

NOUVELLES CIBLES ET MICROBICIDES

Serge Benichou
Institut Cochin, Inserm U567,
CNRS UMR8104 (Paris)

La Conférence de Toronto s'est malheureusement caractérisée par la pauvreté des communications du « volet A » concernant l'ensemble des recherches fondamentales sur la biologie et la pathogenèse de l'infection à VIH.

Il s'agissait, à la fois d'un point de vue quantitatif mais surtout qualitatif, du volet le moins développé de la Conférence, en raison de l'absence quasi totale des équipes de recherche nord-américaines (à l'exception bien sûr des équipes canadiennes), mais également européennes (y compris françaises), leaders dans ces domaines de recherche. Dans ces conditions, il semble donc difficile d'extraire des communications affichées et orales présentées lors de la Conférence la moindre vision d'ensemble des progrès de la recherche fondamentale. Deux sessions sont cependant susceptibles de retenir l'attention : un symposium sur l'état de la recherche concernant certaines étapes du cycle de réplication virale (entrée, rétro-transcription, assemblage, bourgeonnement, et immunité innée) qui pourraient permettre la caractérisation de nouvelles cibles pour le développement de molécules thérapeutiques¹; et une session faisant le point sur les études cliniques en cours concernant le développement de formulations à activité « microbicide » destinées à la prévention de la transmission sexuelle des VIH².
Devant les difficultés évidentes rencon-

trées dans le développement de stratégies vaccinales efficaces pour prévenir l'infection par le VIH, décrites en session plénière par Françoise Barré-Sinoussi³, l'attention s'est en effet particulièrement orientée vers la nécessité d'intensifier les recherches vers d'autres méthodes de prévention, et notamment vers le développement de formulations microbicides. Ces dernières ont fait l'objet d'une insistance toute particulière dans les exposés des orateurs de plénière, en particulier Gita Ramjee⁴ et Melinda Gates⁵.

APOBEC

Lors du symposium sur les nouvelles cibles, W.C. Greene⁶ a présenté une communication dont l'objectif était de faire le point sur l'état de la recherche sur les mécanismes moléculaires d'immunité innée, notamment anti-VIH, développée à l'échelle cellulaire par les protéines de la famille APOBEC3, et notamment d'APOBEC3G et 3F. Ces protéines, possédant une activité enzymatique de type cytidine déaminase, ont fait l'objet, comme les autres facteurs de

restriction de la réplication virale, d'une masse importante de travaux au cours de ces dernières années⁷. Il s'agit de protéines constituant des inhibiteurs intracellulaires puissants de la réplication rétrovirale (VIH et VIS, mais également d'autres rétrovirus). L'activité antivirale la mieux documentée résulte de l'incorporation d'APOBEC3G dans les particules virales, qui par son activité enzymatique, va augmenter de façon létale la fréquence de mutation dans l'ADN viral résultant de la rétro-transcription de l'ARN viral. En induisant la dégradation d'APOBEC3G dans la cellule productrice, la protéine Vif du VIH-1 permet de prévenir son incorporation dans les particules virales, assurant ainsi la production de particules au pouvoir infectieux intact. W. Greene a également présenté des données plus récentes concernant un autre type d'activité antivirale de la protéine APOBEC3G, indépendante de son activité enzymatique, et qui permettrait d'expliquer la restriction des lymphocytes T CD4+ quiescents du sang périphérique et des monocytes circulant à l'infection par le VIH-1. Ce blocage de la réplication virale résulte d'une inhibition d'une étape précoce du cycle et se caractérise par un retard dans l'apparition des produits de la rétro-transcription. Il serait lié à la

LES DIFFICULTÉS RENCONTRÉES DANS LE DÉVELOPPEMENT DE STRATÉGIES VACCINALES EFFICACES ONT ÉTÉ DÉCRITES EN SESSION PLÉNIÈRE PAR FRANÇOISE BARRÉ-SINOUSSE

présence d'APOBEC3G dans un complexe de faible poids moléculaire ; l'activation des lymphocytes circulants ou la différenciation des monocytes en macrophages induirait le recrutement d'APOBEC3G dans un complexe ribonucléoprotéique de haut poids moléculaire, permettant alors l'établissement d'un cycle réplcatif productif complet. La compréhension des mécanismes moléculaires responsables des différentes activités antivirales des protéines APOBEC pourrait donc aider au développement de nouvelles stratégies antivirales.

PARTICULES VIRALES

L'équipe canadienne d'E. Cohen ⁸ a fait le point sur les connaissances concernant les étapes tardives d'assemblage et de bourgeonnement des particules virales, qui constituent également des cibles séduisantes pour le développement de nouvelles stratégies antivirales. Ces étapes se trouvent directement conditionnées par le trafic intracellulaire du précurseur viral Pr55, codée par le gène gag, qui possède la propriété de s'auto-assembler dans la cellule infectée pour former une pseudo particule virale capable de bourgeonner dans le milieu extracellulaire. Même si les mécanismes du trafic intracellulaire du précurseur

Pr55 restent encore en grande partie énigmatiques, des données concernant le ciblage de Pr55 vers des compartiments membranaires de la voie d'endocytose se sont accumulées au cours de ces dernières années. Alors que l'assemblage et le bourgeonnement du VIH s'effectuent principalement à la membrane plasmique des cellules lymphocytaires, ces étapes tardives du cycle viral semblent se réaliser au niveau de compartiments endosomaux tardifs, correspondant aux corps multivesiculaires (ou « MVB » pour « *multivesicular bodies* »), dans les cellules de type macrophage. Dans les deux types cellulaires, le passage de Pr55 par ces compartiments membranaires constituerait une étape

obligatoire dans le trafic intracellulaire du précurseur, indiquant que les MVB constitueraient une véritable plateforme de tri, d'assemblage et même de bourgeonnement des particules virales. La libération des particules dans le milieu extracellulaire se ferait ensuite par un mécanisme d'exocytose après fusion de ces compartiments avec la membrane plasmique ⁹. Les travaux récents du groupe d'E. Cohen suggèrent que certaines molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II, et notamment HLA-DR, joueraient un rôle actif dans le trafic et le routage intracellulaire de Pr55 dans les macrophages. L'expression de certaines molécules de classe II serait donc responsable de la redistribution du précurseur de la membrane plasmique vers les compartiments MVB où les particules virales vont alors s'assembler et bourgeonner massivement.

MICROBICIDES

Une communication de l'équipe américaine de J. Moore ¹⁰ était destinée à faire le point des études précliniques destinées à évaluer l'efficacité de molécules inhibitrices de l'étape d'entrée des VIH dans des formulations à visées microbicides. Il semble en effet que plusieurs

essais de phase I, ou même de phases II et III, destinés à tester des formulations de « première génération » ont été initiés au cours

de ces dernières années, sans vraiment disposer de données concernant leur efficacité dans un modèle simien d'infection. Les études ont été réalisées dans le modèle de l'infection expérimentale du macaque par voie vaginale par des virus chimériques VIS/VIH (« SHIV »). Il s'agissait donc de tester l'efficacité de molécules inhibitrices de l'entrée, ligands du corécepteur CCR5 (PSC-RANTES et CMPD-167) ou ligands de la glycoprotéine virale d'enveloppe gp120 (développés par BMS), seuls ou en combinaison avec d'autres molécules, et notamment des inhibiteurs de la transcriptase inverse, sous la forme de gels à

application vaginale. Alors que pas mal d'études sont encore actuellement en cours, les résultats présentés par J. Moore indiquent que les inhibiteurs de l'entrée sont capables, même utilisés seuls, d'induire une certaine protection, de l'ordre de 70 %, contre une épreuve infectieuse réalisée jusqu'à plus de 6 heures après l'application vaginale (20/28 animaux protégés). Cependant, le niveau de la protection est augmenté par l'association de 2 molécules antivirales (80 %, 16/20 animaux protégés), pour atteindre, sur un faible nombre d'animaux actuellement testé, 100 % (3/3 animaux protégés) par l'association de 3 molécules ; cette protection semble se manifester contre différentes souches virales.

La session orale consacrée aux microbicides approfondissait les connaissances disponibles.

Après une introduction générale réalisée par Robin Shattock ¹¹ destinée à définir les critères et les conditions d'utilisation de formulations à activités microbicides, puis à présenter rapidement les différents études précliniques (dans le modèle simien) et cliniques (de phases I, IIb et III) actuellement en cours de développement, Joseph Romano ¹² a rapporté les résultats d'une étude clinique de phase I réalisée dans le cadre du Consortium international (« International Partnership for Microbicides ») dont les objectifs sont de promouvoir les recherches et le développement de formulations à usage microbicide.

TMC120 DÉLIVRÉ PAR ANNEAU VAGINAL

Le dispositif évalué dans cet essai est constitué d'un anneau à application vaginale capable de délivrer un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse, le TMC120 (ou dapivirine). Des concentrations efficaces de TMC120 ont pu être détectées dès 4 heures après l'application, et se sont maintenues pendant toute la durée de l'essai (7 jours). A l'exception de quelques désagréments locaux relevés chez une femme du groupe placebo (3 femmes disposant d'un anneau vaginal ne délivrant aucune sub-

LES MICROBICIDES FONT L'OBJET D'UNE ATTENTION TOUTE PARTICULIÈRE

stance active), les auteurs indiquent qu'aucun effet indésirable notable n'a été détecté chez les 7 femmes dont le dispositif vaginal délivrait le TMC120. L'orateur suivant, Osmond D'Cruz ¹³, a présenté les résultats des études réalisées chez l'animal, dans le modèle de l'infection vaginale de souris immunodéficientes SCID reconstituées par des lymphocytes circulants humains, concernant l'activité microbicide de dérivés thiourée inhibiteurs de la transcriptase inverse, appliqués sous la forme de micro-émulsions.

TRAPPIN-2

Enfin, le dernier orateur, Shehzad Iqbal ¹⁴, a présenté des données concernant la caractérisation d'un polypeptide, la Trappin-2 ou Elafin, à activité anti-VIH, naturellement retrouvé à des concentrations élevées dans les sécrétions vaginales de femmes exposées résistantes à l'infection. Ce polypeptide naturel appartient à la même famille que le SLPI (« *secretory leukocyte protease inhibitor* »), peptide également sécrété par les cellules épithéliales dans les liquides muqueux et connu depuis plusieurs années pour son activité antivirale. La Trappin-2 et le SLPI pourraient donc constituer des molécules à inclure éventuellement dans les formulations de 2^e ou 3^e génération constituées par l'association de plusieurs molécules anti-VIH capables de cibler spécifiquement différentes étapes du cycle de réplication virale.

1 - Symposium « Novel Targets for Drug Development », MOSY08

2 - Session orale « Microbicide Development », WEAA05

3 - Barré-Sinoussi F., « Dynamics of HIV/AIDS vaccine research: From dream and nightmare to reality and hope », TUPL03

4 - Ramjee G., « Microbicides and other prevention technologies », TUPL02

5 - Gates M., Special session « Women at the Frontline in the AIDS Response », MOSS01

6 - Greene W.C., « Cell-virus interactions as targets for drug development: The Vif-APOBEC3G Axis », MOSY0801

7 - pour revue, voir Chiu Y-L, Greene WC., « Multifaceted antiviral actions of APOBEC3 cytidine deaminases », Trends Immunol, 2006, 27, 291-297

8 - Cohen E.A., « HIV Assembly in the endocytic pathway: Opportunities for the identification of novel anti-HIV drug targets », MOSY0802

9 - pour revue, voir Demirov D.G., Freed E.O., « Retrovirus budding », Virus Res, 2004, 106(2), 87-102

10 - Moore J.P., « Entry inhibition as models for microbicide development », MOSY0803

11 - Shattock R., « Invited Presentation: Overview of Microbicide Development », WEAA0501

12 - Romano J. et al., « Characterization of in vitro release and in vivo delivery of TMC120 with an intravaginal ring: implications for microbicide delivery », WEAA0503

13 - D'Cruz O. et al., « Contraceptive and non-contraceptive Thiourea non-nucleoside inhibitor-based anti-HIV microbicides », WEAA0502

14 - Iqbal S. et al., « Trappin-2: discovery of a novel inhibitor of HIV highly elevated in HIV-resistant sex workers », WEAA0504