

VIROLOGIE

Chimiokines β : des outils thérapeutiques potentiels contre le VIH?

Dominique Blanc-Zouaoui
CIRBS (Paris)

Potent inhibition of HIV-1 infectivity in macrophages and lymphocytes by a novel CCR5 antagonist
Simmons G., Clapham P.R., Picard L., Offord R.E., Rosenkilde M.M., Schwartz T.W., Buser R., Wells T.N.C., Proudfoot A.E.I.
Science, 1997, 276, 276-279

Une équipe américaine a réussi à synthétiser une forme chimiquement dérivée de RANTES, la moins méconnue des chimiokines β , dotée de propriétés intéressantes. De là à en

faire une thérapeutique anti-VIH utilisable chez l'homme...

La découverte de facteurs solubles qui inhibent l'entrée du virus dans les cellules réceptrices du VIH en se fixant sur les corécepteurs du virus a conduit à tester différents leurres de ces récepteurs comme candidats thérapeutiques.

Trois ans après l'isolement du VIH, le récepteur princeps utilisé par le virus était caractérisé : il s'agissait de la molécule CD4, exprimée par les macrophages, les cellules dendritiques et un sous-groupe de cellules T (1) .

Cependant, il apparut rapidement que CD4 était nécessaire, mais non pas suffisant à l'entrée virale : par exemple, la plupart des cellules humaines (mais pas les cellules non-primates) transfectées avec le CD4 humain deviennent permissives à l'entrée du virus et à la fusion avec des cellules déjà infectées en formant des syncytia. Toutefois, il existe des exceptions qui suggèrent que d'autres molécules de surface sont nécessaires à cette étape (2) .

Une autre caractéristique du virus était surprenante : autant il était possible de cultiver et d'amplifier différents isolats dans des PBMC (cellules mononucléées du sang périphérique), autant leur maintenance dans des lignées T "transformées" nécessitait une adaptation *in vitro* qui modifiait ensuite leur tropisme, de telle manière que ces souches de laboratoire perdaient la capacité d'infecter des macrophages primaires. Cette dichotomie entre virus monocytopropes et lymphotropes existait d'ailleurs *in vivo*, assez bien corrélée avec une propriété "NSI" (virus n'induisant pas de syncytia), rencontrée essentiellement chez les virus en début d'infection, particulièrement après une contamination muqueuse, ou au contraire une aptitude "SI" (induisant des syncytia), presque immanquablement retrouvée au moment de la chute du nombre des lymphocytes T4 et de l'apparition des signes cliniques caractéristiques du sida. Cela suggérait que des molécules responsables du tropisme viral étaient différenciellement exprimées à la surface des monocytes-macrophages et des cellules T, et également que des mutations, au minimum présentes dans l'enveloppe virale, modifiaient la "préférence" virale pour l'un ou l'autre type cellulaire. En analysant différents variants du virus (quasi-espèces), il a été possible de cartographier les régions du virus

responsables des différences au niveau de la pénétration cellulaire, différences qui se situent dans les boucles de la gp120, la glycoprotéine externe d'enveloppe du virus, notamment à l'intérieur de la boucle V3.

Par ailleurs, il était quelquefois difficile, voire impossible d'isoler certains virus de patients à partir de leurs PBMC totaux, alors que cela devenait faisable si l'on enlevait du prélèvement sanguin les cellules CD8+. Il fut ensuite prouvé que cette inhibition était due à un "facteur" soluble, sécrété par les lymphocytes CD8+ (3). En réalité, l'identification de ce facteur montrait qu'il était constitué d'au moins plusieurs membres d'une famille de petites molécules, les chimiokines β , et que trois d'entre elles, RANTES, MIP-1 α et MIP-1 β , étaient essentiellement responsables, quoique non exclusivement, de la suppression induite par les cellules T CD8+ (4). Ces trois chimiokines sont capables de se fixer à des récepteurs à 7 domaines transmembranaires, couplés à des protéines G, susceptibles de médier un signal de transduction et exprimés entre autres à la surface des macrophages et des lymphocytes T. Elles sont capables d'utiliser plusieurs récepteurs, mais toutes les trois utilisent au moins CCR5. Ces chimiokines sont physiologiquement de puissants médiateurs, à effets chimiotactiques et pro-inflammatoires.

Peu après, l'équipe d'E. Berger isolait une protéine, "la fusine", renommée depuis CXCR4, responsable de la fusion entre des cellules infectées par une souche de VIH de laboratoire (LAI), (mais pas par un isolat primaire) et des cellules de souris exprimant à la fois le CD4 humain et la fusine (5). Cette fusine appartient à la même famille que les récepteurs des chimiokines, et bien que son ligand, caractérisé peu après (6), soit une chimiokine α , la question immédiate fut de déterminer si CCR5 (récepteur pour des chimiokines β) pouvait être le cofacteur manquant, capable de médier l'entrée des virus primaires sur les cellules CD4+. Plusieurs groupes démontrèrent qu'il en était bien ainsi. Par ailleurs, des isolats primaires variés du VIH avaient la capacité, dans de nombreux cas, d'utiliser CCR5, mais aussi d'autres membres de cette famille de récepteurs comme CCR2b et CCR3 (7). Il est à noter que RANTES est la seule chimiokine β pouvant se fixer à CCR5, CCR2b et CCR3, en faisant un outil de choix dans l'étude de l'inhibition de l'entrée virale.

Une étude chez des personnes exposées régulièrement au virus mais non infectées, a permis de mettre en évidence dans certains cas une délétion dans le gène codant pour CCR5, mutation qui peut être homozygote (1% des caucasiens de la population générale) sans entraîner de phénotype particulier (8) (lire aussi Transcriptase n°54).

A ce stade, un grand nombre des énigmes concernant l'entrée du VIH dans les cellules étaient ainsi résolues : lors de la plupart des contaminations par voie muqueuse, ce sont des isolats monocytopropes qui sont transmis et qui utilisent CCR5 sur les macrophages et les cellules T pour rentrer dans les cellules. Pendant la phase asymptomatique, le virus mute, notamment dans l'enveloppe, jusqu'à l'émergence de nouvelles quasi-espèces capables d'infecter essentiellement les cellules T en utilisant CXCR4. Il existe une corrélation forte entre la protection vis-à-vis de l'infection par des souches monocytopropes du VIH et un défaut d'expression génétique de CCR5. De plus, certains individus exposés régulièrement au virus mais non infectés ont la capacité de sécréter de grandes quantités de chimiokines β , probablement en réponse aux antigènes viraux.

La question soulevée est alors de savoir s'il est possible de protéger de l'infection par l'utilisation de chimiokines, d'abord *in vitro*, puis potentiellement *in vivo*. Plusieurs études tendent à montrer que bien que les chimiokines inhibent l'infection de la plupart des isolats primaires de type "NSI" dans les PBL, elles sont au mieux inefficaces, voire facilitantes, sur l'entrée du virus dans les macrophages. Par ailleurs, compte tenu de leurs propriétés pro-inflammatoires, il n'est pas concevable qu'elles puissent être utilisées à l'état natif *in vivo*. Il faut donc décortiquer les différentes propriétés inhérentes aux chimiokines, et établir un rapport structure-fonction permettant d'édifier une structure nouvelle qui ne conservera que la fonction d'inhibition de l'entrée virale. Il faut par ailleurs renforcer cette action pour prévenir à la fois l'infection des cellules T et des macrophages. De plus, pour rivaliser avec un maximum de récepteurs utilisables par le virus, il convient de se focaliser sur RANTES, qui a le spectre de fixation le plus large. Prenant en compte toutes ces considérations, on assiste donc à la mise au point d'antagonistes de RANTES, testés ensuite pour leur capacité à inhiber l'entrée de virus monocytopropes dans les cellules T

et les macrophages.

L'article publié par G. Simmons et coll. dans *Science* présente un tel antagoniste : il s'agit d'une forme chimiquement modifiée de RANTES à son extrémité NH₂-terminale, appelée AOP-RANTES, et dotée des propriétés suivantes :

— AOP-RANTES n'induit pas le chimiotactisme des monocytes primaires, et peut inhiber l'action de MIP-1 β qui est spécifique de CCR5;

— AOP-RANTES déplace MIP-1 α , à des concentrations où RANTES n'a aucun effet, et ce grâce à une courbe d'affinité bien meilleure que RANTES et un antagoniste;

— De plus, il est capable d'inhiber non seulement l'infection de PBL par des isolats primaires dépendants de CCR5, mais encore celle de macrophages primaires, ce qui lui donne une supériorité indiscutable, compte tenu de l'importance des macrophages comme cellules cibles du VIH *in vivo*.

L'hypothèse la plus probable est que sa forte affinité pour CCR5 permet à AOP-RANTES une occupation maximale des récepteurs, d'où son fort pouvoir inhibiteur;

— en revanche, en aucun cas cette molécule n'a la possibilité d'inhiber des isolats CXCR4 dépendants de type "SI", et elle n'a pas été testée sur des isolats qui utiliseraient exclusivement d'autres corécepteurs comme CCR3 par exemple.

Ces résultats montrent qu'il est possible de modifier le ligand physiologique des corécepteurs du VIH afin d'obtenir des dérivés plus affins, plus efficaces, et *a priori* parés d'une innocuité physiologique *in vitro*. La molécule AOP-RANTES est la plus satisfaisante décrite à ce jour. Cependant, bien des questions restent ouvertes avant d'envisager l'utilisation de tels produits *in vivo*..

Quel type de réflexion devons-nous mener avant d'envisager une potentielle utilisation thérapeutique ?

- En dehors des essais toxicologiques et de tolérance à un

produit de ce type, quelles seraient les indications thérapeutiques des dérivés des chimiokines ?

- La compétition avec les ligands physiologiques ne risque-t-elle pas de perturber les autres réponses inflammatoires, et cela est-il acceptable chez ces patients?

- Une fois encore, la polythérapie antirétrovirale devrait écraser la charge virale, car en plus de toutes les raisons déjà connues, un autre type d'échappement viral pourrait se manifester sous chimiokines, à savoir l'émergence rapide de phénotype "SI" utilisant CXCR4 et donc résistant aux dérivés de RANTES, ou utilisant d'autres corécepteurs de chimiokines β , déjà connus ou pas (soulignons que ces familles de récepteurs s'enrichissent sans cesse de nouveaux membres, dont certains utilisables par le VIH). Un des problèmes est de savoir si, parmi les quasi-espèces présentes chez un patient donné, la thérapie ne risque pas de sélectionner de tels isolats s'ils préexistent à l'introduction du dérivé chimiokine, ou de permettre leur apparition si la thérapie est mal conduite.

- Des problèmes pharmacologiques (bio-disponibilité) devraient également être considérés : en effet, il s'agit à ce stade de polypeptides qui posent de multiples problèmes de tolérance, de stabilité et de délivrance à des taux efficaces. Il serait souhaitable que des études soient menées pour élaborer des formes non peptidiques des chimiokines et de faible poids moléculaire, pouvant diffuser également au niveau du système nerveux central.

Compte tenu des expériences thérapeutiques antérieures, notamment l'utilisation de CD4 soluble —totalement inefficace— ou de cytokines qui ont pu désorganiser encore davantage le système immunitaire des patients, la prudence s'impose. Néanmoins, les remarquables progrès accomplis au niveau fondamental permettrons peut-être d'élaborer de nouvelles drogues, comme cela a été le cas pour les anti-réverse transcriptases et les antiprotéases. — Dominique Blanc-Zouaoui

1 — Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS et al.

"T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in

the immune system and the brain"

Cell, 1986, 47, 333-48

2 — Chesebro B, Buller R, Portis J, Wehrly K

"Failure of HIV entry and infection in CD4-positive human brain and skin cells"

J Virol, 1990, 64, 215-21

3 — Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA

"CD8+ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication"

Science, 1986, 234, 1563-6

4 — Cocchi F, DeVico AL, Garzino Demo A et al.

"Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells"

Science, 1995, 270, 1811-5

5 — Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA

"HIV-1 entry cofactor - functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor"

Science, 1996, 272, 872-877

6 — Bleul CC, Farzan M, Choe H et al.

"The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for lestr/fusin and blocks HIV-1 entry"

Nature, 1996, 382, 829-833

7 — Choe H, Farzan M, Sun Y et al.

"The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates"

Cell, 1996, 85, 1135-1148

Deng HK, Liu R, Ellmeier W et al.

"Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1"

Nature, 1996, 381, 661-666

Doranz BJ, Rucker J, Yi YJ et al.

"A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b As Fusion cofactors"

Cell, 1996, 85, 1149-1158

Dragic T, Litwin V, Allaway GP et al.

"HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5"

Nature, 1996, 381, 667-673

8 — Liu R, Paxton WA, Choe S et al.

"Homozygous Defect In HIV-1 Coreceptor Accounts For Resistance Of Some Multiply-Exposed Individuals to HIV-1 Infection"

Cell, 1996, 86, 367-377

Samson M, Libert F, Doranz BJ et al.

"Resistance to HIV-1 Infection In Caucasian Individuals Bearing Mutant Alleles Of the CCR-5 Chemokine Receptor Gene"

Nature, 1996, 382, 722-725