

## Domaines fonctionnels de l'enveloppe du VIH-1 et anticorps neutralisants

Deux épitopes, situés dans la glycoprotéine externe gp120 du virus de l'immunodéficience humaine (VIH1), sont responsables de l'induction de la majorité des anticorps neutralisants au cours de l'infection naturelle. Les anticorps neutralisants, en se fixant sur les protéines virales, inhibent les étapes précoces de fixation et de pénétration du virus. Le premier de ces épitopes, conformationnel, correspond au site de liaison à la molécule CD4 de la cellule cible, premier récepteur du virus identifié. Le second épitope, séquentiel, est localisé dans la boucle V3. Cette région est soumise à une très grande variabilité entre les différentes souches, et interagirait avec une protéase membranaire présente dans les cellules cibles, impliquée dans la pénétration du virus. *In vitro*, les anticorps anti-V3 et les anticorps dirigés contre le site de liaison au CD4 agissent en synergie pour bloquer l'infection virale. Il semble donc logique de chercher à concevoir un vaccin capable d'induire qualitativement et quantitativement des anticorps dirigés contre ces deux épitopes.

---

Denys Brand  
Catherine Truong  
Francis Barin

---

### ADRESSE

---

D. Brand : étudiant en doctorat. C. Truong : étudiante en doctorat. F. Barin : professeur des universités-praticien hospitalier. Laboratoire de virologie, Cnrs URA 1334, CHRU Bretonneau et UFR des sciences pharmaceutiques, 37044 Tours Cedex, France.

Les concepts actuels de vaccination antivirale reposent en grande partie sur le fait que certains anticorps, dits neutralisants, en se fixant sur certaines régions des protéines virales, inhibent des étapes précoces de l'infection virale au niveau cellulaire, fixation et pénétration: le virus ne pouvant se répliquer dans les cellules, il sera détruit. La finalité d'un vaccin est donc d'induire ces anticorps neutralisants à un titre (concentration) suffisant(e) pour protéger l'individu de l'implantation du virus lors d'une infection ultérieure. Il existe désormais bon nombre d'exemples démontrant l'effica-

## RÉFÉRENCES

1. Allan JS, Coligan JE, Barin F, *et al.* Major glycoprotein antigens that induce antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III. *Science* 1985; 228: 1091-4.
2. Earl PL, Doms RW, Moss B. Oligomeric structure of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 648-52.
3. Berman PW, Gregory TJ, Riddle I, *et al.* Protection of chimpanzees from infection by HIV-1 after vaccination with recombinant glycoprotein gp120 but not gp160. *Nature* 1990; 345: 622-5.
4. Girard M. Vaccins contre le SIDA: espoirs et réalités. *médecine/sciences* 1989; 5: 152-8.
5. Girard M, Kieny MP, Pinter A, *et al.* Immunization of chimpanzees confers protection against challenge with human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 542-6.
6. Klatzman D, Barré-Sinoussi F, Nugeyre NT, *et al.* Selective tropism of lymphadenopathy-associated virus (LAV) for helper-inducer T-lymphocytes. *Science* 1984; 225: 59-63.
7. Gallaher WR. Detection of a fusion peptide sequence in the transmembrane protein of human immunodeficiency virus. *Cell* 1987; 50: 327-8.
8. Putney SD, Matthews TJ, Robey WG, *et al.* HTLV-III/LAV neutralizing antibodies to an *E. coli*-produced fragment of the virus envelope. *Science* 1986; 234: 1392-4.
9. Rusche JR, Javaherian K, McDanal, *et al.* Antibodies that inhibit fusion of human immunodeficiency virus-infected cells bind a 24-amino acid sequence of the viral envelope. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3198-202.
10. Goudsmit J, Boucher CAB, Melen RH, *et al.* Human antibody response to a strain-specific HIV-1 gp120 epitope associated with cell fusion inhibition. *AIDS* 1988; 2: 157-64.
11. LaRosa GJ, Davide JP, Weinhold K, *et al.* Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant. *Science* 1990; 249: 932-5.
12. Myers G, Korber B, Wain-Hobson S, Smith RF, Pavlakis GN. *Human retroviruses and AIDS*. Los Alamos: Los Alamos National Laboratory, 1993.
13. Matthews TJ, Langlois AJ, Robey WG, *et al.* Restricted neutralization of divergent human T-lymphotropic virus type III isolates by antibodies to the major envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 9709-13.
14. Palker TJ, Clark ME, Langlois AJ, *et al.* Type-specific neutralization of the human immunodeficiency virus with antibodies to env-encoded synthetic peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 1932-6.
15. Nara PL, Robey WG, Pyle SW, *et al.* Purified envelope glycoproteins from human immunodeficiency virus type 1 variants induce individual, type-specific neutralizing antibodies. *J Virol* 1988; 62: 2622-8.
16. Javaherian K, Langlois AJ, LaRosa GJ, *et al.* Broadly neutralizing antibodies elicited by the hypervariable neutralizing determinant of HIV-1. *Science* 1990; 250: 1590-3.
17. Ohno T, Terada M, Yoneda Y, *et al.* A broadly neutralizing monoclonal antibody that recognizes the V3 region of human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein gp120. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10726-9.

cité vaccinale de sous-unités virales. Comme ce sont les structures externes des virus qui interagissent en premier avec les cellules cibles, les antigènes d'enveloppe constituent l'immunogène de choix pour les virus enveloppés. A titre d'exemple, l'efficacité neutralisante et protectrice des anticorps anti-enveloppe est parfaitement démontrée pour des virus aussi différents que le virus de l'hépatite B, le virus d'Epstein-Barr, le virus de la fièvre jaune ou le virus de la rage. La structure antigénique de l'enveloppe du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et le rôle des anticorps dirigés contre certaines régions de cette enveloppe sont donc particulièrement étudiés dans la perspective du développement d'un vaccin anti-VIH. Le VIH1 étant beaucoup plus fréquent que le VIH2, les recherches en vaccinologie du SIDA concernent principalement l'enveloppe du VIH1.

### L'enveloppe du VIH1

L'enveloppe du VIH1 est composée de deux glycoprotéines virales, insérées dans la bicouche lipidique empruntée à la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. La glycoprotéine externe (SU) gp120 et la glycoprotéine transmembranaire (TM) gp41 dérivent par clivage d'un précurseur gp160 [1]. Ces deux protéines sont associées par des liaisons non covalentes dans les particules virales (virions), formant des dimères (gp120-gp41)<sub>2</sub> ou des tétramères (gp120-gp41)<sub>4</sub> [2]. Il est clairement démontré que la gp120 seule peut induire une immunité protectrice chez le chimpanzé et il est donc logique qu'elle soit l'objet de nombreux travaux [3-5].

Cinq régions conservées et cinq régions variables ont été mises en évidence au sein de la glycoprotéine d'enveloppe, la glycoprotéine externe étant plus variable que la glycoprotéine transmembranaire (figure 1). Trois régions fonctionnelles jouent un rôle essentiel dans les premières étapes de l'infection cellulaire et ont été clairement identifiées. Deux d'entre elles sont situées dans la gp120. Il s'agit du site de liaison au CD4, premier récepteur viral identifié qui rend compte du

tropisme du VIH [6], et de la région V3 indispensable à l'infection virale probablement par un événement postérieur à la fixation du virus sur son récepteur CD4. Ces deux régions correspondent aux deux principaux sites inducteurs d'anticorps neutralisants. La troisième région, très hydrophobe, est située à l'extrémité N-terminale de la gp41. Elle participe à la fusion entre membrane de la cellule cible et enveloppe virale, d'où son nom de domaine fusiogène, mais ne semble pas être immunogène au cours de l'infection naturelle [7].

### Boucle V3 et anticorps neutralisants

En immunochimie il est beaucoup plus facile d'identifier les épitopes séquentiels que les épitopes conformationnels. Aussi les techniques disponibles d'expression génétique et de synthèse peptidique ont-elles permis de localiser très rapidement dans la gp120 un épitope séquentiel majeur, inducteur d'anticorps neutralisants. L'immunisation d'animaux, à l'aide de fragments recombinants d'enveloppe virale produits par *Escherichia coli*, a tout d'abord démontré que cet épitope était situé dans la moitié C-terminale de la gp120 [8]. L'analyse de l'inhibition de l'activité neutralisante des immunosérums par des oligopeptides synthétiques représentant des séquences de cette partie C-terminale a localisé l'épitope neutralisant majeur au niveau de la région variable V3 [9]. La région V3 correspond à une boucle d'environ 35 acides aminés possédant deux cystéines (C) à sa base, les sites de liaison avec les anticorps neutralisants se trouvant au sommet de la boucle [10]. Cette région est excessivement variable. Cependant l'analyse des séquences de la région V3 de 245 isolats a montré la conservation importante de certains résidus, notamment ceux situés au sommet de la boucle, et une plus grande variabilité à d'autres positions [11]. Ainsi, une conservation supérieure à 80 % est constatée pour 9 positions parmi les 14 acides aminés centraux (figure 2B). Les térapeptides GPGR\* ou GPGQ sont notamment présents

m/s n° 4 vol. 10, avril 94

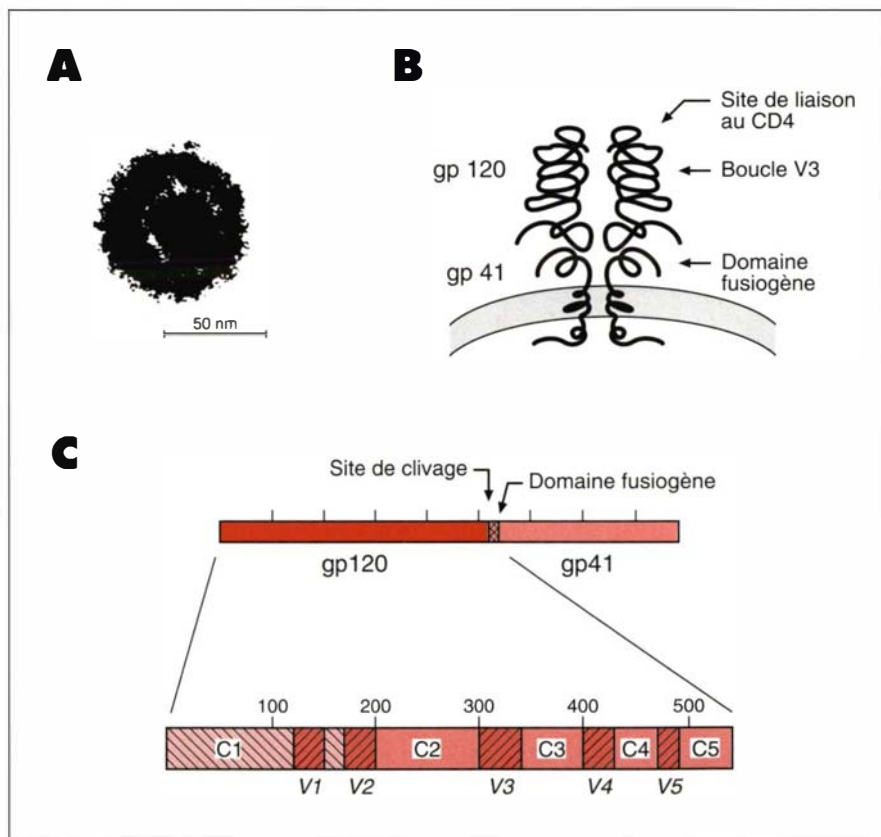


Figure 1. **L'enveloppe du VIH1.** **A.** Cliché de microscopie électronique montrant les projections d'enveloppe en périphérie des particules virales (cliché : Dr B. Arbeille). **B.** Représentation schématique des dimères (gp120-gp41)<sub>2</sub>. La glycoprotéine externe (SU) gp120 et la glycoprotéine transmembranaire (TM) gp41 dérivent par clivage d'un précurseur gp160. **C.** Localisation des domaines variables (V1-V5) et conservés (C1-C5) au sein de la gp120. Deux régions correspondent aux principaux sites inducteurs d'anticorps neutralisants, le site de liaison au CD4 et la région V3. Le site de liaison au CD4 est un site conformationnel qui implique de façon majoritaire des acides aminés des régions C3 et C4. Le domaine fusiogène, situé à la partie N-terminale de gp41, participe à la fusion des membranes virale et de la cellule cible ; il ne semble pas immunogène in vivo.

\* Pour la signification du code à une lettre des acides aminés, voir la légende de la figure 2, p. 421.

## RÉFÉRENCES

18. White-Scharf ME, Potts BJ, Smith LM, Sokolowski KA, Rusche JR, Silver S. Broadly neutralizing monoclonal antibodies to the V3 region of HIV-1 can be elicited by peptide immunization. *Virology* 1993; 192: 197-206.
19. Gorny MK, Conley AJ, Karwowska S, et al. Neutralization of diverse human immunodeficiency virus type 1 variants by an anti-V3 human monoclonal antibody. *J Virol* 1992; 66: 7538-42.
20. Freed EO, Myers DJ, Risser R. Identification of the principal neutralizing determinant of human immunodeficiency virus type 1 as a fusion domain. *J Virol* 1991; 65: 190-4.
21. Hattori T, Koito A, Takatsuki K, Kido H, Katunuma N. Involvement of trypsin-related cellular protease(s) in human immunodeficiency virus type 1 infection. *FEBS Lett* 1989; 248: 48-52.
22. Avril LE, Di Martino-Ferrer M, Barin F, Gauthier F. Interaction between a membrane-associated serine proteinase of U-937 monocytes and peptides from the V3 loop of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp120 envelope glycoprotein. *FEBS Lett* 1993; 317: 167-72.
23. Callebaut C, Krust B, Jacotot E, Hovnessian A. T cell activation antigen, CD26, as a cofactor for entry of HIV in CD4<sup>+</sup> cells. *Science* 1993; 262: 2045-50.
24. Clements GJ, Price-Jones MJ, Stephens PE, et al. The V3 loops of the HIV-1 and HIV-2 surface glycoproteins contain proteolytic cleavage sites: a possible function in viral fusion. *AIDS Res Hum Retrovir* 1991; 7: 3-16.
25. Andersen KB, Skov H. Retrovirus-induced cell fusion is enhanced by protease treatment. *J Gen Virol* 1989; 70: 1921-7.
26. Webster RG, Rott R. Influenza virus A pathogenicity: the pivotal role of hemagglutinin. *Cell* 1987; 50: 665-6.
27. Lasky LA, Nakamura GM, Smith DH, et al. Delineation of a region of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. *Cell* 1987; 50: 975-85.
28. Kowalski M, Potz J, Basiripour L, et al. Functional regions of the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. *Science* 1987; 237: 1351-5.
29. Cordonnier A, Montagnier L, Emerman M. Single amino-acid changes in HIV envelope affect viral tropism and receptor binding. *Nature* 1989; 340: 571-4.
30. Olshevsky U, Helseth E, Furman C, Li J, Haseltine W, Sodroski J. Identification of individual human immunodeficiency virus type 1 gp120 amino acids important for CD4 binding. *J Virol* 1990; 64: 5701-7.
31. Ho D, McKeating JA, Li XL, et al. Conformational epitope on gp120 important in CD4 binding and human immunodeficiency virus type 1 neutralization identified by a human monoclonal antibody. *J Virol* 1991; 65: 489-93.
32. Tilley SA, Honnen WJ, Racho ME, Hilgartner M, Pinter A. A human monoclonal antibody against the CD4-binding site of HIV1 gp120 exhibits potent, broadly neutralizing activity. *Res Virol* 1991; 142: 247-59.
33. Thali M, Olshevsky U, Furman C, Gabuzda D, Posner M, Sodroski J. Characterization of a discontinuous human immunodeficiency virus type 1 gp120 epitope recognized by a broadly reactive neutralizing human monoclonal antibody. *J Virol* 1991; 65: 6188-93.
34. Posner MR, Cavacini LA, Emes CL, Power J, Byrn R. Neutralization of HIV-1 by F105, a human monoclonal antibody to the CD4 binding site of gp120. *J Acq Imm Def Syndr* 1993; 6: 7-14.
35. Thali M, Furman C, Ho DD, et al. Discontinuous, conserved neutralization epitopes overlapping the CD4-binding region of human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein. *J Virol* 1992; 66: 5635-41.

au sommet de la boucle dans la quasi-totalité des isolats de VIH1. La relative conservation de certaines positions suggère qu'il existe des contraintes structurales ou fonctionnelles au niveau de cette région. On constate qu'il existe, malgré la variabilité importante au niveau de certaines positions, une structure commune de la boucle V3 de type: C-feuillet  $\beta$ -tour  $\beta$ -feuillet  $\beta$ -hélice  $\alpha$ -C. L'analyse de l'ensemble des séquences d'enveloppe disponibles a permis de dresser des arbres phylogénétiques et de classer en 1992 les souches de VIH1 en cinq sous-types, dénommés A à E, caractérisés chacun par une séquence consensus de la région V3 (figure 2A). Cette classification, bien que maintenue en 1993 [12], pourrait évoluer car il semble que six sous-types (A à F) devraient être considérés aujourd'hui et qu'un nombre limité d'isolats ne puisse être intégré dans aucun de ces sous-types. La connaissance de la répartition géographique des sous-types est importante car elle conditionnera probablement la composition des vaccins anti-VIH. Il est en effet apparu très rapidement que les anticorps neutralisants anti-V3 étaient spécifiques de type, c'est-à-dire capables de neutraliser uniquement des souches très voisines de celles ayant servi à l'immunisation [13-15]. On peut penser que, pour être efficace, un vaccin anti-VIH devra inclure des antigènes d'enveloppe contenant les séquences V3 des souches rencontrées dans la région d'utilisation. Ainsi, et à titre d'exemple, le sous-type B dont la séquence consensus V3 correspond à celle décrite par LaRosa et al. en 1990 [11] est très largement majoritaire en Europe et sur le continent américain, et les sous-types A et D sont rencontrés essentiellement en Afrique.

La notion de spécificité étroite des anticorps neutralisants anti-V3 doit cependant être revue à la lumière de certaines données récentes. En effet, Javaherian et al., en immunisant des animaux à l'aide d'un trimère (GPGRF)<sub>3</sub> de l'hexapeptide présent au sommet de la boucle V3, ont obtenu des anticorps neutralisants de spectre relativement large [16]. De larges activités neutra-



## RÉFÉRENCES

36. Leonard CK, Spellman MW, Riddle L, Harris RJ, Thomas JN, Gregory TJ. Assignment of intra-chain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 10373-82.
37. Steimer KS, Scandella CJ, Skiles PV, Haigwood N. Neutralization of divergent HIV-1 isolates by conformation-dependent human antibodies to gp120. *Science* 1991; 254: 105-8.
38. Haigwood NL, Nara PL, Brooks E, et al. Native but not denatured recombinant human immunodeficiency virus type 1 gp120 generates broad-spectrum neutralizing antibodies in baboons. *J Virol* 1992; 66: 172-82.
39. Barin F, McLane MF, Allan JS, Lee TH, Groopman JE, Essex M. Virus envelope protein of HTLV-III represents major target antigen for antibodies in AIDS patients. *Science* 1985; 228: 1094-7.
40. Moore JP, Ho DD. Antibodies to discontinuous or conformationally sensitive epitopes on the gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 are highly prevalent in sera of infected humans. *J Virol* 1993; 67: 863-75.
41. Moore J, Lewis GK, Robinson J. Which gp160 vaccine? *Nature* 1993; 361: 503.
42. Fenouillet E. La N-glycosylation du VIH: du modèle expérimental à l'application thérapeutique. *médecine/sciences* 1993; 9: 901-6.
43. Chamat S, Nara P, Berquist L, et al. Two major groups of neutralizing anti-gp120 antibodies exist in HIV-infected individuals. *J Immunol* 1992; 149: 649-54.
44. Back NKT, Thiriart C, Delers A, Ramautarsing C, Bruck C, Goudsmit J. Association of antibodies blocking HIV-1 gp160-sCD4 attachment with virus neutralizing activity in human sera. *J Med Virol* 1990; 31: 200-8.
45. Thali M, Furman C, Wahren B, et al. Cooperativity of neutralizing antibodies directed against the V3 and CD4 binding regions of the human immunodeficiency virus gp120 envelope glycoprotein. *J Acq Imm Def Syndr* 1992; 5: 591-9.
46. Pinter A, Honnen WJ, Tilley SA. Conformational changes affecting the V3 and CD4-binding domains of human immunodeficiency virus type 1 gp120 associated with Env processing and with binding of ligands to these sites. *J Virol* 1993; 67: 5692-7.
47. Cavacini IA, Emes CL, Power J, Buchbinder A, Zolla-Pazner S, Posner MR. Human monoclonal antibodies to the V3 loop of HIV-1 gp120 mediate variable and distinct effects on binding and viral neutralization by a human monoclonal antibody to the CD4 binding site. *J Acq Imm Def Syndr* 1993; 6: 353-8.
48. Moore JP, Thali M, Jameson BA, et al. Immunochemical analysis of the gp120 surface glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1: probing the structure of the C4 and V4 domains and the interaction of the C4 domain with the V3 loop. *J Virol* 1993; 67: 4785-96.
49. Werner A, Levy JA. Human immunodeficiency virus type 1 envelope gp120 is cleaved after incubation with recombinant soluble CD4. *J Virol* 1993; 67: 2566-74.
50. Fung MSC, Sun CRY, Gordon WL, et al. Identification and characterization of a neutralization site within the second variable region of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1992; 66: 848-56.
51. McKeating JA, Shotton C, Cordell J, et al. Characterization of neutralizing monoclonal antibodies to linear and conformation-dependent epitopes within the first and second variable domains of human immunodeficiency virus type 1 gp120. *J Virol* 1993; 67: 4932-44.
52. Cohen J. Jitters jeopardize AIDS vaccine trials. *Science* 1993; 262: 980-1.

neutralisation du VIH1 par des anticorps anti-V3 serait due à la protection de ce site vis-à-vis d'un clivage protéolytique. L'importance de ce phénomène est confirmée par le fait que la région V3 du VIH2, bien que présentant une séquence primaire très différente de la région V3 du VIH1 (figure 2C), possède également un site de clivage protéolytique ([23, 24] *m/s n° 1, vol. 10, p. 117-9*). Le rôle de protéases cellulaires dans les étapes précoces de l'infection virale, notamment dans les processus de fusion, a par ailleurs été clairement démontré pour d'autres virus de la famille des *Retroviridae* mais aussi pour le virus grippal [25, 26].

### Site de liaison au CD4 et anticorps neutralisants

En 1987, Lasky *et al.* ont obtenu un anticorps monoclonal murin anti-gp120 bloquant l'interaction CD4-gp120 et localisé l'épitope reconnu par cet anticorps au niveau de la région conservée C4 [27]. Parallèlement, grâce à des techniques utilisant la mutagenèse dirigée, Kowalski *et al.* ont démontré que différentes régions de la gp120, distantes au sein de la séquence primaire, étaient impliquées dans la liaison au CD4 [28]. L'ensemble de ces données, et leur complément ultérieur, ont permis de caractériser le site de liaison au CD4 comme un site conformationnel qui implique de façon majoritaire des acides aminés des régions C3 et C4 [28-30]. La notion d'association entre site de liaison au CD4 et épitope conformationnel inducteur d'anticorps neutralisants est apparue plus récemment. En effet, depuis 1991 ont été obtenus et caractérisés différents anticorps monoclonaux humains anti-gp120 présentant une activité neutralisante de large spectre. La plupart d'entre eux inhibent l'interaction gp120-CD4 *in vitro* [31-34]. En outre, les acides aminés de la gp120, impliqués dans la liaison au paratope\* de ces anticorps monoclonaux, sont les

\* Paratope: motif de l'anticorps qui réagit avec l'épitope de l'antigène.

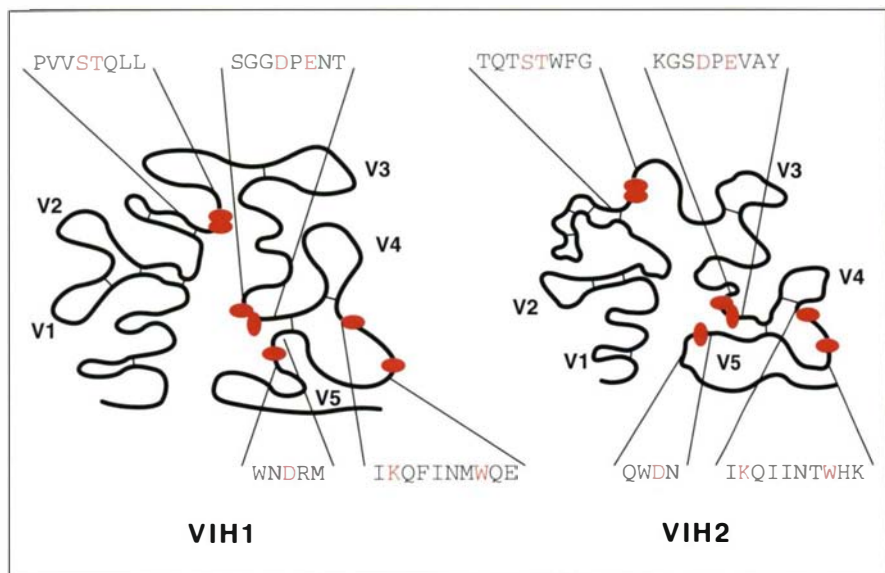


Figure 3. **Structure secondaire des glycoprotéines de surface des virus VIH1 et VIH2, et identification des régions participant au site de liaison de la gp120 au CD4** [35, 36]. Les acides aminés importants sont représentés par des ellipses rouges sur la chaîne peptidique et notés en rouge dans les parties de séquences indiquées. Les acides aminés de la gp120, impliqués dans la liaison aux anticorps monoclonaux humains anti-gp120 présentant une activité neutralisante de large spectre, sont en partie les mêmes que ceux impliqués dans la liaison au CD4. Ces acides aminés sont également conservés pratiquement aux mêmes positions dans l'enveloppe du VIH2, soulignant leur importance biologique. Le site de liaison au CD4 est un épitope conformationnel, qui implique des acides aminés distants sur la séquence primaire de la gp120, et induit des anticorps neutralisants de large spectre. Le maintien de la conformation de la gp120 est nécessaire pour conserver sa capacité de lier *in vitro*, mais également d'induire *in vivo*, des anticorps neutralisants de large spectre.

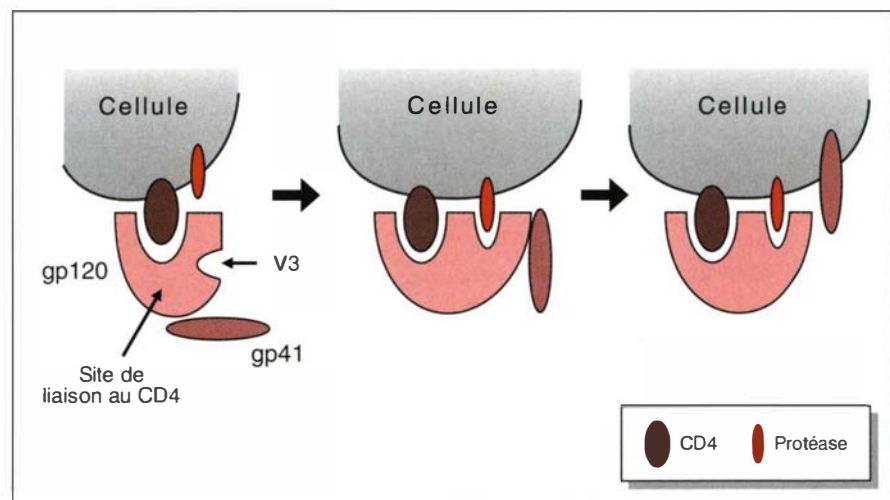


Figure 4. **Représentation schématique des différents événements moléculaires précoces permettant l'infection des cellules cibles par le VIH1.** La fixation de gp120 à CD4 induirait une modification allostérique de gp120 permettant à sa boucle V3 de se lier à une protéase cellulaire. Ces événements permettraient l'exposition de l'extrémité hydrophobe de gp41 et l'insertion de son domaine fusiogène dans la membrane de la cellule cible. La fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire serait suivie de l'entrée du virus dans la cellule.

mêmes que ceux impliqués dans la liaison au CD4 (figure 3). Il est donc désormais clair que le site de liaison au CD4 est un épitope conformationnel, qui implique des acides aminés distants sur la séquence primaire de la gp120, et induit des anticorps neutralisants de large spectre. Il est remarquable d'observer que, malgré la grande variabilité du gène d'enveloppe du VIH1, les acides aminés constituant cet épitope conformationnel (ou ce site fonctionnel) sont absolument conservés quel que soit l'isolat. Il est encore plus remarquable de constater que ces acides aminés sont également conservés pratiquement aux mêmes positions dans l'enveloppe du VIH2, soulignant leur importance biologique (figure 3).

Il a été très clairement démontré que le maintien de la conformation de la gp120 est nécessaire pour conserver sa capacité de lier *in vitro*, mais également d'induire *in vivo*, des anticorps neutralisants de large spectre [37, 38]. Par exemple, seule l'immunisation avec la gp120 native recombinante produite par des cellules de mammifères (cellules CHO), et non l'immunisation avec la gp120 dénaturée produite par des levures, permet d'obtenir des anticorps neutralisants de large spectre [38]. La gp120 native est capable de se lier au CD4 alors que la gp120 dénaturée ne l'est pas. En outre, les anticorps anti-gp120 présents dans le sérum de patients infectés par le VIH1 semblent être en majorité dirigés contre des épitopes conformationnels [39, 40]. Parmi ces anticorps anti-épitopes conformationnels, les anticorps dirigés contre le site de liaison au CD4 semblent occuper une place prépondérante [40]. Toutes ces données soulignent la nécessité de conserver une certaine conformation de la gp120 pour induire une immunité neutralisante de large spectre [41]. Le rôle important de la glycosylation dans l'acquisition de la conformation fonctionnelle des glycoprotéines d'enveloppe du VIH1 a été d'ailleurs particulièrement bien démontré [42].

L'analyse fine de l'activité neutralisante des sérums provenant de patients infectés montre que les anticorps neutralisants acquis *in vivo*

sont dirigés quasi exclusivement contre la région V3 et contre le site de liaison au CD4 [43, 44]. En outre, les résultats des études de neutralisation *in vitro* à l'aide d'anticorps monoclonaux montrent que les anticorps anti-V3 et les anticorps dirigés contre le site de liaison au CD4 agissent en synergie pour bloquer l'infection virale [32, 45]. Des modifications de conformation de la gp120 après la liaison d'anticorps, soit sur la région V3, soit sur le site de liaison au CD4, ont été montrées très récemment, expliquant ainsi la synergie dans la neutralisation. Certains anticorps monoclonaux anti-V3, capables d'immunoprécipiter seulement le précurseur gp160, mais non la gp120, deviennent capables de réagir avec la gp120 en présence d'anticorps dirigés contre le site de liaison au CD4 [46]. La région V3 deviendrait donc plus accessible après modification allostérique consécutive à la fixation d'anticorps sur l'épitope conformationnel de liaison au CD4. De façon identique, des anticorps anti-V3 augmentent la capacité de fixation à la gp120 d'anticorps anti-site de liaison au CD4 et ainsi leur activité neutralisante [47, 48].

Ces constatations sont en faveur d'une dépendance de ces deux régions de l'enveloppe virale au cours des étapes précoces de l'infection cellulaire. On considère actuellement que la fixation de la gp120 à la molécule CD4, en induisant une modification allostérique, permettrait la liaison de la région V3 à une protéase cellulaire [49]. La nécessité du clivage de la gp120 par cette protéase pour le déroulement des étapes ultérieures n'est cependant pas démontrée. Les modifications conformationnelles de la gp120 induites par la liaison au CD4 et/ou à une protéase membranaire permettraient l'exposition de l'extrémité hydrophobe de la gp41 et ainsi l'insertion du domaine fusiogène dans la membrane de la cellule cible. La fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire serait suivie de l'entrée du virus dans la cellule. Un scénario de ces différents événements est proposé dans la *figure 4*.

## Conclusion

Bien qu'un certain nombre d'études semblent indiquer que d'autres régions de l'enveloppe virale, notamment dans le domaine V2, seraient inductrices d'anticorps neutralisants [50, 51], il apparaît clairement que les deux régions décrites précédemment induisent la très grande majorité des anticorps importants dans la neutralisation du VIH1 *in vitro* et probablement *in vivo*. Ces deux régions, V3 et site de liaison au CD4, sont essentielles dans les étapes précoces de l'infection cellulaire. Les anticorps dirigés contre ces deux régions agissant en synergie, il semble très important de pouvoir induire les deux types de réponse dans la perspective d'une vaccination visant à protéger de la primo-infection. Cependant, si ces perspectives théoriques paraissent séduisantes, un certain nombre de problèmes demeurent. Parmi ceux-ci figurent en premier lieu la capacité d'induire des anticorps anti-V3 de spectre suffisamment large et la possibilité de présenter l'épitope conformationnel de liaison au CD4 sous une forme suffisamment stable et immunogène. Par ailleurs, on sait que les anticorps dirigés contre ces deux régions apparaissent au cours de l'infection naturelle sans toutefois empêcher la progression de la maladie. Ces mêmes anticorps seraient-ils suffisamment efficaces pour protéger de la primo-infection ? Finalement, l'activité neutralisante des anticorps est essentiellement testée *in vitro* à l'aide d'isolats viraux adaptés à la culture sur lignées continues au laboratoire. Il semblerait que les anticorps capables de neutraliser ces isolats de laboratoire soient beaucoup moins performants dans la neutralisation d'isolats primaires provenant directement de patients infectés [52]. Ce phénomène, s'il devait être confirmé dans des essais d'efficacité *in vivo*, serait un obstacle majeur au développement d'un vaccin efficace ■

## Summary

### Relationship between functional domains of the HIV1 surface glycoprotein gp120 and neutralizing antibodies

Two different epitopes located within the surface glycoprotein (gp120) of HIV1 induce the vast majority of neutralizing antibodies during natural infection. The first of them is a sequential epitope present in the third variable domain (V3 loop) of gp120 whereas the second one, highly conserved, is conformational. Neutralizing antibodies to V3 are « type-specific » since they are capable of blocking *in vitro* infection of a limited number of closely related HIV1 strains. Neutralizing antibodies directed to the conformational epitope are more cross-reactive, capable of inhibiting the infection by a wider spectrum of HIV1 strains, and therefore named « group-specific ». These two domains of gp120 play major roles in the early steps of HIV1 cellular infection. The conformational epitope corresponds to the CD4 binding site and the V3 loop seems to interact with a membrane protease present at the surface of the target cells. Neutralizing antibodies would act as inhibitors of these two early molecular interactions necessary for virus entry. The two categories of antibodies act synergistically in neutralization assays *in vitro*. It appears that both epitopes must be included in any AIDS vaccine in order to induce theoretically efficient broadly neutralizing antibodies.

## TIRÉS A PART

F. Barin.