

Mieux comprendre les premières phases de l'infection

Depuis quinze ans, les scientifiques étudient en détails des phénomènes restés longtemps mystérieux : les mécanismes moléculaires et cellulaires survenant lors des premières semaines, voire des premières heures, de l'infection. Cruciales, ces recherches promettent de renforcer l'arsenal thérapeutique contre le VIH d'une façon inédite.

Pour mieux saisir l'enjeu de ces découvertes pour la recherche vaccinale et thérapeutique, rappel – schématique – de ce que l'on sait sur le cycle infectieux du VIH : une fois entré dans l'organisme, le virus se fixe aux cellules immunitaires (lymphocytes, macrophages, etc.), qui sont ses cibles. Puis, il libère son matériel génétique dans la cellule. Grâce à ce matériel, il commande la fabrication de nouveaux virus, lesquels, libérés dans le sang, infecteront d'autres cellules immunitaires. Dans quelques rares cellules immunitaires (deux pour un million), qu'on appelle « réservoirs », le VIH s'installe mais ne se multiplie pas. Ainsi, pour réussir à contrôler le VIH – voire à l'éliminer –, le mieux serait d'intervenir avant même qu'il ne s'immisce dans les cellules immunitaires. « *Plus on pourra agir tôt et plus on aura de chances d'éviter la multiplication du virus et la difficulté de le traquer dans les réservoirs, une mission quasi impossible aujourd'hui* », souligne Françoise Bachelerie, chercheuse Inserm à Clamart. Pour pouvoir intervenir vite, il est indispensable de mieux comprendre les événements moléculaires et cellulaires survenant lors des premières semaines de l'infection. Une tâche à laquelle se sont attelées plusieurs équipes en France et dans le monde.

Muqueuses génitales. À l'institut Cochin (Paris), l'immunologiste et directrice de recherche Morgane Bomsel et son équipe « *Entrée muqueuse du VIH et immunité muqueuse* » tentent de mieux appréhender la toute première étape de l'infection : l'entrée du virus dans le corps par transmission sexuelle, à travers les muqueuses génitales et au niveau de l'anus-rectum. « *Une thématique à laquelle encore peu de chercheurs s'intéressent, alors que le VIH est transmis à plus de 85 % lors de rapports sexuels* », fait-elle remarquer. L'intérêt est majeur : pouvoir développer un vaccin d'un nouveau genre, capable d'induire une production d'anticorps non seulement dans le sang – comme avec un vaccin « classique » –, mais aussi au niveau des muqueuses génitales. « *Un tel traitement permettrait de prévenir l'infection par voie muqueuse, d'éviter la*

multiplication du virus et sa dissémination sanguine », précise la chercheuse. Grâce à leurs travaux menés sur des cellules isolées, des morceaux de muqueuses humaines ou des modèles de muqueuses construits à partir de cellules cultivées en laboratoire, tous mis en contact avec le VIH, les chercheurs ont montré qu'il existe deux importants mécanismes d'entrée du virus. L'un est propre aux muqueuses formées d'une seule couche de cellules (ou « *monostratifiées* »), à savoir l'endocol (partie interne du col de l'utérus), l'endomètre (couche de cellules recouvrant l'intérieur de l'utérus) et le rectum. Le virus passe à travers les cellules recouvrant la muqueuse, les « *cellules épithéliales* », sans les infecter, jusqu'à se retrouver de l'autre côté de la muqueuse. À ce moment-là, il est libéré et rencontre des cellules dites « *dendritiques* » qui le capturent et migrent *via* la voie sanguine vers les ganglions. Ce qui provoque sa dissémination.

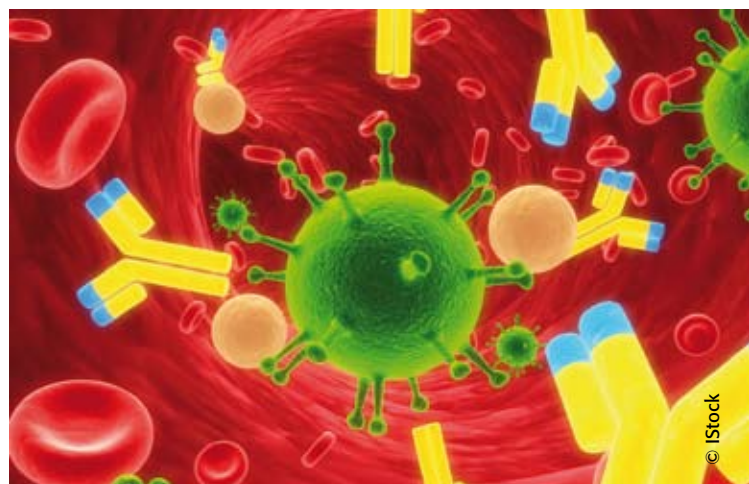
Un peu différent, le second mécanisme est spécifique des muqueuses formées de plusieurs couches (ou « *pluristratifiées* ») : celle du vagin, de l'anus, du prépuce et du méat du gland. Dans ce cas, les chercheurs ont montré que le virus est probablement capté par des cellules particulières, les « *cellules de Langerhans* ». C'est à l'intérieur de ces cellules, qui peuvent traverser les multicouches épithéliales, que le virus passe de l'autre côté et rejoint la circulation sanguine. Ces cellules ne sont pas forcément infectées, mais, activées, elles migreront aussi vers les ganglions. Et elles rencontreront les cellules CD4, qu'elles infecteront aussi.

Cas du prépuce. Concernant plus spécifiquement le prépuce, Morgane Bomsel et son équipe ont montré que l'entrée du virus se fait au niveau de la partie interne du prépuce. Crucial, ce résultat a permis de mieux comprendre pourquoi le risque d'infection est réduit de 60 % avec la circoncision. « *Cette pratique permettrait de réduire considérablement la surface perméable au virus* », explique Morgane Bomsel. Plus récemment, ils se sont intéressés à la muqueuse de l'urètre et ont découvert que l'urètre est également

une porte d'entrée du VIH. « Cette nouvelle donnée suggère que l'urètre peut être le site d'infection en cas de contamination chez les hommes circoncis », précise Morgane Bomsel. Autre résultat remarquable : ces travaux ont montré qu'une zone de l'urètre moyen, située à 2-3 cm du gland, est particulièrement sensible à l'infection. L'épaisseur plus faible de la muqueuse de l'urètre moyen favoriserait le passage du VIH vers les cellules macrophages. Enfin, il semble que le virus infecte les macrophages de l'urètre lorsqu'il est transmis par le biais de cellules infectées présentes dans le sperme et le liquide séminal. « Une découverte dont il faudra tenir compte dans le développement des stratégies antivirales », souligne Morgane Bomsel.

Petit bémol cependant, comme le souligne la chercheuse : « Les travaux menés jusque-là ont été réalisés avec des virus isolés, des cellules infectées mises dans un milieu de culture et des morceaux de muqueuse... Or, dans la vraie vie, l'infection se fait en présence des fluides génitaux. Et à ce jour, peu de choses sont connues concernant le rôle de ces fluides sur les muqueuses génitales et donc sur la transmission du virus... »

Muqueuse de l'intestin. D'autres équipes étudient les mécanismes mis en jeu au niveau d'une muqueuse également impliquée lors des premières étapes de l'infection : la muqueuse de l'intestin. Comme l'ont montré plusieurs travaux publiés ces dix dernières années, les lymphocytes CD4 au niveau de cette muqueuse intestinale sont massivement et rapidement éliminés au début de l'infection par le VIH. Cette « déplétion en CD4 » est lourde de conséquences : elle provoque une inflammation chronique et une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale aux bactéries présentes naturellement dans l'intestin, d'où une « translocation » de ces microbes de l'intestin vers le sang. Au niveau intestinal, cette inflammation chronique entraîne le recrutement permanent de CD4 au niveau de la circulation sanguine. Activés, ils sont alors infectés par le VIH ; ce qui contribue à la progression de l'infection. De plus, cette inflammation induit à long terme un épuisement des lymphocytes et participe ainsi à l'affaiblissement des défenses immunitaires... « La découverte de la déplétion en CD4 débouchant sur une translocation bactérienne et une inflammation chronique est un argument fort en faveur d'un traitement des patients infectés par le VIH dès la primo-infection, afin d'atténuer, voire d'éviter, les réactions entraînant l'effondrement des défenses immunitaires », souligne la Pr Jacqueline Capeau, de l'université Pierre-et-Marie-Curie (Paris). Pour essayer d'atténuer la réaction inflammatoire chronique, une piste prometteuse vise à développer des médicaments anti-inflammatoires efficaces. Un premier



résultat important a été donné en février dernier grâce à des travaux de l'équipe américaine d'Anuradha Ganesan, du Programme de recherche clinique sur les maladies infectieuses. Selon cette étude, l'administration pendant huit semaines de l'atorvastatine, une molécule de la famille des statines, utilisées traditionnellement pour diminuer le taux de cholestérol, inhibe l'inflammation chez des personnes infectées par le VIH.

Une autre piste a pour objectif de développer des traitements non médicamenteux, à base de « prébiotiques » (aliments agissant sur la flore intestinale pour y augmenter le taux de « bonnes » bactéries anti-inflammatoires au dépend des bactéries libérant des substances induisant l'inflammation) ou à base de « probiotiques » (« bonnes » bactéries susceptibles de prendre la place des « mauvaises »).

L'entrée dans la cellule. Parallèlement aux travaux concernant les muqueuses, il existe un tout autre faisceau de recherches axées sur un stade plus avancé : quand le virus a franchi les membranes de protection naturelle du corps et tente de pénétrer dans les cellules. Ainsi l'équipe de Françoise Bachelier étudie deux protéines très importantes, présentes à la surface des cellules du patient et qui représentent une clé incontournable pour l'entrée du virus dans la cellule : les corécepteurs CCR5 et CXCR4. La fonction habituelle de ces molécules est de reconnaître des substances solubles connues sous le nom de « chimiokines » (substances qui induisent la migration orientée des cellules), impliquées dans divers processus biologiques vitaux, comme la formation d'organes au cours du développement embryonnaire, la prolifération ou la mort programmée des cellules. Dans le cas du VIH, les corécepteurs CCR5 et CXCR4 sont indispensables à la fixation du virus sur les cellules. « En savoir plus sur ces deux protéines membranaires ■■■

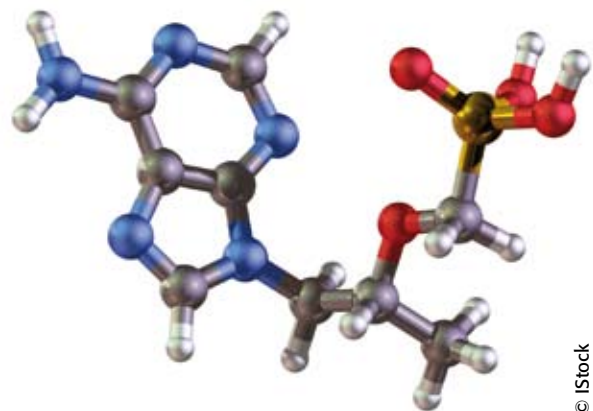
■■■ *permettrait de développer des molécules de synthèse sans effets secondaires significatifs, capables de se lier à ces corécepteurs et de bloquer, ainsi, la fixation du virus aux cellules du patient*», précise Françoise Bachelier. En septembre 2010, une première étude, publiée par l'équipe américaine de Beili Wu, a révélé la structure tridimensionnelle de CXCR4, grâce à une technique spéciale dite de « cristallisation de protéines ». Ces travaux fournissent des hypothèses testables concernant les mécanismes d'interaction de CXCR4 avec sa chimiokine naturelle ainsi qu'avec les protéines d'enveloppe du virus.

Désormais, les chercheurs tentent de « déterminer quel est l'état moléculaire et fonctionnel de CXCR4 le plus adapté pour fixer la protéine d'enveloppe du VIH, quels sont les événements moléculaires qui conduisent à cet état et comment les interactions s'effectuent avec la protéine d'enveloppe du virus », indique Françoise Bachelier. Relever ce défi permettrait d'identifier de nouvelles molécules ciblant et neutralisant spécifiquement certains états fonctionnels du récepteur pour lesquels l'enveloppe du VIH a une plus grande affinité. À l'Institut Pasteur (Paris), l'équipe du virologue Fernando Arenzana-Seisdedos travaille aussi sur les corécepteurs CCR5 et CXCR4. Ils essaient de répondre à deux autres questions essentielles : « Pourquoi au début de l'infection le VIH utilise uniquement le corécepteur CCR5 (on parle de "virus à tropisme CCR5"), alors que chez 40 % à 50 % des personnes émergeront ensuite des souches de VIH utilisant le CXCR4 ? Et quels sont les mécanismes sous-tendant la prépondérance des virus à tropisme CCR5 par rapport aux virus à tropisme CXCR4 ? », détaille Fernando Arenzana-Seisdedos.

Mécanisme de régulation. Toujours à l'Institut Pasteur et dans le même département, des chercheurs tentent d'élucider une question capitale concernant les toutes premières phases de l'infection : pourquoi chez l'homme, sauf rares exceptions, l'infection évolue-t-elle vers le stade sida... alors que certains êtres vivants arrivent à la contrôler très tôt ? Mieux comprendre les mécanismes immunitaires conférant cette protection pourrait déboucher sur la mise au point de stratégies thérapeutiques empêchant la survenue du sida chez les personnes infectées. Béatrice Jacquelin et ses collègues, dans l'équipe de Michaela Müller-Trutwin, travaillent sur le singe vert d'Afrique qui contrôle naturellement la maladie quand il est contaminé par un virus de l'immunodéficience simienne (SIV, à l'origine du VIH). Chez l'homme, le VIH provoque une activation exacerbée du système immunitaire, conduisant à son inflammation chronique, en grande partie responsable de la maladie. Malgré la présence d'importantes quanti-

tés de virus dans le sang, cette inflammation chronique n'est pas observée chez le singe vert. « Ce n'est pas que le singe vert ne détecte pas le virus », précise Béatrice Jacquelin. *Dans les premières phases de l'infection, il y a une activation du système immunitaire, mais elle est rapidement et activement contrôlée, contrairement à ce que l'on observe chez l'homme. Nous pensons que des facteurs précoces de l'immunité sont impliqués dans ces mécanismes de régulation.* » Reste à identifier ces facteurs... « L'étude des interactions entre le virus et l'hôte chez ce modèle animal, distinctes de celles mises en jeu lors de l'infection par le VIH chez l'homme, devrait contribuer à identifier les mécanismes à l'origine de l'inflammation chronique chez ce dernier », termine la chercheuse.

Les contrôleurs élités. Pour identifier ces mécanismes, des équipes travaillent directement sur les rares humains capables de contrôler le VIH : « les contrôleurs élités », qui représentent moins de 1 % des personnes infectées. Leur organisme parvient spontanément et durablement à contrôler la réplication virale, maintenant le virus indétectable ou presque dans le plasma (jusqu'à moins de 50 copies d'ARN viral/ml de sang alors que les autres personnes infectées ont en l'absence de traitements de 10 000 à 50 000 copies/ml, parfois des millions). « À ce jour, nous pensons qu'il existe chez ces contrôleurs des mécanismes de contrôle qui se mettent en place très tôt, dans les deux-trois premières semaines après l'infection », explique Olivier Lambotte, du service de médecine interne et maladies infectieuses à l'hôpital Bicêtre (le Kremlin-Bicêtre). *Et ces processus sont sûrement des mécanismes de réponse immunitaire innée [NDLR : réponse non spécifique, présente dès la naissance, qui agit en ne tenant pas compte de la nature du micro-organisme qu'elle combat].* » Mais ces mécanismes sont encore difficiles à étudier. Et



© iStock

pour cause : « *Mis à contribution au début de la primo-infection, ils sont au repos chez les patients identifiés comme contrôleurs bien plus tard. Et personne à ce jour n'a pu faire de prélèvement sanguin chez des contrôleurs en primo-infection* », indique Olivier Lambotte.

Une autre question préoccupe les chercheurs : chez ces contrôleurs du VIH, quels mécanismes limitent l'établissement des réservoirs (l'obstacle majeur pour éradiquer le virus de l'organisme)? « *Afin d'élucider ces mécanismes, nous avons notamment besoin d'identifier des molécules présentes spécifiquement sur les cellules T réservoirs, appelées « marqueurs », permettant d'isoler ces cellules réservoirs pour les étudier* », explique

Monsef Benkirane, virologue à l'Institut de génétique humaine de Montpellier.

Si la recherche sur les premières étapes de l'infection par le VIH n'en est qu'à ses débuts, elle est déjà très féconde. En témoignent les nombreux essais publiés récemment qui visaient à tester des traitements novateurs imaginés à partir des récentes découvertes sur les premières étapes de la contamination (lire encadrés ci-dessous). Pas de doute, les études sur les événements survenant au tout début du cycle infectieux ont d'ores et déjà insufflé un souffle nouveau à la recherche vaccinale et thérapeutique contre le VIH.

Chez les femmes : succès et échecs

Appliquer un gel microbicide au niveau de la muqueuse vaginale afin d'éviter l'entrée du VIH dans le corps peut réduire de 54 % le risque de contamination des femmes ! C'est ce qu'a révélé en juillet 2010 l'essai Caprisa, mené en Afrique du Sud auprès de 889 femmes âgées de 18 à 40 ans et exposées à un risque élevé de contamination. Le gel utilisé contient 1 % de ténofovir, un inhibiteur de la réplication du virus dans les cellules. En revanche, un essai clinique mené auprès de 4 000 femmes hétérosexuelles en Afrique pour évaluer l'efficacité d'une prise orale quotidienne préventive d'ARV vient d'être arrêté faute de succès. « *Ces résultats préliminaires sont décevants, d'autant que cette même approche – avec la même combinaison d'ARV – a déjà montré son efficacité chez des hommes homosexuels* », souligne le Dr Kevin Fenton, des CDC. Les chercheurs effectueront ces prochains mois des analyses pour comprendre. Deux autres essais cliniques de prophylaxie préexposition sont en cours chez des femmes en Afrique. Résultats attendus en 2013.

ARV en prévention chez les HSH

Les antirétroviraux sont efficaces pour contenir la multiplication du VIH. Certains peuvent aussi réduire de 44 % le risque de contamination lorsqu'ils sont pris en préventif par des hommes séronégatifs ayant des rapports sexuels avec des hommes. C'est la conclusion de l'étude iPrEx (Pré-Exposure Prophylaxis : prophylaxie préexposition), publiée dans le *New England Journal of Medicine* en 2010. Elle a été réalisée sur 2 499 participants du Pérou, d'Équateur, du Brésil, des États-Unis, d'Afrique du Sud et de Thaïlande, répartis en deux groupes. Le premier groupe prenait chaque jour un antirétroviral (Truvada® : ténofovir + emtricitabine, deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse); le second recevait un placebo. Le traitement utilisé a été développé grâce à une meilleure connaissance d'une étape précoce de l'infection : la réplication du virus dans les cellules immunitaires.

Les résultats encourageants d'un candidat vaccin pour les femmes

Récemment, en collaboration avec la société Mymetics et avec le soutien de l'ANRS, l'équipe de Morgane Bomsel a testé avec succès un candidat vaccin contre la transmission sexuelle du VIH chez des macaques femelles. Injecté à cinq singes au niveau nasal et intramusculaire, ce produit a protégé les animaux lors d'une exposition importante au virus. Ce candidat vaccin est le fruit de quinze années de recherche sur l'entrée du virus dans l'organisme et sur l'immunité au niveau des muqueuses. Il a été

conçu pour mimer un phénomène observé dans une population de femmes naturellement immunisées contre le VIH : la production, au niveau de la muqueuse vaginale, d'anticorps dirigés contre la protéine GP41 présente à la surface du VIH. Pour développer ce produit, les chercheurs ont greffé la GP41 sur un « virosome », un virus artificiel non pathogène. « *Nos travaux chez l'animal sont très encourageants!* », s'enthousiasme Morgane Bomsel. Laquelle a d'ores et déjà lancé des essais sur des femmes.