. 1994. — HIV and T cell expansion in splenic white pulps is accompanied by infiltration of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes. *Cell* 78 (3): 373–387. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90417-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90417-0)

- Chomont N., El-Far M., Ancuta P., Trautmann L., Procopio F.A., Yassine-Diab B., Boucher G., Boulassel M.-R., Ghattas G., Brenchley J.M., Schacker T.W., Hill B.J., Douek D.C., Routy J.-P., Haddad E.K. & Sékaly R.-P. 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>
- Chomont N., El-Far M., Ancuta P., Trautmann L., Procopio F.A., Yassine-Diab B., Boucher G., Boulassel M.-R., Ghattas G., Brenchley J.M., Schacker T.W., Hill B.J., Douek D.C., Routy J.-P., Haddad E.K. & Sékaly R.-P. 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>
- Chun T.W., Carruth L., Finzi D., Shen X., DiGiuseppe J.A., Taylor H., Hermankova M., Chadwick K., Margolick J., Quinn T.C., Kuo Y.H., Brookmeyer R., Zeiger M.A., Barditch-Crovo P. & Siliciano R.F. 1997. — Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 387 (6629): 183–188. <https://doi.org/10.1038/387183a0>
- Chun T.-W., Finzi D., Margolick J., Chadwick K., Schwartz D. & Siliciano R.F. 1995. — In vivo fate of HIV-1-infected T cells: Quantitative analysis of the transition to stable latency. *Nature Medicine* 1 (12): 1284–1290. <https://doi.org/10.1038/nm1295-1284>
- Chun T.-W., Nickle D.C., Justement J.S., Meyers J.H., Roby G., Hallahan C.W., Kottlilil S., Moir S., Mican J.M., Mullins J.I., Ward D.J., Kovacs J.A., Mannon P.J. & Fauci A.S. 2008. — Persistence of HIV in gut-associated lymphoid tissue despite long-term antiretroviral therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 197 (5): 714–720. <https://doi.org/10.1086/527324>
- Cimini E., Agrati C., D’Offizi G., Vlassi C., Casetti R., Sacchi A., Lionetti R., Bordoni V., Tumino N., Scognamiglio P. & Martini F. 2015. — Primary and Chronic HIV Infection Differently Modulates Mucosal V $\delta$ 1 and V $\delta$ 2 T-Cells Differentiation Profile and Effector Functions, in Eberl M. (ed.). *PLOS ONE* 10 (6): e0129771. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129771>
- Clark A.K., Yip P.K. & Malcangio M. 2009. — The liberation of fractalkine in the dorsal horn requires microglial cathepsin S. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (21): 6945–6954. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0828-09.2009>
- Clark I.C., Mudvari P., Thaploo S., Smith S., Abu-Laban M., Hamouda M., Theberge M., Shah S., Ko S.H., Pérez L., Bunis D.G., Lee J.S., Kilam D., Zakaria S., Choi S., Darko S., Henry A.R., Wheeler M.A., Hoh R., Butrus S., Deeks S.G., Quintana F.J., Douek D.C., Abate A.R. & Boritz E.A. 2023. — HIV silencing and cell survival signatures in infected T cell reservoirs. *Nature* 614 (7947): 318–325. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05556-6>
- Clavel F., Guyader M., Guétard D., Sallé M., Montagnier L. & Alizon M. 1986. — Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* 324 (6098): 691–695. <https://doi.org/10.1038/324691a0>
- Clayton K.L., Collins D.R., Lengieza J., Ghebremichael M., Dotiwala F., Lieberman J. & Walker B.D. 2018. — Resistance of HIV-infected macrophages to CD8+ T lymphocyte-mediated killing drives activation of the immune system. *Nature Immunology* 19 (5): 475–486. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0085-3>
- Cockwell P., Chakravorty S.J., Girdlestone J. & Savage C.O.S. 2002. — Fractalkine expression in human renal inflammation. *The Journal of Pathology* 196 (1): 85–90. <https://doi.org/10.1002/path.1010>
- Cohen M.S., Shaw G.M., McMichael A.J. & Haynes B.F. 2011. — Acute HIV-1 Infection. *New England Journal of Medicine* 364 (20): 1943–1954. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1011874>

- Cohn L.B., Chomont N. & Deeks S.G. 2020. — The Biology of the HIV-1 Latent Reservoir and Implications for Cure Strategies. *Cell Host & Microbe* 27 (4): 519–530. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.014>
- Coiras M., Bermejo M., Descours B., Mateos E., García-Pérez J., López-Huertas M.-R., Lederman M.M., Benkirane M. & Alcamí J. 2016. — IL-7 Induces SAMHD1 Phosphorylation in CD4+ T Lymphocytes, Improving Early Steps of HIV-1 Life Cycle. *Cell reports* 14 (9): 2100–2107. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.022>
- Colby D.J., Trautmann L., Pinyakorn S., Leyre L., Pagliuzza A., Kroon E., Rolland M., Takata H., Buranapraditkun S., Intasan J., Chomchey N., Muir R., Haddad E.K., Tovanabutra S., Ubolyam S., Bolton D.L., Fullmer B.A., Gorelick R.J., Fox L., Crowell T.A., Trichavaroj R., O’Connell R., Chomont N., Kim J.H., Michael N.L., Robb M.L., Phanuphak N., Ananworanich J., & RV411 study group 2018. — Rapid HIV RNA rebound after antiretroviral treatment interruption in persons durably suppressed in Fiebig I acute HIV infection. *Nature Medicine* 24 (7): 923–926. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0026-6>
- Colin L. & Van Lint C. 2009. — Molecular control of HIV-1 postintegration latency: implications for the development of new therapeutic strategies. *Retrovirology* 6: 111. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-111>
- Combadière B., Faure S., Autran B., Debré P. & Combadière C. 2003. — The chemokine receptor CX3CR1 controls homing and anti-viral potencies of CD8 effector-memory T lymphocytes in HIV-infected patients. *AIDS (London, England)* 17 (9): 1279–1290. <https://doi.org/10.1097/00002030-200306130-00002>
- Combadière C., Salzwedel K., Smith E.D., Tiffany H.L., Berger E.A. & Murphy P.M. 1998. — Identification of CX3CR1. A chemotactic receptor for the human CX3C chemokine fractalkine and a fusion coreceptor for HIV-1. *The Journal of Biological Chemistry* 273 (37): 23799–23804. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.37.23799>
- Crakes K.R. & Jiang G. 2019. — Gut Microbiome Alterations During HIV/SIV Infection: Implications for HIV Cure. *Frontiers in Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01104>
- Cribbs S.K., Lennox J., Caliendo A.M., Brown L.A. & Guidot D.M. 2015. — Healthy HIV-1-infected individuals on highly active antiretroviral therapy harbor HIV-1 in their alveolar macrophages. *AIDS research and human retroviruses* 31 (1): 64–70. <https://doi.org/10.1089/AID.2014.0133>
- Cuevas J.M., Geller R., Garijo R., López-Aldeguer J. & Sanjuán R. 2015. — Extremely High Mutation Rate of HIV-1 In Vivo. *PLoS biology* 13 (9): e1002251. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002251>
- D Urbano V., De Crignis E. & Re M.C. 2018. — Host Restriction Factors and Human Immunodeficiency Virus (HIV-1): A Dynamic Interplay Involving All Phases of the Viral Life Cycle. *Current HIV research* 16 (3): 184–207. <https://doi.org/10.2174/1570162X16666180817115830>
- Damàs J.K., Boullier A., Waehre T., Smith C., Sandberg W.J., Green S., Aukrust P. & Quehenberger O. 2005. — Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, is elevated in coronary artery disease and is reduced during statin therapy. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 25 (12): 2567–2572. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000190672.36490.7b>
- Dart R.J., Zlatareva I., Vantourout P., Theodoridis E., Amar A., Kannambath S., East P., Recaldin T., Mansfield J.C., Lamb C.A., Parkes M., Irving P.M., Prescott N.J. & Hayday A.C. 2023. — Conserved  $\gamma\delta$

- T cell selection by BTNL proteins limits progression of human inflammatory bowel disease. *Science (New York, N.Y.)* 381 (6663): eadh0301. <https://doi.org/10.1126/science.adh0301>
- Das A.T., Pasternak A.O. & Berkhout B. 2019. — On the generation of the MSD-Ψ class of defective HIV proviruses. *Retrovirology* 16 (1): 19. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0481-2>
- Daskou M., Mu W., Sharma M., Vasilopoulos H., Heymans R., Ritou E., Rezek V., Hamid P., Kossyvakis A., Sen Roy S., Grijalva V., Chattopadhyay A., Kitchen S.G., Fogelman A.M., Reddy S.T. & Kelesidis T. 2022. — ApoA-I mimetics reduce systemic and gut inflammation in chronic treated HIV. *PLoS pathogens* 18 (1): e1010160. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010160>
- Davey M.S., Willcox C.R., Baker A.T., Hunter S. & Willcox B.E. 2018. — Recasting Human Vδ1 Lymphocytes in an Adaptive Role. *Trends in Immunology* 39 (6): 446–459. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.03.003>
- Davey M.S., Willcox C.R., Joyce S.P., Ladell K., Kasatskaya S.A., McLaren J.E., Hunter S., Salim M., Mohammed F., Price D.A., Chudakov D.M. & Willcox B.E. 2017. — Clonal selection in the human Vδ1 T cell repertoire indicates γδ TCR-dependent adaptive immune surveillance. *Nature Communications* 8 (1): 14760. <https://doi.org/10.1038/ncomms14760>
- Day C.L., Kaufmann D.E., Kiepiela P., Brown J.A., Moodley E.S., Reddy S., Mackey E.W., Miller J.D., Leslie A.J., DePierres C., Mncube Z., Duraiswamy J., Zhu B., Eichbaum Q., Altfeld M., Wherry E.J., Coovadia H.M., Goulder P.J.R., Klenerman P., Ahmed R., Freeman G.J. & Walker B.D. 2006. — PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 443 (7109): 350–354. <https://doi.org/10.1038/nature05115>
- Déchanet J., Merville P., Lim A., Retière C., Pitard V., Lafarge X., Michelson S., Méric C., Hallet M.-M., Kourilsky P., Potaux L., Bonneville M. & Moreau J.-F. 1999. — Implication of γδ T cells in the human immune response to cytomegalovirus. *Journal of Clinical Investigation* 103 (10): 1437–1449
- Deiva K., Geeraerts T., Salim H., Leclerc P., Héry C., Hugel B., Freyssinet J.-M. & Tardieu M. 2004. — Fractalkine reduces N-methyl-d-aspartate-induced calcium flux and apoptosis in human neurons through extracellular signal-regulated kinase activation. *European Journal of Neuroscience* 20 (12): 3222–3232. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03800.x>
- Delobel P., Sandres-Sauné K., Cazabat M., L'Faqihi F.-E., Aquilina C., Obadia M., Pasquier C., Marchou B., Massip P. & Izopet J. 2005. — Persistence of distinct HIV-1 populations in blood monocytes and naive and memory CD4 T cells during prolonged suppressive HAART. *AIDS (London, England)* 19 (16): 1739–1750. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000183125.93958.26>
- Dharan A., Bachmann N., Talley S., Zwickelmaier V. & Campbell E.M. 2020. — Nuclear pore blockade reveals that HIV-1 completes reverse transcription and uncoating in the nucleus. *Nature Microbiology* 5 (9): 1088–1095. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0735-8>
- Dieffenbach C.W. & Fauci A.S. 2011. — Thirty years of HIV and AIDS: future challenges and opportunities. *Annals of Internal Medicine* 154 (11): 766–771. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-154-11-201106070-00345>
- Diehl G.E., Longman R.S., Zhang J.-X., Breart B., Galan C., Cuesta A., Schwab S.R. & Littman D.R. 2013. — Microbiota restricts trafficking of bacteria to mesenteric lymph nodes by CX(3)CR1(hi) cells. *Nature* 494 (7435): 116–120. <https://doi.org/10.1038/nature11809>

- Dillon S.M., Lee E.J., Kotter C.V., Austin G.L., Dong Z., Hecht D.K., Gianella S., Siewe B., Smith D.M., Landay A.L., Robertson C.E., Frank D.N. & Wilson C.C. 2014. — An altered intestinal mucosal microbiome in HIV-1 infection is associated with mucosal and systemic immune activation and endotoxemia. *Mucosal Immunology* 7 (4): 983–994. <https://doi.org/10.1038/mi.2013.116>
- Dinh D.M., Volpe G.E., Duffalo C., Bhalchandra S., Tai A.K., Kane A.V., Wanke C.A. & Ward H.D. 2015. — Intestinal microbiota, microbial translocation, and systemic inflammation in chronic HIV infection. *The Journal of Infectious Diseases* 211 (1): 19–27. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu409>
- Dinosa J.B., Kim S.Y., Wiegand A.M., Palmer S.E., Gange S.J., Cranmer L., O’Shea A., Callender M., Spivak A., Brennan T., Kearney M.F., Proschan M.A., Mican J.M., Rehm C.A., Coffin J.M., Mellors J.W., Siliciano R.F. & Maldarelli F. 2009. — Treatment intensification does not reduce residual HIV-1 viremia in patients on highly active antiretroviral therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (23): 9403–9408. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903107106>
- Dogra P., Rancan C., Ma W., Toth M., Senda T., Carpenter D.J., Kubota M., Matsumoto R., Thapa P., Szabo P.A., Li Poon M.M., Li J., Arakawa-Hoyt J., Shen Y., Fong L., Lanier L.L. & Farber D.L. 2020. — Tissue Determinants of Human NK Cell Development, Function, and Residence. *Cell* 180 (4): 749–763.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.022>
- Doisne J.-M., Urrutia A., Lacabaratz-Porret C., Goujard C., Meyer L., Chaix M.-L., Sinet M. & Venet A. 2004. — CD8+ T cells specific for EBV, cytomegalovirus, and influenza virus are activated during primary HIV infection. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 173 (4): 2410–2418. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.4.2410>
- Doitsh G., Galloway N.L., Geng X., Yang Z., Monroe K.M., Zepeda O., Hunt P.W., Hatano H., Sowinski S., Muñoz-Arias I. & Greene W.C. 2014. — Pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature* 505 (7484): 509–514. <https://doi.org/10.1038/nature12940>
- Dong L., Nordlohne J., Ge S., Hertel B., Melk A., Rong S., Haller H. & Von Vietinghoff S. 2016. — T Cell CX3CR1 Mediates Excess Atherosclerotic Inflammation in Renal Impairment. *Journal of the American Society of Nephrology* 27 (6): 1753. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015050540>
- Douek D.C., Brenchley J.M., Betts M.R., Ambrozak D.R., Hill B.J., Okamoto Y., Casazza J.P., Kuruppu J., Kunstman K., Wolinsky S., Grossman Z., Dybul M., Oxenius A., Price D.A., Connors M. & Koup R.A. 2002. — HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* 417 (6884): 95–98. <https://doi.org/10.1038/417095a>
- Drexhage L.Z., Zhang S., Dupont M., Ragaller F., Sjule E., Cabezas-Caballero J., Deimel L.P., Robertson H., Russell R.A., Dushek O., Sezgin E., Karaji N. & Sattentau Q.J. 2024. — Apoptosis-mediated ADAM10 activation removes a mucin barrier promoting T cell efferocytosis. *Nature Communications* 15 (1): 541. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44619-8>
- Dufour C., Richard C., Pardons M., Massanella M., Ackaoui A., Murrell B., Routy B., Thomas R., Routy J.-P., Fromentin R. & Chomont N. 2023. — Phenotypic characterization of single CD4+ T cells harboring genetically intact and inducible HIV genomes. *Nature Communications* 14 (1): 1115. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36772-x>
- Dufour C., Ruiz M.J., Pagliuzza A., Richard C., Shahid A., Fromentin R., Ponte R., Cattin A., Wiche Salinas T.R., Salahuddin S., Sandstrom T., Schinkel S.B., Costiniuk C.T., Jenabian M.-A., Ancuta P., Routy J.-P., Cohen É.A., Brumme Z.L., Power C., Angel J.B. & Chomont N. 2023. — Near full-length HIV sequencing in multiple tissues collected postmortem reveals shared clonal expansions across

distinct reservoirs during ART. *Cell Reports* 42 (9): 113053.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113053>

Duncan C.J.A., Russell R.A. & Sattentau Q.J. 2013. — High multiplicity HIV-1 cell-to-cell transmission from macrophages to CD4<sup>+</sup> T cells limits antiretroviral efficacy. *AIDS (London, England)* 27 (14): 2201–2206. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283632ec4>

Dutertre C.-A., Amraoui S., DeRosa A., Jourdain J.-P., Vimeux L., Goguet M., Degrelle S., Feuillet V., Liovat A.-S., Müller-Trutwin M., Decroix N., Deveau C., Meyer L., Goujard C., Loulergue P., Launay O., Richard Y. & Hosmalin A. 2012. — Pivotal role of M-DC8<sup>+</sup> monocytes from viremic HIV-infected patients in TNF $\alpha$  overproduction in response to microbial products. *Blood* 120 (11): 2259–2268. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-418681>

Einkauf K.B., Osborn M.R., Gao C., Sun W., Sun X., Lian X., Parsons E.M., Gladkov G.T., Seiger K.W., Blackmer J.E., Jiang C., Yukl S.A., Rosenberg E.S., Yu X.G. & Lichterfeld M. 2022. — Parallel analysis of transcription, integration, and sequence of single HIV-1 proviruses. *Cell* 185 (2): 266-282.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.011>

Eisele E. & Siliciano R.F. 2012. — Redefining the viral reservoirs that prevent HIV-1 eradication. *Immunity* 37 (3): 377–388. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.08.010>

Endsley M.A., Somasunderam A.D., Li G., Oezguen N., Thiviyanathan V., Murray J.L., Rubin D.H., Hodge T.W., O'Brien W.A., Lewis B. & Ferguson M.R. 2014. — Nuclear trafficking of the HIV-1 pre-integration complex depends on the ADAM10 intracellular domain. *Virology* 454–455: 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.02.006>

Engelman A. & Cherepanov P. 2012. — The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Nature Reviews. Microbiology* 10 (4): 279–290. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2747>

Epple H.-J., Schneider T., Troeger H., Kunkel D., Allers K., Moos V., Amasheh M., Loddenkemper C., Fromm M., Zeitz M. & Schulzke J.-D. 2009. — Impairment of the intestinal barrier is evident in untreated but absent in suppressively treated HIV-infected patients. *Gut* 58 (2): 220–227. <https://doi.org/10.1136/gut.2008.150425>

Essat A., Chapel A., Amokrane K., Monceaux V., Didier C., Melard A., Gardiennet E., Avettand-Fenoel V., Orr S., Boufassa F., Lambotte O., Müller-Trutwin M., Lécuroux C., Chéret A., Goujard C., Rouzioux C., Caillat-Zucman S., Hocqueloux L., Scott-Algara D., Meyer L., Sáez-Cirión A., ANRS PRIMO cohort, & VISCONTI study 2025. — A genetic fingerprint associated with durable HIV remission after interruption of antiretroviral treatment: ANRS VISCONTI/PRIMO. *Med (New York, N.Y.)*: 100670. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2025.100670>

Etemad B., Sun X., Li Y., Melberg M., Moisi D., Gottlieb R., Ahmed H., Aga E., Bosch R.J., Acosta E.P., Yuki Y., Martin M.P., Carrington M., Gandhi R.T., Jacobson J.M., Volberding P., Connick E., Mitsuyasu R., Frank I., Saag M., Eron J.J., Skiest D., Margolis D.M., Havlir D., Schooley R.T., Lederman M.M., Yu X.G. & Li J.Z. 2023. — HIV post-treatment controllers have distinct immunological and virological features. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 120 (11): e2218960120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2218960120>

Eugenin E.A., Gaskill P.J. & Berman J.W. 2009. — Tunneling nanotubes (TNT) are induced by HIV-infection of macrophages: a potential mechanism for intercellular HIV trafficking. *Cellular Immunology* 254 (2): 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2008.08.005>

- Evering T.H., Mehandru S., Racz P., Tenner-Racz K., Poles M.A., Figueroa A., Mohri H. & Markowitz M. 2012. — Absence of HIV-1 Evolution in the Gut-Associated Lymphoid Tissue from Patients on Combination Antiviral Therapy Initiated during Primary Infection. *PLOS Pathogens* 8 (2): e1002506. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002506>
- Fan Q., Gayen M., Singh N., Gao F., He W., Hu X., Tsai L.-H. & Yan R. 2019. — The intracellular domain of CX3CL1 regulates adult neurogenesis and Alzheimer's amyloid pathology. *The Journal of Experimental Medicine* 216 (8): 1891–1903. <https://doi.org/10.1084/jem.20182238>
- Farstad I.N., Carlsen H., Morton H.C. & Brandtzaeg P. 2000. — Immunoglobulin A cell distribution in the human small intestine: phenotypic and functional characteristics. *Immunology* 101 (3): 354–363. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00118.x>
- Faure S., Meyer L., Costagliola D., Vaneensberghe C., Genin E., Autran B., Delfraissy J.F., McDermott D.H., Murphy P.M., Debré P., Théodorou I. & Combadière C. 2000. — Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1. *Science (New York, N.Y.)* 287 (5461): 2274–2277. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2274>
- Fausther-Bovendo H., Wauquier N., Cherfils-Vicini J., Cremer I., Debré P. & Vieillard V. 2008. — NKG2C is a major triggering receptor involved in the V[delta]1 T cell-mediated cytotoxicity against HIV-infected CD4 T cells. *AIDS (London, England)* 22 (2): 217–226. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282f46e7c>
- Favre D., Lederer S., Kanwar B., Ma Z.-M., Proll S., Kasakow Z., Mold J., Swainson L., Barbour J.D., Baskin C.R., Palermo R., Pandrea I., Miller C.J., Katze M.G. & McCune J.M. 2009. — Critical Loss of the Balance between Th17 and T Regulatory Cell Populations in Pathogenic SIV Infection. *PLoS Pathogens* 5 (2): e1000295. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000295>
- Favre D., Mold J., Hunt P.W., Kanwar B., Loke P., Seu L., Barbour J.D., Lowe M.M., Jayawardene A., Aweeka F., Huang Y., Douek D.C., Brenchley J.M., Martin J.N., Hecht F.M., Deeks S.G. & McCune J.M. 2010. — Tryptophan catabolism by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 alters the balance of TH17 to regulatory T cells in HIV disease. *Science Translational Medicine* 2 (32): 32ra36. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000632>
- Fenwick C., Joo V., Jacquier P., Noto A., Banga R., Perreau M. & Pantaleo G. 2019. — T-cell exhaustion in HIV infection. *Immunological Reviews* 292 (1): 149–163. <https://doi.org/10.1111/jmr.12823>
- Ferguson A. 1977. — Intraepithelial lymphocytes of the small intestine. *Gut* 18 (11): 921–937. <https://doi.org/10.1136/gut.18.11.921>
- Field K.R., Wragg K.M., Kent S.J., Lee W.S. & Juno J.A. 2024. —  $\gamma\delta$  T cells mediate robust anti-HIV functions during antiretroviral therapy regardless of immune checkpoint expression. *Clinical & Translational Immunology* 13 (2): e1486. <https://doi.org/10.1002/cti2.1486>
- Finzi D., Hermankova M., Pierson T., Carruth L.M., Buck C., Chaisson R.E., Quinn T.C., Chadwick K., Margolick J., Brookmeyer R., Gallant J., Markowitz M., Ho D.D., Richman D.D. & Siliciano R.F. 1997. — Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science (New York, N.Y.)* 278 (5341): 1295–1300. <https://doi.org/10.1126/science.278.5341.1295>
- Fisher K., Schlub T.E., Boyer Z., Rasmussen T.A., Rhodes A., Hoh R., Hecht F.M., Deeks S.G., Lewin S.R. & Palmer S. 2023. — Unequal distribution of genetically-intact HIV-1 proviruses in cells expressing the immune checkpoint markers PD-1 and/or CTLA-4. *Frontiers in Immunology* 14: 1064346. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1064346>

- Fletcher C.V., Staskus K., Wietgreffe S.W., Rothenberger M., Reilly C., Chipman J.G., Beilman G.J., Khoruts A., Thorkelson A., Schmidt T.E., Anderson J., Perkey K., Stevenson M., Perelson A.S., Douek D.C., Haase A.T. & Schacker T.W. 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): 2307–2312. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318249111>
- Flierl U. & Schäfer A. 2012. — Fractalkine—a local inflammatory marker aggravating platelet activation at the vulnerable plaque. *Thrombosis and Haemostasis* 108 (3): 457–463. <https://doi.org/10.1160/TH12-04-0271>
- Fong A.M., Robinson L.A., Steeber D.A., Tedder T.F., Yoshie O., Imai T. & Patel D.D. 1998. — Fractalkine and CX3CR1 mediate a novel mechanism of leukocyte capture, firm adhesion, and activation under physiologic flow. *The Journal of Experimental Medicine* 188 (8): 1413–1419. <https://doi.org/10.1084/jem.188.8.1413>
- Fonseca R., Beura L.K., Quarnstrom C.F., Ghoneim H.E., Fan Y., Zebley C.C., Scott M.C., Fares-Frederickson N.J., Wijeyesinghe S., Thompson E.A., Borges da Silva H., Vezys V., Youngblood B. & Masopust D. 2020. — Developmental plasticity allows outside-in immune responses by resident memory T cells. *Nature Immunology* 21 (4): 412–421. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0607-7>
- Fonteneau J.-F., Larsson M., Beignon A.-S., McKenna K., Dasilva I., Amara A., Liu Y.-J., Lifson J.D., Littman D.R. & Bhardwaj N. 2004. — Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells. *Journal of Virology* 78 (10): 5223–5232. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.10.5223-5232.2004>
- Foussat A., Bouchet-Delbos L., Berrebi D., Durand-Gasselín I., Coulomb-L'Hermine A., Krzysiek R., Galanaud P., Levy Y. & Emilie D. 2001. — Deregulation of the expression of the fractalkine/fractalkine receptor complex in HIV-1-infected patients. *Blood* 98 (6): 1678–1686. <https://doi.org/10.1182/blood.v98.6.1678>
- Foussat A., Coulomb-L'Hermine A., Gosling J., Krzysiek R., Durand-Gasselín I., Schall T., Balian A., Richard Y., Galanaud P. & Emilie D. 2000. — Fractalkine receptor expression by T lymphocyte subpopulations and in vivo production of fractalkine in human. *European Journal of Immunology* 30 (1): 87–97. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200001\)30:1<87::AID-IMMU87>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200001)30:1<87::AID-IMMU87>3.0.CO;2-7)
- Franco L., Williams F.M.K., Trofimov S., Surdulescu G., Spector T. & Livshits G. 2013. — Elevated plasma fractalkine levels are associated with higher levels of IL-6, Apo-B, LDL-C and insulin, but not with body composition in a large female twin sample. *Metabolism: Clinical and Experimental* 62 (8): 1081–1087. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.02.001>
- Fraticeili P., Sironi M., Bianchi G., D'Ambrosio D., Albanesi C., Stoppacciaro A., Chieppa M., Allavena P., Ruco L., Girolomoni G., Sinigaglia F., Vecchi A. & Mantovani A. 2001. — Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuit of polarized Th1 responses. *The Journal of Clinical Investigation* 107 (9): 1173–1181. <https://doi.org/10.1172/JCI11517>
- Freed E.O. 2015. — HIV-1 assembly, release and maturation. *Nature Reviews. Microbiology* 13 (8): 484–496. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3490>
- Freeman M.L., Mudd J.C., Shive C.L., Younes S.-A., Panigrahi S., Sieg S.F., Lee S.A., Hunt P.W., Calabrese L.H., Gianella S., Rodriguez B. & Lederman M.M. 2016. — CD8 T-Cell Expansion and Inflammation Linked to CMV Coinfection in ART-treated HIV Infection. *Clinical Infectious Diseases: An Official*

*Publication of the Infectious Diseases Society of America* 62 (3): 392–396.  
<https://doi.org/10.1093/cid/civ840>

Freiberg M.S., Chang C.-C.H., Kuller L.H., Skanderson M., Lowy E., Kraemer K.L., Butt A.A., Bidwell Goetz M., Leaf D., Oursler K.A., Rimland D., Rodriguez Barradas M., Brown S., Gibert C., McGinnis K., Crothers K., Sico J., Crane H., Warner A., Gottlieb S., Gottdiener J., Tracy R.P., Budoff M., Watson C., Armah K.A., Doebler D., Bryant K. & Justice A.C. 2013. — HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA internal medicine* 173 (8): 614–622.  
<https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2013.3728>

Friedrich B.M., Murray J.L., Li G., Sheng J., Hodge T.W., Rubin D.H., O'Brien W.A. & Ferguson M.R. 2011. — A Functional Role for ADAM10 in Human Immunodeficiency Virus Type-1 Replication. *Retrovirology* 8: 32. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-32>

Fromentin R., Bakeman W., Lawani M.B., Khoury G., Hartogensis W., DaFonseca S., Killian M., Epling L., Hoh R., Sinclair E., Hecht F.M., Bacchetti P., Deeks S.G., Lewin S.R., Sékaly R.-P. & Chomont N. 2016. — CD4+ T Cells Expressing PD-1, TIGIT and LAG-3 Contribute to HIV Persistence during ART. *PLoS pathogens* 12 (7): e1005761. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005761>

Fujimoto K., Imaizumi T., Yoshida H., Takanashi S., Okumura K. & Satoh K. 2001. — Interferon-gamma stimulates fractalkine expression in human bronchial epithelial cells and regulates mononuclear cell adherence. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 25 (2): 233–238.  
<https://doi.org/10.1165/ajrcmb.25.2.4275>

Funderburg N.T., Jiang Y., Debanne S.M., Storer N., Labbato D., Clagett B., Robinson J., Lederman M.M. & McComsey G.A. 2014. — Rosuvastatin treatment reduces markers of monocyte activation in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 58 (4): 588–595. <https://doi.org/10.1093/cid/cit748>

Funderburg N.T., Zidar D.A., Shive C., Lioi A., Mudd J., Musselwhite L.W., Simon D.I., Costa M.A., Rodriguez B., Sieg S.F. & Lederman M.M. 2012. — Shared monocyte subset phenotypes in HIV-1 infection and in uninfected subjects with acute coronary syndrome. *Blood* 120 (23): 4599–4608.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-433946>

Gandhi R.T., Zheng L., Bosch R.J., Chan E.S., Margolis D.M., Read S., Kallungal B., Palmer S., Medvik K., Lederman M.M., Alatrakchi N., Jacobson J.M., Wiegand A., Kearney M., Coffin J.M., Mellors J.W., Eron J.J. & Team on behalf of the A.C.T.G.A. 2010. — The Effect of Raltegravir Intensification on Low-level Residual Viremia in HIV-Infected Patients on Antiretroviral Therapy: A Randomized Controlled Trial. *PLOS Medicine* 7 (8): e1000321. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000321>

Ganor Y., Zhou Z., Bodo J., Tudor D., Leibowitch J., Mathez D., Schmitt A., Vacher-Lavenu M.-C., Revol M. & Bomsel M. 2013. — The adult penile urethra is a novel entry site for HIV-1 that preferentially targets resident urethral macrophages. *Mucosal Immunology* 6 (4): 776–786.  
<https://doi.org/10.1038/mi.2012.116>

Ganor Y., Zhou Z., Tudor D., Schmitt A., Vacher-Lavenu M.-C., Gibault L., Thiounn N., Tomasini J., Wolf J.-P. & Bomsel M. 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): 506–522. <https://doi.org/10.1038/mi.2010.32>

Ganor Y., Real F., Sennepin A., Dutertre C.-A., Prevedel L., Xu L., Tudor D., Charmeteau B., Couedel-Courteille A., Marion S., Zenak A.-R., Jourdain J.-P., Zhou Z., Schmitt A., Capron C., Eugenin E.A., Cheyner R., Revol M., Cristofari S., Hosmalin A. & Bomsel M. 2019. — HIV-1 reservoirs in urethral

- macrophages of patients under suppressive antiretroviral therapy. *Nature Microbiology* 4 (4): 633–644. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0335-z>
- Gao F., Bailes E., Robertson D.L., Chen Y., Rodenburg C.M., Michael S.F., Cummins L.B., Arthur L.O., Peeters M., Shaw G.M., Sharp P.M. & Hahn B.H. 1999. — Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. *Nature* 397 (6718): 436–441. <https://doi.org/10.1038/17130>
- Garin A., Pellet P., Deterre P., Debré P. & Combadière C. 2002. — Cloning and functional characterization of the human fractalkine receptor promoter regions. *The Biochemical Journal* 368 (Pt 3): 753–760. <https://doi.org/10.1042/BJ20020951>
- Gartner S., Markovits P., Markovitz D.M., Kaplan M.H., Gallo R.C. & Popovic M. 1986. — The role of mononuclear phagocytes in HTLV-III/LAV infection. *Science (New York, N.Y.)* 233 (4760): 215–219. <https://doi.org/10.1126/science.3014648>
- Garton K.J., Gough P.J., Blobel C.P., Murphy G., Greaves D.R., Dempsey P.J. & Raines E.W. 2001. — Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -converting Enzyme (ADAM17) Mediates the Cleavage and Shedding of Fractalkine (CX3CL1)\*. *Journal of Biological Chemistry* 276 (41): 37993–38001. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106434200>
- Geijtenbeek T.B., Kwon D.S., Torensma R., Van Vliet S.J., Van Duijnhoven G.C., Middel J., Cornelissen I.L., Nottet H.S., KewalRamani V.N., Littman D.R., Figdor C.G. & Van Kooyk Y. 2000. — DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 100 (5): 587–597. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80694-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80694-7)
- Geissmann F., Jung S. & Littman D.R. 2003. — Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity* 19 (1): 71–82. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(03\)00174-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00174-2)
- Gerlach C., Moseman E.A., Loughhead S.M., Alvarez D., Zwijnenburg A.J., Waanders L., Garg R., De la Torre J.C. & Von Andrian U.H. 2016. — The Chemokine Receptor CX3CR1 Defines Three Antigen-Experienced CD8 T Cell Subsets with Distinct Roles in Immune Surveillance and Homeostasis. *Immunity* 45 (6): 1270–1284. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.10.018>
- Ghosn J., Deveau C., Chaix M.-L., Goujard C., Galimand J., Zitoun Y., Allègre T., Delfraissy J.-F., Meyer L., Rouzioux C., & ANRS PRIMO Cohort 2010. — Despite being highly diverse, immunovirological status strongly correlates with clinical symptoms during primary HIV-1 infection: a cross-sectional study based on 674 patients enrolled in the ANRS CO 06 PRIMO cohort. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65 (4): 741–748. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq035>
- Gianella S., Massanella M., Richman D.D., Little S.J., Spina C.A., Vargas M.V., Lada S.M., Daar E.S., Dube M.P., Haubrich R.H., Morris S.R., Smith D.M., & California Collaborative Treatment Group 592 Team 2014. — Cytomegalovirus replication in semen is associated with higher levels of proviral HIV DNA and CD4+ T cell activation during antiretroviral treatment. *Journal of Virology* 88 (14): 7818–7827. <https://doi.org/10.1128/JVI.00831-14>
- Giorgi J.V., Liu Z., Hultin L.E., Cumberland W.G., Hennessey K. & Detels R. 1993. — Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 6 (8): 904–912
- Goda S., Imai T., Yoshie O., Yoneda O., Inoue H., Nagano Y., Okazaki T., Imai H., Bloom E.T., Domae N. & Umehara H. 2000. — CX3C-chemokine, fractalkine-enhanced adhesion of THP-1 cells to

- endothelial cells through integrin-dependent and -independent mechanisms. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 164 (8): 4313–4320. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.8.4313>
- González-Scarano F. & Martín-García J. 2005. — The neuropathogenesis of AIDS. *Nature Reviews Immunology* 5 (1): 69–81. <https://doi.org/10.1038/nri1527>
- Goodenow M.M. & Collman R.G. 2006. — HIV-1 coreceptor preference is distinct from target cell tropism: a dual-parameter nomenclature to define viral phenotypes. *Journal of Leukocyte Biology* 80 (5): 965–972. <https://doi.org/10.1189/jlb.0306148>
- Goonetilleke N., Liu M.K.P., Salazar-Gonzalez J.F., Ferrari G., Giorgi E., Ghanouy V.V., Keele B.F., Learn G.H., Turnbull E.L., Salazar M.G., Weinhold K.J., Moore S., CHAVI Clinical Core B, Letvin N., Haynes B.F., Cohen M.S., Hraber P., Bhattacharya T., Borrow P., Perelson A.S., Hahn B.H., Shaw G.M., Korber B.T. & McMichael A.J. 2009. — The first T cell response to transmitted/founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection. *The Journal of Experimental Medicine* 206 (6): 1253–1272. <https://doi.org/10.1084/jem.20090365>
- Gordon C.L., Lee L.N., Swadling L., Hutchings C., Zinser M., Highton A.J., Capone S., Folgori A., Barnes E. & Klenerman P. 2018. — Induction and Maintenance of CX3CR1-Intermediate Peripheral Memory CD8+ T Cells by Persistent Viruses and Vaccines. *Cell Reports* 23 (3): 768–782. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.074>
- Gosselin A., Monteiro P., Chomont N., Diaz-Griffero F., Said E.A., Fonseca S., Wacleche V., El-Far M., Boulassel M.-R., Routy J.-P., Sekaly R.-P. & Ancuta P. 2010. — Peripheral blood CCR4+CCR6+ and CXCR3+CCR6+CD4+ T cells are highly permissive to HIV-1 infection. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950) 184 (3): 1604–1616. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903058>
- Gosselin A., Wiche Salinas T.R., Planas D., Wacleche V.S., Zhang Y., Fromentin R., Chomont N., Cohen É.A., Shacklett B., Mehraj V., Ghali M.P., Routy J.-P. & Ancuta P. 2017. — HIV persists in CCR6+CD4+ T cells from colon and blood during antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)* 31 (1): 35–48. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001309>
- Gougeon M.L. & Montagnier L. 1999. — Programmed cell death as a mechanism of CD4 and CD8 T cell deletion in AIDS. Molecular control and effect of highly active anti-retroviral therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 887: 199–212. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07934.x>
- Gougeon M.-L. 2003. — Apoptosis as an HIV strategy to escape immune attack. *Nature Reviews Immunology* 3 (5): 392–404. <https://doi.org/10.1038/nri1087>
- Graneli-Piperno A., Golebiowska A., Trumpfheller C., Siegal F.P. & Steinman R.M. 2004. — HIV-1-infected monocyte-derived dendritic cells do not undergo maturation but can elicit IL-10 production and T cell regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (20): 7669–7674. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402431101>
- Greaves D.R., Häkkinen T., Lucas A.D., Liddiard K., Jones E., Quinn C.M., Senaratne J., Green F.R., Tyson K., Boyle J., Shanahan C., Weissberg P.L., Gordon S. & Ylä-Herttualla S. 2001. — Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derived chemokine, fractalkine, and thymus- and activation-regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 21 (6): 923–929. <https://doi.org/10.1161/01.atv.21.6.923>
- Greener B.N., Patterson K.B., Prince H.M.A., Sykes C.S., Adams J.L., Dumond J.B., Shaheen N.J., Madanick R.D., Dellon E.S., Cohen M.S. & Kashuba A.D.M. 2013. — Dolutegravir pharmacokinetics

- in the genital tract and colorectum of HIV-negative men after single and multiple dosing. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (1999) 64 (1): 39–44. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829ed7a4>
- Greger I.H., Demarchi F., Giacca M. & Proudfoot N.J. 1998. — Transcriptional interference perturbs the binding of Sp1 to the HIV-1 promoter. *Nucleic Acids Research* 26 (5): 1294–1301. <https://doi.org/10.1093/nar/26.5.1294>
- Griffith G.L., Machmach K., Jian N., Kim D., Costanzo M.C., Creegan M., Swafford I., Kundu G., Yum L., Bolton J.S., Smith L., Slike B.M., Bergmann-Leitner E.S., Thomas R., Michael N.L., Ake J.A., Eller L.A., Robb M.L., Townsley S.M., Krebs S.J., Paquin-Proulx D., & RV217 Study Group 2025. — CD16 and CD57 expressing gamma delta T cells in acute HIV-1 infection are associated with the development of neutralization breadth. *PLoS pathogens* 21 (1): e1012916. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012916>
- Groot F., Welsch S. & Sattentau Q.J. 2008. — Efficient HIV-1 transmission from macrophages to T cells across transient virological synapses. *Blood* 111 (9): 4660–4663. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-130070>
- Grund B., Baker J.V., Deeks S.G., Wolfson J., Wentworth D., Cozzi-Lepri A., Cohen C.J., Phillips A., Lundgren J.D., Neaton J.D., & INSIGHT SMART/ESPRIT/SILCAAT Study Group 2016. — Relevance of Interleukin-6 and D-Dimer for Serious Non-AIDS Morbidity and Death among HIV-Positive Adults on Suppressive Antiretroviral Therapy. *PloS One* 11 (5): e0155100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155100>
- Guadalupe M., Reay E., Sankaran S., Prindiville T., Flamm J., McNeil A. & Dandekar S. 2003. — Severe CD4+ T-cell depletion in gut lymphoid tissue during primary human immunodeficiency virus type 1 infection and substantial delay in restoration following highly active antiretroviral therapy. *Journal of Virology* 77 (21): 11708–11717. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.21.11708-11717.2003>
- Gupta R.K., Peppas D., Hill A.L., Gálvez C., Salgado M., Pace M., McCoy L.E., Griffith S.A., Thornhill J., Alrubayyi A., Huyveneers L.E.P., Nastouli E., Grant P., Edwards S.G., Innes A.J., Frater J., Nijhuis M., Wensing A.M.J., Martinez-Picado J. & Olavarria E. 2020. — Evidence for HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation 30 months post analytical treatment interruption: a case report. *The Lancet HIV* 7 (5): e340–e347. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30069-2](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30069-2)
- Haas A., Zimmermann K. & Oxenius A. 2011. — Antigen-Dependent and -Independent Mechanisms of T and B Cell Hyperactivation during Chronic HIV-1 Infection  $\nabla$ . *Journal of Virology* 85 (23): 12102–12113. <https://doi.org/10.1128/JVI.05607-11>
- Hadis U., Wahl B., Schulz O., Hardtke-Wolenski M., Schippers A., Wagner N., Müller W., Sparwasser T., Förster R. & Pabst O. 2011. — Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3+ regulatory T cells in the lamina propria. *Immunity* 34 (2): 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.01.016>
- Hadis U., Wahl B., Schulz O., Hardtke-Wolenski M., Schippers A., Wagner N., Müller W., Sparwasser T., Förster R. & Pabst O. 2011. — Intestinal Tolerance Requires Gut Homing and Expansion of FoxP3+ Regulatory T Cells in the Lamina Propria. *Immunity* 34 (2): 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.01.016>
- Halary F., Pitard V., Dlubek D., Krzysiek R., De la Salle H., Merville P., Dromer C., Emilie D., Moreau J.-F. & Déchanet-Merville J. 2005. — Shared reactivity of Vδ2neg  $\gamma\delta$  T cells against cytomegalovirus-

- infected cells and tumor intestinal epithelial cells. *The Journal of Experimental Medicine* 201 (10): 1567–1578. <https://doi.org/10.1084/jem.20041851>
- Hamann I., Unterwalder N., Cardona A.E., Meisel C., Zipp F., Ransohoff R.M. & Infante-Duarte C. 2011. — Analyses of phenotypic and functional characteristics of CX3CR1-expressing natural killer cells. *Immunology* 133 (1): 62–73. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03409.x>
- Hansen L., Parker I., Sutliff R.L., Platt M.O. & Gleason R.L. 2013. — Endothelial dysfunction, arterial stiffening, and intima-media thickening in large arteries from HIV-1 transgenic mice. *Annals of Biomedical Engineering* 41 (4): 682–693. <https://doi.org/10.1007/s10439-012-0702-5>
- Harper J., Huot N., Micci L., Tharp G., King C., Rasclé P., Shenvi N., Wang H., Galardi C., Upadhyay A.A., Villinger F., Lifson J., Silvestri G., Easley K., Jacquelin B., Bosinger S., Müller-Trutwin M. & Paiardini M. 2021. — IL-21 and IFN $\alpha$  therapy rescues terminally differentiated NK cells and limits SIV reservoir in ART-treated macaques. *Nature Communications* 12 (1): 2866. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23189-7>
- Harris L.D., Klatt N.R., Vinton C., Briant J.A., Tabb B., Ladell K., Lifson J., Estes J.D., Price D.A., Hirsch V.M. & Brenchley J.M. 2010. — Mechanisms underlying  $\gamma\delta$  T-cell subset perturbations in SIV-infected Asian rhesus macaques. *Blood* 116 (20): 4148–4157. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-283549>
- Harrison J.K., Jiang Y., Wees E.A., Salafranca M.N., Liang H.-X., Feng L. & Belardinelli L. 1999. — Inflammatory agents regulate in vivo expression of fractalkine in endothelial cells of the rat heart. *Journal of Leukocyte Biology* 66 (6): 937–944. <https://doi.org/10.1002/jlb.66.6.937>
- Haskell C.A., Hancock W.W., Salant D.J., Gao W., Csizmadia V., Peters W., Faia K., Fituri O., Rottman J.B. & Charo I.F. 2001. — Targeted deletion of CX(3)CR1 reveals a role for fractalkine in cardiac allograft rejection. *The Journal of Clinical Investigation* 108 (5): 679–688. <https://doi.org/10.1172/JCI12976>
- Hastie E., Moser C., Sun X., Lennox J., Hsue P.Y., Bosch R.J., Deeks S., Meneses M.V., Lederman M.M., Hunt P., Henrich T.J., Marconi V.C. & Gianella S. 2023. — Effect of Immune-Modulatory Interventions on Asymptomatic Cytomegalovirus Shedding During Suppressive Antiretroviral Therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 228 (1): 64–69. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiad060>
- Hazenberg M.D., Otto S.A., Van Benthem B.H.B., Roos M.T.L., Coutinho R.A., Lange J.M.A., Hamann D., Prins M. & Miedema F. 2003. — Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *AIDS (London, England)* 17 (13): 1881–1888. <https://doi.org/10.1097/00002030-200309050-00006>
- Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H. & Bauer S. 2004. — Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science (New York, N.Y.)* 303 (5663): 1526–1529. <https://doi.org/10.1126/science.1093620>
- Helmke A., Hüsing A.M., Gaedcke S., Brauns N., Balzer M.S., Reinhardt M., Hiss M., Shushakova N., De Luca D., Prinz I., Haller H. & Von Vietinghoff S. 2021. — Peritoneal dialysate-range hypertonic glucose promotes T-cell IL-17 production that induces mesothelial inflammation. *European Journal of Immunology* 51 (2): 354–367. <https://doi.org/10.1002/eji.202048733>
- Herbeuval J.-P., Grivel J.-C., Boasso A., Hardy A.W., Chougnet C., Dolan M.J., Yagita H., Lifson J.D. & Shearer G.M. 2005. — CD4<sup>+</sup> T-cell death induced by infectious and noninfectious HIV-1: role of type

- 1 interferon-dependent, TRAIL/DR5-mediated apoptosis. *Blood* 106 (10): 3524–3531. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1243>
- Hersperger A.R., Pereyra F., Nason M., Demers K., Sheth P., Shin L.Y., Kovacs C.M., Rodriguez B., Sieg S.F., Teixeira-Johnson L., Gudonis D., Goepfert P.A., Lederman M.M., Frank I., Makedonas G., Kaul R., Walker B.D. & Betts M.R. 2010. — Perforin expression directly ex vivo by HIV-specific CD8 T-cells is a correlate of HIV elite control. *PLoS pathogens* 6 (5): e1000917. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000917>
- Hertwig L., Hamann I., Romero-Suarez S., Millward J.M., Pietrek R., Chanvillard C., Stuis H., Pollok K., Ransohoff R.M., Cardona A.E. & Infante-Duarte C. 2016. — CX3CR1-dependent recruitment of mature NK cells into the central nervous system contributes to control autoimmune neuroinflammation. *European Journal of Immunology* 46 (8): 1984–1996. <https://doi.org/10.1002/eji.201546194>
- Hiener B., Horsburgh B.A., Eden J.-S., Barton K., Schlub T.E., Lee E., Von Stockenstrom S., Odevall L., Milush J.M., Liegler T., Sinclair E., Hoh R., Boritz E.A., Douek D., Fromentin R., Chomont N., Deeks S.G., Hecht F.M. & Palmer S. 2017. — Identification of Genetically Intact HIV-1 Proviruses in Specific CD4+ T Cells from Effectively Treated Participants. *Cell Reports* 21 (3): 813–822. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.09.081>
- Hildemann S.K., Schulz C., Fraccarollo D., Schöpp C., Flierl U., Wissel K., Pelisek J., Massberg S., Bauersachs J. & Schäfer A. 2014. — Fractalkine promotes platelet activation and vascular dysfunction in congestive heart failure. *Thrombosis and Haemostasis* 111 (4): 725–735. <https://doi.org/10.1160/TH13-08-0640>
- Hileman C.O., Kinley B., Scharen-Guivel V., Melbourne K., Szwarcberg J., Robinson J., Lederman M.M. & Mccomsey G.A. 2015. — Differential Reduction in Monocyte Activation and Vascular Inflammation With Integrase Inhibitor-Based Initial Antiretroviral Therapy Among HIV-Infected Individuals. *The Journal of Infectious Diseases* 212 (3): 345–354. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv004>
- Hladik F. & McElrath M.J. 2008. — Setting the stage: host invasion by HIV. *Nature Reviews Immunology* 8 (6): 447–457. <https://doi.org/10.1038/nri2302>
- Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S., Chen W., Leonard J.M. & Markowitz M. 1995. — Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373 (6510): 123–126. <https://doi.org/10.1038/373123a0>
- Ho Y.-C., Shan L., Hosmane N.N., Wang J., Laskey S.B., Rosenbloom D.I.S., Lai J., Blankson J.N., Siliciano J.D. & Siliciano R.F. 2013. — Replication-competent non-induced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. *Cell* 155 (3): 540–551. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.020>
- Hoetelmans R.M. 1998. — Sanctuary sites in HIV-1 infection. *Antiviral Therapy* 3 Suppl 4: 13–17
- Hoffmann U., Lu M.T., Foldyna B., Zanni M.V., Karady J., Taron J., Zhai B.K., Burdo T., Fitch K.V., Kileel E.M., Williams K., Fichtenbaum C.J., Overton E.T., Malvestutto C., Aberg J., Currier J., Sponseller C.A., Melbourne K., Floris-Moore M., Van Dam C., Keefer M.C., Koletar S.L., Douglas P.S., Ribaldo H., Mayrhofer T. & Grinspoon S.K. 2021. — Assessment of Coronary Artery Disease With Computed Tomography Angiography and Inflammatory and Immune Activation Biomarkers Among Adults With HIV Eligible for Primary Cardiovascular Prevention. *JAMA Network Open* 4 (6): e2114923. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.14923>

- Holder K.A. & Grant M.D. 2020. — TIGIT Blockade: A Multipronged Approach to Target the HIV Reservoir. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10: 175. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00175>
- Hoogendijk A.J., Wiewel M.A., Van Vught L.A., Scicluna B.P., Belkasim-Bohoudi H., Horn J., Zwiderman A.H., Klein Klouwenberg P.M.C., Cremer O.L., Bonten M.J., Schultz M.J., Van der Poll T., & MARS consortium 2015. — Plasma fractalkine is a sustained marker of disease severity and outcome in sepsis patients. *Critical Care (London, England)* 19: 412. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-1125-0>
- Hsue P.Y., Hunt P.W., Sinclair E., Bredt B., Franklin A., Killian M., Hoh R., Martin J.N., McCune J.M., Waters D.D. & Deeks S.G. 2006. — Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS (London, England)* 20 (18): 2275–2283. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3280108704>
- Hu Y., Hu Q., Li Y., Lu L., Xiang Z., Yin Z., Kabelitz D. & Wu Y. 2023. —  $\gamma\delta$  T cells: origin and fate, subsets, diseases and immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 8 (1): 1–38. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01653-8>
- Hua S., Latha K., Marlin R., Benmeziane K., Bossevot L., Langlois S., Relouzat F., Dereuddre-Bosquet N., Le Grand R. & Cavarelli M. 2024. — Intestinal immunological events of acute and resolved SARS-CoV-2 infection in non-human primates. *Mucosal Immunology* 17 (1): 25–40. <https://doi.org/10.1016/j.mucimm.2023.10.001>
- Huang A.S., Ramos V., Oliveira T.Y., Gaebler C., Jankovic M., Nussenzweig M.C. & Cohn L.B. 2021. — Integration features of intact latent HIV-1 in CD4+ T cell clones contribute to viral persistence. *Journal of Experimental Medicine* 218 (12): e20211427. <https://doi.org/10.1084/jem.20211427>
- Huang J., Wang F., Argyris E., Chen K., Liang Z., Tian H., Huang W., Squires K., Verlinghieri G. & Zhang H. 2007. — Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nature Medicine* 13 (10): 1241–1247. <https://doi.org/10.1038/nm1639>
- Hudson W.H., Gensheimer J., Hashimoto M., Wieland A., Valanparambil R.M., Li P., Lin J.-X., Konieczny B.T., Im S.J., Freeman G.J., Leonard W.J., Kissick H.T. & Ahmed R. 2019. — Proliferating Transitory T Cells with an Effector-like Transcriptional Signature Emerge from PD-1+ Stem-like CD8+ T Cells during Chronic Infection. *Immunity* 51 (6): 1043-1058.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.11.002>
- Hundhausen C., Misztela D., Berkhout T.A., Broadway N., Saftig P., Reiss K., Hartmann D., Fahrenholz F., Postina R., Matthews V., Kallen K.-J., Rose-John S. & Ludwig A. 2003. — The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion. *Blood* 102 (4): 1186–1195. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-12-3775>
- Hundhausen C., Schulte A., Schulz B., Andrzejewski M.G., Schwarz N., Von Hundelshausen P., Winter U., Paliga K., Reiss K., Saftig P., Weber C. & Ludwig A. 2007. — Regulated shedding of transmembrane chemokines by the disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178 (12): 8064–8072. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.12.8064>
- Hunt P.W., Brenchley J., Sinclair E., McCune J.M., Roland M., Page-Shafer K., Hsue P., Emu B., Krone M., Lampiris H., Douek D., Martin J.N. & Deeks S.G. 2008. — Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in

- the absence of therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 197 (1): 126–133. <https://doi.org/10.1086/524143>
- Hunter S., Willcox C.R., Davey M.S., Kasatskaya S.A., Jeffery H.C., Chudakov D.M., Oo Y.H. & Willcox B.E. 2018. — Human liver infiltrating  $\gamma\delta$  T cells are composed of clonally expanded circulating and tissue-resident populations. *Journal of Hepatology* 69 (3): 654–665. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.05.007>
- Huot N., Jacquelin B., Garcia-Tellez T., Rasclé P., Ploquin M.J., Madec Y., Reeves R.K., Derreudre-Bosquet N. & Müller-Trutwin M. 2017. — Natural killer cells migrate into and control simian immunodeficiency virus replication in lymph node follicles in African green monkeys. *Nature Medicine* 23 (11): 1277–1286. <https://doi.org/10.1038/nm.4421>
- Huot N., Rasclé P., Petitdemange C., Contreras V., Stürzel C.M., Baquero E., Harper J.L., Passaes C., Legendre R., Varet H., Madec Y., Sauermann U., Stahl-Hennig C., Nattermann J., Saez-Cirion A., Le Grand R., Keith Reeves R., Paiardini M., Kirchhoff F., Jacquelin B. & Müller-Trutwin M. 2021. — SIV-induced terminally differentiated adaptive NK cells in lymph nodes associated with enhanced MHC-E restricted activity. *Nature Communications* 12 (1): 1282. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21402-1>
- Hurst J., Hoffmann M., Pace M., Williams J.P., Thornhill J., Hamlyn E., Meyerowitz J., Willberg C., Koelsch K.K., Robinson N., Brown H., Fisher M., Kinloch S., Cooper D.A., Schechter M., Tambussi G., Fidler S., Babiker A., Weber J., Kelleher A.D., Phillips R.E. & Frater J. 2015. — Immunological biomarkers predict HIV-1 viral rebound after treatment interruption. *Nature Communications* 6: 8495. <https://doi.org/10.1038/ncomms9495>
- Hütter G., Nowak D., Mossner M., Ganepola S., Müßig A., Allers K., Schneider T., Hofmann J., Kücherer C., Blau O., Blau I.W., Hofmann W.K. & Thiel E. 2009. — Long-Term Control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 Stem-Cell Transplantation. *New England Journal of Medicine* 360 (7): 692–698. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0802905>
- Im S.J., Hashimoto M., Gerner M.Y., Lee J., Kissick H.T., Burger M.C., Shan Q., Hale J.S., Lee J., Nasti T.H., Sharpe A.H., Freeman G.J., Germain R.N., Nakaya H.I., Xue H.-H. & Ahmed R. 2016. — Defining CD8+ T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy. *Nature* 537 (7620): 417–421. <https://doi.org/10.1038/nature19330>
- Imai T., Hieshima K., Haskell C., Baba M., Nagira M., Nishimura M., Kakizaki M., Takagi S., Nomiyama H., Schall T.J. & Yoshie O. 1997. — Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* 91 (4): 521–530. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80438-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80438-9)
- Imaizumi T., Matsumiya T., Fujimoto K., Okamoto K., Cui X., Ohtaki U., Yoshida H. & Satoh K. 2000. — Interferon- $\gamma$  Stimulates the Expression of CX3CL1/Fractalkine in Cultured Human Endothelial Cells. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 192 (2): 127–139. <https://doi.org/10.1620/tjem.192.127>
- Imamichi H., Dewar R.L., Adelsberger J.W., Rehm C.A., O'Doherty U., Paxinos E.E., Fauci A.S. & Lane H.C. 2016. — Defective HIV-1 proviruses produce novel protein-coding RNA species in HIV-infected patients on combination antiretroviral therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (31): 8783–8788. <https://doi.org/10.1073/pnas.1609057113>
- Imamichi H., Dewar R.L., Adelsberger J.W., Rehm C.A., O'Doherty U., Paxinos E.E., Fauci A.S. & Lane H.C. 2016. — Defective HIV-1 proviruses produce novel protein-coding RNA species in HIV-infected

- patients on combination antiretroviral therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (31): 8783–8788. <https://doi.org/10.1073/pnas.1609057113>
- Imamichi H., Smith M., Adelsberger J.W., Izumi T., Scrimieri F., Sherman B.T., Rehm C.A., Imamichi T., Pau A., Catalfamo M., Fauci A.S. & Lane H.C. 2020. — Defective HIV-1 proviruses produce viral proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (7): 3704–3710. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917876117>
- Imamichi H., Smith M., Adelsberger J.W., Izumi T., Scrimieri F., Sherman B.T., Rehm C.A., Imamichi T., Pau A., Catalfamo M., Fauci A.S. & Lane H.C. 2020. — Defective HIV-1 proviruses produce viral proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (7): 3704–3710. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917876117>
- Inui M., Ishida Y., Kimura A., Kuninaka Y., Mukaida N. & Kondo T. 2011. — Protective roles of CX3CR1-mediated signals in toxin A-induced enteritis through the induction of heme oxygenase-1 expression. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 186 (1): 423–431. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000043>
- Isaacs J.F., Degefu H.N., Chen T., Kleist S.A., Musial S.C., Ford M.A., Searles T.G., Lin C.-C., Skorput A.G.J., Shirai K., Turk M.J., Zanazzi G.J. & Rosato P.C. 2024. — CD39 Is Expressed on Functional Effector and Tissue-resident Memory CD8+ T Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 213 (5): 588–599. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2400151>
- Ishida Y., Hayashi T., Goto T., Kimura A., Akimoto S., Mukaida N. & Kondo T. 2008. — Essential involvement of CX3CR1-mediated signals in the bactericidal host defense during septic peritonitis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 181 (6): 4208–4218. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.6.4208>
- Ishigame H., Kakuta S., Nagai T., Kadoki M., Nambu A., Komiyama Y., Fujikado N., Tanahashi Y., Akitsu A., Kotaki H., Sudo K., Nakae S., Sasakawa C. & Iwakura Y. 2009. — Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucocutaneous bacterial infection and allergic responses. *Immunity* 30 (1): 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.11.009>
- Isnard S., Ramendra R., Lin J., Kant S., Fombuena B., Ouyang J., Peng X., El Far M., Tremblay C., Bernard N.F. & Routy J.-P. 2021. — Anti-cytomegalovirus Immunoglobulin G Is Linked to CD4 T-cell Count Decay in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Elite Controllers. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 73 (1): 144–147. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1129>
- Ito Y., Kawachi H., Morioka Y., Nakatsue T., Koike H., Ikezumi Y., Oyanagi A., Natori Y., Natori Y., Nakamura T., Gejyo F. & Shimizu F. 2002. — Fractalkine expression and the recruitment of CX3CR1+ cells in the prolonged mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney International* 61 (6): 2044–2057. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00369.x>
- Jacobs J.L., Halvas E.K., Tosiano M.A. & Mellors J.W. 2019. — Persistent HIV-1 Viremia on Antiretroviral Therapy: Measurement and Mechanisms. *Frontiers in Microbiology* 10: 2383. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02383>
- Jakubzick C.V., Randolph G.J. & Henson P.M. 2017. — Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nature Reviews. Immunology* 17 (6): 349–362. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.28>

- Jenkins M., Hanley M.B., Moreno M.B., Wieder E. & McCune J.M. 1998. — Human immunodeficiency virus-1 infection interrupts thymopoiesis and multilineage hematopoiesis in vivo. *Blood* 91 (8): 2672–2678
- Jensen B.-E.O., Knops E., Cords L., Lübke N., Salgado M., Busman-Sahay K., Estes J.D., Huyvener L.E.P., Perdomo-Celis F., Wittner M., Gálvez C., Mummert C., Passaes C., Eberhard J.M., Münk C., Hauber I., Hauber J., Heger E., De Clercq J., Vandekerckhove L., Bergmann S., Dunay G.A., Klein F., Häussinger D., Fischer J.C., Nachtkamp K., Timm J., Kaiser R., Harrer T., Luedde T., Nijhuis M., Sáez-Cirión A., Schulze zur Wiesch J., Wensing A.M.J., Martinez-Picado J. & Kobbe G. 2023. — In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nature Medicine*: 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02213-x>
- Jiang C., Lian X., Gao C., Sun X., Einkauf K.B., Chevalier J.M., Chen S.M.Y., Hua S., Rhee B., Chang K., Blackmer J.E., Osborn M., Peluso M.J., Hoh R., Somsouk M., Milush J., Bertagnolli L.N., Sweet S.E., Varriale J.A., Burbelo P.D., Chun T.-W., Laird G.M., Serrao E., Engelman A.N., Carrington M., Siliciano R.F., Siliciano J.M., Deeks S.G., Walker B.D., Lichterfeld M. & Yu X.G. 2020. — Distinct viral reservoirs in individuals with spontaneous control of HIV-1. *Nature* 585 (7824): 261–267. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2651-8>
- Johnson L.A. & Jackson D.G. 2013. — The chemokine CX3CL1 promotes trafficking of dendritic cells through inflamed lymphatics. *Journal of Cell Science* 126 (Pt 22): 5259–5270. <https://doi.org/10.1242/jcs.135343>
- Jolly C. & Sattentau Q.J. 2004. — Retroviral spread by induction of virological synapses. *Traffic (Copenhagen, Denmark)* 5 (9): 643–650. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2004.00209.x>
- Josefsson L., Stockenström S. von, Faria N.R., Sinclair E., Bacchetti P., Killian M., Epling L., Tan A., Ho T., Lemey P., Shao W., Hunt P.W., Somsouk M., Wylie W., Douek D.C., Loeb L., Custer J., Hoh R., Poole L., Deeks S.G., Hecht F. & Palmer S. 2013. — The HIV-1 reservoir in eight patients on long-term suppressive antiretroviral therapy is stable with few genetic changes over time. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (51): E4987–E4996. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308313110>
- Joy J., Gervassi A., Chen L., Kirshenbaum B., Styrchak S., Ko D., McLaughlin S., Shao D., Kosmider E., Edlefsen P.T., Maenza J., Collier A.C., Mullins J.I., Horton H. & Frenkel L.M. 2024. — Antigen specificities and proviral integration sites differ in HIV-infected cells by timing of antiretroviral treatment initiation. *The Journal of Clinical Investigation* 134 (14): e159569. <https://doi.org/10.1172/JCI159569>
- Jung A., Maier R., Vartanian J.-P., Bocharov G., Jung V., Fischer U., Meese E., Wain-Hobson S. & Meyerhans A. 2002. — Multiply infected spleen cells in HIV patients. *Nature* 418 (6894): 144–144. <https://doi.org/10.1038/418144a>
- Juno J.A. & Eriksson E.M. 2019. —  $\gamma\delta$  T-cell responses during HIV infection and antiretroviral therapy. *Clinical & Translational Immunology* 8 (7). <https://doi.org/10.1002/cti2.1069>
- Kahn J.O. & Walker B.D. 1998. — Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *The New England Journal of Medicine* 339 (1): 33–39. <https://doi.org/10.1056/NEJM199807023390107>
- Kansra V., Groves C., Gutierrez-Ramos J.C. & Polakiewicz R.D. 2001. — Phosphatidylinositol 3-Kinase-dependent Extracellular Calcium Influx Is Essential for CX3CR1-mediated Activation of the Mitogen-activated Protein Kinase Cascade\*. *Journal of Biological Chemistry* 276 (34): 31831–31838. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009374200>

- Karunakaran M.M., Willcox C.R., Salim M., Paletta D., Fichtner A.S., Noll A., Starick L., Nöhren A., Begley C.R., Berwick K.A., Chaleil R.A.G., Pitard V., Déchanet-Merville J., Bates P.A., Kimmel B., Knowles T.J., Kunzmann V., Walter L., Jeeves M., Mohammed F., Willcox B.E. & Herrmann T. 2020. — Butyrophilin-2A1 Directly Binds Germline-Encoded Regions of the V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 TCR and Is Essential for Phosphoantigen Sensing. *Immunity* 52 (3): 487–498.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.02.014>
- Kawai T., Elliott K.J., Scalia R. & Eguchi S. 2021. — Contribution of ADAM17 and related ADAMs in cardiovascular diseases. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 78 (9): 4161–4187. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03779-w>
- Kayama H., Ueda Y., Sawa Y., Jeon S.G., Ma J.S., Okumura R., Kubo A., Ishii M., Okazaki T., Murakami M., Yamamoto M., Yagita H. & Takeda K. 2012. — Intestinal CX3C chemokine receptor 1(high) (CX3CR1(high)) myeloid cells prevent T-cell-dependent colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (13): 5010–5015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114931109>
- Keele B.F., Giorgi E.E., Salazar-Gonzalez J.F., Decker J.M., Pham K.T., Salazar M.G., Sun C., Grayson T., Wang S., Li H., Wei X., Jiang C., Kirchherr J.L., Gao F., Anderson J.A., Ping L.-H., Swanstrom R., Tomaras G.D., Blattner W.A., Goepfert P.A., Kilby J.M., Saag M.S., Delwart E.L., Busch M.P., Cohen M.S., Montefiori D.C., Haynes B.F., Gaschen B., Athreya G.S., Lee H.Y., Wood N., Seoighe C., Perelson A.S., Bhattacharya T., Korber B.T., Hahn B.H. & Shaw G.M. 2008. — Identification and characterization of transmitted and early founder virus envelopes in primary HIV-1 infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (21): 7552–7557. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802203105>
- Kelly J., Beddall M.H., Yu D., Iyer S.R., Marsh J.W. & Wu Y. 2008. — Human macrophages support persistent transcription from unintegrated HIV-1 DNA. *Virology* 372 (2): 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.11.007>
- Khezri M.R., Mohebalizadeh M. & Ghasemnejad-Berenji M. 2023. — Therapeutic potential of ADAM10 modulation in Alzheimer’s disease: a review of the current evidence. *Cell communication and signaling: CCS* 21 (1): 60. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01072-w>
- Khoury G., Fromentin R., Solomon A., Hartogensis W., Killian M., Hoh R., Somsouk M., Hunt P.W., Girling V., Sinclair E., Bacchetti P., Anderson J.L., Hecht F.M., Deeks S.G., Cameron P.U., Chomont N. & Lewin S.R. 2017. — Human Immunodeficiency Virus Persistence and T-Cell Activation in Blood, Rectal, and Lymph Node Tissue in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals Receiving Suppressive Antiretroviral Therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 215 (6): 911–919. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix039>
- Kijak G.H., Sanders-Buell E., Chenine A.-L., Eller M.A., Goonetilleke N., Thomas R., Leviyang S., Harbolick E.A., Bose M., Pham P., Oropeza C., Poltavee K., O’Sullivan A.M., Billings E., Merbah M., Costanzo M.C., Warren J.A., Slike B., Li H., Peachman K.K., Fischer W., Gao F., Cicala C., Arthos J., Eller L.A., O’Connell R.J., Sinei S., Maganga L., Kibuuka H., Nitayaphan S., Rao M., Marovich M.A., Krebs S.J., Rolland M., Korber B.T., Shaw G.M., Michael N.L., Robb M.L., Tovanabutra S. & Kim J.H. 2017. — Rare HIV-1 transmitted/founder lineages identified by deep viral sequencing contribute to rapid shifts in dominant quasispecies during acute and early infection. *PLOS Pathogens* 13 (7): e1006510. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006510>

- Kilzer J.M., Stracker T., Beitzel B., Meek K., Weitzman M. & Bushman F.D. 2003. — Roles of host cell factors in circularization of retroviral dna. *Virology* 314 (1): 460–467. [https://doi.org/10.1016/s0042-6822\(03\)00455-0](https://doi.org/10.1016/s0042-6822(03)00455-0)
- Kim J., Bose D., Araínga M., Haque M.R., Fennessey C.M., Caddell R.A., Thomas Y., Ferrell D.E., Ali S., Grody E., Goyal Y., Cicala C., Arthos J., Keele B.F., Vaccari M., Lorenzo-Redondo R., Hope T.J., Villinger F. & Martinelli E. 2024. — TGF- $\beta$  blockade drives a transitional effector phenotype in T cells reversing SIV latency and decreasing SIV reservoirs in vivo. *Nature Communications* 15 (1): 1348. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45555-x>
- Kim K.-W., Vallon-Eberhard A., Zigmund E., Farache J., Shezen E., Shakhar G., Ludwig A., Lira S.A. & Jung S. 2011. — In vivo structure/function and expression analysis of the CX3C chemokine fractalkine. *Blood* 118 (22): e156–e167. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-348946>
- Kim T.-S., Lim H.-K., Lee J.Y., Kim D.-J., Park S., Lee C. & Lee C.-U. 2008. — Changes in the levels of plasma soluble fractalkine in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Neuroscience Letters* 436 (2): 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.019>
- Klicznik M.M., Morawski P.A., Höllbacher B., Varkhande S.R., Motley S.J., Kuri-Cervantes L., Goodwin E., Rosenblum M.D., Long S.A., Brachtl G., Duhon T., Betts M.R., Campbell D.J. & Gratz I.K. 2019. — Human CD4+CD103+ cutaneous resident memory T cells are found in the circulation of healthy individuals. *Science Immunology* 4 (37): eaav8995. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aav8995>
- Kobayashi T., Okamoto S., Iwakami Y., Nakazawa A., Hisamatsu T., Chinen H., Kamada N., Imai T., Goto H. & Hibi T. 2007. — Exclusive increase of CX3CR1+CD28–CD4+ T cells in inflammatory bowel disease and their recruitment as intraepithelial lymphocytes. *Inflammatory Bowel Diseases* 13 (7): 837–846. <https://doi.org/10.1002/ibd.20113>
- Koboziev I., Karlsson F. & Grisham M.B. 2010. — Gut-associated lymphoid tissue, T cell trafficking, and chronic intestinal inflammation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1207 (Suppl 1): E86–E93. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05711.x>
- Koenig S., Gendelman H.E., Orenstein J.M., Dal Canto M.C., Pezeshkpour G.H., Yungbluth M., Janotta F., Aksamit A., Martin M.A. & Fauci A.S. 1986. — Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science (New York, N.Y.)* 233 (4768): 1089–1093. <https://doi.org/10.1126/science.3016903>
- Kök A., Hocqueloux L., Hocini H., Carrière M., Lefrou L., Guguin A., Tisserand P., Bonnabau H., Avettand-Fenoel V., Prazuck T., Katsahian S., Gaulard P., Thiébaud R., Lévy Y. & Hüe S. 2015. — Early initiation of combined antiretroviral therapy preserves immune function in the gut of HIV-infected patients. *Mucosal Immunology* 8 (1): 127–140. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.50>
- Koppensteiner H., Brack-Werner R. & Schindler M. 2012. — Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus Type 1 infection. *Retrovirology* 9: 82. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-82>
- Korber B., Gaschen B., Yusim K., Thakallapally R., Kesmir C. & Detours V. 2001. — Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. *British Medical Bulletin* 58: 19–42. <https://doi.org/10.1093/bmb/58.1.19>
- Kostadinova F.I., Baba T., Ishida Y., Kondo T., Popivanova B.K. & Mukaida N. 2010. — Crucial involvement of the CX3CR1–CX3CL1 axis in dextran sulfate sodium-mediated acute colitis in mice. *Journal of Leukocyte Biology* 88 (1): 133–143. <https://doi.org/10.1189/jlb.1109768>

- Kulkarni M., Bowman E., Gabriel J., Amburgy T., Mayne E., Zidar D.A., Maierhofer C., Turner A.N., Bazan J.A., Koletar S.L., Lederman M.M., Sieg S.F. & Funderburg N.T. 2016. — Altered Monocyte and Endothelial Cell Adhesion Molecule Expression Is Linked to Vascular Inflammation in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Open Forum Infectious Diseases* 3 (4): ofw224. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw224>
- Kulpa D.A. & Chomont N. 2015. — HIV persistence in the setting of antiretroviral therapy: when, where and how does HIV hide? *Journal of Virus Eradication* 1 (2): 59–66
- Kumar B.V., Ma W., Miron M., Granot T., Guyer R.S., Carpenter D.J., Senda T., Sun X., Ho S.-H., Lerner H., Friedman A.L., Shen Y. & Farber D.L. 2017. — Human Tissue-Resident Memory T Cells Are Defined by Core Transcriptional and Functional Signatures in Lymphoid and Mucosal Sites. *Cell Reports* 20 (12): 2921–2934. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.078>
- Kunkel E.J., Campbell J.J., Haraldsen G., Pan J., Boisvert J., Roberts A.I., Ebert E.C., Vierra M.A., Goodman S.B., Genovese M.C., Wardlaw A.J., Greenberg H.B., Parker C.M., Butcher E.C., Andrew D.P. & Agace W.W. 2000. — Lymphocyte CC chemokine receptor 9 and epithelial thymus-expressed chemokine (TECK) expression distinguish the small intestinal immune compartment: Epithelial expression of tissue-specific chemokines as an organizing principle in regional immunity. *The Journal of Experimental Medicine* 192 (5): 761–768. <https://doi.org/10.1084/jem.192.5.761>
- Kuri-Cervantes L., De Oca G.S.-M., Avila-Ríos S., Hernández-Juan R. & Reyes-Terán G. 2014. — Activation of NK cells is associated with HIV-1 disease progression. *Journal of Leukocyte Biology* 96 (1): 7–16. <https://doi.org/10.1189/jlb.0913514>
- Lambotte O., Taoufik Y., De Goër M.G., Wallon C., Goujard C. & Delfraissy J.F. 2000. — Detection of infectious HIV in circulating monocytes from patients on prolonged highly active antiretroviral therapy. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)* 23 (2): 114–119. <https://doi.org/10.1097/00126334-200002010-00002>
- Landsman L., Varol C. & Jung S. 2007. — Distinct differentiation potential of blood monocyte subsets in the lung. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178 (4): 2000–2007. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.4.2000>
- Lanier L.L. 2005. — NK cell recognition. *Annual Review of Immunology* 23: 225–274. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115526>
- Lapenta C., Boirivant M., Marini M., Santini S.M., Logozzi M., Viora M., Belardelli F. & Fais S. 1999. — Human intestinal lamina propria lymphocytes are naturally permissive to HIV-1 infection. *European Journal of Immunology* 29 (4): 1202–1208. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199904\)29:04<1202::AID-IMMU1202>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199904)29:04<1202::AID-IMMU1202>3.0.CO;2-O)
- Laurent-Crawford A.G., Krust B., Muller S., Rivière Y., Rey-Cuillé M.A., Béchet J.M., Montagnier L. & Hovanessian A.G. 1991. — The cytopathic effect of HIV is associated with apoptosis. *Virology* 185 (2): 829–839. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90554-o](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90554-o)
- Lavergne E., Combadière B., Bonduelle O., Iga M., Gao J.-L., Maho M., Boissonnas A., Murphy P.M., Debré P. & Combadière C. 2003. — Fractalkine mediates natural killer-dependent antitumor responses in vivo. *Cancer Research* 63 (21): 7468–7474
- Le Hingrat Q., Charpentier C., Visseaux B., Damond F. & Descamps D. 2019. — Virus de l'immunodéficience humaine Available from <https://www.em-consulte.com/article/1312453/virus-de-l-immunodeficiency-humaine> [accessed 25 August 2021]

- Lee C., Liu Q.-H., Tomkowicz B., Yi Y., Freedman B.D. & Collman R.G. 2003. — Macrophage activation through CCR5- and CXCR4-mediated gp120-elicited signaling pathways. *Journal of Leukocyte Biology* 74 (5): 676–682. <https://doi.org/10.1189/jlb.0503206>
- Lee J.-H., Wittki S., Bräu T., Dreyer F.S., Krätzel K., Dindorf J., Johnston I.C.D., Gross S., Kremmer E., Zeidler R., Schlötzer-Schrehardt U., Lichtenheld M., Saksela K., Harrer T., Schuler G., Federico M. & Baur A.S. 2013. — HIV Nef, Paxillin, and Pak1/2 Regulate Activation and Secretion of TACE/ADAM10 Proteases. *Molecular Cell* 49 (4): 668–679. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.12.004>
- Lee S.-J., Namkoong S., Kim Y.-M., Kim C.-K., Lee H., Ha K.-S., Chung H.-T., Kwon Y.-G. & Kim Y.-M. 2006. — Fractalkine stimulates angiogenesis by activating the Raf-1/MEK/ERK- and PI3K/Akt/eNOS-dependent signal pathways. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 291 (6): H2836–H2846. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00113.2006>
- Lee S.C., Chua L.L., Yap S.H., Khang T.F., Leng C.Y., Raja Azwa R.I., Lewin S.R., Kamarulzaman A., Woo Y.L., Lim Y.A.L., Loke P. & Rajasuriar R. 2018. — Enrichment of gut-derived Fusobacterium is associated with suboptimal immune recovery in HIV-infected individuals. *Scientific Reports* 8 (1): 14277. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32585-x>
- Lee S.A., Telwatte S., Hatano H., Kashuba A.D.M., Cottrell M.L., Hoh R., Liegler T.J., Stephenson S., Somsouk M., Hunt P.W., Deeks S.G., Yukl S. & Savic R.M. 2020. — Antiretroviral Therapy Concentrations Differ in Gut vs. Lymph Node Tissues and Are Associated With HIV Viral Transcription by a Novel RT-ddPCR Assay. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)* 83 (5): 530–537. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002287>
- Legoux F., Salou M. & Lantz O. 2020. — MAIT Cell Development and Functions: the Microbial Connection. *Immunity* 53 (4): 710–723. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.09.009>
- Lemaitre J., Cosma A., Desjardins D., Lambotte O. & Le Grand R. 2020. — Mass Cytometry Reveals the Immaturity of Circulating Neutrophils during SIV Infection. *Journal of Innate Immunity* 12 (2): 170–181. <https://doi.org/10.1159/000499841>
- Lemaitre J., Desjardins D., Gallouët A.-S., Gomez-Pacheco M., Bourgeois C., Favier B., Sáez-Cirión A., Le Grand R. & Lambotte O. 2022. — Expansion of Immature Neutrophils During SIV Infection Is Associated With Their Capacity to Modulate T-Cell Function. *Frontiers in Immunology* 13: 781356. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.781356>
- Lenasi T., Contreras X. & Peterlin B.M. 2008. — Transcriptional interference antagonizes proviral gene expression to promote HIV latency. *Cell Host & Microbe* 4 (2): 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.016>
- Leonardi I., Li X., Semon A., Li D., Doron I., Putzel G., Bar A., Prieto D., Rescigno M., McGovern D.P.B., Pla J. & Iliev I.D. 2018. — CX3CR1+ mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi. *Science (New York, N.Y.)* 359 (6372): 232–236. <https://doi.org/10.1126/science.aao1503>
- Lessells R.J., Katzenstein D.K. & De Oliveira T. 2012. — Are subtype differences important in HIV drug resistance? *Current Opinion in Virology* 2 (5): 636–643. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.08.006>
- Lewinski M.K., Yamashita M., Emerman M., Ciuffi A., Marshall H., Crawford G., Collins F., Shinn P., Leipzig J., Hannenhalli S., Berry C.C., Ecker J.R. & Bushman F.D. 2006. — Retroviral DNA integration: viral and cellular determinants of target-site selection. *PLoS pathogens* 2 (6): e60. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020060>

- Li C., Zhong X., Xia W., He J., Gan H., Zhao H. & Xia Y. 2020. — The CX3CL1/CX3CR1 axis is upregulated in chronic kidney disease and contributes to angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells. *Microvascular Research* 132: 104037. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104037>
- Li D. & Xu X.-N. 2008. — NKT cells in HIV-1 infection. *Cell Research* 18 (8): 817–822. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.85>
- Li Q., Estes J.D., Duan L., Jessurun J., Pambuccian S., Forster C., Wietgreffe S., Zupancic M., Schacker T., Reilly C., Carlis J.V. & Haase A.T. 2008. — Simian Immunodeficiency Virus—Induced Intestinal Cell Apoptosis Is the Underlying Mechanism of the Regenerative Enteropathy of Early Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 197 (3): 420–429. <https://doi.org/10.1086/525046>
- Lian X., Gao C., Sun X., Jiang C., Einkauf K.B., Seiger K.W., Chevalier J.M., Yuki Y., Martin M., Hoh R., Peluso M.J., Carrington M., Ruiz-Mateos E., Deeks S.G., Rosenberg E.S., Walker B.D., Lichterfeld M. & Yu X.G. 2021. — Signatures of immune selection in intact and defective proviruses distinguish HIV-1 Elite Controllers. *Science translational medicine* 13 (624): eabl4097. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abl4097>
- Lian X., Seiger K.W., Parsons E.M., Gao C., Sun W., Gladkov G.T., Roseto I.C., Einkauf K.B., Osborn M.R., Chevalier J.M., Jiang C., Blackmer J., Carrington M., Rosenberg E.S., Lederman M.M., McMahon D.K., Bosch R.J., Jacobson J.M., Gandhi R.T., Peluso M.J., Chun T.-W., Deeks S.G., Yu X.G. & Lichterfeld M. 2023. — Progressive transformation of the HIV-1 reservoir cell profile over two decades of antiviral therapy. *Cell Host & Microbe* 31 (1): 83-96.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.12.002>
- Liang S.C., Tan X.-Y., Luxenberg D.P., Karim R., Dunussi-Joannopoulos K., Collins M. & Fouser L.A. 2006. — Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *Journal of Experimental Medicine* 203 (10): 2271–2279. <https://doi.org/10.1084/jem.20061308>
- Lichtner M., Cicconi P., Vita S., Cozzi-Lepri A., Galli M., Lo Caputo S., Saracino A., De Luca A., Moioli M., Maggiolo F., Marchetti G., Vullo V., D'Arminio Monforte A., & ICONA Foundation Study 2015. — Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *The Journal of Infectious Diseases* 211 (2): 178–186. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu417>
- Liddament M.T., Brown W.L., Schumacher A.J. & Harris R.S. 2004. — APOBEC3F properties and hypermutation preferences indicate activity against HIV-1 in vivo. *Current biology: CB* 14 (15): 1385–1391. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.050>
- Lifson J.D., Feinberg M.B., Reyes G.R., Rabin L., Banapour B., Chakrabarti S., Moss B., Wong-Staal F., Steimer K.S. & Engleman E.G. 1986. — Induction of CD4-dependent cell fusion by the HTLV-III/LAV envelope glycoprotein. *Nature* 323 (6090): 725–728. <https://doi.org/10.1038/323725a0>
- Liu H. & Jiang D. 2011. — Fractalkine/CX3CR1 and atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta* 412 (13): 1180–1186. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.03.036>
- Loiseau C., Requena M., Mavigner M., Cazabat M., Carrere N., Suc B., Barange K., Alric L., Marchou B., Massip P., Izopet J. & Delobel P. 2016. — CCR6(-) regulatory T cells blunt the restoration of gut Th17 cells along the CCR6-CCL20 axis in treated HIV-1-infected individuals. *Mucosal Immunology* 9 (5): 1137–1150. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.7>
- Loiseau C., Requena M., Nayrac M., Mavigner M., Cazabat M., Iscache A.L., Carrere N., Suc B., Alric L., Izopet J. & Delobel P. 2019. — Increased CXCR3+ T Cells Impairs Recruitment of T-Helper Type 17

- Cells via Interferon  $\gamma$  and Interleukin 18 in the Small Intestine Mucosa During Treated HIV-1 Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 220 (5): 830–840. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz123>
- López-Herrera A., Liu Y., Rugeles M.T. & He J.J. 2005. — HIV-1 interaction with human mannose receptor (hMR) induces production of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) through hMR-mediated intracellular signaling in astrocytes. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1741 (1–2): 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.001>
- Lorenzo-Redondo R., Fryer H.R., Bedford T., Kim E.-Y., Archer J., Pond S.L.K., Chung Y.-S., Penugonda S., Chipman J., Fletcher C.V., Schacker T.W., Malim M.H., Rambaut A., Haase A.T., McLean A.R. & Wolinsky S.M. 2016. — Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature* 530 (7588): 51–56. <https://doi.org/10.1038/nature16933>
- Lozupone C.A., Li M., Campbell T.B., Flores S.C., Linderman D., Gebert M.J., Knight R., Fontenot A.P. & Palmer B.E. 2013. — Alterations in the gut microbiota associated with HIV-1 infection. *Cell Host & Microbe* 14 (3): 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.08.006>
- Lucas A.D., Bursill C., Guzik T.J., Sadowski J., Channon K.M. & Greaves D.R. 2003. — Smooth Muscle Cells in Human Atherosclerotic Plaques Express the Fractalkine Receptor CX3CR1 and Undergo Chemotaxis to the CX3C Chemokine Fractalkine (CX3CL1). *Circulation* 108 (20): 2498–2504. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000097119.57756.EF>
- Luzuriaga K., Gay H., Ziemniak C., Sanborn K.B., Somasundaran M., Rainwater-Lovett K., Mellors J.W., Rosenbloom D. & Persaud D. 2015. — Viremic Relapse after HIV-1 Remission in a Perinatally Infected Child. *New England Journal of Medicine* 372 (8): 786–788. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1413931>
- Ma J., Wu Y., Wu S., Fang Z., Chen L., Jiang J. & Zheng X. 2024. — CX3CR1+CD8+ T cells: Key players in antitumor immunity. *Cancer Science* 115 (12): 3838–3845. <https://doi.org/10.1111/cas.16359>
- Mabbott N.A., Donaldson D.S., Ohno H., Williams I.R. & Mahajan A. 2013. — Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunology* 6 (4): 666–677. <https://doi.org/10.1038/mi.2013.30>
- Maidji E., Somsouk M., Rivera J.M., Hunt P.W. & Stoddart C.A. 2017. — Replication of CMV in the gut of HIV-infected individuals and epithelial barrier dysfunction. *PLoS pathogens* 13 (2): e1006202. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006202>
- Majumder B., Janket M.L., Schafer E.A., Schaubert K., Huang X.-L., Kan-Mitchell J., Rinaldo C.R. & Ayyavoo V. 2005. — Human immunodeficiency virus type 1 Vpr impairs dendritic cell maturation and T-cell activation: implications for viral immune escape. *Journal of Virology* 79 (13): 7990–8003. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.13.7990-8003.2005>
- Mann B.T., Sanz M., Clohosey M.L., Langlands K., Chitrakar A., Moreno-Soriano C., Vitale J., Iannone M.A., Ruiz-Mateos E., Deleage C., Siegel M. & Soriano-Sarabia N. 2025. — Dual role of circulating and mucosal V $\delta$ 1 T cells in the control of and contribution to persistent HIV-1 infection. *Nature Communications* 16 (1): 5817. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-57260-4>
- Mansky L.M. & Temin H.M. 1995. — Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *Journal of Virology* 69 (8): 5087–5094. <https://doi.org/10.1128/JVI.69.8.5087-5094.1995>

- Marcello A. 2006. — Latency: the hidden HIV-1 challenge. *Retrovirology* 3: 7. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-3-7>
- Marchetti G., Tincati C. & Silvestri G. 2013. — Microbial Translocation in the Pathogenesis of HIV Infection and AIDS. *Clinical Microbiology Reviews* 26 (1): 2–18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00050-12>
- Martin M.P. & Carrington M. 2006. — Natural killer cells and HIV-1 disease. *Current opinion in HIV and AIDS* 1 (3): 226–231. <https://doi.org/10.1097/01.COH.0000221597.79906.f6>
- Masopust D., Vezys V., Wherry E.J., Barber D.L. & Ahmed R. 2006. — Cutting edge: gut microenvironment promotes differentiation of a unique memory CD8 T cell population. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 176 (4): 2079–2083. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.4.2079>
- Massanella M., Fromentin R. & Chomont N. 2016. — Residual inflammation and viral reservoirs: Alliance against an HIV cure. *Current opinion in HIV and AIDS* 11 (2): 234–241. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000230>
- Matano T., Shibata R., Siemon C., Connors M., Lane H.C. & Martin M.A. 1998. — Administration of an anti-CD8 monoclonal antibody interferes with the clearance of chimeric simian/human immunodeficiency virus during primary infections of rhesus macaques. *Journal of Virology* 72 (1): 164–169. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.1.164-169.1998>
- Matloubian M., Lo C.G., Cinamon G., Lesneski M.J., Xu Y., Brinkmann V., Allende M.L., Proia R.L. & Cyster J.G. 2004. — Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature* 427 (6972): 355–360. <https://doi.org/10.1038/nature02284>
- Matsumiya T., Ota K., Imaizumi T., Yoshida H., Kimura H. & Satoh K. 2010. — Characterization of synergistic induction of CX3CL1/fractalkine by TNF-alpha and IFN-gamma in vascular endothelial cells: an essential role for TNF-alpha in post-transcriptional regulation of CX3CL1. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 184 (8): 4205–4214. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903212>
- Mavigner M., Cazabat M., Dubois M., L'Faqihi F.-E., Requena M., Pasquier C., Klopp P., Amar J., Alric L., Barange K., Vinel J.-P., Marchou B., Massip P., Izopet J. & Delobel P. 2012. — Altered CD4+ T cell homing to the gut impairs mucosal immune reconstitution in treated HIV-infected individuals. *The Journal of Clinical Investigation* 122 (1): 62–69. <https://doi.org/10.1172/JCI59011>
- Mavigner M., Delobel P., Cazabat M., Dubois M., L'Faqihi-Olive F.-E., Raymond S., Pasquier C., Marchou B., Massip P. & Izopet J. 2009. — HIV-1 Residual Viremia Correlates with Persistent T-Cell Activation in Poor Immunological Responders to Combination Antiretroviral Therapy. *PLOS ONE* 4 (10): e7658. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007658>
- Mavilio D., Lombardo G., Benjamin J., Kim D., Follman D., Marcenaro E., O'Shea M.A., Kinter A., Kovacs C., Moretta A. & Fauci A.S. 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): 2886–2891. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409872102>
- Mayassi T., Ladell K., Gudjonson H., McLaren J.E., Shaw D.G., Tran M.T., Rokicka J.J., Lawrence I., Grenier J.-C., Van Unen V., Ciszewski C., Dimaano M., Sayegh H.E., Kumar V., Wijmenga C., Green P.H.R., Gokhale R., Jericho H., Semrad C.E., Guandalini S., Dinner A.R., Kupfer S.S., Reid H.H., Barreiro

- L.B., Rossjohn J., Price D.A. & Jabri B. 2019. — Chronic Inflammation Permanently Reshapes Tissue-Resident Immunity in Celiac Disease. *Cell* 176 (5): 967-981.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.039>
- McComb J.G., Ranganathan M., Liu X.H., Pilewski J.M., Ray P., Watkins S.C., Choi A.M.K. & Lee J.S. 2008. — CX3CL1 up-regulation is associated with recruitment of CX3CR1+ mononuclear phagocytes and T lymphocytes in the lungs during cigarette smoke-induced emphysema. *The American Journal of Pathology* 173 (4): 949–961. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071034>
- McCune J.M. 2001. — The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. *Nature* 410 (6831): 974–979. <https://doi.org/10.1038/35073648>
- McDermott D.H., Halcox J.P., Schenke W.H., Waclawiw M.A., Merrell M.N., Epstein N., Quyyumi A.A. & Murphy P.M. 2001. — Association between polymorphism in the chemokine receptor CX3CR1 and coronary vascular endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Circulation Research* 89 (5): 401–407. <https://doi.org/10.1161/hh1701.095642>
- McGary C.S., Deleage C., Harper J., Micci L., Ribeiro S.P., Paganini S., Kuri-Cervantes L., Benne C., Ryan E.S., Balderas R., Jean S., Easley K., Marconi V., Silvestri G., Estes J.D., Sekaly R.-P. & Paiardini M. 2017. — CTLA-4+PD-1- Memory CD4+ T Cells Critically Contribute to Viral Persistence in Antiretroviral Therapy-Suppressed, SIV-Infected Rhesus Macaques. *Immunity* 47 (4): 776-788.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.018>
- McKinney E.F. & Smith K.G.C. 2018. — Metabolic exhaustion in infection, cancer and autoimmunity. *Nature Immunology* 19 (3): 213–221. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0045-y>
- McLane L.M., Abdel-Hakeem M.S. & Wherry E.J. 2019. — CD8 T Cell Exhaustion During Chronic Viral Infection and Cancer. *Annual Review of Immunology* 37: 457–495. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055318>
- McLane L.M., Abdel-Hakeem M.S. & Wherry E.J. 2019. — CD8 T Cell Exhaustion During Chronic Viral Infection and Cancer. *Annual Review of Immunology* 37: 457–495. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055318>
- McMichael A.J., Borrow P., Tomaras G.D., Goonetilleke N. & Haynes B.F. 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>
- McMurray J.L., Von Borstel A., Taher T.E., Syrimi E., Taylor G.S., Sharif M., Rossjohn J., Remmerswaal E.B.M., Bemelman F.J., Vieira Braga F.A., Chen X., Teichmann S.A., Mohammed F., Berry A.A., Lyke K.E., Williamson K.C., Stubbington M.J.T., Davey M.S., Willcox C.R. & Willcox B.E. 2022. — Transcriptional profiling of human Vδ1 T cells reveals a pathogen-driven adaptive differentiation program. *Cell Reports* 39 (8): 110858. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110858>
- Medina-Contreras O., Geem D., Laur O., Williams I.R., Lira S.A., Nusrat A., Parkos C.A. & Denning T.L. 2011. — CX3CR1 regulates intestinal macrophage homeostasis, bacterial translocation, and colitogenic Th17 responses in mice. *The Journal of Clinical Investigation* 121 (12): 4787–4795. <https://doi.org/10.1172/JCI59150>
- Mehandru S., Poles M.A., Tenner-Racz K., Horowitz A., Hurley A., Hogan C., Boden D., Racz P. & Markowitz M. 2004. — Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *The Journal of Experimental Medicine* 200 (6): 761–770. <https://doi.org/10.1084/jem.20041196>

- Mendiola A.S., Church K.A., Cardona S.M., Vanegas D., Garcia S.A., Macklin W., Lira S.A., Ransohoff R.M., Kokovay E., Lin C.-H.A. & Cardona A.E. 2022. — Defective fractalkine-CX3CR1 signaling aggravates neuroinflammation and affects recovery from cuprizone-induced demyelination. *Journal of Neurochemistry* 162 (5): 430–443. <https://doi.org/10.1111/jnc.15616>
- Mendoza P., Gruell H., Nogueira L., Pai J.A., Butler A.L., Millard K., Lehmann C., Suárez I., Oliveira T.Y., Lorenzi J.C.C., Cohen Y.Z., Wyen C., Kümmerle T., Karagounis T., Lu C.-L., Handl L., Unson-O'Brien C., Patel R., Ruping C., Schlotz M., Witmer-Pack M., Shimeliovich I., Kremer G., Thomas E., Seaton K.E., Horowitz J., West A.P., Bjorkman P.J., Tomaras G.D., Gulick R.M., Pfeifer N., Fätkenheuer G., Seaman M.S., Klein F., Caskey M. & Nussenzweig M.C. 2018. — Combination therapy with anti-HIV-1 antibodies maintains viral suppression. *Nature* 561 (7724): 479–484. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0531-2>
- Meng L., Park J., Cai Q., Lanting L., Reddy M.A. & Natarajan R. 2010. — Diabetic conditions promote binding of monocytes to vascular smooth muscle cells and their subsequent differentiation. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 298 (3): H736-745. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00935.2009>
- Merad M., Ginhoux F. & Collin M. 2008. — Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells. *Nature Reviews Immunology* 8 (12): 935–947. <https://doi.org/10.1038/nri2455>
- Meucci O., Fatatis A., Simen A.A. & Miller R.J. 2000. — Expression of CX3CR1 chemokine receptors on neurons and their role in neuronal survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (14): 8075–8080. <https://doi.org/10.1073/pnas.090017497>
- Meyer dos Santos S., Klinkhardt U., Scholich K., Nelson K., Monsefi N., Deckmyn H., Kuczka K., Zorn A. & Harder S. 2011. — The CX3C chemokine fractalkine mediates platelet adhesion via the von Willebrand receptor glycoprotein Ib. *Blood* 117 (18): 4999–5008. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-02-335471>
- Migueles S.A., Laborico A.C., Shupert W.L., Sabbaghian M.S., Rabin R., Hallahan C.W., Van Baarle D., Kostense S., Miedema F., McLaughlin M., Ehler L., Metcalf J., Liu S. & Connors M. 2002. — HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nature Immunology* 3 (11): 1061–1068. <https://doi.org/10.1038/ni845>
- Mikulak J., Oriolo F., Bruni E., Roberto A., Colombo F.S., Villa A., Bosticardo M., Bortolomai I., Lo Presti E., Meraviglia S., Dieli F., Vetrano S., Danese S., Della Bella S., Carvello M.M., Sacchi M., Cugini G., Colombo G., Klinger M., Spaggiari P., Roncalli M., Prinz I., Ravens S., Di Lorenzo B., Marcenaro E., Silva-Santos B., Spinelli A. & Mavilio D. 2019. — NKp46-expressing human gut-resident intraepithelial V $\delta$ 1 T cell subpopulation exhibits high antitumor activity against colorectal cancer. *JCI Insight* 4 (24): e125884. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.125884>
- Miller E.A., Spadaccia M.R., O'Brien M.P., Rolnitzky L., Sabado R., Manches O., Frleta D. & Bhardwaj N. 2012. — Plasma factors during chronic HIV-1 infection impair IL-12 secretion by myeloid dendritic cells via a virus-independent pathway. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)* 61 (5): 535–544. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31826afbce>
- Mionnet C., Buatois V., Kanda A., Milcent V., Fleury S., Lair D., Langelot M., Lacoeyille Y., Hessel E., Coffman R., Magnan A., Dombrowicz D., Glaichenhaus N. & Julia V. 2010. — CX3CR1 is required for airway inflammation by promoting T helper cell survival and maintenance in inflamed lung. *Nature Medicine* 16 (11): 1305–1312. <https://doi.org/10.1038/nm.2253>

- Moatti D., Faure S., Fumeron F., Amara M. el-W., Seknadji P., McDermott D.H., Debré P., Aumont M.C., Murphy P.M., De Prost D. & Combadière C. 2001. — Polymorphism in the fractalkine receptor CX3CR1 as a genetic risk factor for coronary artery disease. *Blood* 97 (7): 1925–1928. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.7.1925>
- Mohammadi A., Etemad B., Zhang X., Li Y., Bedwell G.J., Sharaf R., Kittilson A., Melberg M., Crain C.R., Traunbauer A.K., Wong C., Fajnzylber J., Worrall D.P., Rosenthal A., Jordan H., Jilg N., Kaseke C., Giguel F., Lian X., Deo R., Gillespie E., Chishti R., Abrha S., Adams T., Siagian A., Dorazio D., Anderson P.L., Deeks S.G., Lederman M.M., Yawetz S., Kuritzkes D.R., Lichtenfeld M.D., Sieg S., Tsibris A., Carrington M., Brumme Z.L., Castillo-Mancilla J.R., Engelman A.N., Gaiha G.D. & Li J.Z. 2023. — Viral and host mediators of non-suppressible HIV-1 viremia. *Nature Medicine* 29 (12): 3212–3223. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02611-1>
- Moore R.D., Keruly J.C. & Chaisson R.E. 1995. — Neutropenia and bacterial infection in acquired immunodeficiency syndrome. *Archives of Internal Medicine* 155 (18): 1965–1970
- Moretta A., Bottino C., Vitale M., Pende D., Cantoni C., Mingari M.C., Biassoni R. & Moretta L. 2001. — Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annual Review of Immunology* 19: 197–223. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.197>
- Morón-López S., Navarro J., Jimenez M., Rutsaert S., Urrea V., Puertas M.C., Torrella A., De Clercq L., Ribas B.P., Gálvez C., Salgado M., Vandekerckhove L., Blanco J., Crespo M. & Martinez-Picado J. 2019. — Switching From a Protease Inhibitor-based Regimen to a Dolutegravir-based Regimen: A Randomized Clinical Trial to Determine the Effect on Peripheral Blood and Ileum Biopsies From Antiretroviral Therapy-suppressed Human Immunodeficiency Virus-infected Individuals. *Clinical Infectious Diseases* 69 (8): 1320–1328. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy1095>
- Morris S.R., Chen B., Mudd J.C., Panigrahi S., Shive C.L., Sieg S.F., Cameron C.M., Zidar D.A., Funderburg N.T., Younes S.-A., Rodriguez B., Gianella S., Lederman M.M. & Freeman M.L. 2020. — Inflammescent CX3CR1+CD57+CD8+ T cells are generated and expanded by IL-15. *JCI insight* 5 (11): e132963, 132963. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.132963>
- Moses A., Nelson J. & Bagby G.C. 1998. — The influence of human immunodeficiency virus-1 on hematopoiesis. *Blood* 91 (5): 1479–1495
- Mouquet H. 2025. — Humoral immunity in HIV-1 post-treatment controllers. *Current opinion in HIV and AIDS* 20 (1): 80–85. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000893>
- Mourez T., Simon F. & Plantier J.-C. 2013. — Non-M variants of human immunodeficiency virus type 1. *Clinical Microbiology Reviews* 26 (3): 448–461. <https://doi.org/10.1128/CMR.00012-13>
- Mowat A.M. & Agace W.W. 2014. — Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews. Immunology* 14 (10): 667–685. <https://doi.org/10.1038/nri3738>
- Mowat A.M. 2003. — Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews. Immunology* 3 (4): 331–341. <https://doi.org/10.1038/nri1057>
- Mucida D., Park Y., Kim G., Turovskaya O., Scott I., Kronenberg M. & Cheroutre H. 2007. — Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science (New York, N.Y.)* 317 (5835): 256–260. <https://doi.org/10.1126/science.1145697>
- Mudd J.C., Panigrahi S., Kyi B., Moon S.H., Manion M.M., Younes S.-A., Sieg S.F., Funderburg N.T., Zidar D.A., Lederman M.M. & Freeman M.L. 2016. — Inflammatory Function of CX3CR1+ CD8+ T Cells in

- Treated HIV Infection Is Modulated by Platelet Interactions. *The Journal of Infectious Diseases* 214 (12): 1808–1816. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw463>
- Mueller Y.M., Do D.H., Altorok S.R., Artlett C.M., Gracely E.J., Katsetos C.D., Legido A., Villinger F., Altman J.D., Brown C.R., Lewis M.G. & Katsikis P.D. 2008. — IL-15 treatment during acute simian immunodeficiency virus (SIV) infection increases viral set point and accelerates disease progression despite the induction of stronger SIV-specific CD8+ T cell responses. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 180 (1): 350–360. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.1.350>
- Muro-Cacho C.A., Pantaleo G. & Fauci A.S. 1995. — Analysis of apoptosis in lymph nodes of HIV-infected persons. Intensity of apoptosis correlates with the general state of activation of the lymphoid tissue and not with stage of disease or viral burden. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 154 (10): 5555–5566
- Nabel G. & Baltimore D. 1987. — An inducible transcription factor activates expression of human immunodeficiency virus in T cells. *Nature* 326 (6114): 711–713. <https://doi.org/10.1038/326711a0>
- Nagler-Anderson C. 2001. — Man the barrier! strategic defences in the intestinal mucosa. *Nature Reviews Immunology* 1 (1): 59–67. <https://doi.org/10.1038/35095573>
- Nakayama T., Watanabe Y., Oiso N., Higuchi T., Shigeta A., Mizuguchi N., Katou F., Hashimoto K., Kawada A. & Yoshie O. 2010. — Eotaxin-3/CC Chemokine Ligand 26 Is a Functional Ligand for CX3CR1. *The Journal of Immunology* 185 (11): 6472–6479. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0904126>
- Nanki T., Imai T., Nagasaka K., Urasaki Y., Nonomura Y., Taniguchi K., Hayashida K., Hasegawa J., Yoshie O. & Miyasaka N. 2002. — Migration of CX3CR1-positive T cells producing type 1 cytokines and cytotoxic molecules into the synovium of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 46 (11): 2878–2883. <https://doi.org/10.1002/art.10622>
- Nathan C. 2006. — Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology* 6 (3): 173–182. <https://doi.org/10.1038/nri1785>
- Nayrac M., Requena M., Loiseau C., Cazabat M., Suc B., Carrere N., Barange K., Alric L., Martin-Blondel G., Izopet J. & Delobel P. 2021. — Th22 cells are efficiently recruited in the gut by CCL28 as an alternative to CCL20 but do not compensate for the loss of Th17 cells in treated HIV-1-infected individuals. *Mucosal Immunology* 14 (1): 219–228. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-0286-6>
- Nazli A., Chan O., Dobson-Belaire W.N., Ouellet M., Tremblay M.J., Gray-Owen S.D., Arsenault A.L. & Kaushic C. 2010. — Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation. *PLoS pathogens* 6 (4): e1000852. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000852>
- Neff C.P., Krueger O., Xiong K., Arif S., Nusbacher N., Schneider J.M., Cunningham A.W., Armstrong A., Li S., McCarter M.D., Campbell T.B., Lozupone C.A. & Palmer B.E. 2018. — Fecal Microbiota Composition Drives Immune Activation in HIV-infected Individuals. *eBioMedicine* 30: 192–202. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.03.024>
- Neuhaus J., Jacobs D.R., Baker J.V., Calmy A., Duprez D., La Rosa A., Kuller L.H., Pett S.L., Ristola M., Ross M.J., Shlipak M.G., Tracy R. & Neaton J.D. 2010. — Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *The Journal of Infectious Diseases* 201 (12): 1788–1795. <https://doi.org/10.1086/652749>

- Nganou-Makamdop K., Talla A., Sharma A.A., Darko S., Ransier A., Laboune F., Chipman J.G., Beilman G.J., Hoskuldsson T., Fourati S., Schmidt T.E., Arumugam S., Lima N.S., Moon D., Callisto S., Schoepfoerster J., Tomalka J., Mugenyi P., Ssali F., Muloma P., Ssengendo P., Leda A.R., Cheu R.K., Flynn J.K., Morou A., Brunet-Ratnasingham E., Rodriguez B., Lederman M.M., Kaufmann D.E., Klatt N.R., Kityo C., Brenchley J.M., Schacker T.W., Sekaly R.P. & Douek D.C. 2021. — Translocated microbiome composition determines immunological outcome in treated HIV infection. *Cell* 184 (15): 3899–3914.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.023>
- Nickle D.C., Jensen M.A., Shriner D., Brodie S.J., Frenkel L.M., Mittler J.E. & Mullins J.I. 2003. — Evolutionary Indicators of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reservoirs and Compartments. *Journal of Virology* 77 (9): 5540–5546. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.9.5540-5546.2003>
- Nielsen M.M., Witherden D.A. & Havran W.L. 2017. —  $\gamma\delta$  T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues. *Nature Reviews Immunology* 17 (12): 733–745. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.101>
- Niess J.H., Brand S., Gu X., Landsman L., Jung S., McCormick B.A., Vyas J.M., Boes M., Ploegh H.L., Fox J.G., Littman D.R. & Reinecker H.-C. 2005. — CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science (New York, N.Y.)* 307 (5707): 254–258. <https://doi.org/10.1126/science.1102901>
- Niessl J., Baxter A.E., Mendoza P., Jankovic M., Cohen Y.Z., Butler A.L., Lu C.-L., Dubé M., Shimeliovich I., Gruell H., Klein F., Caskey M., Nussenzweig M.C. & Kaufmann D.E. 2020. — Combination anti-HIV-1 antibody therapy is associated with increased virus-specific T cell immunity. *Nature Medicine* 26 (2): 222–227. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0747-1>
- Nikolic D.S., Lehmann M., Felts R., Garcia E., Blanchet F.P., Subramaniam S. & Piguet V. 2011. — HIV-1 activates Cdc42 and induces membrane extensions in immature dendritic cells to facilitate cell-to-cell virus propagation. *Blood* 118 (18): 4841–4852. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-09-305417>
- Nilssen D.E. & Brandtzaeg P. 2012. — Intraepithelial  $\gamma\delta$  T Cells Remain Increased in the Duodenum of AIDS Patients Despite Antiretroviral Treatment, in Nixon D.F. (ed.). *PLoS ONE* 7 (1): e29066. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029066>
- Nishimura M., Umehara H., Nakayama T., Yoneda O., Hieshima K., Kakizaki M., Dohmae N., Yoshie O. & Imai T. 2002. — Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+/granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 168 (12): 6173–6180. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.12.6173>
- Nishiyori A., Minami M., Ohtani Y., Takami S., Yamamoto J., Kawaguchi N., Kume T., Akaike A. & Satoh M. 1998. — Localization of fractalkine and CX3CR1 mRNAs in rat brain: does fractalkine play a role in signaling from neuron to microglia? *FEBS Letters* 429 (2): 167–172. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00583-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00583-3)
- Noguera-Julian M., Rocafort M., Guillén Y., Rivera J., Casadellà M., Nowak P., Hildebrand F., Zeller G., Parera M., Bellido R., Rodríguez C., Carrillo J., Mothe B., Coll J., Bravo I., Estany C., Herrero C., Saz J., Sirera G., Torrela A., Navarro J., Crespo M., Brander C., Negredo E., Blanco J., Guarner F., Calle M.L., Bork P., Sönnernborg A., Clotet B. & Paredes R. 2016. — Gut Microbiota Linked to Sexual Preference and HIV Infection. *EBioMedicine* 5: 135–146. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.01.032>
- O'Brien M., Manches O. & Bhardwaj N. 2013. — Plasmacytoid dendritic cells in HIV infection. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 762: 71–107. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4433-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4433-6_3)

- Ohene-Nyako M., Persons A.L., Forsyth C., Keshavarzian A. & Napier T.C. 2024. — Matrix Metalloproteinase-9 Signaling Regulates Colon Barrier Integrity in Models of HIV Infection. *Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on Neuroimmune Pharmacology* 19 (1): 57. <https://doi.org/10.1007/s11481-024-10158-2>
- Okumura R. & Takeda K. 2017. — Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine* 49 (5): e338–e338. <https://doi.org/10.1038/emm.2017.20>
- Olety B., Usami Y., Peters P., Wu Y. & Göttlinger H. 2025. — The ectodomain sheddase ADAM10 restricts HIV-1 propagation and is counteracted by Nef. *Science Advances* 11 (16): eadt1836. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adt1836>
- Olivo A., Lécuroux C., Bitu M., Avettand-Fenoel V., Boufassa F., Essat A., Meyer L., Doisne J.-M., Favier B., Vaslin B., Schlecht-Louf G., Noël N., Goujard C., Lambotte O. & Bourgeois C. 2021. — CXCR3 and CXCR5 are highly expressed in HIV-1-specific CD8 central memory T cells from infected patients. *European Journal of Immunology* 51 (8): 2040–2050. <https://doi.org/10.1002/eji.202048943>
- Olson G.S., Moore S.W., Richter J.M., Garber J.J., Bowman B.A., Rawlings C.A., Flagg M., Corleis B. & Kwon D.S. 2018. — Increased frequency of systemic pro-inflammatory V $\delta$ 1+  $\gamma\delta$  T cells in HIV elite controllers correlates with gut viral load. *Scientific Reports* 8 (1): 16471. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34576-4>
- Orenstein J.M., Fox C. & Wahl S.M. 1997. — Macrophages as a source of HIV during opportunistic infections. *Science (New York, N.Y.)* 276 (5320): 1857–1861. <https://doi.org/10.1126/science.276.5320.1857>
- Owen R.E., Heitman J.W., Hirschhorn D.F., Lanteri M.C., Biswas H.H., Martin J.N., Krone M.R., Deeks S.G. & Norris P.J. 2010. — HIV+ elite controllers have low HIV-specific T cell activation yet maintain strong, polyfunctional T cell responses. *AIDS (London, England)* 24 (8): 1095–1105. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283377a1e>
- Pachnio A., Ciaurritz M., Begum J., Lal N., Zuo J., Beggs A. & Moss P. 2016. — Cytomegalovirus Infection Leads to Development of High Frequencies of Cytotoxic Virus-Specific CD4+ T Cells Targeted to Vascular Endothelium. *PLoS pathogens* 12 (9): e1005832. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005832>
- Pagani I., Demela P., Ghezzi S., Vicenzi E., Pizzato M. & Poli G. 2022. — Host Restriction Factors Modulating HIV Latency and Replication in Macrophages. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (6): 3021. <https://doi.org/10.3390/ijms23063021>
- Pan Y., Lloyd C., Zhou H., Dolich S., Deeds J., Gonzalo J.A., Vath J., Gosselin M., Ma J., Dussault B., Woolf E., Alperin G., Culpepper J., Gutierrez-Ramos J.C. & Gearing D. 1997. — Neurotactin, a membrane-anchored chemokine upregulated in brain inflammation. *Nature* 387 (6633): 611–617. <https://doi.org/10.1038/42491>
- Panigrahi S., Chen B., Fang M., Potashnikova D., Komissarov A.A., Lebedeva A., Michaelson G.M., Wyrick J.M., Morris S.R., Sieg S.F., Paiardini M., Villinger F.J., Harth K., Kashyap V.S., Cameron M.J., Cameron C.M., Vasilieva E., Margolis L., Younes S.-A., Funderburg N.T., Zidar D.A., Lederman M.M. & Freeman M.L. 2020. — CX3CL1 and IL-15 Promote CD8 T cell chemoattraction in HIV and in atherosclerosis. *PLoS pathogens* 16 (9): e1008885. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008885>

- Papagno L., Spina C.A., Marchant A., Salio M., Rufer N., Little S., Dong T., Chesney G., Waters A., Easterbrook P., Dunbar P.R., Shepherd D., Cerundolo V., Emery V., Griffiths P., Conlon C., McMichael A.J., Richman D.D., Rowland-Jones S.L. & Appay V. 2004. — Immune activation and CD8+ T-cell differentiation towards senescence in HIV-1 infection. *PLoS biology* 2 (2): E20. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020020>
- Pardons M., Baxter A.E., Massanella M., Pagliuzza A., Fromentin R., Dufour C., Leyre L., Routy J.-P., Kaufmann D.E. & Chomont N. 2019. — Single-cell characterization and quantification of translation-competent viral reservoirs in treated and untreated HIV infection. *PLoS pathogens* 15 (2): e1007619. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007619>
- Park J.S., Gazzaniga F.S., Kasper D.L. & Sharpe A.H. 2023. — Microbiota-dependent regulation of costimulatory and coinhibitory pathways via innate immune sensors and implications for immunotherapy. *Experimental & Molecular Medicine* 55 (9): 1913–1921. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01075-0>
- Parrinello C.M., Sinclair E., Landay A.L., Lurain N., Sharrett A.R., Gange S.J., Xue X., Hunt P.W., Deeks S.G., Hodis H.N. & Kaplan R.C. 2012. — Cytomegalovirus Immunoglobulin G Antibody Is Associated With Subclinical Carotid Artery Disease Among HIV-Infected Women. *The Journal of Infectious Diseases* 205 (12): 1788–1796. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis276>
- Parry R.V., Chemnitz J.M., Frauwirth K.A., Lanfranco A.R., Braunstein I., Kobayashi S.V., Linsley P.S., Thompson C.B. & Riley J.L. 2005. — CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms. *Molecular and Cellular Biology* 25 (21): 9543–9553. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.21.9543-9553.2005>
- Patsoukis N., Bardhan K., Chatterjee P., Sari D., Liu B., Bell L.N., Karoly E.D., Freeman G.J., Petkova V., Seth P., Li L. & Boussiotis V.A. 2015. — PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nature Communications* 6 (1): 6692. <https://doi.org/10.1038/ncomms7692>
- Patterson K.B., Prince H.A., Stevens T., Shaheen N.J., Dellon E.S., Madanick R.D., Jennings S., Cohen M.S. & Kashuba A.D.M. 2013. — Differential Penetration of Raltegravir throughout Gastrointestinal Tissue: Implications for Eradication and Cure. *AIDS (London, England)* 27 (9): 1413–1419. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835f2b49>
- Perdomo-Celis F., Passaes C., Monceaux V., Volant S., Boufassa F., De Truchis P., Marcou M., Bourdic K., Weiss L., Jung C., Bourgeois C., Goujard C., Meyer L., Müller-Trutwin M., Lambotte O. & Sáez-Cirión A. 2022. — Reprogramming dysfunctional CD8+ T cells to promote properties associated with natural HIV control. *The Journal of Clinical Investigation* 132 (11): e157549. <https://doi.org/10.1172/JCI157549>
- Perelson A.S., Neumann A.U., Markowitz M., Leonard J.M. & Ho D.D. 1996. — HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science (New York, N.Y.)* 271 (5255): 1582–1586. <https://doi.org/10.1126/science.271.5255.1582>
- Perreau M., Savoye A.-L., De Crignis E., Corpataux J.-M., Cubas R., Haddad E.K., De Leval L., Graziosi C. & Pantaleo G. 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): 143–156. <https://doi.org/10.1084/jem.20121932>

- Persaud D., Gay H., Ziemniak C., Chen Y.H., Piatak M., Chun T.-W., Strain M., Richman D. & Luzuriaga K. 2013. — Absence of detectable HIV-1 viremia after treatment cessation in an infant. *The New England Journal of Medicine* 369 (19): 1828–1835. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1302976>
- Persaud D., Siberry G.K., Ahonkhai A., Kajdas J., Monie D., Hutton N., Watson D.C., Quinn T.C., Ray S.C. & Siliciano R.F. 2004. — Continued production of drug-sensitive human immunodeficiency virus type 1 in children on combination antiretroviral therapy who have undetectable viral loads. *Journal of Virology* 78 (2): 968–979. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.2.968-979.2004>
- Peterlin B.M. & Price D.H. 2006. — Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb. *Molecular Cell* 23 (3): 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.06.014>
- Phetsouphanh C., Phalora P., Hackstein C.-P., Thornhill J., Munier C.M.L., Meyerowitz J., Murray L., VanVuuren C., Goedhals D., Drexhage L., Moore R., Sattentau Q.J., Mak J.Y., Fairlie D.P., Fidler S., Kelleher A.D., Frater J. & Klenerman P. 2021. — Human MAIT cells respond to and suppress HIV-1. *eLife* 10: e50324. <https://doi.org/10.7554/eLife.50324>
- Pierson T.C., Kieffer T.L., Ruff C.T., Buck C., Gange S.J. & Siliciano R.F. 2002. — Intrinsic stability of episomal circles formed during human immunodeficiency virus type 1 replication. *Journal of Virology* 76 (8): 4138–4144. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.8.4138-4144.2002>
- Pierson T.C., Zhou Y., Kieffer T.L., Ruff C.T., Buck C. & Siliciano R.F. 2002. — Molecular Characterization of Preintegration Latency in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *Journal of Virology* 76 (17): 8518–8531. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.17.8518-8531.2002>
- Pihl R.M.F., Smith-Mahoney E.L., Olson A., Yuen R.R., Asundi A., Lin N., Belkina A.C. & Snyder-Cappione J.E. 2024. — Vδ1 Effector and Vδ2 γδ T-Cell Subsets Shift in Frequency and Are Linked to Plasma Inflammatory Markers During Antiretroviral Therapy-Suppressed HIV Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 229 (5): 1317–1327. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae091>
- Pokharel J., Shryki I., Zwijnenburg A.J., Sandu I., Krumm L., Bekiari C., Avramov V., Heinbäck R., Lysell J., Eidsmo L., Harris H.E. & Gerlach C. 2024. — The cellular microenvironment regulates CX3CR1 expression on CD8+ T cells and the maintenance of CX3CR1+ CD8+ T cells. *European Journal of Immunology* 54 (1): 2350658. <https://doi.org/10.1002/eji.202350658>
- Poles M.A., Elliott J., Taing P., Anton P.A. & Chen I.S. 2001. — A preponderance of CCR5(+) CXCR4(+) mononuclear cells enhances gastrointestinal mucosal susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection. *Journal of Virology* 75 (18): 8390–8399. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.18.8390-8399.2001>
- Poles M.A., Barsoum S., Yu W., Yu J., Sun P., Daly J., He T., Mehandru S., Talal A., Markowitz M., Hurley A., Ho D. & Zhang L. 2003. — Human Immunodeficiency Virus Type 1 Induces Persistent Changes in Mucosal and Blood γδ T Cells despite Suppressive Therapy. *J. Virol.* 77: 12
- Pollack R.A., Jones R.B., Pertea M., Bruner K.M., Martin A.R., Thomas A.S., Capoferri A.A., Beg S.A., Huang S.-H., Karandish S., Hao H., Halper-Stromberg E., Yong P.C., Kovacs C., Benko E., Siliciano R.F. & Ho Y.-C. 2017. — Defective HIV-1 Proviruses Are Expressed and Can Be Recognized by Cytotoxic T Lymphocytes, which Shape the Proviral Landscape. *Cell Host & Microbe* 21 (4): 494-506.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.008>
- Ponzetta A., Sciumè G., Benigni G., Antonangeli F., Morrone S., Santoni A. & Bernardini G. 2013. — CX3CR1 regulates the maintenance of KLRG1+ NK cells into the bone marrow by promoting their

- entry into circulation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 191 (11): 5684–5694. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300090>
- Poon B. & Chen I.S.Y. 2003. — Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Vpr enhances expression from unintegrated HIV-1 DNA. *Journal of Virology* 77 (7): 3962–3972. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.7.3962-3972.2003>
- Potter S.J., Lacabaratz C., Lambotte O., Perez-Patrigeon S., Vingert B., Sinet M., Colle J.-H., Urrutia A., Scott-Algara D., Boufassa F., Delfraissy J.-F., Thèze J., Venet A. & Chakrabarti L.A. 2007. — Preserved central memory and activated effector memory CD4<sup>+</sup> T-cell subsets in human immunodeficiency virus controllers: an ANRS EP36 study. *Journal of Virology* 81 (24): 13904–13915. <https://doi.org/10.1128/JVI.01401-07>
- Powrie F., Read S., Mottet C., Uhlig H. & Maloy K. 2003. — Control of immune pathology by regulatory T cells. *Novartis Foundation Symposium* 252: 92–98; discussion 98-105, 106–114
- Probert C.S.J., Saubermann L.J., Balk S. & Blumberg R.S. 2007. — Repertoire of the alpha beta T-cell receptor in the intestine. *Immunological Reviews* 215: 215–225. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00480.x>
- Puissant B., Roubinet F., Massip P., Sandres-Saune K., Apoil P.-A., Abbal M., Pasquier C., Izopet J. & Blancher A. 2006. — Analysis of CCR5, CCR2, CX3CR1, and SDF1 polymorphisms in HIV-positive treated patients: impact on response to HAART and on peripheral T lymphocyte counts. *AIDS research and human retroviruses* 22 (2): 153–162. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.22.153>
- Pyaram K. & Chang C.-H. 2024. — NKT Cells and Other Innate T Cells: The Immune Cells That Do Not Follow the Rules. *The Journal of Immunology* 213 (1): 3–5. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2400243>
- Qiu X., Wang J., Zhang W., Duan C., Chen T., Zhang D., Su J. & Gao L. 2023. — Disruption of the ADAM17/NF- $\kappa$ B feedback loop in astrocytes ameliorates HIV-1 Tat-induced inflammatory response and neuronal death. *Journal of Neurovirology* 29 (3): 283–296. <https://doi.org/10.1007/s13365-023-01131-5>
- Quigley M., Pereyra F., Nilsson B., Porichis F., Fonseca C., Eichbaum Q., Julg B., Jesneck J.L., Brosnahan K., Imam S., Russell K., Toth I., Piechocka-Trocha A., Dolfi D., Angelosanto J., Crawford A., Shin H., Kwon D.S., Zupkosky J., Francisco L., Freeman G.J., Wherry E.J., Kaufmann D.E., Walker B.D., Ebert B. & Haining W.N. 2010. — Integrative genomic analysis of HIV-specific CD8<sup>+</sup> T cells reveals that PD-1 inhibits T cell function by upregulating BATF. *Nature medicine* 16 (10): 1147–1151. <https://doi.org/10.1038/nm.2232>
- Raffatellu M., Santos R.L., Verhoeven D.E., George M.D., Wilson R.P., Winter S.E., Godinez I., Sankaran S., Paixao T.A., Gordon M.A., Kolls J.K., Dandekar S. & Bäuml A.J. 2008. — Simian immunodeficiency virus-induced mucosal interleukin-17 deficiency promotes Salmonella dissemination from the gut. *Nature Medicine* 14 (4): 421–428. <https://doi.org/10.1038/nm1743>
- Ramendra R., Isnard S., Lin J., Fombuena B., Ouyang J., Mehraj V., Zhang Y., Finkelman M., Costiniuk C., Lebouché B., Chartrand-Lefebvre C., Durand M., Tremblay C., Ancuta P., Boivin G. & Routy J.-P. 2020. — Cytomegalovirus Seropositivity Is Associated With Increased Microbial Translocation in People Living With Human Immunodeficiency Virus and Uninfected Controls. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 71 (6): 1438–1446. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1001>

- Raport C.J., Schweickart V.L., Eddy R.L., Shows T.B. & Gray P.W. 1995. — The orphan G-protein-coupled receptor-encoding gene V28 is closely related to genes for chemokine receptors and is expressed in lymphoid and neural tissues. *Gene* 163 (2): 295–299. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(95\)00336-5](https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)00336-5)
- Ravens S., Schultze-Florey C., Raha S., Sandrock I., Drenker M., Oberdörfer L., Reinhardt A., Ravens I., Beck M., Geffers R., Von Kaisenberg C., Heuser M., Thol F., Ganser A., Förster R., Koenecke C. & Prinz I. 2017. — Human  $\gamma\delta$  T cells are quickly reconstituted after stem-cell transplantation and show adaptive clonal expansion in response to viral infection. *Nature Immunology* 18 (4): 393–401. <https://doi.org/10.1038/ni.3686>
- Raychaudhuri S.P., Jiang W.Y. & Farber E.M. 2001. — Cellular localization of fractalkine at sites of inflammation: antigen-presenting cells in psoriasis express high levels of fractalkine. *The British Journal of Dermatology* 144 (6): 1105–1113. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2001.04219.x>
- Real F., Capron C., Sennepin A., Arriguicci R., Zhu A., Sannier G., Zheng J., Xu L., Massé J.-M., Greffe S., Cazabat M., Donoso M., Delobel P., Izopet J., Eugenin E., Gennaro M.L., Rouveix E., Cramer Bordé E. & Bomsel M. 2020. — Platelets from HIV-infected individuals on antiretroviral drug therapy with poor CD4+ T cell recovery can harbor replication-competent HIV despite viral suppression. *Science Translational Medicine* 12 (535): eaat6263. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat6263>
- Richetta C., Thierry S., Thierry E., Lesbats P., Lapaillerie D., Munir S., Subra F., Leh H., Deprez E., Parissi V. & Delelis O. 2019. — Two-long terminal repeat (LTR) DNA circles are a substrate for HIV-1 integrase. *The Journal of Biological Chemistry* 294 (20): 8286–8295. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006755>
- Richter B., Koller L., Hohensinner P.J., Rychli K., Zorn G., Goliash G., Berger R., Mörtl D., Maurer G., Huber K., Pacher R., Wojta J., Hülsmann M. & Niessner A. 2012. — Fractalkine is an independent predictor of mortality in patients with advanced heart failure. *Thrombosis and Haemostasis* 108 (6): 1220–1227. <https://doi.org/10.1160/TH12-03-0195>
- Rimaniol A.-C., Till S.J., Garcia G., Capel F., Godot V., Balabanian K., Durand-Gasselini I., Varga E.M., Simonneau G., Emilie D., Durham S.R. & Humbert M. 2003. — The CX3C chemokine fractalkine in allergic asthma and rhinitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 112 (6): 1139–1146. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.09.041>
- Rius C., Piqueras L., González-Navarro H., Albertos F., Company C., López-Ginés C., Ludwig A., Blanes J.-I., Morcillo E.J. & Sanz M.-J. 2013. — Arterial and Venous Endothelia Display Differential Functional Fractalkine (CX3CL1) Expression by Angiotensin-II. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 33 (1): 96–104. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.254870>
- Robain M., Carré N., Dussaix E., Salmon-Ceron D., Meyer L. & Group T.S.S. 1998. — Incidence and Sexual Risk Factors of Cytomegalovirus Seroconversion in HIV-Infected Subjects. *Sexually Transmitted Diseases* 25 (9): 476
- Robinson L.A., Nataraj C., Thomas D.W., Howell D.N., Griffiths R., Bautch V., Patel D.D., Feng L. & Coffman T.M. 2000. — A Role for Fractalkine and Its Receptor (CX3CR1) in Cardiac Allograft Rejection. *The Journal of Immunology* 165 (11): 6067–6072. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.11.6067>
- Rodger B., Stagg A.J. & Lindsay J.O. 2024. — The role of circulating T cells with a tissue resident phenotype (ex-TRM) in health and disease. *Frontiers in Immunology* 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1415914>

- Rong L. & Perelson A.S. 2009. — 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>
- Rosás-Umbert M., Gunst J.D., Pahus M.H., Olesen R., Schleimann M., Denton P.W., Ramos V., Ward A., Kinloch N.N., Copertino D.C., Escribà T., Llano A., Brumme Z.L., Brad Jones R., Mothe B., Brander C., Fox J., Nussenzweig M.C., Fidler S., Caskey M., Tolstrup M. & Søgaaard O.S. 2022. — Administration of broadly neutralizing anti-HIV-1 antibodies at ART initiation maintains long-term CD8+ T cell immunity. *Nature Communications* 13 (1): 6473. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34171-2>
- Rosen E.P., Deleage C., White N., Sykes C., Brands C., Adamson L., Luciw P., Estes J.D. & Kashuba A.D.M. 2022. — Antiretroviral drug exposure in lymph nodes is heterogeneous and drug dependent. *Journal of the International AIDS Society* 25 (4): e25895. <https://doi.org/10.1002/jia2.25895>
- Rosenberg E.S., Altfeld M., Poon S.H., Phillips M.N., Wilkes B.M., Eldridge R.L., Robbins G.K., D'Aquila R.T., Goulder P.J. & Walker B.D. 2000. — Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature* 407 (6803): 523–526. <https://doi.org/10.1038/35035103>
- Rosenbloom D.I.S., Hill A.L., Laskey S.B. & Siliciano R.F. 2017. — Re-evaluating evolution in the HIV reservoir. *Nature* 551 (7681): E6–E9. <https://doi.org/10.1038/nature24634>
- Roy-Chowdhury E., Brauns N., Helmke A., Nordlohne J., Bräsen J.H., Schmitz J., Volkmann J., Fleig S.V., Kusche-Vihrog K., Haller H. & Von Vietinghoff S. 2021. — Human CD16+ monocytes promote a pro-atherosclerotic endothelial cell phenotype via CX3CR1-CX3CL1 interaction. *Cardiovascular Research* 117 (6): 1510–1522. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa234>
- Rozera G., Abbate I., Vlassi C., Giombini E., Lionetti R., Selleri M., Zaccaro P., Bartolini B., Corpolongo A., D'Offizi G., Baiocchini A., Nonno F.D., Ippolito G. & Capobianchi M.R. 2014. — Quasispecies tropism and compartmentalization in gut and peripheral blood during early and chronic phases of HIV-1 infection: possible correlation with immune activation markers. *Clinical Microbiology and Infection* 20 (3): O157–O166. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12367>
- Rustom A., Saffrich R., Markovic I., Walther P. & Gerdes H.-H. 2004. — Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science (New York, N.Y.)* 303 (5660): 1007–1010. <https://doi.org/10.1126/science.1093133>
- Ruth J.H., Rottman J.B., Katschke K.J., Qin S., Wu L., LaRosa G., Ponath P., Pope R.M. & Koch A.E. 2001. — Selective lymphocyte chemokine receptor expression in the rheumatoid joint. *Arthritis and Rheumatism* 44 (12): 2750–2760. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200112\)44:12<2750::aid-art462>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200112)44:12<2750::aid-art462>3.0.co;2-c)
- Ruth J.H., Volin M.V., Haines G.K., Woodruff D.C., Katschke K.J., Woods J.M., Park C.C., Morel J.C. & Koch A.E. 2001. — Fractalkine, a novel chemokine in rheumatoid arthritis and in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 44 (7): 1568–1581. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200107\)44:7<1568::AID-ART280>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200107)44:7<1568::AID-ART280>3.0.CO;2-1)
- Rutishauser R.L., Deguit C.D.T., Hiatt J., Blaeschke F., Roth T.L., Wang L., Raymond K.A., Starke C.E., Mudd J.C., Chen W., Smullin C., Matus-Nicodemos R., Hoh R., Krone M., Hecht F.M., Pilcher C.D., Martin J.N., Koup R.A., Douek D.C., Brenchley J.M., Sékaly R.-P., Pillai S.K., Marson A., Deeks S.G., McCune J.M. & Hunt P.W. 2021. — TCF-1 regulates HIV-specific CD8+ T cell expansion capacity. *JCI insight* 6 (3): e136648, 136648. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.136648>

- Sáez-Ciri3n A., Lacabaratz C., Lambotte O., Versmisse P., Urrutia A., Boufassa F., Barr3-Sinoussi F., Delfraissy J.-F., Sinet M., Pancino G., Venet A., & Agence Nationale de Recherches sur le Sida EP36 HIV Controllers Study Group 2007. — HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (16): 6776–6781. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611244104>
- Sáez-Ciri3n A., Mamez A.-C., Avettand-Fenoel V., Nabergoj M., Passaes C., Thoueille P., Decosterd L., Hentzien M., Perdomo-Celis F., Salgado M., Nijhuis M., M3lard A., Gardiennet E., Lorin V., Monceaux V., Chapel A., Gourv3s M., Lechartier M., Mouquet H., Wensing A., Martinez-Picado J., Yerly S., Rougemont M. & Calmy A. 2024. — Sustained HIV remission after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with wild-type CCR5 donor cells. *Nature Medicine* 30 (12): 3544–3554. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03277-z>
- Salantes D.B., Zheng Y., Mampe F., Srivastava T., Beg S., Lai J., Li J.Z., Tressler R.L., Koup R.A., Hoxie J., Abdel-Mohsen M., Sherrill-Mix S., McCormick K., Overton E.T., Bushman F.D., Learn G.H., Siliciano R.F., Siliciano J.M., Tebas P. & Bar K.J. 2018. — HIV-1 latent reservoir size and diversity are stable following brief treatment interruption. *The Journal of Clinical Investigation* 128 (7): 3102–3115. <https://doi.org/10.1172/JCI120194>
- Saluzzo S., Pandey R.V., Gail L.M., Dingelmaier-Hovorka R., Kleissl L., Shaw L., Reininger B., Atzm3ller D., Strobl J., Touzeau-R3mer V., Beer A., Staud C., Rieger A., Farlik M., Weninger W., Stingl G. & Stary G. 2021. — Delayed antiretroviral therapy in HIV-infected individuals leads to irreversible depletion of skin- and mucosa-resident memory T cells. *Immunity* 54 (12): 2842-2858.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.10.021>
- S3nchez-Torres C., Garc3a-Romo G.S., Cornejo-Cort3s M.A., Rivas-Carvalho A. & S3nchez-Schmitz G. 2001. — CD16+ and CD16- human blood monocyte subsets differentiate in vitro to dendritic cells with different abilities to stimulate CD4+ T cells. *International Immunology* 13 (12): 1571–1581. <https://doi.org/10.1093/intimm/13.12.1571>
- Sandberg J.K., Leeansyah E., Eller M.A., Shacklett B.L. & Paquin-Proulx D. 2023. — The Emerging Role of MAIT Cell Responses in Viral Infections. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 211 (4): 511–517. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2300147>
- Sankatsing S.U.C., Beijnen J.H., Schinkel A.H., Lange J.M.A. & Prins J.M. 2004. — P Glycoprotein in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection and Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (4): 1073–1081. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1073-1081.2004>
- Sans M., Danese S., De la Motte C., De Souza H.S.P., Rivera-Reyes B.M., West G.A., Phillips M., Katz J.A. & Fiocchi C. 2007. — Enhanced recruitment of CX3CR1+ T cells by mucosal endothelial cell-derived fractalkine in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 132 (1): 139–153. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.010>
- Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N., Turner D., Camp P., Thome J.J.C., Bickham K.L., Lerner H., Goldstein M., Sykes M., Kato T. & Farber D.L. 2013. — Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets. *Immunity* 38 (1): 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.09.020>
- Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N., Turner D., Camp P., Thome J.J.C., Bickham K.L., Lerner H., Goldstein M., Sykes M., Kato T. & Farber D.L. 2013. — Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets. *Immunity* 38 (1): 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.09.020>

- Sawai H., Park Y.W., Roberson J., Imai T., Goronzy J.J. & Weyand C.M. 2005. — T cell costimulation by fractalkine-expressing synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 52 (5): 1392–1401. <https://doi.org/10.1002/art.21140>
- Schoofs T., Klein F., Braunschweig M., Kreider E.F., Feldmann A., Nogueira L., Oliveira T., Lorenzi J.C.C., Parrish E.H., Learn G.H., West A.P., Bjorkman P.J., Schlesinger S.J., Seaman M.S., Czartoski J., McElrath M.J., Pfeifer N., Hahn B.H., Caskey M. & Nussenzweig M.C. 2016. — HIV-1 therapy with monoclonal antibody 3BNC117 elicits host immune responses against HIV-1. *Science (New York, N.Y.)* 352 (6288): 997–1001. <https://doi.org/10.1126/science.aaf0972>
- Schröder A.R.W., Shinn P., Chen H., Berry C., Ecker J.R. & Bushman F. 2002. — HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots. *Cell* 110 (4): 521–529. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00864-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00864-4)
- Schulz C., Schäfer A., Stolla M., Kerstan S., Lorenz M., Von Brühl M.-L., Schiemann M., Bauersachs J., Gloe T., Busch D.H., Gawaz M. & Massberg S. 2007. — Chemokine Fractalkine Mediates Leukocyte Recruitment to Inflammatory Endothelial Cells in Flowing Whole Blood. *Circulation* 116 (7): 764–773. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.695189>
- Schuster I.S., Sng X.Y.X., Lau C.M., Powell D.R., Weizman O.-E., Fleming P., Neate G.E.G., Voigt V., Sheppard S., Maraskovsky A.I., Daly S., Koyama M., Hill G.R., Turner S.J., O’Sullivan T.E., Sun J.C., Andoniou C.E. & Degli-Esposti M.A. 2023. — Infection induces tissue-resident memory NK cells that safeguard tissue health. *Immunity* 56 (3): 531-546.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.01.016>
- Schwartz O., Maréchal V., Le Gall S., Lemonnier F. & Heard J.M. 1996. — Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein. *Nature Medicine* 2 (3): 338–342. <https://doi.org/10.1038/nm0396-338>
- Sechler J.M., Barlic J., Grivel J.-C. & Murphy P.M. 2004. — IL-15 alters expression and function of the chemokine receptor CX3CR1 in human NK cells. *Cellular Immunology* 230 (2): 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2004.10.001>
- Seeger S., Hughes E., Hudkins K.L., Mack M., Goodpaster T. & Alpers C.E. 2002. — Expression of the fractalkine receptor (CX3CR1) in human kidney diseases. *Kidney International* 62 (2): 488–495. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00480.x>
- Shan L., Deng K., Shroff N.S., Durand C.M., Rabi S.A., Yang H.-C., Zhang H., Margolick J.B., Blankson J.N. & Siliciano R.F. 2012. — Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after virus reactivation. *Immunity* 36 (3): 491–501. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.01.014>
- Sharkey M., Triques K., Kuritzkes D.R. & Stevenson M. 2005. — In vivo evidence for instability of episomal human immunodeficiency virus type 1 cDNA. *Journal of Virology* 79 (8): 5203–5210. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.8.5203-5210.2005>
- Shaw G.M. & Hunter E. 2012. — HIV transmission. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (11): a006965. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006965>
- Shen L. & Siliciano R.F. 2008. — Viral reservoirs, residual viremia, and the potential of highly active antiretroviral therapy to eradicate HIV infection. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 122 (1): 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.05.033>

- Shen R., Meng G., Ochsenbauer C., Clapham P.R., Grams J., Novak L., Kappes J.C., Smythies L.E. & Smith P.D. 2011. — Stromal down-regulation of macrophage CD4/CCR5 expression and NF- $\kappa$ B activation mediates HIV-1 non-permissiveness in intestinal macrophages. *PLoS pathogens* 7 (5): e1002060. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002060>
- Shen R., Richter H.E., Clements R.H., Novak L., Huff K., Bimczok D., Sankaran-Walters S., Dandekar S., Clapham P.R., Smythies L.E. & Smith P.D. 2009. — Macrophages in vaginal but not intestinal mucosa are monocyte-like and permissive to human immunodeficiency virus type 1 infection. *Journal of Virology* 83 (7): 3258–3267. <https://doi.org/10.1128/JVI.01796-08>
- Shiow L.R., Rosen D.B., Brdicková N., Xu Y., An J., Lanier L.L., Cyster J.G. & Matloubian M. 2006. — CD69 acts downstream of interferon-alpha/beta to inhibit S1P1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nature* 440 (7083): 540–544. <https://doi.org/10.1038/nature04606>
- Siddiqui I., Erreni M., Brakel M. van, Debets R. & Allavena P. 2016. — Enhanced recruitment of genetically modified CX3CR1-positive human T cells into Fractalkine/CX3CL1 expressing tumors: importance of the chemokine gradient. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 4 (1): 21. <https://doi.org/10.1186/s40425-016-0125-1>
- Sigal A., Kim J.T., Balazs A.B., Dekel E., Mayo A., Milo R. & Baltimore D. 2011. — Cell-to-cell spread of HIV permits ongoing replication despite antiretroviral therapy. *Nature* 477 (7362): 95–98. <https://doi.org/10.1038/nature10347>
- Siliciano J.D. & Siliciano R.F. 2022. — In Vivo Dynamics of the Latent Reservoir for HIV-1: New Insights and Implications for Cure. *Annual Review of Pathology* 17: 271–294. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-050520-112001>
- Siliciano R.F. & Greene W.C. 2011. — HIV Latency. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 1 (1): a007096. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007096>
- Simonetti F.R., Zhang H., Soroosh G.P., Duan J., Rhodehouse K., Hill A.L., Beg S.A., McCormick K., Raymond H.E., Nobles C.L., Everett J.K., Kwon K.J., White J.A., Lai J., Margolick J.B., Hoh R., Deeks S.G., Bushman F.D., Siliciano J.D. & Siliciano R.F. 2021. — Antigen-driven clonal selection shapes the persistence of HIV-1-infected CD4+ T cells in vivo. *The Journal of Clinical Investigation* 131 (3): e145254, 145254. <https://doi.org/10.1172/JCI145254>
- Smith D.M., Nakazawa M., Freeman M.L., Anderson C.M., Oliveira M.F., Little S.J. & Gianella S. 2016. — Asymptomatic CMV Replication During Early Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection Is Associated With Lower CD4/CD8 Ratio During HIV Treatment. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 63 (11): 1517–1524. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw612>
- Somsouk M., Estes J.D., Deleage C., Dunham R.M., Albright R., Inadomi J.M., Martin J.N., Deeks S.G., McCune J.M. & Hunt P.W. 2015. — Gut epithelial barrier and systemic inflammation during chronic HIV infection. *AIDS (London, England)* 29 (1): 43–51. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000511>
- Soriano-Sarabia N., Archin N.M., Bateson R., Dahl N.P., Crooks A.M., Kuruc J.D., Garrido C. & Margolis D.M. 2015. — Peripheral V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T Cells Are a Novel Reservoir of Latent HIV Infection, *in* Silvestri G. (ed.). *PLOS Pathogens* 11 (10): e1005201. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005201>
- Sowinski S., Jolly C., Berninghausen O., Purbhoo M.A., Chauveau A., Köhler K., Oddos S., Eissmann P., Brodsky F.M., Hopkins C., Onfelt B., Sattentau Q. & Davis D.M. 2008. — Membrane nanotubes

- physically connect T cells over long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. *Nature Cell Biology* 10 (2): 211–219. <https://doi.org/10.1038/ncb1682>
- Spindler M.P., Siu S., Mogno I., Li Z., Yang C., Mehandru S., Britton G.J. & Faith J.J. 2022. — Human gut microbiota stimulate defined innate immune responses that vary from phylum to strain. *Cell Host & Microbe* 30 (10): 1481–1498.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.08.009>
- Stacey A.R., Norris P.J., Qin L., Haygreen E.A., Taylor E., Heitman J., Lebedeva M., DeCamp A., Li D., Grove D., Self S.G. & Borrow P. 2009. — Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *Journal of Virology* 83 (8): 3719–3733. <https://doi.org/10.1128/JVI.01844-08>
- Stacey A.R., Norris P.J., Qin L., Haygreen E.A., Taylor E., Heitman J., Lebedeva M., DeCamp A., Li D., Grove D., Self S.G. & Borrow P. 2009. — Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *Journal of Virology* 83 (8): 3719–3733. <https://doi.org/10.1128/JVI.01844-08>
- Staubert-Sallé D., Fleury S., Lazzari A., Molendi-Coste O., Hornez N., Lavogiez C., Kanda A., Wartelle J., Fries A., Pennino D., Mionnet C., Prawitt J., Bouchaert E., Delaporte E., Gleichhaus N., Staels B., Julia V. & Dombrowicz D. 2014. — CX3CL1 (fractalkine) and its receptor CX3CR1 regulate atopic dermatitis by controlling effector T cell retention in inflamed skin. *Journal of Experimental Medicine* 211 (6): 1185–1196. <https://doi.org/10.1084/jem.20121350>
- Steimle A., Gronbach K., Beifuss B., Schäfer A., Harmening R., Bender A., Maerz J.K., Lange A., Michaelis L., Maurer A., Menz S., McCoy K., Autenrieth I.B., Kalbacher H. & Frick J.-S. 2016. — Symbiotic gut commensal bacteria act as host cathepsin S activity regulators. *Journal of Autoimmunity* 75: 82–95. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.07.009>
- Streeter P.R., Berg E.L., Rouse B.T., Bargatze R.F. & Butcher E.C. 1988. — A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing. *Nature* 331 (6151): 41–46. <https://doi.org/10.1038/331041a0>
- Sugaya M., Nakamura K., Mitsui H., Takekoshi T., Saeki H. & Tamaki K. 2003. — Human keratinocytes express fractalkine/CX3CL1. *Journal of Dermatological Science* 31 (3): 179–187. [https://doi.org/10.1016/s0923-1811\(03\)00031-8](https://doi.org/10.1016/s0923-1811(03)00031-8)
- Sun W., Gao C., Hartana C.A., Osborn M.R., Einkauf K.B., Lian X., Bone B., Bonheur N., Chun T.-W., Rosenberg E.S., Walker B.D., Yu X.G. & Lichterfeld M. 2023. — Phenotypic signatures of immune selection in HIV-1 reservoir cells. *Nature* 614 (7947): 309–317. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05538-8>
- Suzuki H., Jeong K.I., Itoh K. & Doi K. 2002. — Regional Variations in the Distributions of Small Intestinal Intraepithelial Lymphocytes in Germ-Free and Specific Pathogen-Free Mice. *Experimental and Molecular Pathology* 72 (3): 230–235. <https://doi.org/10.1006/exmp.2002.2433>
- Sylwester A., Wessels D., Anderson S.A., Warren R.Q., Shutt D.C., Kennedy R.C. & Soll D.R. 1993. — HIV-induced syncytia of a T cell line form single giant pseudopods and are motile. *Journal of Cell Science* 106 ( Pt 3): 941–953. <https://doi.org/10.1242/jcs.106.3.941>
- Takata H., Mitchell J.L., Pacheco J., Pagliuzza A., Pinyakorn S., Buranapraditkun S., Sacdalan C., Leyre L., Nathanson S., Kakazu J.C., Intasan J., Prueksakaew P., Chomchey N., Phanuphak N., De Souza M.,

- Haddad E.K., Rolland M., Tovanabutra S., Vasan S., Hsu D.C., Chomont N. & Trautmann L. 2023. — An active HIV reservoir during ART is associated with maintenance of HIV-specific CD8+ T cell magnitude and short-lived differentiation status. *Cell Host & Microbe* 31 (9): 1494-1506.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.08.012>
- Teixeira A.R., Bittar C., Silva Santos G.S., Oliveira T.Y., Huang A.S., Linden N., Ferreira I.A.T.M., Murdza T., Muecksch F., Jones R.B., Caskey M., Jankovic M. & Nussenzweig M.C. 2024. — Transcription of HIV-1 at sites of intact latent provirus integration. *The Journal of Experimental Medicine* 221 (9): e20240391. <https://doi.org/10.1084/jem.20240391>
- Thom J.T., Weber T.C., Walton S.M., Torti N. & Oxenius A. 2015. — The Salivary Gland Acts as a Sink for Tissue-Resident Memory CD8(+) T Cells, Facilitating Protection from Local Cytomegalovirus Infection. *Cell Reports* 13 (6): 1125–1136. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.082>
- Thompson C.G., Gay C.L. & Kashuba A.D.M. 2017. — HIV Persistence in Gut-Associated Lymphoid Tissues: Pharmacological Challenges and Opportunities. *AIDS Research and Human Retroviruses* 33 (6): 513–523. <https://doi.org/10.1089/aid.2016.0253>
- Trémeaux P., Lemoine F., Mélard A., Gousset M., Boufassa F., Orr S., Monceaux V., Gascuel O., Lambotte O., Hocqueloux L., Saez-Cirion A., Rouzioux C. & Avettand-Fenoel V. 2023. — In-Depth Characterization of Full-Length Archived Viral Genomes after Nine Years of Posttreatment HIV Control. *Microbiology Spectrum* 11 (1): e0326722. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03267-22>
- Trémeaux P., Lenfant T., Boufassa F., Essat A., Mélard A., Gousset M., Delelis O., Viard J.-P., Bary M., Goujard C., Rouzioux C., Meyer L., Avettand-Fenoel V., & ANRS-SEROCO and PRIMO cohorts 2019. — Increasing contribution of integrated forms to total HIV DNA in blood during HIV disease progression from primary infection. *EBioMedicine* 41: 455–464. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.02.016>
- Trinh T., Adams W.A., Calescibetta A., Tu N., Dalton R., So T., Wei M., Ward G., Kostenko E., Christiansen S., Cen L., McLemore A., Reed K., Whitting J., Gilvary D., Blanco N.L., Segura C.M., Nguyen J., Kandell W., Chen X., Cheng P., Wright G.M., Cress W.D., Liu J., Wright K.L., Wei S. & Eksioglu E.A. 2023. — CX3CR1 deficiency-induced TIL tumor restriction as a novel addition for CAR-T design in solid malignancies. *iScience* 26 (4): 106443. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106443>
- Tsushima F., Yao S., Shin T., Flies A., Flies S., Xu H., Tamada K., Pardoll D.M. & Chen L. 2007. — Interaction between B7-H1 and PD-1 determines initiation and reversal of T-cell anergy. *Blood* 110 (1): 180–185. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-11-060087>
- Tully D.C., Ogilvie C.B., Batorsky R.E., Bean D.J., Power K.A., Ghebremichael M., Bedard H.E., Gladden A.D., Seese A.M., Amero M.A., Lane K., McGrath G., Bazner S.B., Tinsley J., Lennon N.J., Henn M.R., Brumme Z.L., Norris P.J., Rosenberg E.S., Mayer K.H., Jessen H., Kosakovsky Pond S.L., Walker B.D., Altfeld M., Carlson J.M. & Allen T.M. 2016. — Differences in the Selection Bottleneck between Modes of Sexual Transmission Influence the Genetic Composition of the HIV-1 Founder Virus. *PLoS pathogens* 12 (5): e1005619. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005619>
- Umehara H., Bloom E., Okazaki T., Domae N. & Imai T. 2001. — Fractalkine and vascular injury. *Trends in Immunology* 22 (11): 602–607. [https://doi.org/10.1016/s1471-4906\(01\)02051-8](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(01)02051-8)
- Umehara H., Bloom E.T., Okazaki T., Nagano Y., Yoshie O. & Imai T. 2004. — Fractalkine in Vascular Biology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 24 (1): 34–40. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000095360.62479.1F>

- UNAIDS 2024. — Core epidemiology slides Available from <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2024/core-epidemiology-slides> [accessed 31 May 2025]
- Utzschneider D.T., Charmoy M., Chennupati V., Pousse L., Ferreira D.P., Calderon-Copete S., Danilo M., Alfei F., Hofmann M., Wieland D., Pradervand S., Thimme R., Zehn D. & Held W. 2016. — T Cell Factor 1-Expressing Memory-like CD8(+) T Cells Sustain the Immune Response to Chronic Viral Infections. *Immunity* 45 (2): 415–427. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.07.021>
- Valentin A., Rosati M., Patenaude D.J., Hatzakis A., Kostrikis L.G., Lazanas M., Wyvill K.M., Yarchoan R. & Pavlakis G.N. 2002. — Persistent HIV-1 infection of natural killer cells in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (10): 7015–7020. <https://doi.org/10.1073/pnas.102672999>
- Van Coppernolle S., Vanhee S., Verstichel G., Snauwaert S., Van der Spek A., Velghe I., Sinnesael M., Heemskerk M.H., Taghon T., Leclercq G., Plum J., Langerak A.W., Kerre T. & Vandekerckhove B. 2012. — Notch induces human T-cell receptor  $\gamma\delta$ + thymocytes to differentiate along a parallel, highly proliferative and bipotent CD4 CD8 double-positive pathway. *Leukemia* 26 (1): 127–138. <https://doi.org/10.1038/leu.2011.324>
- Van Heuverswyn F., Li Y., Neel C., Bailes E., Keele B.F., Liu W., Loul S., Butel C., Liegeois F., Bienvenue Y., Ngolle E.M., Sharp P.M., Shaw G.M., Delaporte E., Hahn B.H. & Peeters M. 2006. — SIV infection in wild gorillas. *Nature* 444 (7116): 164–164. <https://doi.org/10.1038/444164a>
- Van Lint C., Emiliani S., Ott M. & Verdin E. 1996. — Transcriptional activation and chromatin remodeling of the HIV-1 promoter in response to histone acetylation. *The EMBO journal* 15 (5): 1112–1120
- Vandergeeten C., Fromentin R., DaFonseca S., Lawani M.B., Sereti I., Lederman M.M., Ramgopal M., Routy J.-P., Sékaly R.-P. & Chomont N. 2013. — Interleukin-7 promotes HIV persistence during antiretroviral therapy. *Blood* 121 (21): 4321–4329. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-11-465625>
- Vasilieva E., Gianella S. & Freeman M. 2020. — Novel Strategies to Combat CMV-Related Cardiovascular Disease. *Pathogens & immunity* 5 (1). <https://doi.org/10.20411/pai.v5i1.382>
- Veazey R.S., DeMaria M., Chalifoux L.V., Shvetz D.E., Pauley D.R., Knight H.L., Rosenzweig M., Johnson R.P., Desrosiers R.C. & Lackner A.A. 1998. — Gastrointestinal tract as a major site of CD4+ T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science (New York, N.Y.)* 280 (5362): 427–431. <https://doi.org/10.1126/science.280.5362.427>
- Veldhoen M., Hocking R.J., Atkins C.J., Locksley R.M. & Stockinger B. 2006. — TGF $\beta$  in the Context of an Inflammatory Cytokine Milieu Supports De Novo Differentiation of IL-17-Producing T Cells. *Immunity* 24 (2): 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.01.001>
- Vellas C., Martres D., Requena M., Nayrac M., Collercandy N., Latour J., Barange K., Alric L., Martin-Blondel G., Izopet J., Lagane B. & Delobel P. 2024. — Compartmentalized HIV-1 reservoir in intestinal monocytes/macrophages on antiretroviral therapy. *The Journal of Infectious Diseases*: jiae557. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae557>
- Vellas C., Nayrac M., Collercandy N., Requena M., Jeanne N., Latour J., Dimeglio C., Cazabat M., Barange K., Alric L., Carrere N., Martin-Blondel G., Izopet J. & Delobel P. 2024. — Intact proviruses are enriched in the colon and associated with PD-1+TIGIT- mucosal CD4+ T cells of people with HIV-1 on antiretroviral therapy. *EBioMedicine* 100: 104954. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104954>

- Venner C.M., Nankya I., Kyeyune F., Demers K., Kwok C., Chen P.-L., Rwambuya S., Munjoma M., Chipato T., Byamugisha J., Van Der Pol B., Mugenyi P., Salata R.A., Morrison C.S. & Arts E.J. 2016. — Infecting HIV-1 Subtype Predicts Disease Progression in Women of Sub-Saharan Africa. *EBioMedicine* 13: 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.10.014>
- Vieillard V., Strominger J.L. & Debré P. 2005. — NK cytotoxicity against CD4+ T cells during HIV-1 infection: a gp41 peptide induces the expression of an NKp44 ligand. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (31): 10981–10986. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504315102>
- Visseaux B., Damond F., Matheron S., Descamps D. & Charpentier C. 2016. — Hiv-2 molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 46: 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.010>
- Vitale S., Cambien B., Karimjee B.F., Barthel R., Staccini P., Luci C., Breittmayer V., Anjuère F., Schmid-Alliana A. & Schmid-Antomarchi H. 2007. — Tissue-specific differential antitumour effect of molecular forms of fractalkine in a mouse model of metastatic colon cancer. *Gut* 56 (3): 365–372. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.088989>
- Volin M.V., Huynh N., Klosowska K., Chong K.K. & Woods J.M. 2007. — Fractalkine is a novel chemoattractant for rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte signaling through MAP kinases and Akt. *Arthritis & Rheumatism* 56 (8): 2512–2522. <https://doi.org/10.1002/art.22806>
- Von Andrian U.H. & Mackay C.R. 2000. — T-Cell Function and Migration — Two Sides of the Same Coin. *New England Journal of Medicine* 343 (14): 1020–1034. <https://doi.org/10.1056/NEJM200010053431407>
- Von Andrian U.H. & Mempel T.R. 2003. — Homing and cellular traffic in lymph nodes. *Nature Reviews. Immunology* 3 (11): 867–878. <https://doi.org/10.1038/nri1222>
- Von Borstel A., Chevour P., Arsovski D., Krol J.M.M., Howson L.J., Berry A.A., Day C.L., Ogongo P., Ernst J.D., Nomicos E.Y.H., Boddey J.A., Giles E.M., Rossjohn J., Traore B., Lyke K.E., Williamson K.C., Crompton P.D. & Davey M.S. 2021. — Repeated Plasmodium falciparum infection in humans drives the clonal expansion of an adaptive  $\gamma\delta$  T cell repertoire. *Science Translational Medicine* 13 (622): eabe7430. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abe7430>
- Von Vietinghoff S. & Kurts C. 2021. — Regulation and function of CX3CR1 and its ligand CX3CL1 in kidney disease. *Cell and Tissue Research* 385 (2): 335–344. <https://doi.org/10.1007/s00441-021-03473-0>
- Vujkovic-Cvijin I., Dunham R.M., Iwai S., Maher M.C., Albright R.G., Broadhurst M.J., Hernandez R.D., Lederman M.M., Huang Y., Somsouk M., Deeks S.G., Hunt P.W., Lynch S.V. & McCune J.M. 2013. — Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism. *Science Translational Medicine* 5 (193): 193ra91. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006438>
- Vujkovic-Cvijin I. & Somsouk M. 2019. — HIV and the gut microbiota: composition, consequences, and avenues for amelioration. *Current HIV/AIDS reports* 16 (3): 204–213. <https://doi.org/10.1007/s11904-019-00441-w>
- Wacleche V.S., Goulet J.-P., Gosselin A., Monteiro P., Soudeyans H., Fromentin R., Jenabian M.-A., Vartanian S., Deeks S.G., Chomont N., Routy J.-P. & Ancuta P. 2016. — New insights into the

- heterogeneity of Th17 subsets contributing to HIV-1 persistence during antiretroviral therapy. *Retrovirology* 13 (1): 59. <https://doi.org/10.1186/s12977-016-0293-6>
- Wakita H., Yanagawa T., Kuboi Y. & Imai T. 2017. — E6130, a Novel CX3C Chemokine Receptor 1 (CX3CR1) Modulator, Attenuates Mucosal Inflammation and Reduces CX3CR1+ Leukocyte Trafficking in Mice with Colitis. *Molecular Pharmacology* 92 (5): 502–509. <https://doi.org/10.1124/mol.117.108381>
- Wang J.K., Kiyokawa E., Verdin E. & Trono D. 2000. — The Nef protein of HIV-1 associates with rafts and primes T cells for activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (1): 394–399. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.1.394>
- Wang Z., Gurule E.E., Brennan T.P., Gerold J.M., Kwon K.J., Hosmane N.N., Kumar M.R., Beg S.A., Capoferri A.A., Ray S.C., Ho Y.-C., Hill A.L., Siliciano J.D. & Siliciano R.F. 2018. — Expanded cellular clones carrying replication-competent HIV-1 persist, wax, and wane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (11): E2575–E2584. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720665115>
- Wanjalla C.N., McDonnell W.J., Ram R., Chopra A., Gangula R., Leary S., Mashayekhi M., Simmons J.D., Warren C.M., Bailin S., Gabriel C.L., Guo L., Furch B.D., Lima M.C., Woodward B.O., Hannah L., Pilkinton M.A., Fuller D.T., Kawai K., Virmani R., Finn A.V., Hasty A.H., Mallal S.A., Kalams S.A. & Koethe J.R. 2021. — Single-cell analysis shows that adipose tissue of persons with both HIV and diabetes is enriched for clonal, cytotoxic, and CMV-specific CD4+ T cells. *Cell Reports. Medicine* 2 (2): 100205. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100205>
- Ward A.R., Mota T.M. & Jones R.B. 2020. — Immunological approaches to HIV cure. *Seminars in Immunology*: 101412. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2020.101412>
- Ward J., Davis Z., DeHart J., Zimmerman E., Bosque A., Brunetta E., Mavilio D., Planelles V. & Barker E. 2009. — HIV-1 Vpr triggers natural killer cell-mediated lysis of infected cells through activation of the ATR-mediated DNA damage response. *PLoS pathogens* 5 (10): e1000613. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000613>
- Weber M.D., Andrews E., Prince H.A., Sykes C., Rosen E.P., Bay C., Shaheen N.J., Madanick R.D., Dellon E.S., De Paris K., Nelson J.A., Gay C.L. & Kashuba A.D. 2018. — Virological and immunological responses to raltegravir and dolutegravir in the gut-associated lymphoid tissue of HIV-infected men and women. *Antiviral Therapy* 23 (6): 495–504. <https://doi.org/10.3851/IMP3236>
- Wei X., Ghosh S.K., Taylor M.E., Johnson V.A., Emini E.A., Deutsch P., Lifson J.D., Bonhoeffer S., Nowak M.A. & Hahn B.H. 1995. — Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 373 (6510): 117–122. <https://doi.org/10.1038/373117a0>
- Weiner H.L. 2001. — The mucosal milieu creates tolerogenic dendritic cells and TR1 and TH3 regulatory cells. *Nature Immunology* 2 (8): 671–672. <https://doi.org/10.1038/90604>
- Wells T.N.C., Power C.A., Lusti-Narasimhan M., Hoogewerf A.J., Cooke R.M., Chung C., Peitsch M.C. & Proudfoot A.E.I. 1996. — Selectivity and antagonism of chemokine receptors. *Journal of Leukocyte Biology* 59 (1): 53–60. <https://doi.org/10.1002/jlb.59.1.53>
- Wherry E.J., Ha S.-J., Kaech S.M., Haining W.N., Sarkar S., Kalia V., Subramaniam S., Blattman J.N., Barber D.L. & Ahmed R. 2007. — Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity* 27 (4): 670–684. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.09.006>

- White J.A., Wu F., Yasin S., Moskovljevic M., Varriale J., Dragoni F., Camilo-Contreras A., Duan J., Zheng M.Y., Tadzong N.F., Patel H.B., Quiambao J.M.C., Rhodehouse K., Zhang H., Lai J., Beg S.A., Delannoy M., Kilcrease C., Hoffmann C.J., Poulin S., Chano F., Tremblay C., Cherian J., Barditch-Crovo P., Chida N., Moore R.D., Summers M.F., Siliciano R.F., Siliciano J.D. & Simonetti F.R. 2023. — Clonally expanded HIV-1 proviruses with 5'-leader defects can give rise to nonsuppressible residual viremia Available from <https://www.jci.org/articles/view/165245/ga> [accessed 20 June 2025]. <https://doi.org/10.1172/JCI165245>
- Wildenberg M.E., Helden-Meeuwsen C.G. van, Drexhage H.A. & Versnel M.A. 2008. — Altered fractalkine cleavage potentially promotes local inflammation in NOD salivary gland. *Arthritis Research & Therapy* 10 (3): R69. <https://doi.org/10.1186/ar2441>
- Willcox C.R., Pitard V., Netzer S., Couzi L., Salim M., Silberzahn T., Moreau J.-F., Hayday A.C., Willcox B.E. & Déchanet-Merville J. 2012. — Cytomegalovirus and tumor stress surveillance by binding of a human  $\gamma\delta$  T cell antigen receptor to endothelial protein C receptor. *Nature Immunology* 13 (9): 872–879. <https://doi.org/10.1038/ni.2394>
- Williams A., Menon S., Crowe M., Agarwal N., Biccler J., Bbosa N., Ssemwanga D., Adungo F., Moecklinghoff C., Macartney M. & Oriol-Mathieu V. 2023. — Geographic and Population Distributions of Human Immunodeficiency Virus (HIV)–1 and HIV-2 Circulating Subtypes: A Systematic Literature Review and Meta-analysis (2010–2021). *The Journal of Infectious Diseases* 228 (11): 1583–1591. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiad327>
- Winchester N.E., Panigrahi S., Haria A., Chakraborty A., Su X., Chen B., Morris S.R., Clagett B.M., Juchnowski S.M., Yadavalli R., Villinger F., Paiardini M., Harth K., Kashyap V.S., Calabrese L.H., Margolis L., Sieg S.F., Shive C.L., Gianella S., Funderburg N.T., Zidar D.A., Lederman M.M. & Freeman M.L. 2024. — Cytomegalovirus Infection Facilitates the Costimulation of CD57+CD28- CD8 T Cells in HIV Infection and Atherosclerosis via the CD2-LFA-3 Axis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 212 (2): 245–257. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2300267>
- Wing K., Yamaguchi T. & Sakaguchi S. 2011. — Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. *Trends in Immunology* 32 (9): 428–433. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.06.002>
- Winter S.E., Thiennimitr P., Winter M.G., Butler B.P., Huseby D.L., Crawford R.W., Russell J.M., Bevins C.L., Adams L.G., Tsolis R.M., Roth J.R. & Bäumlér A.J. 2010. — Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for Salmonella. *Nature* 467 (7314): 426–429. <https://doi.org/10.1038/nature09415>
- Wirth T.C., Xue H.-H., Rai D., Sabel J.T., Bair T., Harty J.T. & Badovinac V.P. 2010. — Repetitive antigen stimulation induces stepwise transcriptome diversification but preserves a core signature of memory CD8(+) T cell differentiation. *Immunity* 33 (1): 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.06.014>
- Wittkop L., Bitard J., Lazaro E., Neau D., Bonnet F., Mercie P., Dupon M., Hessamfar M., Ventura M., Malvy D., Dabis F., Pellegrin J.-L., Moreau J.-F., Thiébaud R., Pellegrin I., & Groupe d'Epidémiologie Clinique du SIDA en Aquitaine 2013. — Effect of cytomegalovirus-induced immune response, self antigen-induced immune response, and microbial translocation on chronic immune activation in successfully treated HIV type 1-infected patients: the ANRS CO3 Aquitaine Cohort. *The Journal of Infectious Diseases* 207 (4): 622–627. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis732>

- Wojdasiewicz P., Turczyn P., Dobies-Krzesniak B., Frasnuska J. & Tarnacka B. 2019. — Role of CX3CL1/CX3CR1 Signaling Axis Activity in Osteoporosis. *Mediators of Inflammation* 2019 (1): 7570452. <https://doi.org/10.1155/2019/7570452>
- Woldemeskel B.A., Kwaa A.K. & Blankson J.N. 2020. — Viral reservoirs in elite controllers of HIV-1 infection: Implications for HIV cure strategies. *EBioMedicine* 62. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103118>
- Wong B.W.C., Wong D. & McManus B.M. 2002. — Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease. *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 11 (6): 332–338. [https://doi.org/10.1016/s1054-8807\(02\)00111-4](https://doi.org/10.1016/s1054-8807(02)00111-4)
- Wong H.S., Jaumouillé V., Freeman S.A., Doodnauth S.A., Schlam D., Canton J., Mukovozov I.M., Saric A., Grinstein S. & Robinson L.A. 2016. — Chemokine Signaling Enhances CD36 Responsiveness toward Oxidized Low-Density Lipoproteins and Accelerates Foam Cell Formation. *Cell Reports* 14 (12): 2859–2871. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.071>
- Wong J.K. & Yukl S.A. 2016. — Tissue Reservoirs of HIV. *Current opinion in HIV and AIDS* 11 (4): 362–370. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000293>
- Wu G., Zuck P., Goh S.L., Milush J.M., Vohra P., Wong J.K., Somsouk M., Yukl S.A., Shacklett B.L., Chomont N., Haase A.T., Hatano H., Schacker T.W., Deeks S.G., Hazuda D.J., Hunt P.W. & Howell B.J. 2021. — Gag p24 Is a Marker of Human Immunodeficiency Virus Expression in Tissues and Correlates With Immune Response. *The Journal of Infectious Diseases* 224 (9): 1593–1598. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab121>
- Wu Y. & Marsh J.W. 2001. — Selective transcription and modulation of resting T cell activity by preintegrated HIV DNA. *Science (New York, N.Y.)* 293 (5534): 1503–1506. <https://doi.org/10.1126/science.1061548>
- Xiang X., Wang K., Zhang H., Mou H., Shi Z., Tao Y., Song H., Lian Z., Wang S., Lu D., Wei X., Xie H., Zheng S., Wang J. & Xu X. 2024. — Blocking CX3CR1+ Tumor-Associated Macrophages Enhances the Efficacy of Anti-PD1 Therapy in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Immunology Research* 12 (11): 1603–1620. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-23-0627>
- Yamauchi T., Hoki T., Oba T., Jain V., Chen H., Attwood K., Battaglia S., George S., Chatta G., Puzanov I., Morrison C., Odunsi K., Segal B.H., Dy G.K., Ernstoff M.S. & Ito F. 2021. — T-cell CX3CR1 expression as a dynamic blood-based biomarker of response to immune checkpoint inhibitors. *Nature Communications* 12 (1): 1402. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21619-0>
- Yan Y., Cao S., Liu X., Harrington S.M., Bindeman W.E., Adjei A.A., Jang J.S., Jen J., Li Y., Chanana P., Mansfield A.S., Park S.S., Markovic S.N., Dronca R.S. & Dong H. 2018. — CX3CR1 identifies PD-1 therapy-responsive CD8+ T cells that withstand chemotherapy during cancer chemoimmunotherapy. *JCI insight* 3 (8): e97828, 97828. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.97828>
- Yared N., Papadopoulou M., Barennes P., Pham H.-P., Quiniou V., Netzer S., Kaminski H., Burguet L., Demeste A., Colas P., Mora-Charrot L., Rousseau B., Izotte J., Zouine A., Gauthereau X., Vermijlen D., Déchanet-Merville J. & Capone M. 2024. — Long-lived central memory  $\gamma\delta$  T cells confer protection against murine cytomegalovirus reinfection. *PLoS pathogens* 20 (7): e1010785. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010785>

- Ye P., Kirschner D.E. & Kourtis A.P. 2004. — The thymus during HIV disease: role in pathogenesis and in immune recovery. *Current HIV research* 2 (2): 177–183. <https://doi.org/10.2174/1570162043484898>
- Yoneda O., Imai T., Goda S., Inoue H., Yamauchi A., Okazaki T., Imai H., Yoshie O., Bloom E.T., Domae N. & Umehara H. 2000. — Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 164 (8): 4055–4062. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.8.4055>
- Yukl S.A., Gianella S., Sinclair E., Epling L., Li Q., Duan L., Choi A.L.M., Girling V., Ho T., Li P., Fujimoto K., Lampiris H., Hare C.B., Pandori M., Haase A.T., Günthard H.F., Fischer M., Shergill A.K., McQuaid K., Havlir D.V. & Wong J.K. 2010. — Differences in HIV burden and immune activation within the gut of HIV-positive patients receiving suppressive antiretroviral therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 202 (10): 1553–1561. <https://doi.org/10.1086/656722>
- Yukl S.A., Shergill A.K., Ho T., Killian M., Girling V., Epling L., Li P., Wong L.K., Crouch P., Deeks S.G., Havlir D.V., McQuaid K., Sinclair E. & Wong J.K. 2013. — The Distribution of HIV DNA and RNA in Cell Subsets Differs in Gut and Blood of HIV-Positive Patients on ART: Implications for Viral Persistence. *The Journal of Infectious Diseases* 208 (8): 1212–1220. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit308>
- Yukl S.A., Shergill A.K., McQuaid K., Gianella S., Lampiris H., Hare C.B., Pandori M., Sinclair E., Günthard H.F., Fischer M., Wong J.K. & Havlir D.V. 2010. — Effect of raltegravir-containing intensification on HIV burden and T-cell activation in multiple gut sites of HIV-positive adults on suppressive antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)* 24 (16): 2451–2460. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833ef7bb>
- Yukl S.A., Sinclair E., Somsouk M., Hunt P.W., Epling L., Killian M., Girling V., Li P., Havlir D.V., Deeks S.G., Wong J.K. & Hatano H. 2014. — A comparison of methods for measuring rectal HIV levels suggests that HIV DNA resides in cells other than CD4+ T cells, including myeloid cells. *AIDS (London, England)* 28 (3): 439–442. <https://doi.org/10.1097/QAD.000000000000166>
- Zack J.A., Arrigo S.J., Weitsman S.R., Go A.S., Haislip A. & Chen I.S. 1990. — HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 61 (2): 213–222. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90802-I](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90802-I)
- Zander R., Schauder D., Xin G., Nguyen C., Wu X., Zajac A. & Cui W. 2019. — CD4+ T Cell Help Is Required for the Formation of a Cytolytic CD8+ T Cell Subset that Protects against Chronic Infection and Cancer. *Immunity* 51 (6): 1028-1042.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.10.009>
- Zeng M., Southern P.J., Reilly C.S., Beilman G.J., Chipman J.G., Schacker T.W. & Haase A.T. 2012. — Lymphoid tissue damage in HIV-1 infection depletes naïve T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy. *PLoS pathogens* 8 (1): e1002437. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002437>
- Zhang J., Hu H., Palma N.L., Harrison J.K., Mubarak K.K., Carrie R.D., Alnuaimat H., Shen X., Luo D. & Patel J.M. 2012. — Hypoxia-induced endothelial CX3CL1 triggers lung smooth muscle cell phenotypic switching and proliferative expansion. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 303 (10): L912-922. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00014.2012>
- Zhang J.-Y., Zhang Z., Wang X., Fu J.-L., Yao J., Jiao Y., Chen L., Zhang H., Wei J., Jin L., Shi M., Gao G.F., Wu H. & Wang F.-S. 2007. — PD-1 up-regulation is correlated with HIV-specific memory CD8+ T-cell exhaustion in typical progressors but not in long-term nonprogressors. *Blood* 109 (11): 4671–4678. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-09-044826>

- Zhang J., Yang W., Luo B., Hu B., Maheshwari A. & Fallon M.B. 2012. — The role of CX<sub>3</sub>CL1/CX<sub>3</sub>CR1 in pulmonary angiogenesis and intravascular monocyte accumulation in rat experimental hepatopulmonary syndrome. *Journal of Hepatology* 57 (4): 752–758. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.05.014>
- Zhao L., Song C., Huang Y., Lei W. & Sun J. 2020. — MMP-9 regulates CX<sub>3</sub>CL1/CX<sub>3</sub>CR1 in the early phase of neuropathic pain in chronic sciatic nerve constriction injury (CCI) rats. *Annals of Palliative Medicine* 9 (4): 2020–2027. <https://doi.org/10.21037/apm-20-1078>
- Zheng D., Liwinski T. & Elinav E. 2020. — Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research* 30 (6): 492–506. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>
- Zhu J. & Paul W.E. 2008. — CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 112 (5): 1557–1569. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-078154>
- Zhu Y., Pe'ery T., Peng J., Ramanathan Y., Marshall N., Marshall T., Amendt B., Mathews M.B. & Price D.H. 1997. — Transcription elongation factor P-TEFb is required for HIV-1 tat transactivation in vitro. *Genes & Development* 11 (20): 2622–2632. <https://doi.org/10.1101/gad.11.20.2622>
- Zlotnik A. & Yoshie O. 2000. — Chemokines: A New Classification System and Their Role in Immunity. *Immunity* 12 (2): 121–127. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80165-X](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80165-X)
- Znaidia M., De Souza-Angelo Y., Létoffé S., Staropoli I., Grzelak L., Ghigo J.M., Schwartz O. & Casartelli N. 2023. — Exposure to Secreted Bacterial Factors Promotes HIV-1 Replication in CD4+ T Cells. *Microbiology Spectrum* 11 (2): e0431322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04313-22>
- Zwijnenburg A.J., Pokharel J., Varnaité R., Zheng W., Hoffer E., Shryki I., Comet N.R., Ehrström M., Gredmark-Russ S., Eidsmo L. & Gerlach C. 2023. — Graded expression of the chemokine receptor CX<sub>3</sub>CR1 marks differentiation states of human and murine T cells and enables cross-species interpretation. *Immunity* 56 (8): 1955-1974.e10. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.06.025>

**Titre :** Caractérisation des lymphocytes effecteurs CX3CR1+ et de leur recrutement intestinal au cours de l'infection VIH-1 sous traitement antirétroviral

**Mots clés :** VIH-1, lymphocytes effecteurs mémoires, CX3CR1, CX3CL1, microenvironnement, intestin

**Résumé :** L'intestin est le siège d'un réservoir viral majeur au cours de l'infection par le VIH-1, qui constitue un obstacle à l'obtention d'une rémission de l'infection. Ce réservoir est associé à un défaut de restauration de lymphocytes T CD4+ intestinaux, à une dysfonction de la barrière immunitaire intestinale, avec une augmentation des translocations microbiennes et une inflammation locale et systémique persistante, malgré un traitement antirétroviral efficace suivi de façon prolongée.

La réponse immunitaire cellulaire effectrice joue un rôle crucial dans le contrôle de l'infection. Il a notamment pu être observé une perte des lymphocytes résidents mémoires (TRM) intestinaux et une augmentation de cellules ayant des marqueurs de tropisme pour l'intestin dans la circulation. L'axe de chimiotactisme CX3CR1-CX3CL1 semble être une voie majeure dans le recrutement de cellules effectrices tissulaires mais semble impacté par l'infection chronique par le VIH-1 même sous traitement, avec une augmentation des cellules circulantes CX3CR1+ et une augmentation de la fraction soluble de CX3CL1 dans le plasma. Dans ce travail, nous avons cherché à caractériser les cellules effectrices exprimant CX3CR1 dans le compartiment sanguin et intestinal, à étudier les facteurs environnementaux pouvant moduler cet axe de chimiotactisme et à évaluer l'impact de la modulation de cet axe sur le réservoir intestinal dans une cohorte de personnes vivant avec le VIH-1 (PVIH) sous traitement antirétroviral au long cours.

Dans un premier travail portant sur les lymphocytes  $\gamma\delta$  V $\delta$ 1 dont la fréquence est augmentée dans le sang des PVIH, nous avons pu mettre en évidence que cette expansion de lymphocytes V $\delta$ 1 se faisait de façon clonale parmi une population particulièrement cytotoxique et exprimant CX3CR1 avec notamment un profil de cellules recirculantes intestinales. Ces lymphocytes V $\delta$ 1 CX3CR1+ cytotoxiques étaient corrélés à une moindre fréquence de lymphocytes T CD4+ avec une transcription résiduelle d'ARN VIH-1 dans le compartiment sanguin ou intestinal. Nous avons également pu montrer que la réplication résiduelle du cytomégalovirus (CMV) au cours de l'infection par le VIH-1 participait de façon majeure à l'expansion des populations de lymphocytes T CD8 et V $\delta$ 1 exprimant CX3CR1, mais que cet effet était en inter-relation avec les altérations du microbiote intestinal et transloqué.

Dans un second travail, nous avons montré que les LT CD8 CX3CR1+ étaient augmentés en fréquence à la fois dans le sang et dans l'intestin. Cependant, dans le colon cette augmentation concernait des LT CD8 CX3CR1+ non-résidents mémoires (TRM) au détriment d'une perte des TRM CD8 CX3CR1+. Les TRM CD8+ CX3CR1+ avaient un profil de cytotoxicité et de production de cytokines pro-inflammatoire élevé et présentaient moins d'expression de marqueurs d'épuisement lymphocytaire que les non-TRM. Les TRM CD8+ CX3CR1+, notamment la population CD39+, étaient associés à un réservoir ADN VIH plus faible dans le colon, La perte des TRM CD8+ CX3CR1+ au profit de non-TRM, moins fonctionnelles, pourrait donc contribuer à la persistance du VIH-1. L'augmentation des LT CD8 CX3CR1+ sanguins était corrélée à l'index sérologique IgG du CMV. Ex-vivo, le VIH-1 et le CMV pouvaient induire l'expression des métalloprotéases ADAM10 et ADAM17 sur les cellules épithéliales intestinales, dont nous faisons l'hypothèse qu'elles pourraient participer au clivage épithélial de CX3CL1 et à un défaut de recrutement des LT CD8 CX3CR1+.

**Title:** Phenotype, functional properties, and gut recruitment of CX3CR1+ effector lymphocytes in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy

**Key words:** HIV-1, lymphocytes, CX3CR1, CX3CL1, gut

**Abstract:** The gut is a major site of viral reservoir persistence during HIV-1 infection, which stands as an obstacle toward the reach of HIV remission. This reservoir is associated with an incomplete restoration of T CD4+ lymphocytes locally, a gut-barrier dysfunction, and an increase of bacterial translocation and local inflammation, despite effective prolonged antiretroviral therapy.

Effector cellular immune response is crucial for infection control. HIV-1 induces a loss of intestinal resident memory lymphocytes and an increase in blood cells with a gut-tropic recirculating profile. CX3CR1-CX3CL1 axis may be a key to the recruitment of tissular effector cells but seem to be impacted by the chronic HIV-1 infection, even under ART, with an increase of circulating CX3CR1+ cells and an increase in soluble CX3CL1 in the plasma. Here, we aimed to characterize the effector CX3CR1+ cells in both the blood and the gut, search for environmental factors that could modulate this chemotactic axis and assess the impact of this axis modulation in the gut viral reservoir in a cohort of people living with HIV (PLWH) under long term ART.

In a first work on  $\gamma\delta$  V $\delta$ 1 T cells, which frequencies were increased in the blood of PLWH, we highlighted the clonal expansion of a highly cytotoxic effector population of V $\delta$ 1 expressing CX3CR1 with a recirculating cell-like phenotype. This population correlated with HIV-1 infection reduction in the associated blood or duodenal compartment. We showed that cytomegalovirus (CMV) residual replication during HIV-1 infection was a major trigger for CX3CR1+ CD8 and V $\delta$ 1 T cells expansion, but this effect was in an interplay of tissular microbiome changes that were also associated with CMV.

In a second work, we showed that CX3CR1+ CD8 T cells were increased in frequency in both the blood and the gut. However, in the colon this increase was associated with a loss of resident memory CX3CR1+ CD8 T cells with higher effector functions. This population was associated with lower viral reservoir, especially for with the fraction expressing CD39. CD8+ CX3CR1+ TRM expressed less exhaustion markers than non-TRM. The increase of CX3CR1+ CD8 T cells in the blood was correlated with CMV IgG index. Ex vivo, HIV-1 and CMV could induce the expression of ADAM10 and ADAM17 metalloproteinases on intestinal epithelial cells. We hypothesize that those metalloproteinases could participate to epithelial cleavage of CX3CL1 and CX3CR1+ CD8 T cells recirculation.