

VIH : nouvelle vision du renouvellement des lymphocytes T CD4⁺

**Sylvain Fleury
Hugo Soudeyns
Giuseppe Pantaleo**

Des études portant exclusivement sur le sang périphérique ont permis la formulation d'une théorie selon laquelle l'intensité de la réplication virale et les effets cytopathiques qui y sont associés forceraient le système immunitaire à renouveler rapidement les lymphocytes T CD4⁺. Cela conduirait inéluctablement à l'épuisement du système immunitaire. Cette théorie est désormais contredite par de nouvelles données expérimentales tenant compte cette fois non seulement du sang périphérique, mais aussi du renouvellement des lymphocytes T au sein des ganglions lymphatiques. En effet, des mesures directes et indirectes du taux de renouvellement lymphocytaire indiquent que le VIH semblerait plutôt interférer avec la régénération des lymphocytes T CD4⁺. Ainsi, cette réduction de l'apport quotidien en nouveaux lymphocytes T CD4⁺, combinée à la destruction cellulaire causée par le virus, ferait en sorte que le nombre total de lymphocytes T CD4⁺ ne puisse que décroître au cours de l'évolution fatidique de l'infection.

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) entraîne une diminution progressive du nombre de lymphocytes T CD4⁺ [1]. Ces lymphocytes sont infectés par le VIH du fait de l'expression du récepteur principal du virus, la molécule CD4 [2], et d'un ou plusieurs des co-récepteurs auxiliaires du virus (CCR5, CXCR4) [3]. Lors de la phase aiguë de l'infection par le VIH, le nombre total de lymphocytes T CD4⁺ chute rapidement, alors que celui des lymphocytes T CD8⁺ augmente [4]. La présence d'antigènes viraux produits lors de la réplication du VIH contribue au démarrage et au maintien de la réponse immunitaire cellulaire, relayée par les lym-

phocytes T cytotoxiques (LTC) exprimant la molécule CD8. Cette réponse cellulaire initiale explique l'augmentation rapide du nombre de lymphocytes T CD8⁺ dans les premières semaines de l'infection, et contribue principalement à la diminution de la charge virale [5]. A la primo-infection succède une période de latence clinique quasi asymptomatique, dont la durée variera considérablement, et qui, en l'absence de traitement, évoluera vers l'apparition du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Comme les lymphocytes T CD4⁺ sont responsables de l'orchestration de la réponse immunitaire, leur dysfonctionnement et leur éventuelle disparition entraîne, chez l'hôte, l'apparition de symptômes d'immunodéficience,

ADRESSES

S. Fleury : *docteur ès sciences, assistant universitaire*. H. Soudeyns : *docteur ès sciences, assistant universitaire*. CHUV-Hôpital Beaumont, 29, avenue de Beaumont, 1011 Lausanne, Suisse. G. Pantaleo : *docteur en médecine, directeur*. Laboratoire d'immunopathologie du SIDA, Département de médecine interne, Division des maladies infectieuses, Hôpital Beaumont, 29, avenue de Beaumont, 1011 Lausanne, Suisse.

le système immunitaire ayant perdu une bonne part de son aptitude à défendre l'organisme contre certains agents pathogènes et certaines cellules tumorales. Mais comment cette déplétion lymphocytaire se produit-elle, et quelle en est la dynamique sous-jacente ? L'immunodéficience n'est-elle qu'une affaire de nombres ? Une étude plus précise des différents marqueurs de surface par cytofluorométrie nous révèle une image plus nette de la dynamique des différentes sous-populations lymphocytaires. Par exemple, on remarque que le déclin de la population T CD4⁺ concerne

non seulement le compartiment CD4⁺ « mémoire » (CD4⁺CD45RO⁺), mais également le compartiment des lymphocytes T CD4⁺ naïfs (CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺) (figure 1) [6]. De son côté, l'expansion initiale du compartiment T CD8⁺ résulte principalement de la prolifération rapide des lymphocytes T CD8⁺ « mémoires » (CD45RO⁺) et des CTL (lymphocytes T cytotoxiques) CD8⁺ activés (CD38⁺HLA-DR⁺) [7], alors que la population de lymphocytes CD8⁺ naïfs diminue à une vitesse semblable à celle des lymphocytes CD4⁺ naïfs (figure 1) [8, 9]. Le déclin des lym-

phocytes T CD4⁺ et CD8⁺ mémoires, relativement faible au début de l'infection, s'accroît à mesure que l'infection progresse vers le SIDA. Outre la baisse quantitative des populations lymphocytaires et son impact sur la fonction immunitaire, le déclin des lymphocytes T naïfs et mémoires au cours de l'évolution de l'infection virale a pour conséquence de restreindre le répertoire des cellules T, ce qui contribuerait également à l'immunosuppression [10].

On a longtemps supposé que la disparition progressive des lymphocytes T CD4⁺ chez les patients infectés pouvait être expliquée par la destruction pure et simple de ces cellules par le VIH. Cependant, le déclin des lymphocytes CD8⁺ et CD4⁺ naïfs ne peut être exclusivement attribué à une simple cytolysse virale directe car les lymphocytes T CD8⁺ ne sont pas infectables par le virus et, par ailleurs, les lymphocytes T CD4⁺ naïfs sont réfractaires à la production virale après l'infection [11]. Globalement, les mécanismes responsables de la disparition des cellules T naïves restent donc pour l'instant non élucidés. La question-clé est de savoir si la déplétion des lymphocytes T CD4⁺ est causée par une augmentation de leur destruction par le virus ou par une interférence avec la régénération de ces cellules.

Destruction massive et renouvellement élevé...

Une première théorie, élaborée en 1995 par David D. Ho *et al.*, stipule que l'intensité de la réplication virale et les effets cytopathiques qui y sont associés forceraient le système lymphopoïétique à renouveler rapidement les lymphocytes T CD4⁺ afin de compenser les pertes numériques subies par cette population cellulaire (1-2 × 10⁹ lymphocytes CD4⁺ détruits/jour) [12-14]. La régénération des cellules du système immunitaire se trouve poussée à l'extrême durant de nombreuses années, conduisant inéluctablement au déclin du compartiment CD4⁺. Cette théorie sous-entend que le système immunitaire n'est capable de produire qu'un nombre limité de lymphocytes T CD4⁺ au cours de la vie d'un individu, et qu'une production accélérée de ces cellules finit par

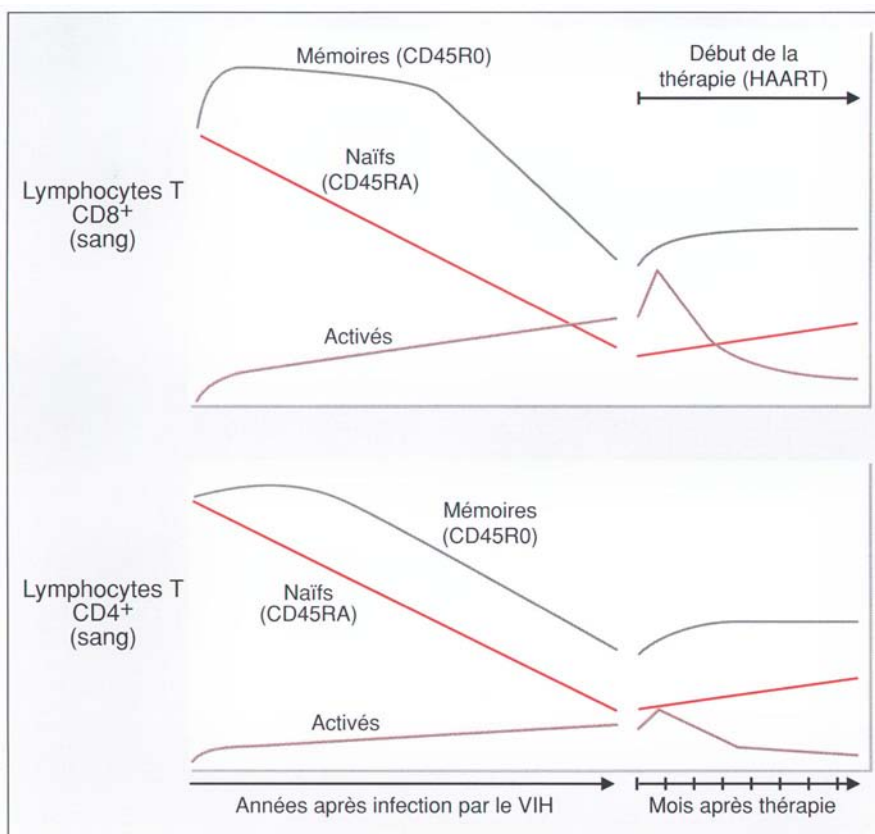


Figure 1. **Dynamique des différentes sous-populations lymphocytaires lors d'une infection à VIH.** Au début de l'infection, le nombre de lymphocytes T CD4⁺ mémoires (CD45RO⁺) demeure relativement constant, puis le déclin s'accroît avec l'évolution de l'infection. En revanche, le nombre de lymphocytes T CD4⁺ naïfs (CD45RA⁺/CD62L⁺) diminue dès le début de l'infection. Au niveau du compartiment CD8⁺, les lymphocytes T cytotoxiques mémoires ou activés prolifèrent au début de l'infection afin de contrer la réplication virale. Ultérieurement, les lymphocytes CD8⁺ mémoires disparaissent tout comme les lymphocytes CD8⁺ naïfs dont le déclin est semblable à celui des lymphocytes CD4⁺ naïfs. À un stade plus avancé de la maladie, les cellules naïves sont presque inexistantes et seuls les lymphocytes T mémoires subsistent. Après thérapie antirétrovirale, le nombre de lymphocytes T mémoires se stabilise alors que le nombre de lymphocytes T naïfs produits de novo augmente progressivement. Ainsi, la reconstitution lymphocytaire chez les sujets infectés par le VIH paraît possible.

épuiser le réservoir de cellules pluripotentes. Ainsi, la destruction des lymphocytes cibles CD4⁺ jouerait un rôle central dans l'immunopathogénie de l'infection à VIH.

Les données expérimentales étayant cette théorie proviennent de mesures hématologiques et de déterminations de virémie faites à partir du sang de patients infectés traités au moyen de thérapies antirétrovirales à haute efficacité (*highly active antiretroviral therapy* – HAART). Comme ces médicaments diminuent, voire suppriment, la réplication du virus, leur utilisation devrait vraisemblablement entraîner une augmentation du nombre de lymphocytes T CD4⁺. En effet, après trois à quatre semaines de thérapie, on observe une nette et rapide diminution de la virémie, associée à une augmentation du nombre de lymphocytes T CD4⁺ dans le sang. Cette augmentation a été interprétée comme le résultat de la prolifération des lymphocytes T CD4⁺ en périphérie (sang). Afin de comprendre la dynamique établie entre le VIH et le

système immunitaire de son hôte, un algorithme a été développé à partir des résultats obtenus sur les lymphocytes du sang. Cette formule a ainsi permis de modéliser la chute de la charge virale et l'augmentation du nombre de lymphocytes T CD4⁺ dans le sang après le début de la thérapie. Selon ce modèle mathématique, plus de 10¹⁰ particules virales seraient produites chaque jour chez le patient, un nombre beaucoup plus important qu'initialement prévu. Le nombre de lymphocytes T CD4⁺ détruits/produits par jour a été estimé à environ 1,8 × 10⁹ [12-14]. Ainsi, le taux de production des lymphocytes T CD4⁺ mesuré avant traitement chez les individus infectés serait de plus de 70 fois supérieur à celui estimé après traitement. De telles valeurs expliqueraient tout naturellement l'épuisement éventuel des précurseurs lymphocytaires pluripotents. David Ho a illustré ces données à l'aide du modèle du drain et de l'évier (*figure 2*). La quantité de cellules détruites (drain de l'évier) y est beaucoup plus

importante que la production quotidienne (robinet), ce qui contribue à réduire le *pool* total de lymphocytes (évier).

Ces études affichent cependant plusieurs failles: (1) les mesures du taux de renouvellement y sont faites de manière fort indirecte et ne distinguent pas renouvellement et redistribution des lymphocytes; (2) il n'existe que peu de données expérimentales fiables sur le taux de renouvellement des lymphocytes T CD4⁺ chez les individus sains; (3) le taux de production de lymphocytes T CD4⁺ observé durant le stade avancé de la maladie ne peut être directement extrapolé au stade précoce de la maladie; (4) les lymphocytes présents dans le sang ne représentent qu'environ 2% de l'ensemble des lymphocytes de l'organisme car plus de 98% d'entre eux sont localisés au sein des organes lymphoïdes secondaires (par exemple, ganglions, rate). Or, on suppose dans ces études (à tort, comme on le verra plus loin) que les lymphocytes périphériques

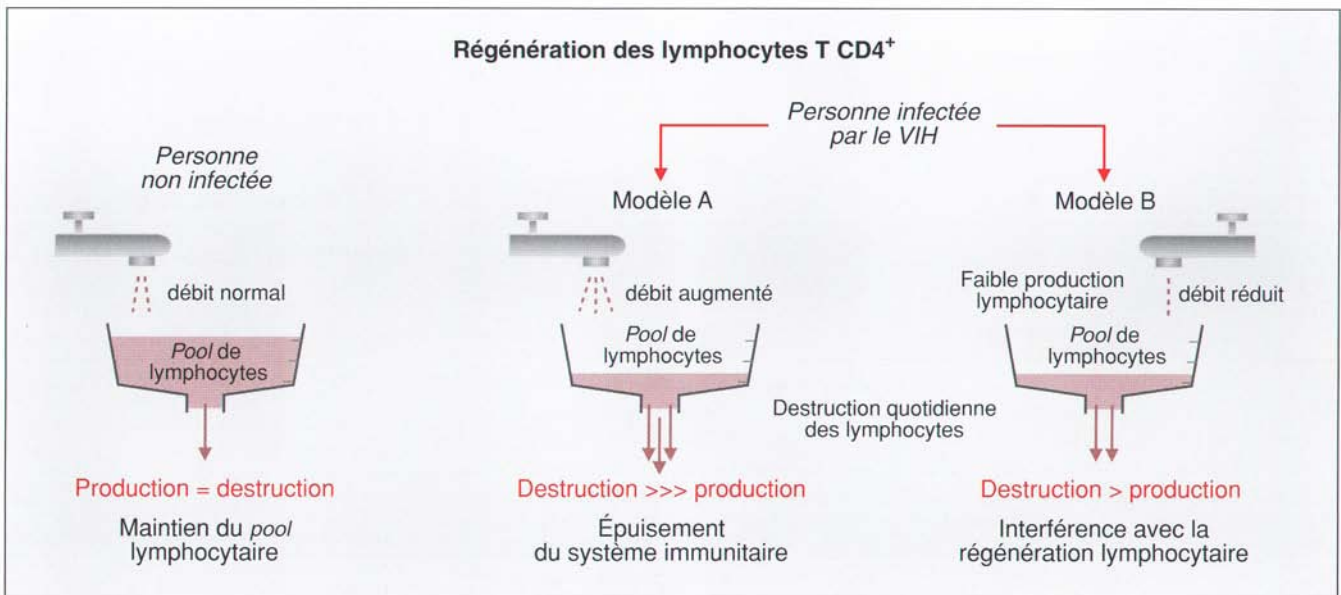


Figure 2. **Le modèle de l'évier: sink model ou Tap and drain model.** Chez les sujets sains, la population lymphocytaire de l'organisme est maintenue parce que la production quotidienne de lymphocytes T à partir de progéniteurs pluripotents est égale au nombre de lymphocytes T détruits chaque jour. Chez les individus infectés par le VIH, deux modèles ont été proposés pour expliquer le déclin progressif des lymphocytes T CD4⁺. **A.** Le modèle du drain ou drain model de David Ho propose que la destruction lymphocytaire soit nettement supérieure à la production quotidienne en lymphocytes T. **B.** Le modèle du robinet ou tap model de Frank Miedema propose plutôt une interférence avec le processus normal de régénération du pool lymphocytaire. Cela est illustré par le faible débit du robinet qui indique une réduction de la production de novo en lymphocytes T CD4⁺. Contrairement au modèle A, la destruction lymphocytaire due au VIH dans le modèle B n'est pas la cause principale du déclin de la population CD4⁺.

sont représentatifs de ceux qui sont localisés au sein d'organes lymphoïdes secondaires.

À la suite de la publication du modèle de l'épuisement immunitaire, d'autres travaux ont été réalisés portant sur la cinétique de reconstitution des sous-populations lymphocytaires T chez les individus infectés par le VIH et traités en thérapie antirétrovirale combinée [7, 15, 16]. En particulier, les groupes de Brigitte Autran [7] et de Frank Miedema [15] ont clairement démontré que la reconstitution post-thérapie des compartiments CD4⁺ et CD8⁺ s'effectuait en deux étapes bien distinctes. Tout d'abord, on assiste à une augmentation du nombre de lymphocytes CD4⁺ (1,3 × 10⁹ par jour) au cours des trois premières semaines du traitement, suivie d'une augmentation plus tardive (> 4-6 semaines de traitement) des lymphocytes CD8⁺ (2,1 × 10⁹ par jour). À première vue, ces résultats ne diffèrent pas tellement de ceux publiés par le groupe de David Ho. Cependant, l'analyse phénotypique des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ a révélé que la résurgence lymphocytaire initiale était presque totalement le fait des lymphocytes T mémoires, c'est-à-dire CD45RO⁺. Après trois semaines de thérapie, l'influx quotidien de lymphocytes CD4⁺CD45RO⁺ redevient quasiment nul, alors que la production *de novo* de lymphocytes T naïfs (CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ et CD8⁺CD45RA⁺CD62L⁺), bien que très modeste, reste constante (figure 1). Ces résultats démontrèrent pour la première fois que la thérapie antirétrovirale combinée permettait un certain niveau de reconstitution des lymphocytes T chez les individus infectés par le VIH.

Une autre approche, plus directe, consistant à marquer les cellules *in vivo* avec de la bromodésoxyuridine (BrdU), a été utilisée pour étudier le taux de régénération des différentes sous-populations lymphocytaires chez le macaque, dans le contexte de l'infection par le virus de l'immuno-déficience simienne (VIS). Ces travaux ont révélé que les lymphocytes des macaques infectés par le VIS se régénéraient beaucoup plus rapidement que ceux de macaques sains [17], en accord total avec le modèle de l'épuisement lymphocytaire. Cependant, les auteurs ont égale-

ment observé un taux de régénération élevé chez d'autres populations de leucocytes, comme les cellules NK (*natural killer*) et les lymphocytes B, qui ne sont pas infectables par le virus. Cette incorporation élevée de BrdU ne serait-elle en fait que le résultat d'une activation indirecte de ces populations cellulaires, induite par un mélange de cytokines produites par les lymphocytes T spécifiques du virus? De plus, comme nous ignorons jusqu'à quel point les données obtenues chez le macaque peuvent être extrapolées à l'homme, les résultats de ces travaux devraient être interprétés avec prudence.

... ou interférence avec le renouvellement?

Afin d'aborder plus directement la question de la destruction massive des lymphocytes T CD4⁺ par le virus, Wolthers *et al.* [18] et Palmer *et al.* [19] ont utilisé une nouvelle méthode consistant à comparer la longueur des télomères des sous-populations lymphocytaires. Les télomères sont ces hexanucléotides répétitifs (TTAGGG) situés aux extrémités de chaque chromosome, et pouvant atteindre environ 10 kpb chez l'homme. Les télomères raccourcissent à chaque division cellulaire et on estime que la longueur de ceux des leucocytes diminue en moyenne de 30 à 50 pb par année [18]. La longueur des télomères peut donc être utilisée comme un « marqueur » de l'âge relatif d'une population cellulaire.

Dans ces deux études, les auteurs ont déterminé que, chez des individus sains comme chez les sujets infectés par le VIH, la longueur moyenne des télomères des lymphocytes T CD4⁺ du sang périphérique était supérieure à celle des lymphocytes T CD8⁺ [18, 19]. Cela signifie que le taux de prolifération cellulaire est plus élevé au sein du compartiment CD8⁺ (TCL), ce qui ne va pas dans le sens de l'hypothèse du renouvellement élevé des lymphocytes T CD4⁺. Palmer *et al.* ont également étudié les télomères de jumeaux monozygotes dont l'un était infecté par le VIH. Cette comparaison a démontré que la longueur moyenne des télomères des lymphocytes CD4⁺ du jumeau infecté était plus longue que celle des lympho-

cytes CD4⁺ du jumeau non infecté [19]. Cela signifie que les lymphocytes CD4⁺ du jumeau infecté s'étaient divisés moins souvent que ceux du jumeau non infecté.

Ces résultats démontrent que les populations T CD4⁺ et CD8⁺ ne suivent pas la même dynamique cellulaire chez les individus infectés par le VIH. De plus, le taux de régénération des lymphocytes T CD4⁺ observé chez un individu infecté semble équivalent, voire inférieur, à celui mesuré chez une personne saine. Ces nouvelles données, qui contredisent directement les hypothèses avancées par David Ho *et al.*, ont suscité la controverse.

L'inconvénient majeur de l'approche « télomères », est qu'elle ne tient pas compte des lymphocytes T CD4⁺ détruits par le virus. En effet, si une partie des lymphocytes T CD4⁺ infectés qui prolifèrent est rapidement tuée par le virus, cela introduit un biais dans l'analyse de la population totale: les lymphocytes T CD4⁺ infectés pourraient avoir de plus petits télomères que les cellules CD4⁺ quiescentes, réduisant de ce fait la longueur moyenne des télomères mesurée sur l'ensemble de la population CD4⁺. De plus, ces travaux se sont toujours limités à l'étude du sang périphérique des patients, alors que l'on sait que les lymphocytes ganglionnaires représentent 50 % à 60 % du *pool* lymphocytaire total, et que le sang ne reflète qu'une image imparfaite de « l'état de santé » du système immunitaire.

Afin de pallier ces problèmes, notre laboratoire a développé une approche alternative consistant à mesurer le niveau d'expression de l'antigène nucléaire Ki67 dans les sous-populations lymphocytaires afin de mesurer directement le taux de régénération cellulaire [20]. Ki67 est exprimé dans le noyau des cellules en cycle cellulaire (G₁, S, G₂ et M), alors que les cellules au repos (phase G₀) ne l'expriment pas [21]. Un anticorps dirigé contre Ki67 permet sa détection par cytofluorométrie, à la suite d'une étape de perméabilisation membranaire. Nous obtenons ainsi une image plus précise du nombre total de lymphocytes T en cycle cellulaire. Notre étude porte à la fois sur les lymphocytes sanguins et des ganglions fraîchement isolés de per-

sonnes saines et d'individus infectés par le VIH. Nous n'avons étudié les niveaux d'expression de Ki67 que des sujets asymptomatiques afin d'éviter que des infections opportunistes ou autres ne les influencent.

Si nous considérons uniquement les résultats obtenus sur les cellules du sang, la fraction de lymphocytes T CD4⁺ en division (Ki67⁺) chez les individus infectés est de 20 % supérieure à celle observée chez les personnes non infectées, comme l'avait constaté le groupe de L. Perrin [22]. En revanche, l'analyse de la fraction de la population en cycle cellulaire au niveau des ganglions donne une image diamétralement opposée à celle observée dans le sang : chez les sujets infectés par le VIH, on observe une diminution de 50 % du nombre total de lymphocytes T CD4⁺ en cours de division cellulaire, en comparaison aux individus non infectés. Puisque les lymphocytes contenus dans les ganglions représentent environ 50 % à 60 % du total de l'organisme, cette réduction de 50 % aura un grand impact sur la détermination du nombre total de lymphocytes T en division dans l'organisme. Au contraire, une augmentation du nombre de lymphocytes en cycle cellulaire dans le sang n'aura qu'un effet négligeable sur la population lymphocytaire totale du sujet. Ainsi, nos résultats montrent que, globalement (sang et ganglions), la fraction de lymphocytes T CD4⁺ en division cellulaire chez les individus infectés par le VIH n'est pas augmentée par rapport aux sujets sains : bien au contraire, elle est réduite [20]. En revanche, la fraction des lymphocytes CD8⁺Ki67⁺ chez les patients infectés par le VIH est augmentée en moyenne de plus de 6 fois dans le sang et de 7 fois dans les ganglions par rapport aux personnes saines [20]. Cette augmentation est normale puisqu'elle reflète en partie la prolifération des lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ dirigés contre le VIH.

Si la production des lymphocytes T est faible, comment peut-on expliquer l'augmentation rapide du nombre de lymphocytes T CD4⁺ dans le sang après thérapie ? En l'absence de traitement antirétroviral, le virus se réplique de façon active dans les lymphocytes T CD4⁺ au niveau des ganglions, et les virions sont relargués par les cellules infectées. Une partie de ces particules virales en cir-

culatation sera fixée par des anticorps spécifiques et par certaines protéines du complément. Ces complexes antigéniques seront ensuite capturés à la surface des cellules dendritiques situées dans les follicules du ganglion, et pourront être présentés et reconnus par les lymphocytes B et T. Ainsi, la réponse immunitaire spécifique du VIH provoquera l'accumulation de lymphocytes B et T dans les ganglions, accumulation qui modifiera la répartition des sous-populations lymphocytaires entre le sang et les organes lymphoïdes secondaires. En effet, nous avons observé que le ratio CD4/CD8 chez les individus non infectés est de 1,2 dans le sang et 5,1 au niveau des ganglions, alors qu'il est respectivement de 0,8 et 1,3 chez les sujets infectés par le VIH⁺. Un traitement antirétroviral qui supprime la réplication virale contribue à diminuer la quantité d'antigènes viraux et l'activation lymphocytaire au niveau du ganglion. Par conséquent, l'inflammation ganglionnaire diminue et les lymphocytes T initialement séquestrés sont relargués, ce qui permet la rapide redistribution lymphocytaire observée à la suite de la mise en route d'une thérapie antirétrovirale combinée.

Ainsi, les données les plus récentes sont loin d'étayer le modèle selon lequel la pathologie de l'infection à VIH serait principalement due à une destruction directe et à un renouvellement anormalement élevé des lymphocytes CD4⁺. Alors comment expliquer la diminution de la population CD4⁺ chez les sujets infectés ? Il est possible que le VIH interfère avec le renouvellement des lymphocytes T CD4⁺. Il se pourrait encore que le système immunitaire soit incapable de remplacer rapidement les lymphocytes CD4⁺ détruits quotidiennement en raison de sa lente capacité de régénération intrinsèque. Le groupe de Miedema a adapté le modèle du drain et de l'évier (figure 2) à la réalité de ces données récentes : l'apport quotidien en nouvelles cellules diminue (débit à la sortie du robinet) alors que la destruction cellulaire augmente légèrement (drain). Ainsi, la destruction cellulaire due aux effets cytopathiques du VIH ne jouerait qu'un rôle mineur dans le déclin des lymphocytes T CD4⁺. Avec le temps,

l'évier finit par se vider puisque le nombre de nouvelles cellules qui y arrivent est inférieur au nombre de cellules qui le quittent.

Où l'interférence se fait-elle ?

Plusieurs mécanismes sont susceptibles de contribuer à la régénération fonctionnelle de la population lymphocytaire CD4⁺. On a vu qu'une partie de l'homéostasie de ce compartiment dépend directement d'une redistribution du *pool* lymphocytaire à partir de réserves situées vraisemblablement au sein d'organes lymphoïdes secondaires. Cela concerne surtout les lymphocytes mémoires (CD45RO⁺). Or, on a vu que la réponse immunitaire spécifique du VIH pouvait interférer avec ce trafic, en retenant les lymphocytes au cœur des zones d'inflammation situées dans les ganglions lymphatiques [23, 24]. Ces zones représentent un environnement propice à la cytopathologie, des lymphocytes T CD4⁺, qu'elle soit causée directement par le virus ou par l'induction de signaux apoptotiques. Le processus central de renouvellement lymphocytaire dépend cependant d'autres mécanismes, surtout en ce qui concerne les lymphocytes T CD4⁺ naïfs (CD45RA⁺CD62L⁺). Ceux-ci sont produits et éduqués dans le thymus, à partir de progéniteurs pluripotents dérivés de la moelle osseuse. La production de lymphocytes T mûrs CD4⁺ et CD8⁺ au niveau du thymus est maximale durant l'enfance, puis diminue progressivement pour s'éteindre presque complètement à l'âge adulte. Cependant, la fonction thymique n'est pas définitivement arrêtée, puisqu'elle peut se trouver réactivée, notamment à la suite d'une chimiothérapie [25]. On sait que les thymocytes, tout comme les macrophages du thymus, peuvent être infectés par le VIH. Cela peut entraîner une inflammation et causer la destruction du thymus, particulièrement durant l'infection chez l'enfant, lors de laquelle une telle atteinte est invariablement associée à un pronostic défavorable [26]. Il a été démontré *ex vivo* que l'infection du tissu thymique abolissait presque entièrement la maturation et la différenciation des précurseurs en cellules simple-positives fonctionnelles [27].

Récemment, l'équipe de Joseph M. McCune a démontré, chez un groupe de sujets infectés par le VIH, une stricte corrélation inverse entre la masse calculée du tissu thymique et le pourcentage de lymphocytes CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ en circulation, ce qui suggère que la contribution du thymus à la maintenance du *pool* lymphocytaire périphérique aurait été jusqu'alors sous-estimée, même chez l'adulte [28]. Toutefois, nous ignorons si ces cellules T nouvellement produites ont les mêmes capacités fonctionnelles que celles produites avant l'infection par le VIH ou avant la résorption du thymus.

Nous savons maintenant que le nombre de lymphocytes T naïfs augmente chez les sujets sous thérapie antirétrovirale. Ces cellules peuvent provenir soit d'une expansion clonale des lymphocytes T naïfs préexistants en périphérie, soit d'une production de nouvelles cellules T au niveau du thymus. Cependant, il n'existait pas de méthode chez l'homme pour distinguer les cellules naïves récemment émigrées du thymus et les cellules naïves périphériques. Récemment, le groupe de Richard A. Koup a utilisé les cercles d'ADN épisomique qui sont produits lors du réarrangement des gènes du récepteur T comme marqueurs cellulaires [29]. En effet, cet ADN épisomique n'est pas dupliqué lors de la mitose et se trouve ainsi dilué à chaque division cellulaire. Ce marqueur permet d'identifier les lymphocytes T naïfs nouvellement relargués par le thymus. Ces travaux démontrent que le thymus des sujets infectés par le VIH et sous thérapie antirétrovirale contribue activement à la reconstitution du système immunitaire [29]. D'autres observations fondées sur l'absence d'influence de la thymectomie sur la progression de l'infection par le VIH, tendent cependant à nuancer ces conclusions [30]. Il est aussi fort probable que l'infection par le VIH interfère avec la production lymphocytaire en amont du thymus, c'est-à-dire au sein même de la moelle osseuse qui renferme les précurseurs hématopoïétiques les moins différenciés. On sait en effet qu'à certains stades de leur maturation, ces précurseurs expriment à leur surface le récepteur CD4 et plusieurs des co-récepteurs pour le VIH, ce qui les rendrait, du moins en théo-

rie, directement sensibles à l'infection virale [31]. Comme ces précurseurs sont en nombre infime, la destruction d'une petite fraction d'entre eux aurait des conséquences démesurées sur la production lymphocytaire. Finalement, il est à noter qu'en dehors d'une cytopathologie directe, le VIH peut avoir des effets indirects sur les lymphocytes T CD4⁺ mûrs en altérant la transmission des signaux transmembranaires (figure 3). Chez les patients infectés par le VIH, il a été démontré que les protéines p56^{lck} et ZAP-70 sont quantitativement et qualitativement modifiées, affectant ainsi la transmission du signal [32, 33]. On a également rapporté la susceptibilité accrue de ces cellules à l'apoptose induite par différents signaux transmembranaires [34, 35]. Une telle sensibilité ne peut qu'entraîner des effets délétères sur la capacité de ces lym-

phocytes de se diviser à la suite d'une activation spécifique de l'antigène, et contribue certainement à la déplétion du compartiment CD4⁺. Ainsi, la diminution progressive des lymphocytes T CD4⁺ chez les individus infectés par le VIH n'est pas le résultat d'une simple destruction cellulaire telle que cela a été proposé initialement. A la lumière des données expérimentales actuelles, cette disparition serait plutôt due à plusieurs mécanismes complexes, aussi bien moléculaires que cellulaires, qui interviendraient tant au niveau de la production qu'au niveau de la destruction lymphocytaire (figure 3). Afin de favoriser une bonne reconstitution du système immunitaire chez les sujets infectés par le VIH⁺, il est essentiel d'augmenter la production *de novo* des lymphocytes T naïfs par les organes responsables de cette pro-

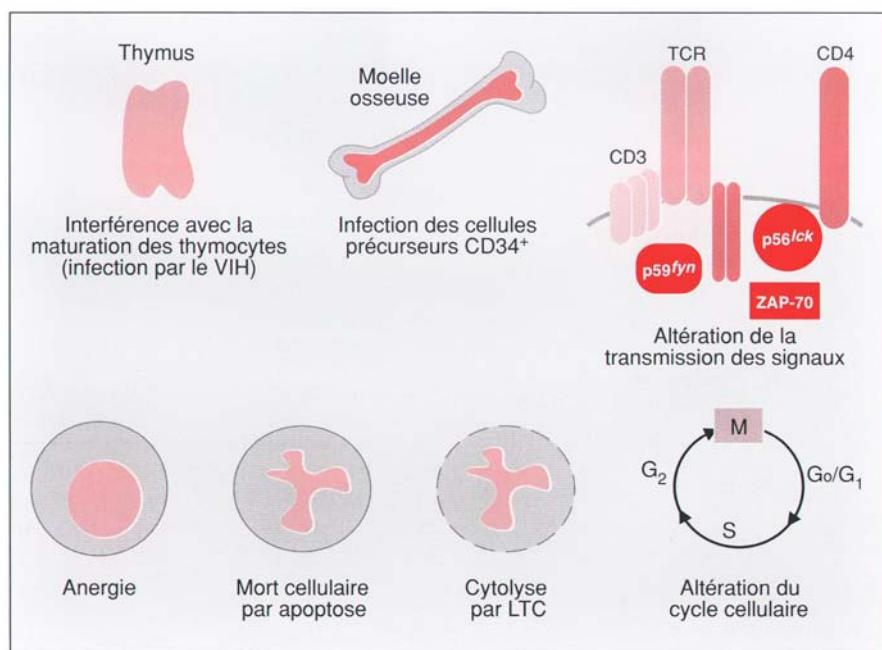


Figure 3. **Les mécanismes moléculaires et cellulaires qui expliqueraient le déclin des lymphocytes T CD4⁺.** Le VIH peut infecter les thymocytes immatures, perturbant ainsi la maturation des thymocytes. Le VIH pourrait également interférer avec la production lymphocytaire en amont du thymus, c'est-à-dire au sein même de la moelle osseuse qui renferme les précurseurs hématopoïétiques les moins différenciés. La réplication du VIH et l'induction de la réponse immunitaire en réponse à la présence du virus peuvent contribuer soit à l'inactivation des lymphocytes T mûrs, soit à leur destruction. Les mécanismes les mieux caractérisés pour expliquer le déclin progressif des lymphocytes T CD4⁺ sont : l'anergie, l'apoptose, la lyse cellulaire par les lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ (CTL) et l'altération de la transmission des signaux via le complexe CD3/TCR et la molécule CD4. Plus récemment, l'observation d'une diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺ en cycle cellulaire chez les sujets infectés par le VIH a suggéré une interférence avec la régénération cellulaire.

duction (par exemple, la moelle osseuse, le thymus et les muqueuses du système immunitaire). Les thérapies combinées se sont révélées capables de supprimer efficacement la réplication du VIH et elles ont également permis la régénération des lymphocytes T naïfs. Dans ce contexte, les approches thérapeutiques qui augmenteront la production lymphocytaire et faciliteront la maturation cellulaire seront encore plus bénéfiques. D'ailleurs, la thérapie antirétrovirale combinée avec l'injection d'interleukine-2 (IL-2) fait actuellement l'objet d'essais cliniques et semble très prometteuse [36] ■

RÉFÉRENCES

- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The Immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 327-35.
- Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The *T4* gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 1986; 47: 333-48.
- Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705.
- Miedema F, Tersmette M, Van Lier AW. AIDS pathogenesis: a dynamic interaction between HIV and the immune system. *Immunol Today* 1990; 11: 293-8.
- Koup RA, Safrit JT, Cao Y, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* 1994; 68: 4650-5.
- Roederer M. Getting to the HAART of T cell dynamics. *Nat Med* 1998; 4: 145-6.
- Autran B, Carcelain G, Li TS, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997; 277: 112-6.
- Roederer M, Dubs JG, Anderson MT, Raju PA, Herzenberg LA. CD8 naive T cell counts decrease progressively in HIV-infected adults. *J Clin Invest* 1995; 95: 2061-6.
- Roederer M, De Rosa SC, Herzenberg LA, Herzenberg LA. Immunology of T cells in AIDS: dynamics revealed by eight-color flow cytometry. In: Kresina T, ed. *Immune modulating agents*. New York: Marcel Dekker, 1998: 209-20.
- Gorochov G, Neumann AU, Kereveur A, et al. Perturbation of CD4⁺ and CD8⁺ T-cell repertoire during progression to AIDS and regulation of the CD4⁺ repertoire during antiviral therapy. *Nat Med* 1998; 4: 215-21.
- Spina CA, Prince HE, Richman DD. Preferential replication of HIV-1 in the CD45RO memory cell subset of primary CD4 lymphocytes *in vitro*. *J Clin Invest* 1997; 99: 1774-85.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; 373: 117-22.
- Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M. HIV-1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271: 1582-6.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373: 123-6.
- Pakker NG, Notermans DW, de Boer RJ, et al. Biphasic kinetics of peripheral blood T cells after triple combination therapy in HIV-1 infection: a composite of redistribution and proliferation. *Nat Med* 1998; 4: 208-14.
- Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1 infected compartments during combination therapy. *Nature* 1997; 387: 188-91.
- Mohri H, Bonhoeffer S, Monard S, Perelson AS, Ho DD. Rapid turnover of T lymphocytes in SIV-infected rhesus macaques. *Science* 1998; 279: 1223-6.
- Wolthers KC, Wisman GBA, Otto SA, et al. T cell telomere length in HIV-1 infection: no evidence for increased CD4⁺ T cell turnover. *Science* 1996; 274: 1543-7.
- Palmer LD, Weng NP, Levine BL, June CH, Lane HC, Hodes RJ. Telomere length, telomerase activity, and replicative potential in HIV infection: analysis of CD4⁺ and CD8⁺ T cells from HIV-discordant monozygotic twins. *J Exp Med* 1997; 185: 1381-6.
- Fleury S, De Boer RJ, Rizzardi GP, et al. Limited CD4⁺ T-cell renewal in early HIV-1 infection: effect of highly active antiretroviral therapy. *Nat Med* 1998; 4: 794-801.
- Schwartz R, Gerdes J, Niehus J, Jaeschke L, Stein H. Determination of the growth fraction in cell suspensions by flow cytometry using the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol Meth* 1986; 90: 65-70.
- Sachsenberg N, Perelson AS, Yerly S, et al. Turnover of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in HIV-1 infection as measured by Ki-67 antigen. *J Exp Med* 1998; 187: 1295-303.
- Pantaleo G, Graziosi C, Butini L, et al. Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9838-42.
- Pantaleo G, Soudeyns H, Demarest JF, et al. Segregation of human immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes away from the predominant site of virus replication during primary infection. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3166-73.
- Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, et al. Age, thymopoiesis, and CD4⁺ T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. *N Engl J Med* 1995; 332: 143-9.
- Kourtis AP, Ibegbu C, Nahmias AJ, et al. Early progression of disease in HIV-infected infants with thymus dysfunction. *N Engl J Med* 1996; 335: 1431-6.
- Clark DR, Ampel NM, Hallett CA, Yedavalli VR, Ahmad N, DeLuca D. Peripheral blood from human immunodeficiency virus type 1-infected patients displays diminished T cell generation capacity. *J Infect Dis* 1997; 176: 649-54.
- McCune JM, Loftus R, Schmidt DK, et al. High prevalence of thymic tissue in adults with human immunodeficiency virus infection. *J Clin Invest* 1998; 101: 2301-8.
- Douek DC, McFarland RD, Keiser PH, et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature* 1998; 396: 690-5.
- Haynes BF. The role of the thymus in reconstituting the immune system in AIDS. 5th conference on retroviruses and opportunistic infections, Chicago, IL, 1998. Alexandria VA: Foundation for Retrovirology and Human Health, 1998: S44.
- Stanley SK, Kessler SW, Justement JS, et al. CD34⁺ bone marrow cells are infected with HIV in a subset of seropositive individuals. *J Immunol* 1992; 149: 689-97.
- Cayota A, Vuillier F, Siciliano J, Gighiero G. Defective protein tyrosine phosphorylation and altered levels of p59^{lck} and p56^{lck} in CD4 T cells from HIV-infected patients. *Int Immunol* 1994; 6: 611-21.
- Stefanova I, Saville MW, Peters C, et al. HIV infection-induced posttranslational modification of T cell signaling molecules associated with disease progression. *J Clin Invest* 1996; 98: 1290-7.
- Banda NK, Bernier J, Kurahara DK, et al. Crosslinking of CD4 by human immunodeficiency virus gp120 primes T cells for activation-induced apoptosis. *J Exp Med* 1992; 176: 1099-106.
- Estaquier J, Idziorek T, De Bels F, et al. Programmed cell death and AIDS: significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9431-5.
- Émilie D, Capitant C, Lévy Y. Quel avenir pour les traitements immunostimulants? L'exemple de l'interleukine-2 dans la reconstitution immunitaire de l'infection par le VIH. *Med Sci* 1999; 15: 911-4.

TIRÉS À PART

G. Pantaleo.

Summary

New insights on CD4⁺ T cell turnover in HIV-1 infection

The initial idea that high amounts of cytopathic virus produced everyday can drive high CD4⁺ T cell production seemed logical and explained the progressive CD4⁺ T cell depletion observed in HIV-infected subjects. It was hypothesized that the CD4⁺ T lymphocyte production was increased up to 70-fold in HIV-infected subjects. Determination of the CD4⁺ T cell production was based on the kinetics of CD4⁺ T cell recovery following initiation of highly-active antiretroviral therapy (HAART). However, this analysis was limited by: (1) the assumption that blood CD4⁺ T cells are representative of the lymph node T cells; and (2) the lack of estimates of CD4⁺ T lymphocyte turnover in healthy HIV-negative subjects. Several immunologists have expressed caution regarding the assumptions used

in modeling CD4⁺ T cell dynamics. Recent findings clearly show that blood is not representative of lymphoid tissues. Indeed, when blood and lymph node compartments are considered together, we find that HIV-infected subjects naive to antiretroviral treatment have similar or lower CD4⁺ T cell production, as compared to healthy subjects. This observation suggests an impaired T cell renewal capacity in HIV-1 infected patients. Furthermore, the initial rise observed in blood CD4⁺ T cells of patients under HAART might not necessarily reflect newly formed CD4⁺ T cells. Indeed, the rapid increase in CD4⁺ T cells in the blood observed shortly after initiation of HAART is caused by T cell redistribution from peripheral tissues to blood and not T cell proliferation. In addition, immunopheno-

typing shows that the T cell increases during early HAART therapy are restricted to memory populations. In contrast, the naive T cell population does not immediately respond to HAART, their numbers in blood increase only after weeks of therapy. Based on those results, there is no evidence for an increased CD4⁺ T cell production in HIV-infected subjects and therefore, CD4⁺ T cell depletion cannot be explained by exhaustion of T cell renewal due to virus-induced cell destruction. After initiation of HAART, naive CD4⁺ T cell number slowly increases over a six month period followed by a stabilization. The mechanism of renewal of CD4⁺ T cells is, thus, still intact in HIV-infected subjects in the early stages of the disease and therapy may indeed allow for T cell reconstitution.