

Génétique des co-récepteurs du VIH et de leurs ligands : influence sur la pathogénie du SIDA

Quels sont les facteurs qui influencent la susceptibilité à l'infection au VIH et la vitesse de la progression vers le stade SIDA (syndrome de l'immunodéficience acquise) des individus infectés? Alors que l'immunosuppression, caractéristique des stades avancés de la maladie, peut survenir chez certains individus deux à trois ans après l'infection (progresseurs rapides), d'autres ne présentent aucun symptôme clinique pendant plus d'une dizaine d'années (progresseurs lents). Par ailleurs, certains individus ne semblent pas s'infecter malgré des expositions répétées au VIH. Cette question a été et demeure encore parmi les thèmes principaux de recherche dans le domaine de la physiopathologie du SIDA.

La porte d'entrée du VIH dans les cellules cibles est composée d'un ensemble de protéines incluant la molécule CD4 et des co-récepteurs. Ces derniers appartiennent surtout à la famille des récepteurs de chimiokines, des protéines à sept domaines transmembranaires (*m/s n°4, 1997, p. 613*). Les souches qui n'infectent que les macrophages, les cellules T primaires appelées macrophage-tropiques, utilisent le co-récepteur CCR5 (récepteur des CC-chimiokines) alors que le CXCR4 (récepteur des CXC-chimiokines) sert de co-récepteur pour les souches n'infectant que les lymphocytes T ou T-tropiques. Outre CCR5 et CXCR4, d'autres co-récepteurs tels que CCR2b et CCR3 peuvent être utilisés par des souches qui infectent les deux types cellulaires et sont dites bi-tropiques [1]. A l'heure actuelle huit protéines ont été identifiées comme co-récepteurs du VIH et d'autres s'ajouteront probablement à cette

liste [2]. Trois chimiokines, RANTES, MIP1 α et MIP1 β sont capables de lier le récepteur CCR5 et de bloquer l'infection par les souches macrophage-tropiques (*m/s n° 3, 1996, p. 423*). De même, le facteur dérivé des cellules stromales, SDF-1

(stromal-derived factor-1); ligand du CXCR4, empêche l'entrée des souches T-tropiques (*m/s n° 10, 1996, p. 1185*) (figure 1).

La découverte de tous ces co-récepteurs et de leurs ligands a permis de répondre à plusieurs questions por-

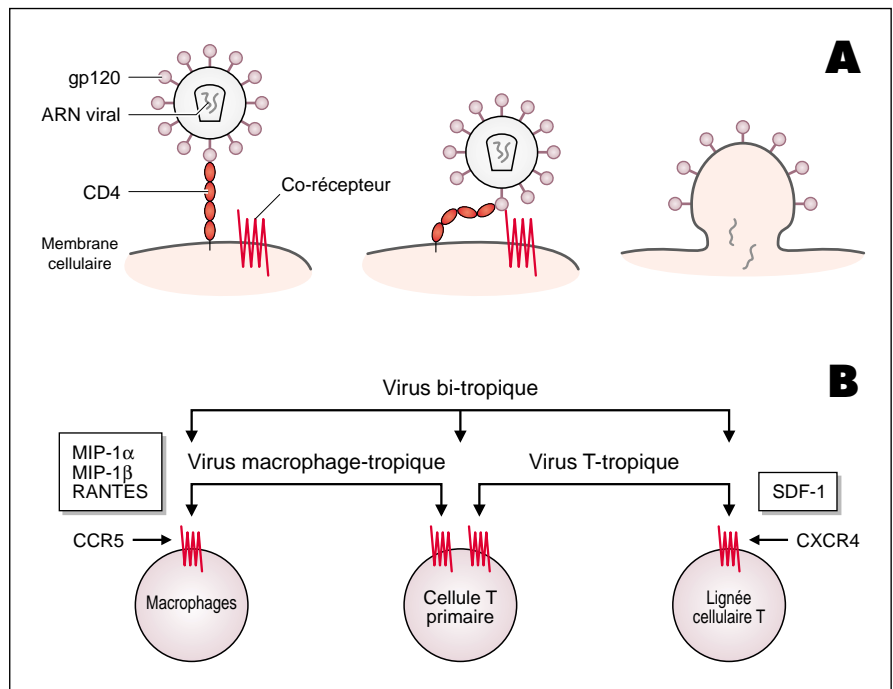


Figure 1. **Voies et étapes de pénétration du VIH dans une cellule hôte.** A. Le virus s'attache d'abord au CD4 via sa glycoprotéine de surface, la molécule gp120. Des changements conformationnels de ces deux protéines permettront ensuite la formation d'un complexe trimoléculaire gp120/CD4/co-récepteur, l'exposition du groupement fusogénique de la gp41, portion transmembranaire de l'enveloppe virale, et enfin la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire et le relargage du génome du virus dans la cellule cible. B. La classification des souches du VIH fondée sur leurs tropismes coïncide avec l'usage différentiel des co-récepteurs. Alors que les souches macrophage-tropiques et T-tropiques utilisent respectivement le CCR5 et CXCR4, les souches bi-tropiques sont capables de reconnaître ces deux co-récepteurs. Les ligands naturels de ces co-récepteurs (MIP1 α , MIP1 β et RANTES par le CCR5 et le SDF-1 pour le CXCR4) sont capables de bloquer l'infection par le VIH en empêchant la fixation du virus à ces co-récepteurs.

tant sur la pathologie du VIH, et on a établi, grâce aux études longitudinales, une corrélation entre le tropisme viral et la progression de la maladie chez les individus infectés [3]. Les souches macrophage-tropiques prédominent, surtout lors du stade primaire de l'infection et cela indépendamment de la voie de l'infection. Plus tard, le virus évolue vers des souches bitropiques et le déclin du nombre de cellules CD4 coïncide avec l'apparition de souches T-tropiques. Pourquoi les souches macrophage-tropiques prédominent-elles lors de la phase primaire de l'infection bien que l'inoculum original contienne souvent des souches à tropismes variés? En raison de leur grande capacité de répllication et de leurs effets cytopathiques, les souches T-tropiques seraient particulièrement exposées au système immunitaire qui parviendrait à les éliminer dès les premiers stades de l'infection, sélectionnant ainsi les souches macrophage-tropiques. Celles-ci, se répliquant à une faible vitesse, dans des cellules à longue demi-vie telles que les macrophages, seraient capables d'assurer une infection persistante avec une faible immunogénicité faisant de leurs hôtes cellulaires des réservoirs viraux [4]. De ce fait, ces souches échapperaient aux attaques du système immunitaire et permettraient la dissémination du virus.

Mutations de CCR5 : résistance à l'infection

Les premières études génétiques, portant sur le polymorphisme du CCR5, ont montré que certains individus exposés et non infectés synthétisent une forme tronquée, indétectable à la surface cellulaire, de ce co-récepteur (*CCR5* $\Delta 32$), due à une délétion de 32 pb dans la seconde boucle extracellulaire (*m/s n° 8-9, 1996, p. 1037*) [1]. Dans la population européenne, la fréquence de l'allèle *CCR5* $\Delta 32$ sous forme homozygote et hétérozygote a été estimée respectivement à 1% et 18% [1]. A ce jour, on n'a rapporté que deux cas de séropositivité pour le VIH chez des sujets homozygotes pour cette délétion, ce qui confirme l'importance de ce co-récepteur lors des premiers stades de l'infection. Par

ailleurs, bien qu'elles restent encore controversées, certaines études ont montré que la présence de cette délétion dans l'un des deux allèles prolonge, de deux à trois ans, le temps de progression vers le SIDA [1]. Une autre mutation, beaucoup plus rare, décrite par l'équipe de l'Institut Pasteur de Paris, *CCR5-m303*, a des effets similaires [5]. La double hétérozygotie pour *CCR5* $\Delta 32$ et *CCR5-m303* confère une résistance totale à l'infection *in vitro* par les virus macrophage-tropiques.

Mutations de CCR2 : ralentissement du développement du SIDA

Très récemment une autre mutation a été décrite dans le gène du CCR2 [6]. Elle produit la mutation d'une valine en position 64 en isoleucine dans la première portion transmembranaire du CCR2 (*CCR2-64I*). Contrairement au *CCR5* $\Delta 32$ identifié principalement dans la population caucasienne, l'allèle *CCR2-64I* est détecté chez des individus appartenant à différentes origines ethniques. Dans la population caucasienne, la fréquence de cet allèle est estimée à 9,8%. Ces études épidémiologiques ont montré que la forme homozygote ou hétérozygote de l'allèle *CCR2-64I* prolonge de deux à quatre ans le temps de développement du SIDA chez les séropositifs. Cependant, aucune de ces deux formes du *CCR2-64I* n'est associée à une résistance à l'infection par le VIH. La protection conférée par l'allèle *CCR2-64I* est indépendante de celle du *CCR5* $\Delta 32$ et les effets des deux mutations sont cumulatifs.

Le quart des progresseurs lents est associé aux génotypes *CCR5* $\Delta 32$ ou *CCR2-64I*. L'absence d'études fonctionnelles rend cependant difficile l'interprétation de ces résultats statistiques. Deux possibilités ont été suggérées quant au mécanisme d'action du *CCR2-64I*. Le *CCR2-64I* agirait sur la cinétique de l'infection puisque le CCR2 peut être utilisé par certaines souches du VIH. Alternativement, le *CCR2-64I* ségrégerait avec une mutation présente dans une séquence régulatrice ou codante d'un autre gène dont le locus serait proche de celui du gène CCR2 et dont le produit serait

impliqué dans la vitesse de progression vers le SIDA. Les travaux récents du groupe de David Ho semblent appuyer cette seconde hypothèse en montrant que le *CCR2-64I* est associé à une mutation dans le promoteur du gène CCR5 [7]. Il est important de souligner que les mutations décrites pour CCR5 et CCR2 ne sont pas présentes chez tous les individus à progression lente, suggérant que d'autres facteurs pourraient influencer le cours de l'infection au VIH.

Mutations de SDF-1 et la progression vers le SIDA

Le CXCR4 est le co-récepteur des souches T-tropiques, qui coïncident

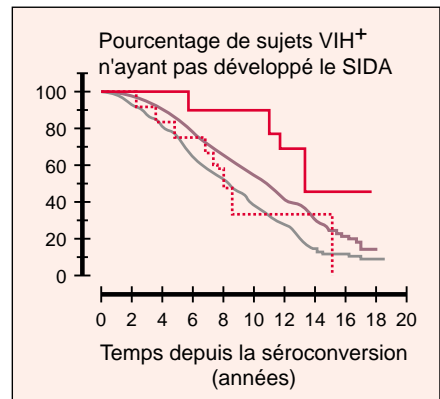


Figure 2. **Courbes de survie de Kaplan-Meier.** L'effet protecteur, individuel ou combiné des mutations décrites dans *CCR2*, *CCR5* et *SDF-1*, a été évalué chez 603 patients séropositifs d'origine caucasienne et appartenant aux cohortes ALIVE, MACS, MHCS et SFCC. Courbe grise : sujets n'ayant aucune mutation dans leurs co-récepteurs. Courbe bistre : sujets hétérozygotes pour au moins une mutation protectrice dans *CCR5* ou *CCR2* (*CCR5* $\Delta 32$ et *CCR2-64I*). Courbe rouge pointillée : sujets homozygotes pour la mutation de *SDF1* (*SDF1-3'A*). Courbe rouge : sujets homozygotes pour la mutation *SDF1-3'A* et hétérozygotes pour au moins une des mutations protectrices. Le SIDA développé est défini par une baisse de cellules CD4 à un nombre inférieur à 2000/mm³ ou par la mort suite à une infection par le VIH (reproduite avec la permission de Winkler C, et al. [7] « copyright 1998 American Association for the Advancement of Science »).

avec le développement du SIDA. A ce jour aucun polymorphisme n'a été identifié dans le gène CXCR4. Cependant, très récemment, l'équipe de Stephen O'Brien (NCI, Frederick, MD, USA) vient de détecter une mutation dans le gène *SDF-1* [8]. Le SDF-1 est codé par un gène unique donnant naissance à deux types de protéines issues d'un épissage alternatif, SDF-1 α et SDF-1 β [9]. La mutation détectée dans SDF-1 β correspond à la substitution d'une base dans la partie 3' non codante de son ARNm (*SDF1-3'A*). Comme l'allèle *CCR2-64I*, l'allèle *SDF1-3'A* est présent chez des individus issus de différentes origines ethniques et sa fréquence à l'état homozygote est inférieure à 5%. Les individus séropositifs homozygotes pour cette mutation sont deux fois mieux protégés contre la progression de la maladie que ceux portant les mutations *CCR5* $\Delta 32$ ou *CCR2-64I* (figure 2). L'effet de cette mutation est non seulement additif mais synergique chez les individus portant les mutations *CCR5* $\Delta 32$ ou *CCR2-64I* [8] (figure 2). Cette mutation, même à l'état homozygote, ne semble pas conférer de résistance à l'infection; en revanche, elle joue un rôle majeur lors de l'apparition des souches T-tropiques, vraisemblablement en augmentant la synthèse du SDF-1 β . La surexpression de cette protéine pourrait assurer, *via* un blocage autocrine ou paracrine du CXCR4 ou par

l'induction de l'endocytose du CXCR4, une résistance à l'entrée des souches T tropiques qui apparaissent plus tard au cours de l'infection empêchant par conséquent la progression clinique rapide des patients. Le mécanisme d'action de la mutation SDF1-3'A reste à préciser. Si cette interprétation est correcte, le passage vers un stade symptomatique dépendrait en grande partie de l'interaction du VIH avec le CXCR4.

Conclusion

La protection conférée par le *CCR5* $\Delta 32$ et le *CCR2-64I* serait effective surtout lors des stades primaires de l'infection alors que le *SDF1-3'A* agirait plus tard, expliquant les effets additifs et/ou synergiques des mutations *SDF1-3'A*, *CCR5* $\Delta 32$ et *CCR2-64I* sur le déroulement de la maladie. Les hétérozygotes composites pour ces mutations seraient donc beaucoup mieux protégés contre différentes souches du VIH. Il reste aussi à vérifier s'il existe des mutations dans d'autres chimiokines ou récepteurs de chimiokines et à déterminer leur influence sur la pathogénie du VIH. Cette découverte permettra peut être un jour de développer des outils thérapeutiques visant à empêcher la progression de la maladie, même à un stade ultérieur à l'infection.

A.Y.
R.P.S.

1. Champagne P, Lavoie PM, Sekaly RP, Yachou A. L'infection par le VIH: importance des facteurs de l'hôte. *Med Sci* 1998; 14: 142-7.
2. Clapham PR, Weiss RA. Spoil for choice of co-receptors. *Nature* 1997; 388: 230-1.
3. Scarlatti G, Tresoldi E, Bjornndal A, Fredriksson R, Colognesi C, Deng HK, Malnati MS, Plebani A, Siccardi AG, Littman DR, Fenyo EM, Lusso P. *In vivo* evolution of HIV-1 co-receptor usage and sensitivity to chemokine-mediated suppression. *Nat Med* 1997; 3: 1259-65.
4. Connor RI, Mohri H, Cao Y, Ho DD. Increased viral burden and cytopathicity correlate temporally with CD4⁺ T-lymphocyte decline and clinical progression in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *J Virol* 1993; 67: 1772-7.
5. Quillent C, Oberlin E, Braun J, Rousset D, Gonzales-Canali G, Métais P, Montagnier L, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Beretta A. HIV-1-resistance phenotype conferred by combination of two separate inherited mutations of *CCR5* gene. *Lancet* 1998; 351: 14-8.
6. Smith MW, Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, et al. Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV infection and disease progression. *Science* 1997; 277: 959-64.
7. Kostrikis LG, Huang Y, Moore JP, Wolinsky SM, Zhang L, Guo Y, Deutsch L, Phair J, Neumann AU, Ho DD. A chemokine receptor CCR2 allele delays HIV-1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation. *Nat Med* 1998; 4: 350-3.
8. Winkler C, Modi W, Smith MW, Nelson GW, Wu X, et al. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. *Science* 1998; 279: 389-93.
9. Shirouzu M, Nakano T, Inazawa J, Tashiro K, Tada H, Shinohara T, Honjo T. Structure and chromosomal localisation of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene. *Genomics* 1995; 28: 495-500.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ **Démenti : on ne guérit pas les nouveau-nés contaminés par le VIH.** Quelques articles faisant mention de la disparition du VIH du sang de nouveau-nés après l'avoir mis en évidence à la naissance avaient été rapportés par *m/s* en 1995 (*m/s* n° 5, 1995, p. 781). Malheureusement, aujourd'hui il faut sans doute démentir ces résultats après que des vérifications de chaque échantillon ont été faites [1]. L'étude a porté sur 43 cas de virémie « transitoire »: le diagnostic avait été porté après étude virologique ou immunologique.

Aucun cas n'avait cependant été vérifié génétiquement sans laisser d'ambiguïté. Il était donc nécessaire de reprendre, avec des outils nouveaux, l'étude de tous ces échantillons: PCR nichée des gènes du VIH, comparaison des séquences *env* chez l'enfant et sa mère pour analyse phylogénétique. Aucun cas de virémie transitoire n'a pu être confirmé; au contraire, on a mis à jour des contaminations, des erreurs d'étiquetage... Pour affirmer la présence puis la disparition du VIH, des critères précis sont indispensables: n'utiliser

que des échantillons n'ayant pas été manipulés pour d'autres examens; montrer la liaison phylogénétique entre les souches virales isolées chez le contaminant et le contaminé, en se fondant sur l'analyse de plusieurs types de séquence. Bien que l'allure générale de la maladie se soit beaucoup modifiée depuis l'avènement des nouveaux traitements, on n'a encore jamais pu montrer que quiconque en ait guéri !

[1. Frenkel LM, et al. *Science* 1998; 280: 1073-7.]