

*Journées de la Société Tunisienne de Pathologie Infectieuse
Tunis, 18-19 avril 2013*

Les Réservoirs VIH : Actualités Mécanismes de contrôle de l'infection

Pr Christine ROUZIUX

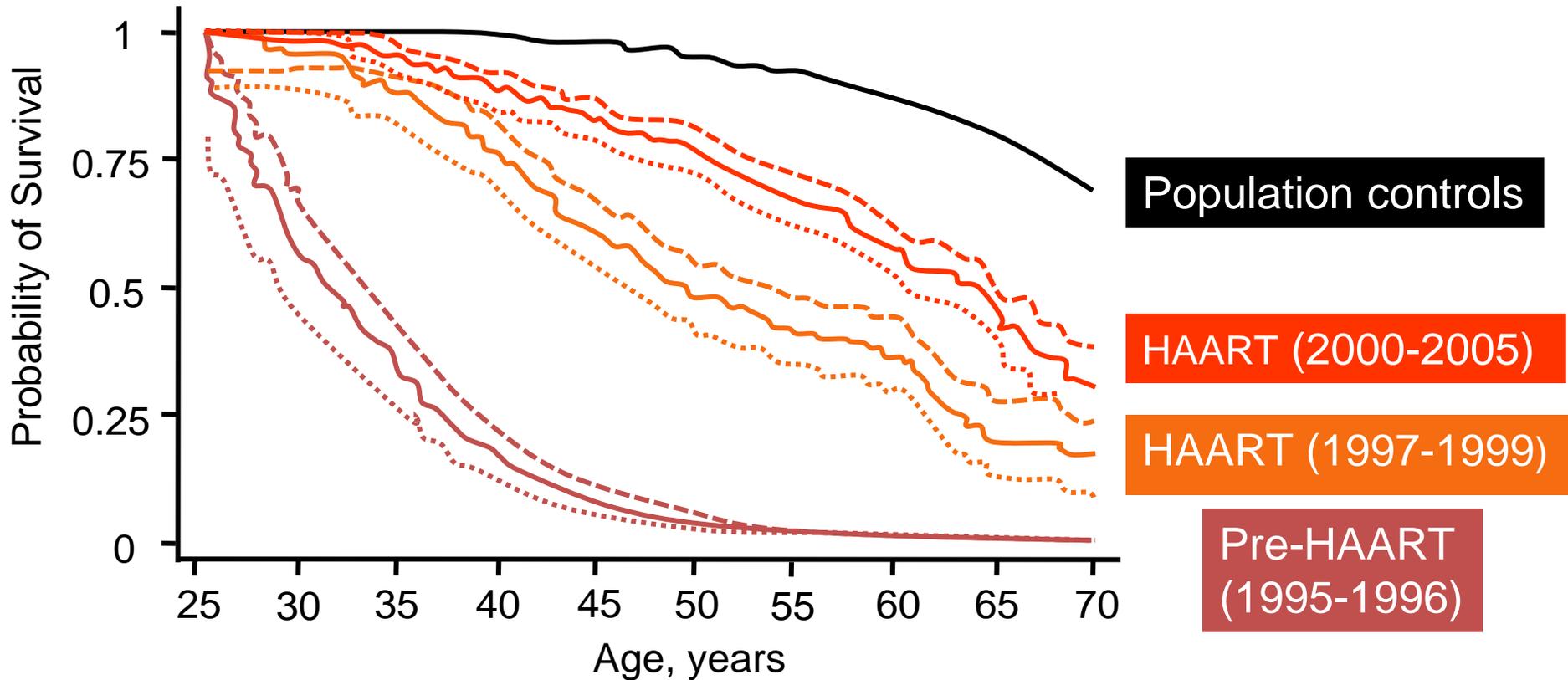
Laboratoire de Virologie CHU Necker

EA 3620 Université Paris Descartes

Objectif

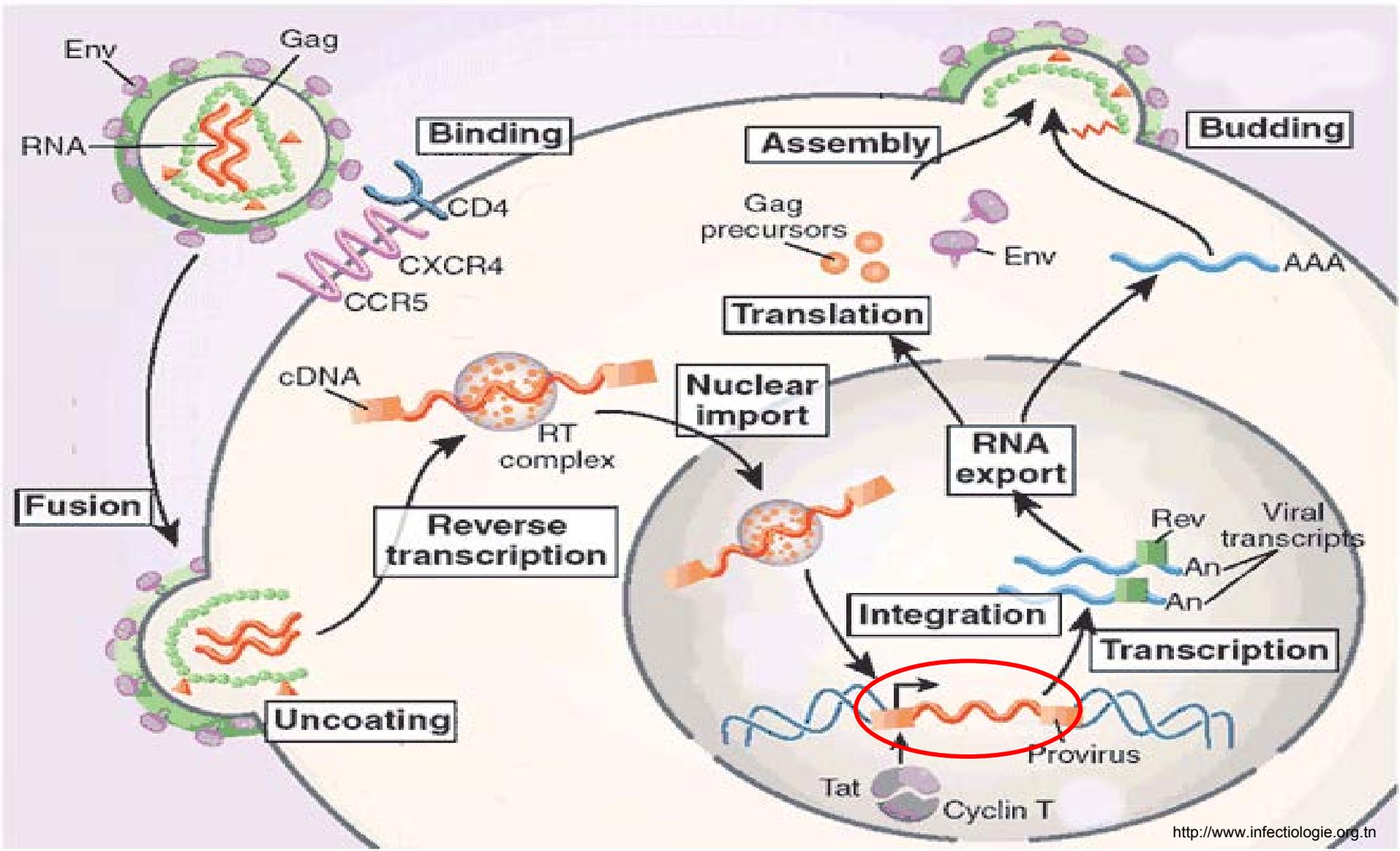
- Aborder la physiopathologie de l'infection à VIH en intégrant la notion de réservoirs.
- Montrer l'apport de l'étude des réservoirs:
en histoire naturelle
sous traitement antirétroviral
- Aborder la question du contrôle des réservoirs et de ses mécanismes
- L'enjeu des recherches sur les réservoirs VIH est la question de l'éradication virale et de la rémission:
L'éradication sera t'elle possible un jour?
Avec quel type de médicaments?

Limite des antirétroviraux

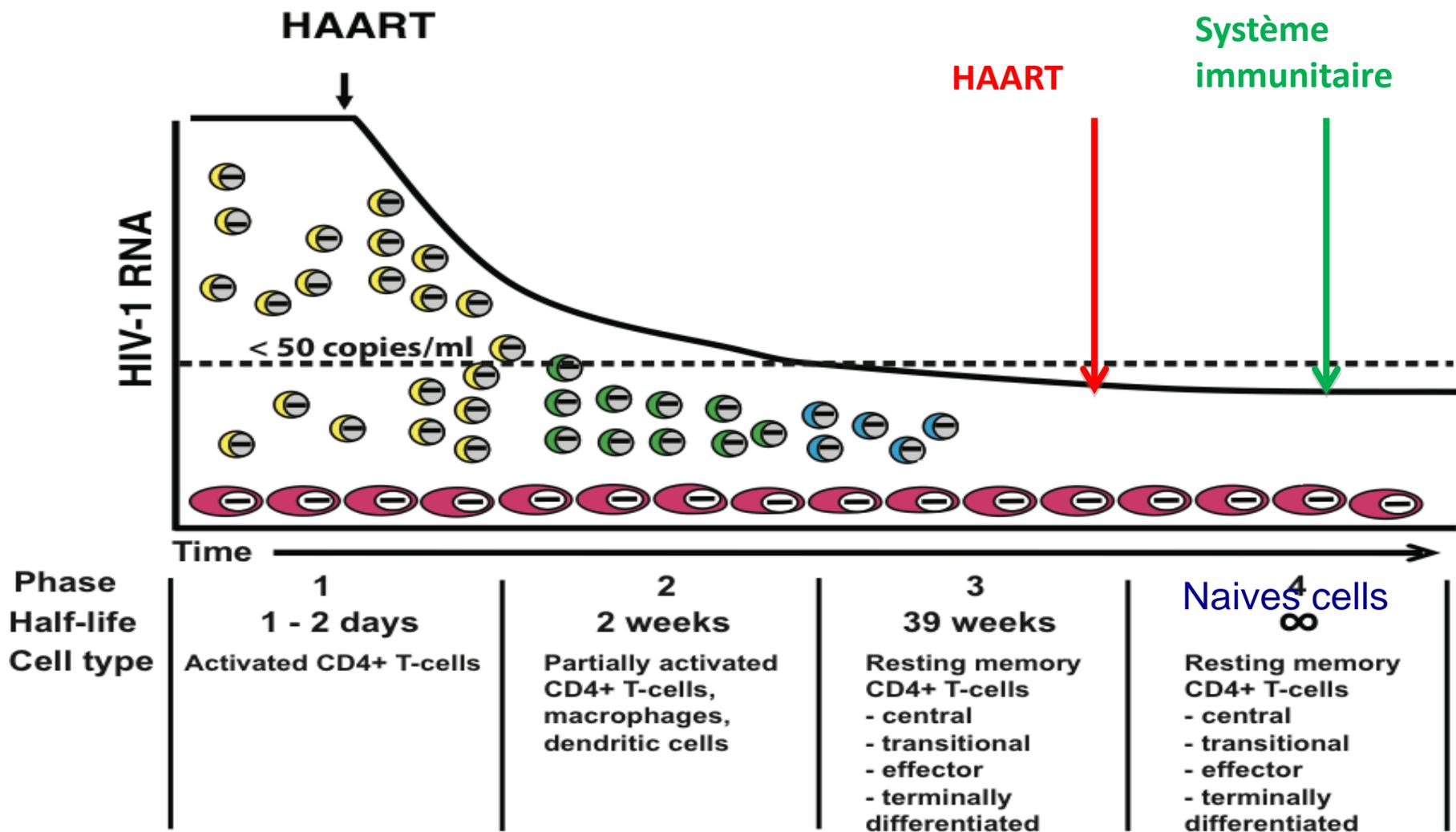


Danish HIV Cohort study n=3990; HIV neg controls n=379,872

Les formes virales latentes sont inaccessibles aux ARV

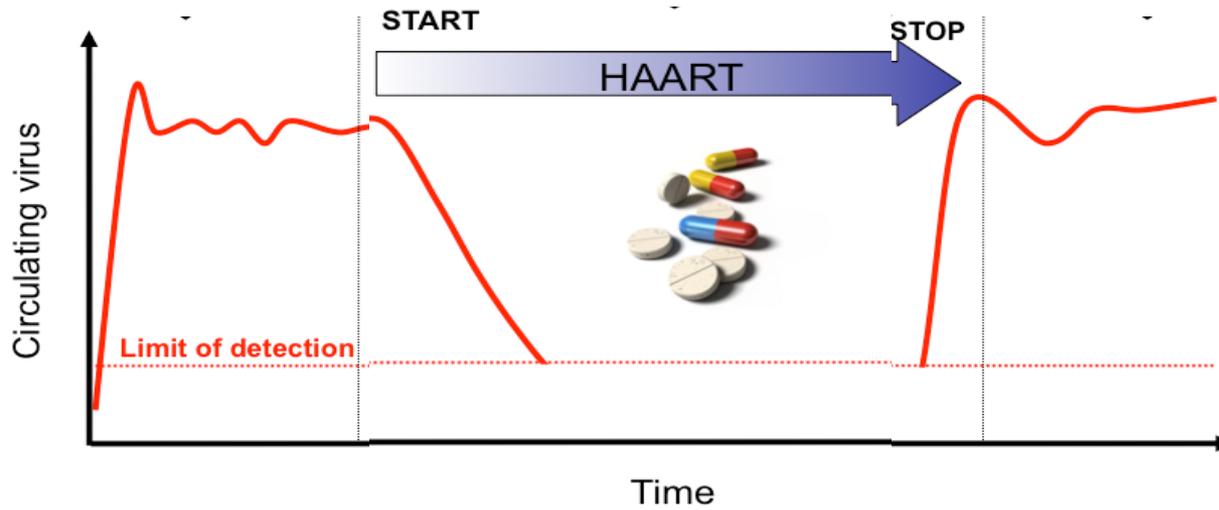


Impact des HAART



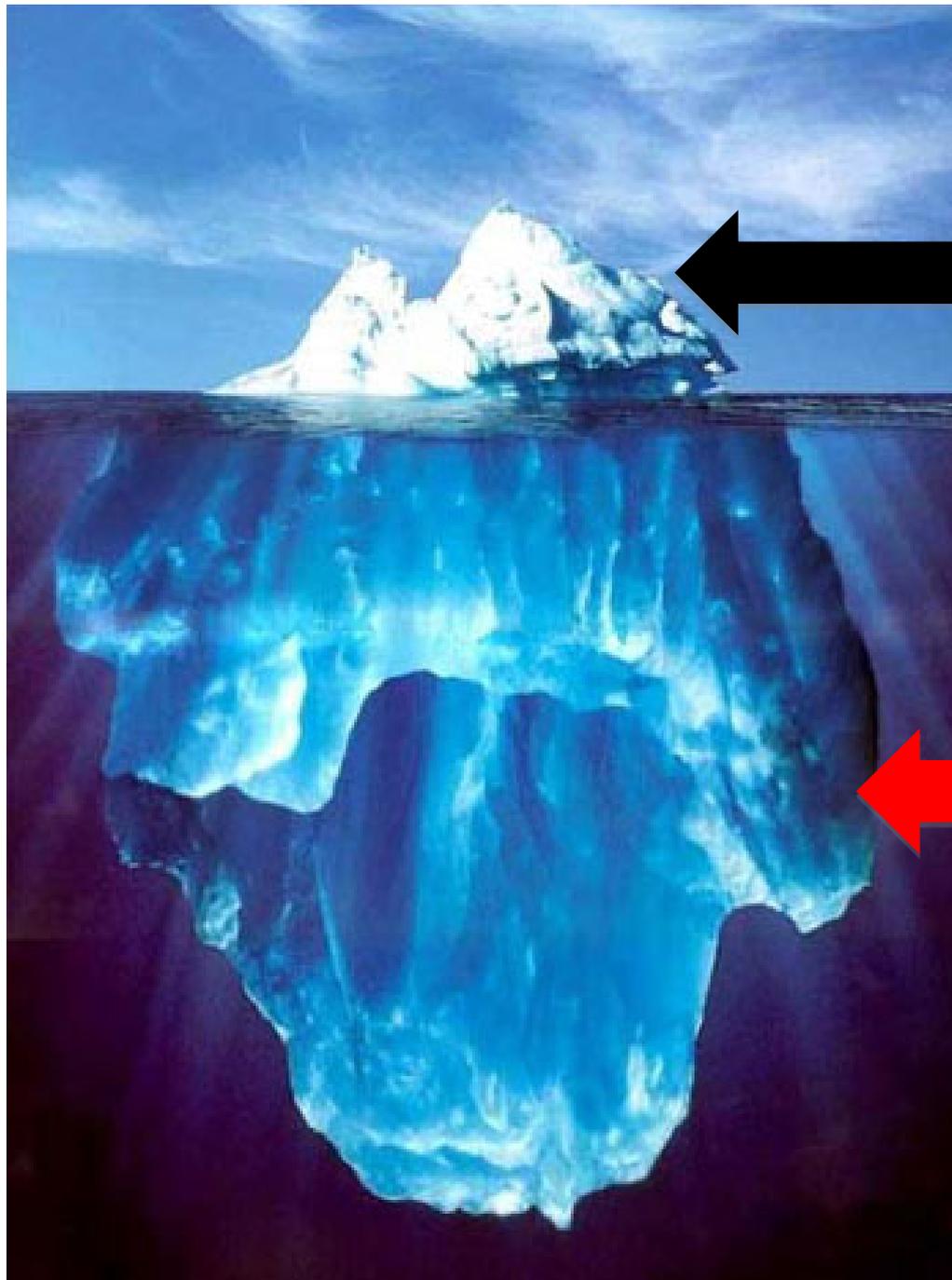
d'après S.Palmer

Viral replication resumes as soon as therapy is interrupted



Nicolas Chomont



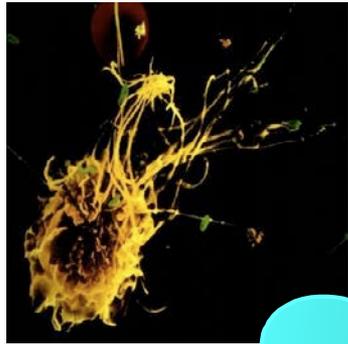


**Antirétroviraux
actuels : HAART =
« hyper actifs »**

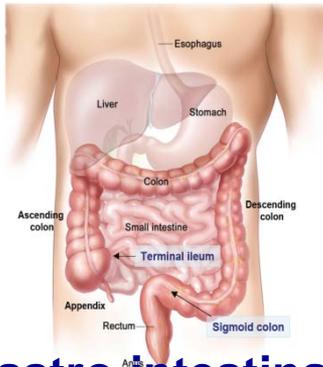
Cellules réservoirs

- **Lymphocytes T CD4 quiescents : 95%**
 - **Monocytes**
 - **Macrophages tissulaires**
-
- **Cellules dendritiques**
 - **Cellules microgliales**

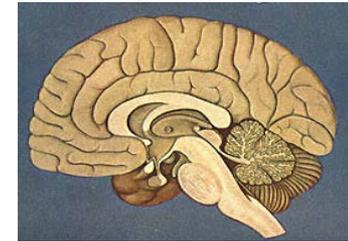
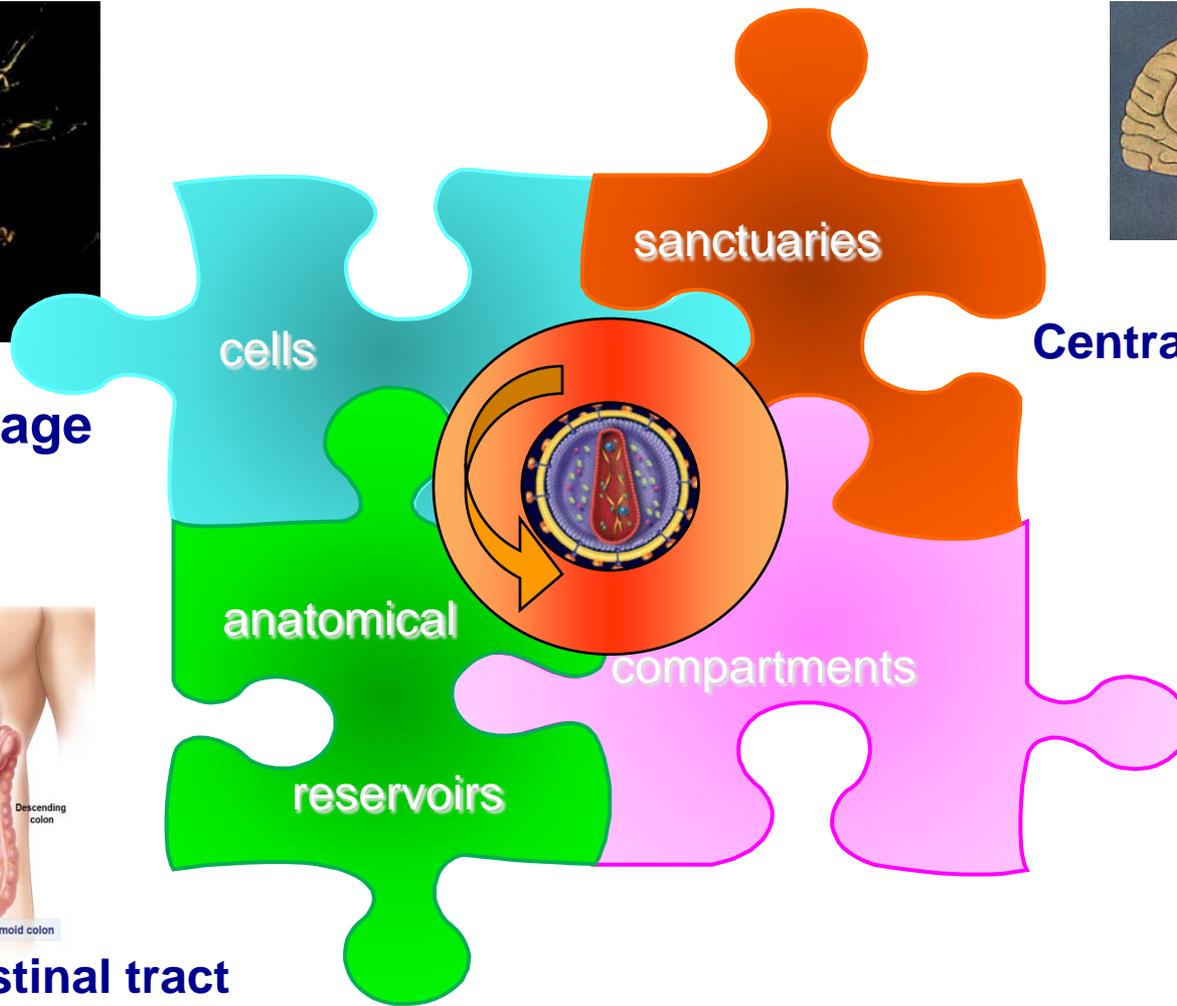
Les réservoirs VIH sont disséminés l'infection à VIH est dynamique



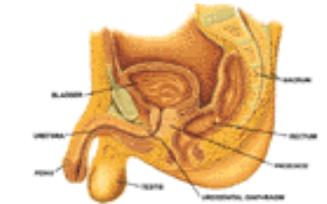
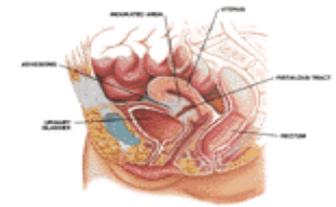
Macrophage



Gastro-intestinal tract

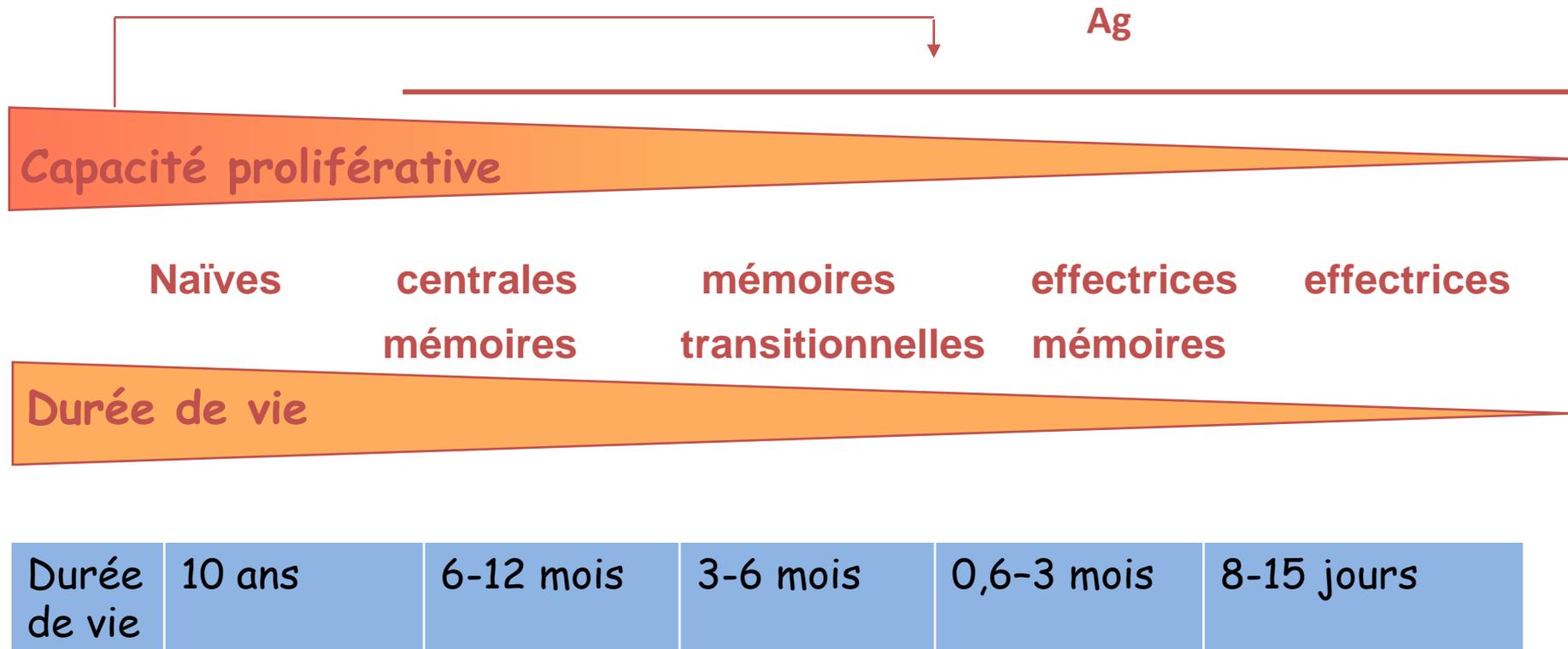


Central nervous system



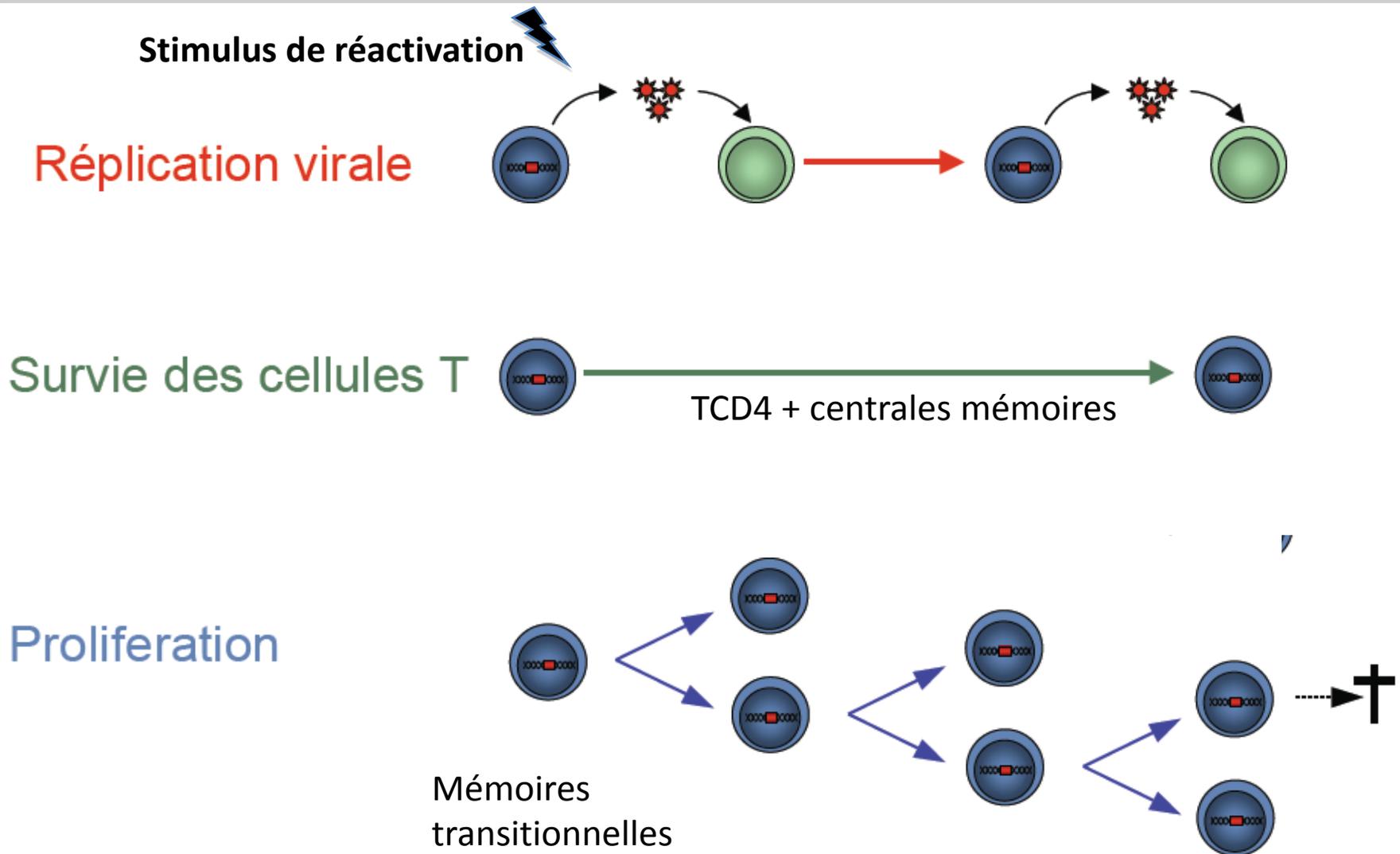
Genital tract

Capacité proliférative et demi-vie des sous-populations lymphocytaires T CD4+



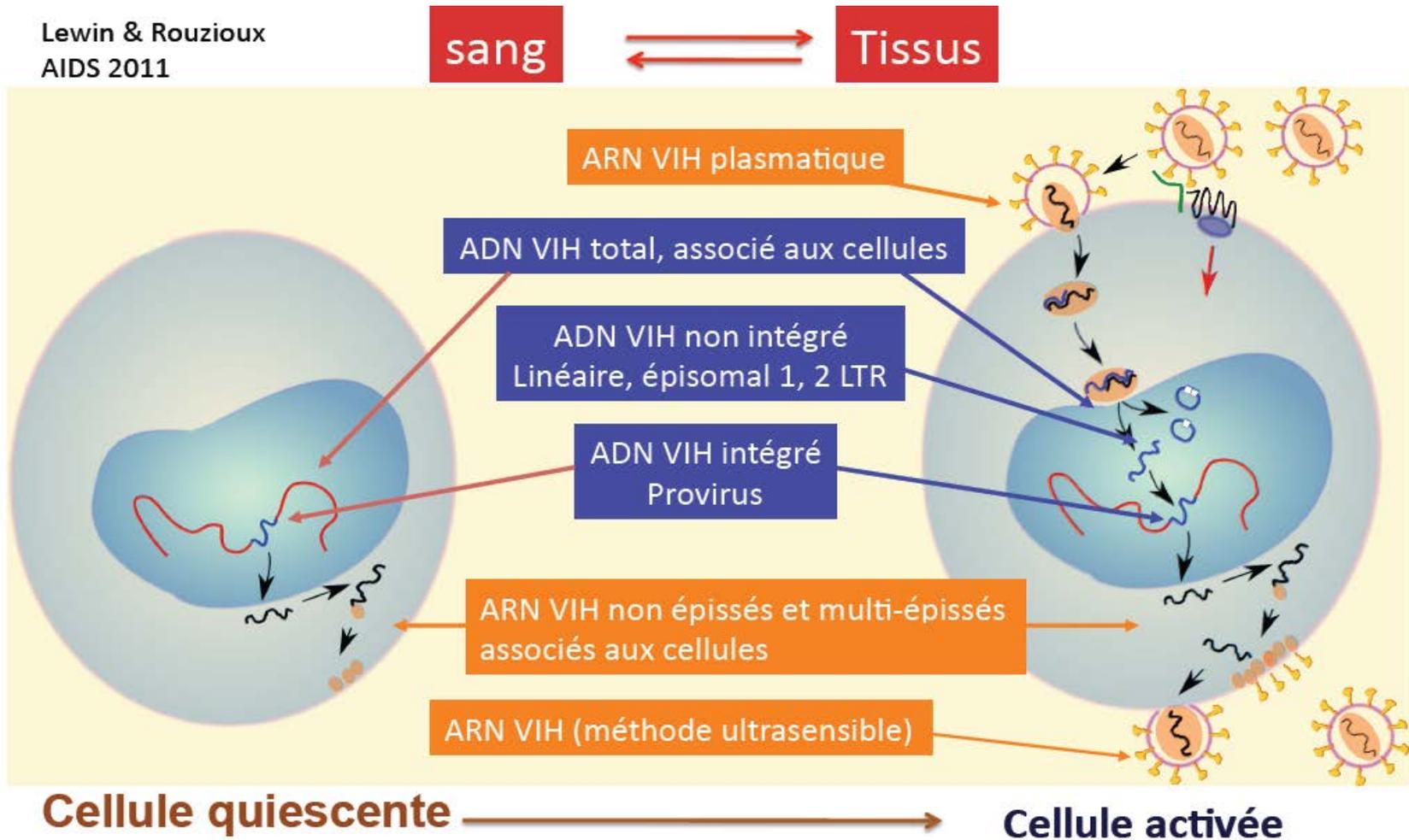
Appay et coll. Cytometry, 2008

Mécanismes de persistance virale et de maintien des réservoirs VIH



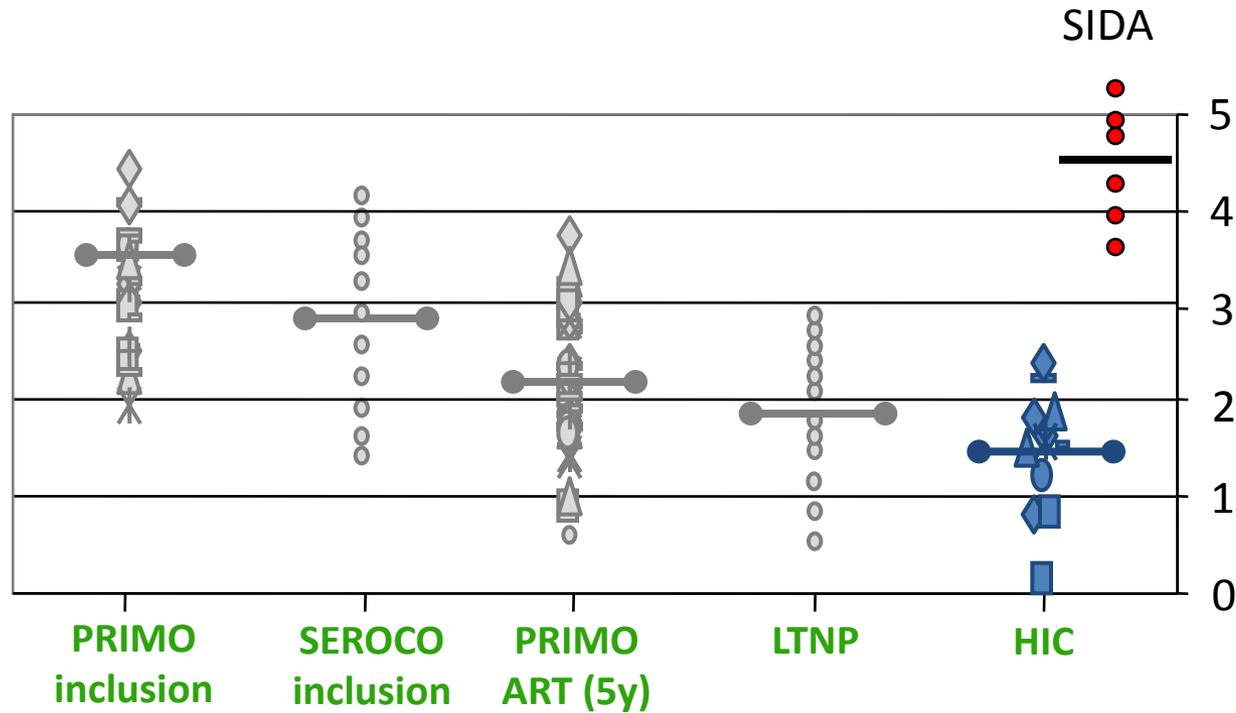
Marqueurs Virologiques cellulaires et extracellulaires

Lewin & Rouzioux
AIDS 2011



Cohortes ANRS : étude des réservoirs

HIV DNA Log copies/10⁶ PBMC



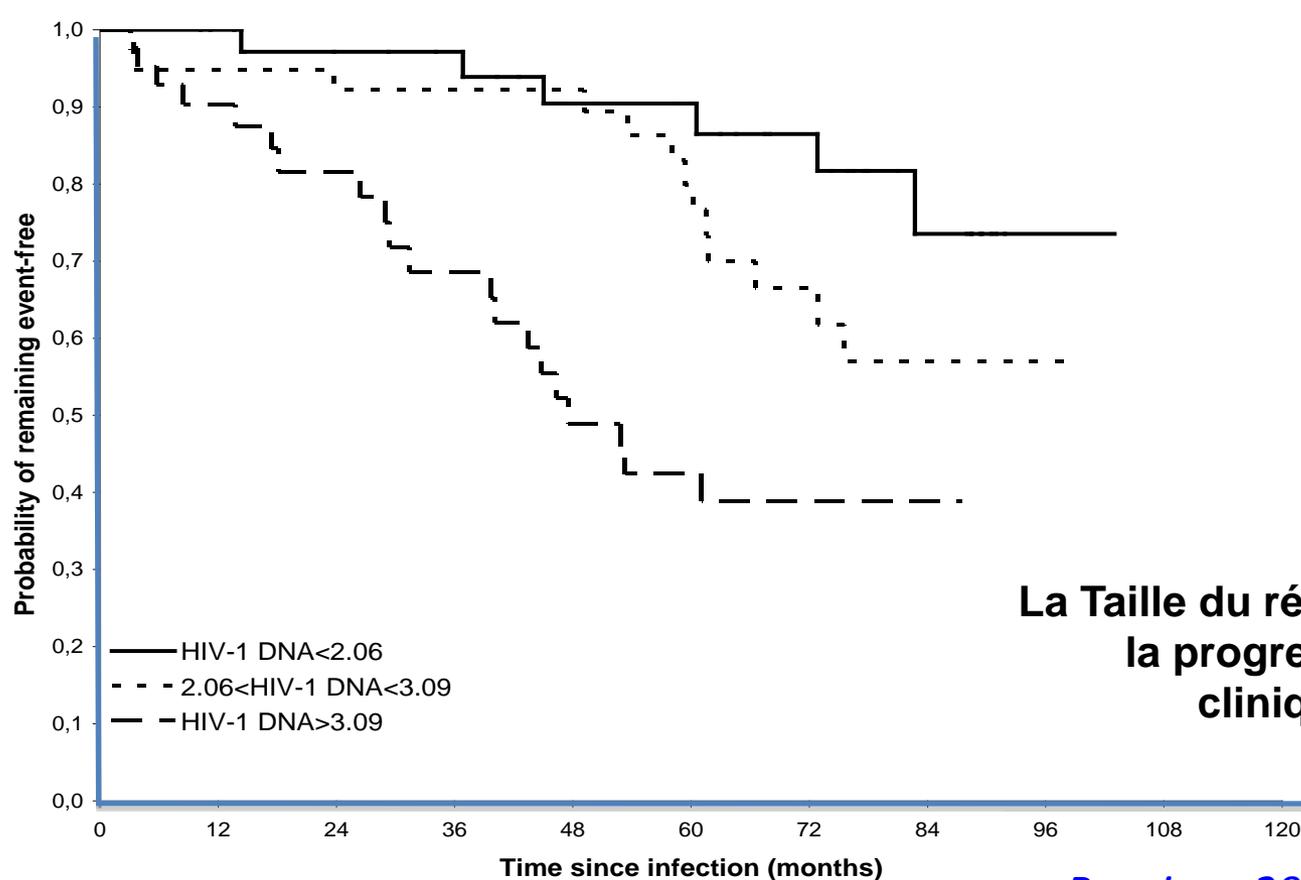
Ghosn, 2009,
Goujard, CID 2006

Rouzioux,
JID 2005

Martinez,
JID 2005

Lambotte,
JID 2005

Valeur prédictive de l'ADN VIH sur l'évolution vers <200 T4, en histoire naturelle



Séroconvertisseurs

0-6 mois – Cohorte
SEROCO ANRS

**La Taille du réservoir est prédictive de
la progression immunologique,
clinique et vers le décès**

Rouzioux 2005, Avettand-Fenoel 2008

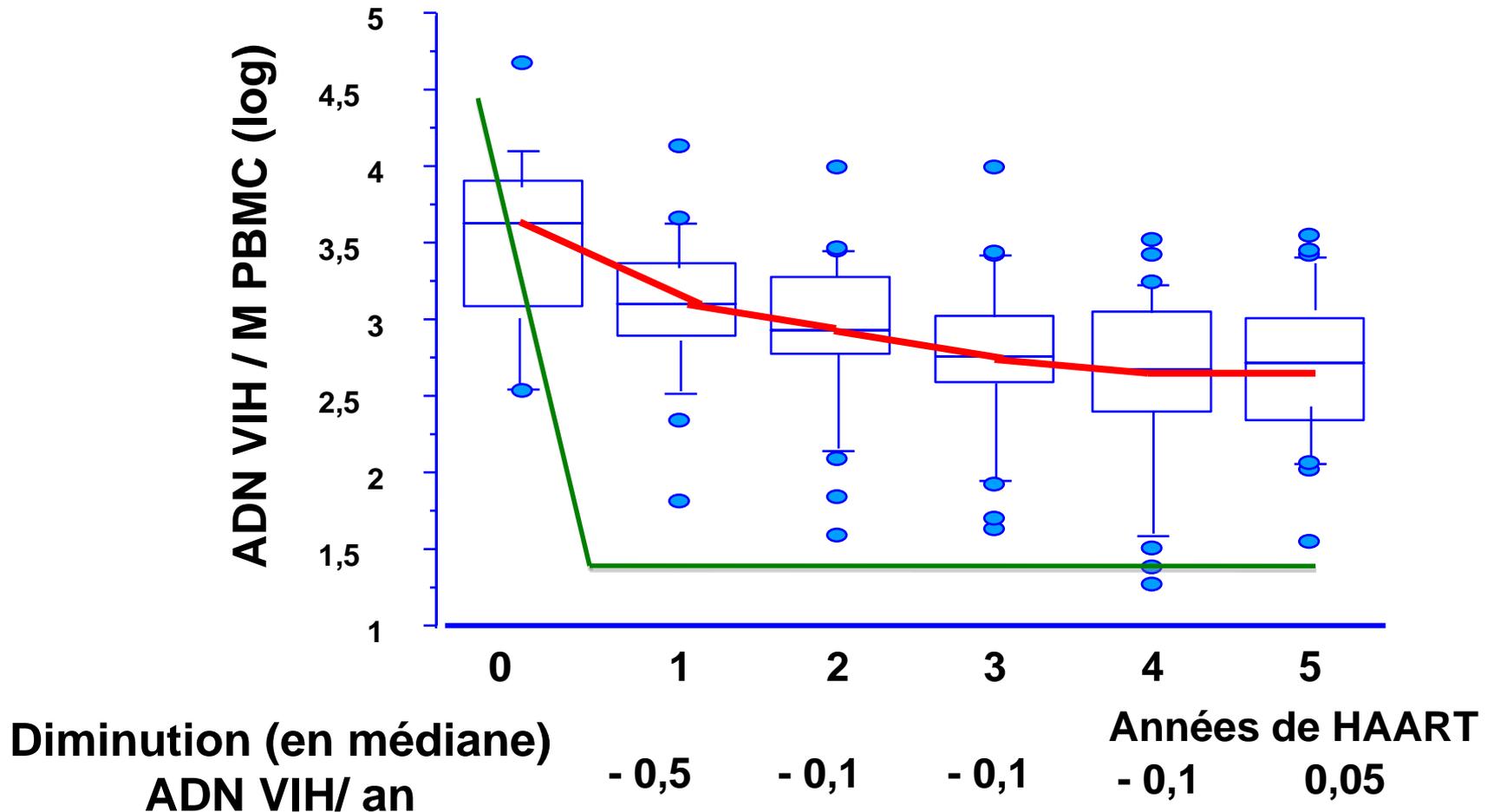
Méta-analyse : facteur prédictif du SIDA RR 3,01 {1,88-4,82}, du décès 3,49 {2,06-5,89} Plus prédictif que l'ARN VIH (RR 1,49 RR 1,51) *Tsiara 2012*

Impact des traitements antirétroviraux sur le réservoir sanguin

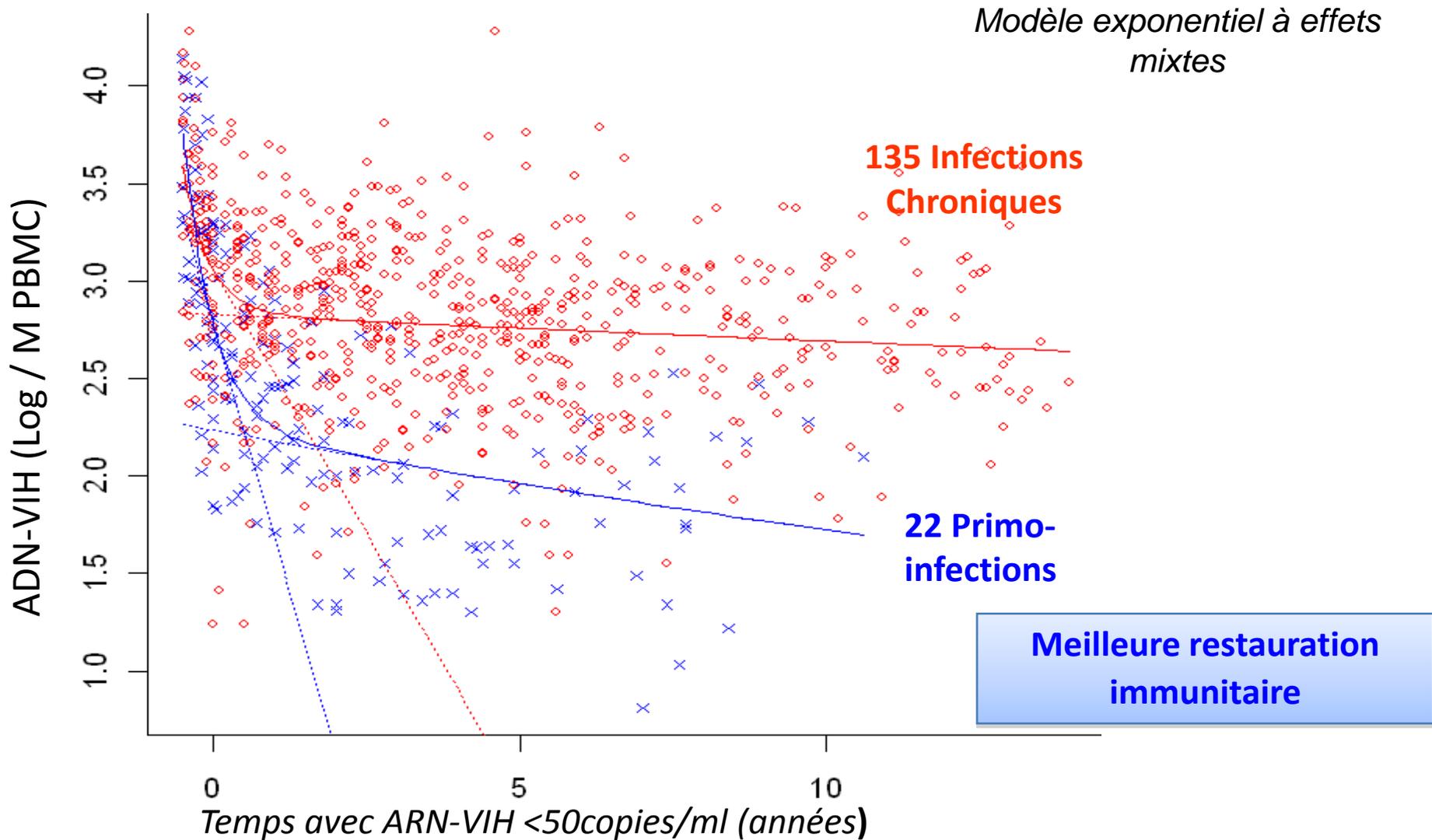
Evolution de l'ADN VIH chez des sujets recevant une HAART efficace (ARN-VIH < 50 copies/ml) plus de 5 ans

Viard et al, AIDS 2004

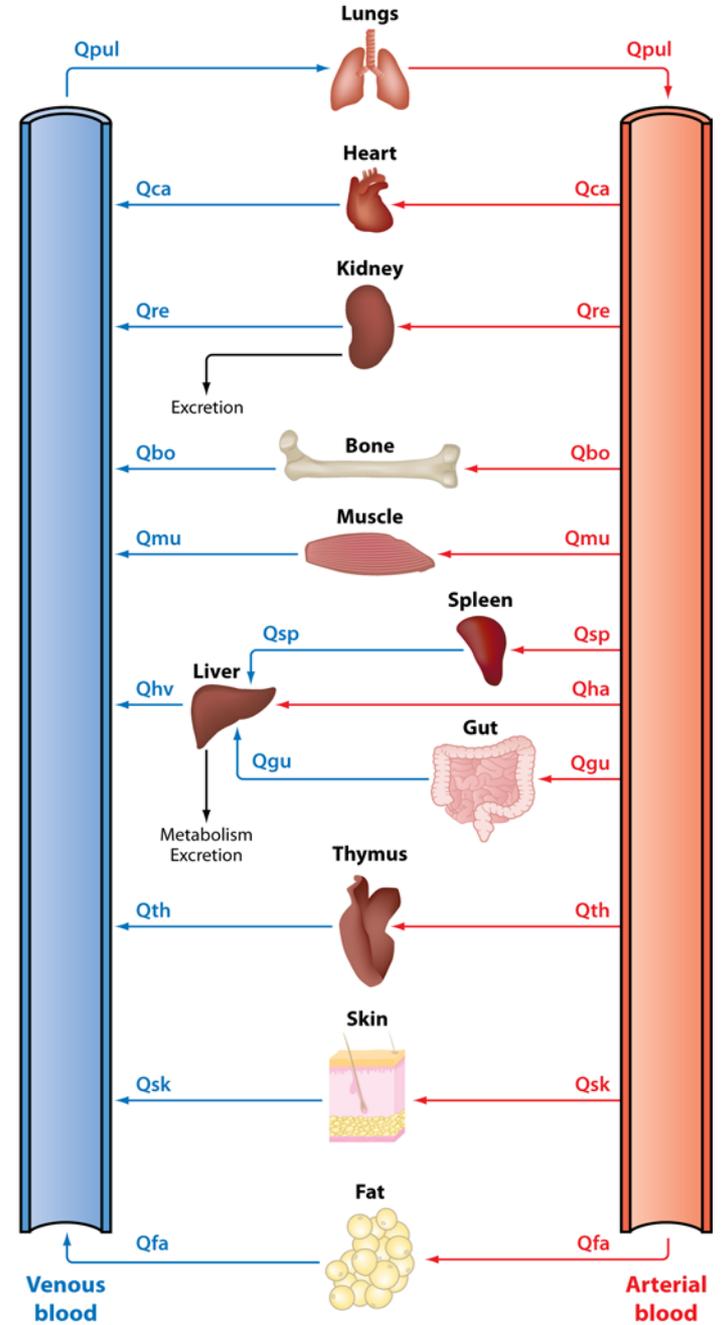
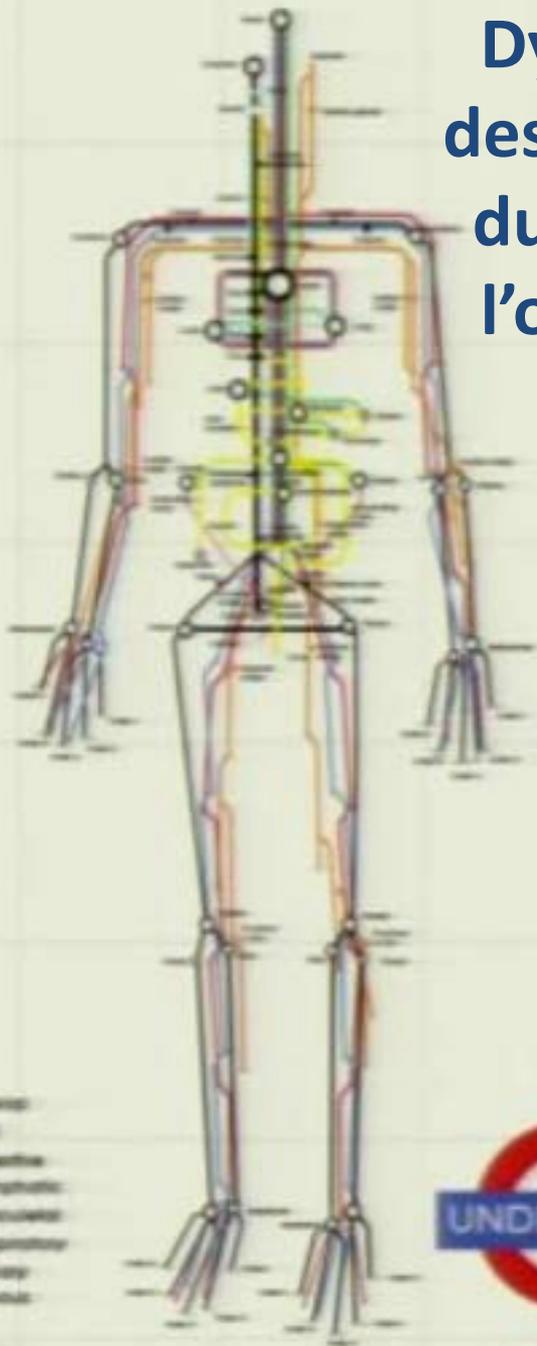
ARN-VIH



Impact du traitement précoce



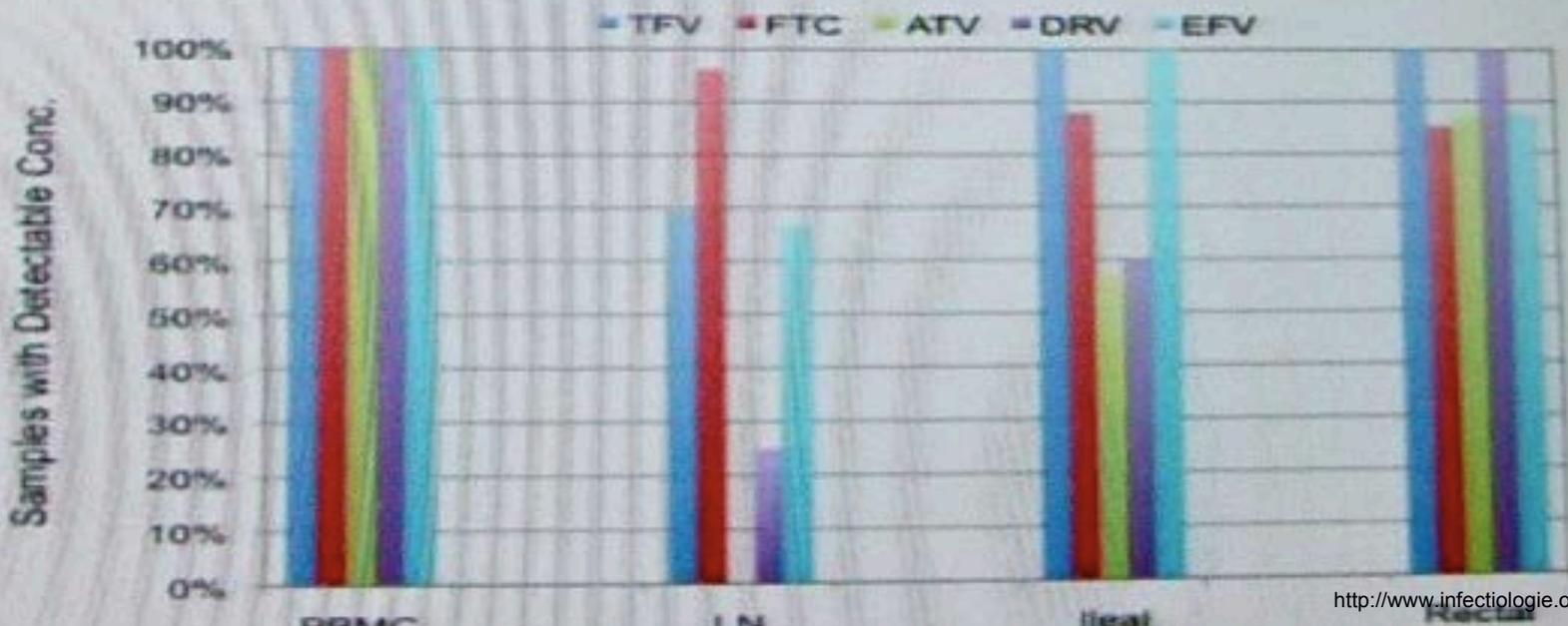
Dynamique des réservoirs du VIH dans l'organisme



amples with Detectable Concentrations

subjects have completed all protocol evaluations, and 3, 3 mo evals
 n=4, TDF/FTC, ATV/RTV; n=2, TDF/FTC, DRV/RTV; and n=6, TDF/FTC, EFV
 amples with detectable concentrations.

	PBMC	LN	Ileum	Rectum
TFV	51/51	18/26	25/25	27/27
FTC	51/51	26/27	22/25	23/27
ATV	20/20	0/9	4/7	7/8
DRV	7/7	1/4	3/5	5/5
EFV	21/21	9/11	13/13	12/13

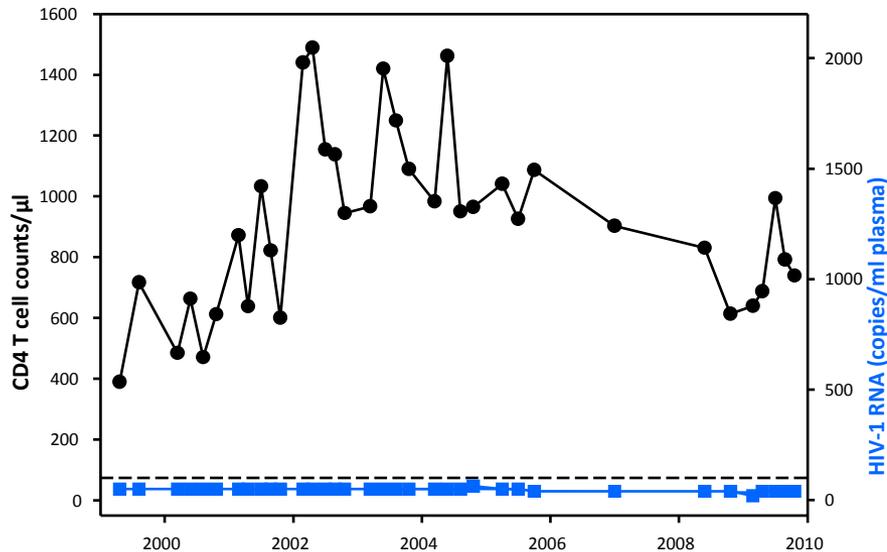


LES HIV contrôleurs: contrôle naturel de l'infection

HIV controllers (HIC): infected individuals spontaneously controlling HIV-1 infection

Enrollment on the ANRS Cohort

HIC must have been HIV-1-infected for more than 10 years, asymptomatic and never treated with ART; >90% of HIV-1 RNA viral loads < 400 copies RNA/ml. *Lambotte et al, CID. 2005*



35 clinical centers in France

34 317 patients followed-up

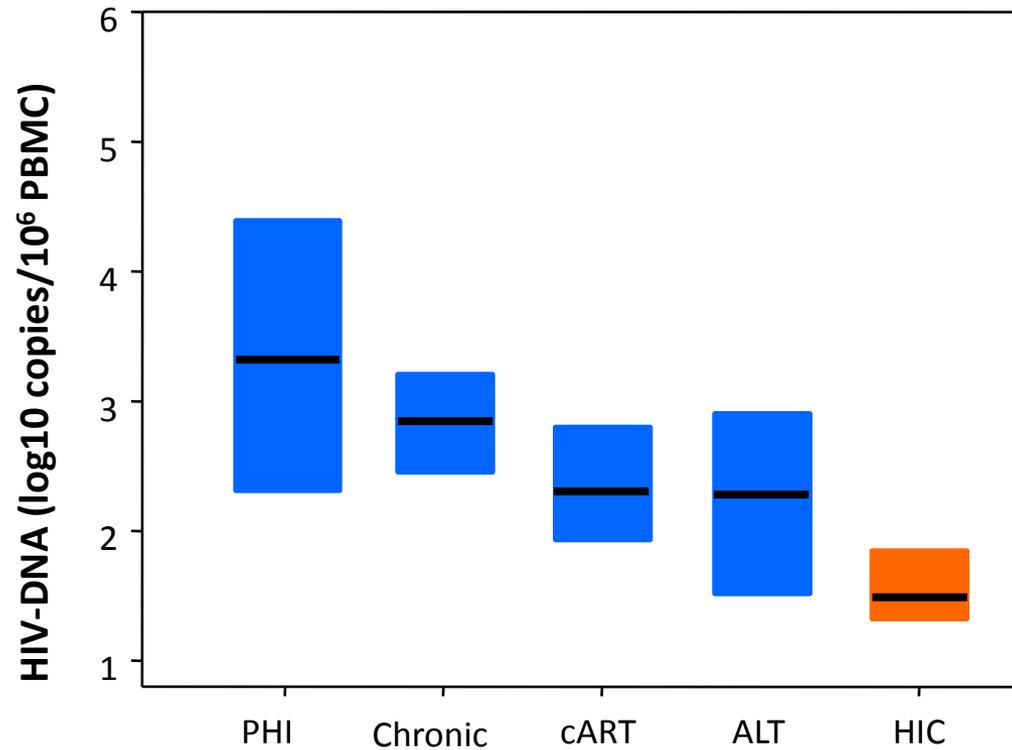
81 HIC (0.24%; 95%CI [0.23-0.25])
during a two year-period

Bouffassa et al, PLoS One 2011

Since **2009**: ANRS CO18 cohort

~200 HIC

HIC have an extremely weak HIV-1 reservoir



Lewin et Rouzioux AIDS 2011
Saez-Cirion et al, Blood 2011

Mécanismes du contrôle des réservoirs chez les ELITE CONTRÔLEURS

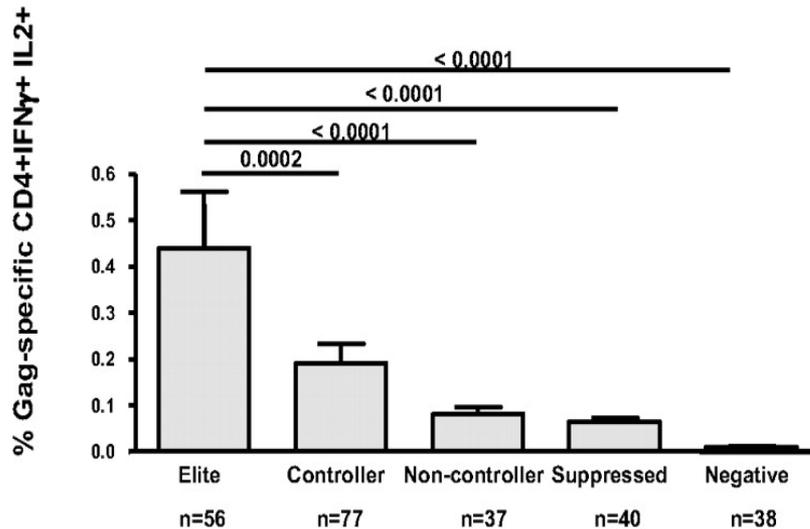
- Le contrôle des réservoirs est associé à:
 - Fortes réponses T CD4 et T CD8 spécifiques anti VIH
 - Des taux élevés d'IgG2 anti-HIV

- Les réponses CD8 sont liées au fond génétique des sujets et liées au type HLA notamment HLA B27 et B57 qui ont un caractère protecteur :
 - Contrôle génétique de la taille des réservoirs
 - Capacité suppressive des CD8 élevée

ELITE CONTROLLERS :

Efficient T cell responses are associated with control

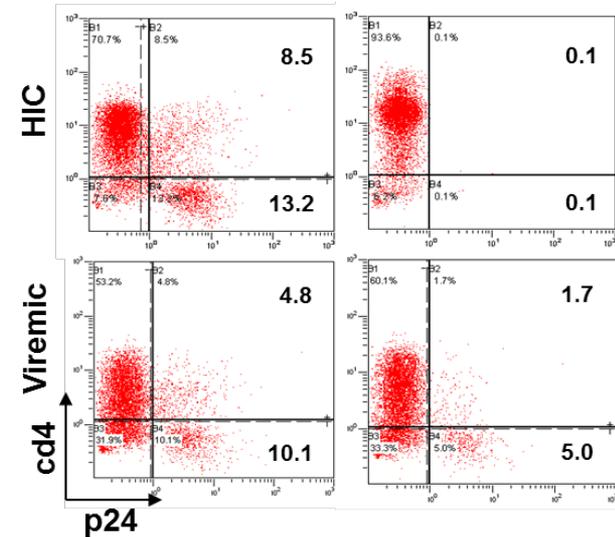
Enhanced HIV-CD4 T cell responses



Emu et al. JVI, 2008

Potter et al. JVI 2007

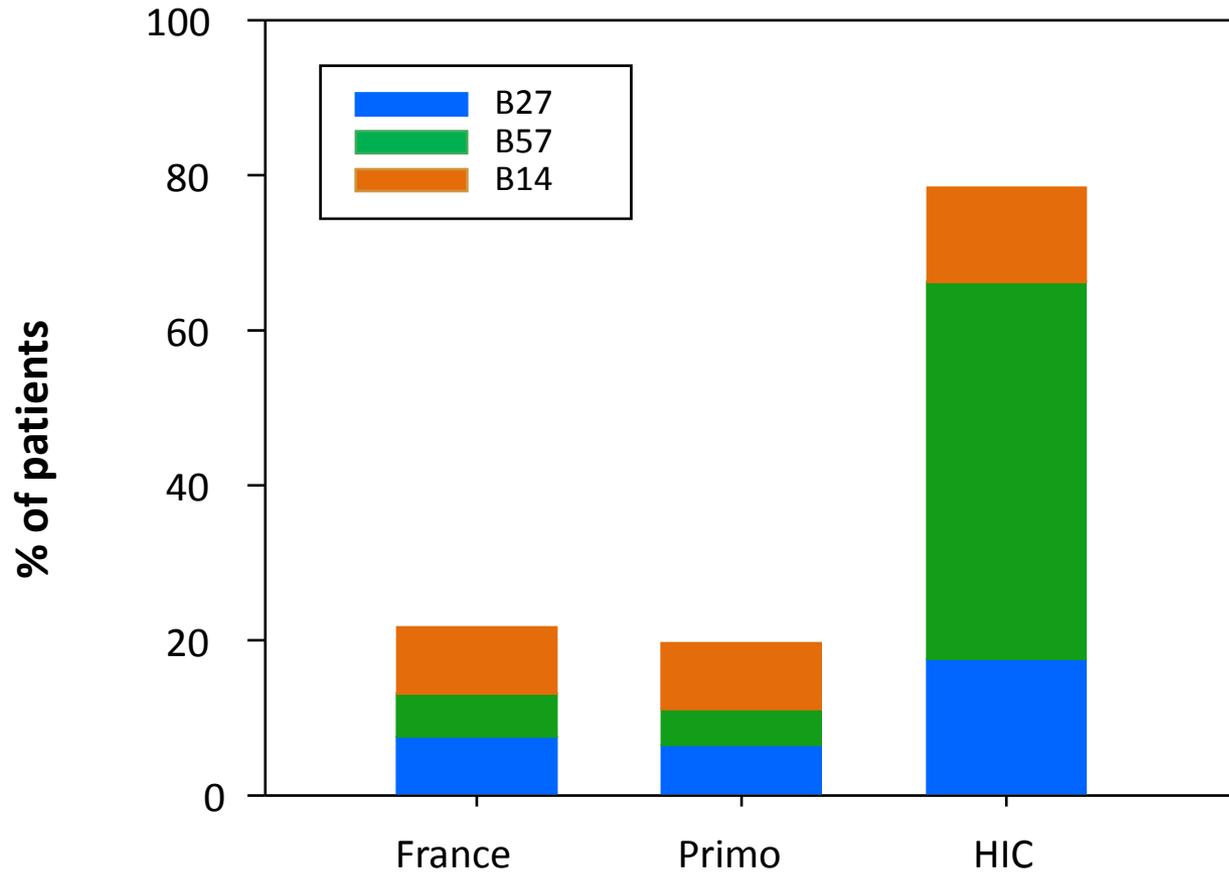
Superior capacity of CD8 T cells to eliminate infected cells



Saez-Cirion et al. PNAS, 2007; Nat Protoc 2010

- **Greater and faster upregulation of cytotoxic mediators**
Migueles, et al. Immunity 2008; Hersperger, et al. PLoS Pathogens 2010
- **High functional avidity**—Almeida, et al. JEM 2007
- **MHC and TCR plasticity**—Chen et al Nat Immunol 2012; Pereyra et al Science 2010; Bailey et al JEM 2006

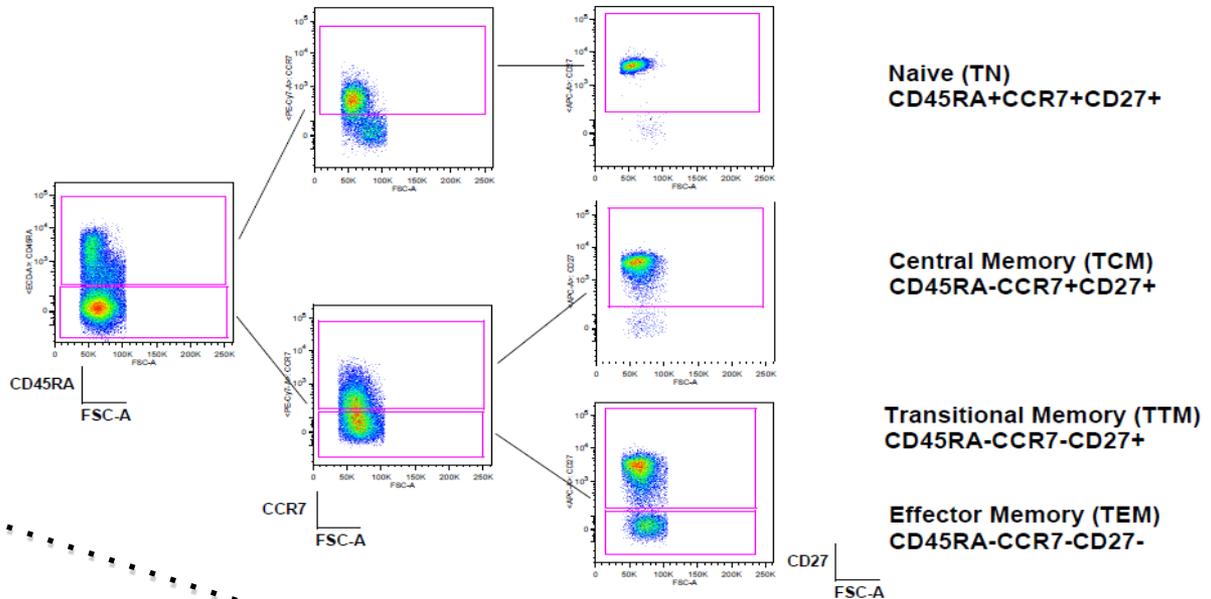
HIC have a favorable genetic background



Analysis of HIV reservoir distribution in PBMC from PTC

PBMC

Live Resting
(CD25-CD69-HLA DR-)
CD4 Subsets Sorting
(Flow Cytometry, ARIA SORP II in
a L3 facility)



Total HIV-DNA quantification

Ultrasensitive real-time PCR

- size
- distribution
- subsets contribution
of/to the HIV reservoir

In vitro induction of HIV replication
from latent reservoirs

*13-day long culture of each sorted-
subsets*

HIV-RNA quantification by RT-PCR

- reservoir's inducibility

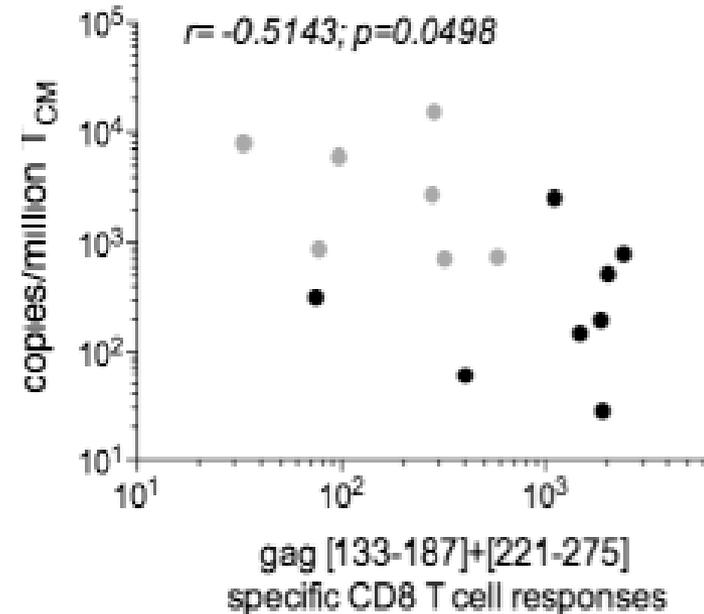
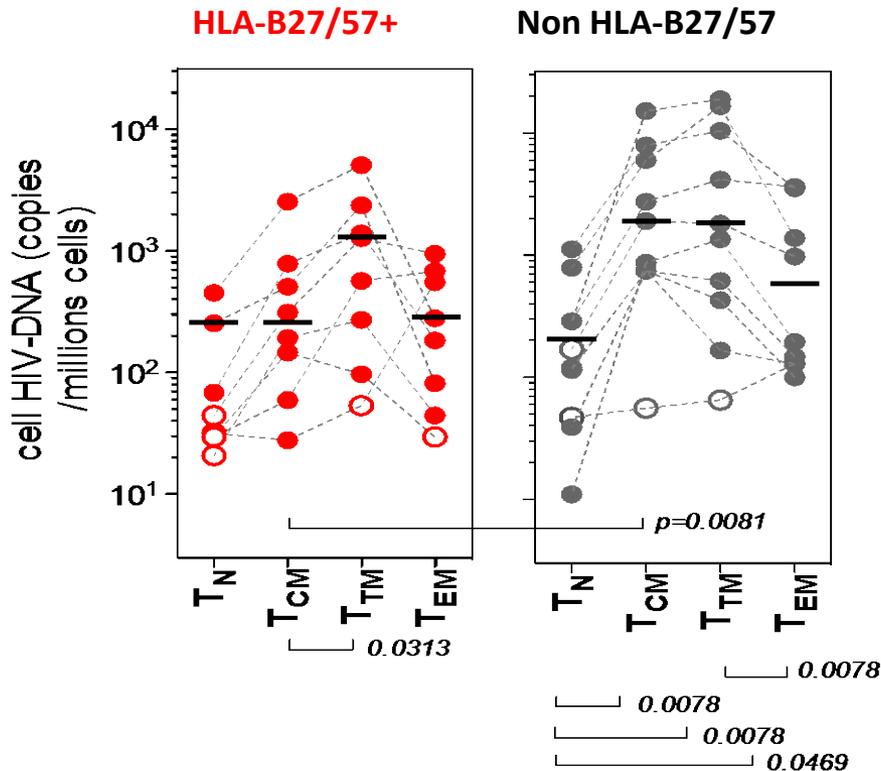
Distinct Hierarchy of HIV reservoirs in CD4 T cells In LTNPs :

➤ **LTNP HIV Reservoirs**
in quiescent CD4 subsets:

$$(T_{TM} > T_{CM}) \geq (T_{EM} > T_N)$$

B Descours, V Avettand et al. CID 2011

➤ **Strong Gag-specific CD8 T cells**
negatively correlated with
-HIV reservoirs in CD4 TCM cells



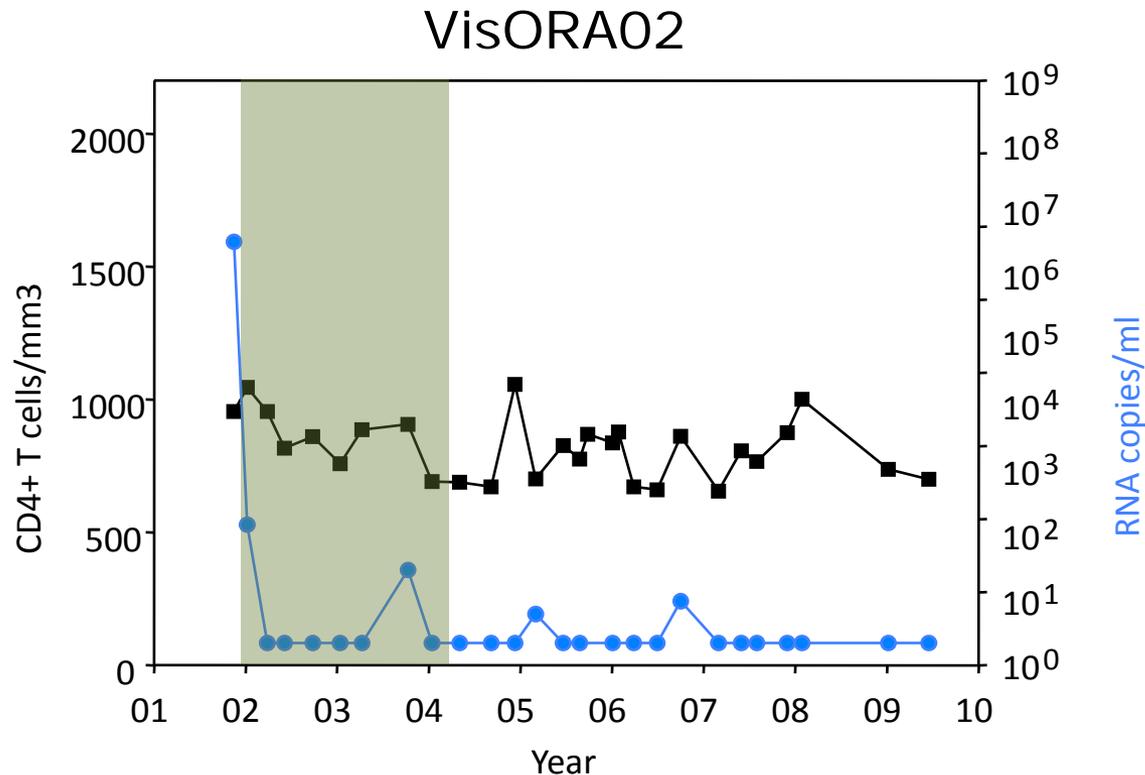
➤ **T_{CM} limited infection in HLA-B27+/57+**
but not in aviremic HLA-B27/57- LTNPs

➤ **Reminiscent from the**
preservation of TCM numbers
in vaccinated macaques

(Letvin et al. 2005)

Peut-on induire un contrôle des réservoirs avec les traitements antirétroviraux?

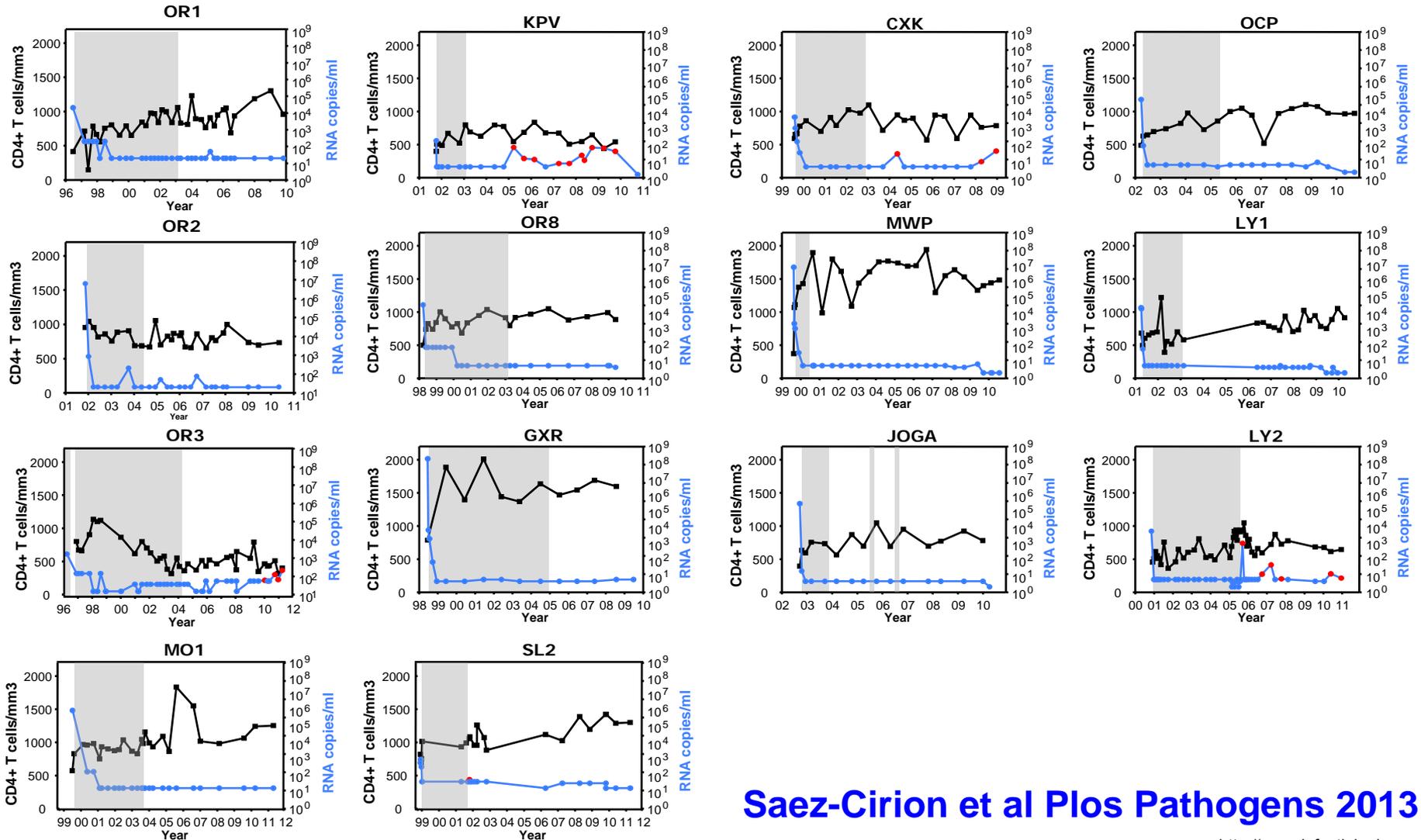
The VISCONTI patients: Viro Immunological Sustained CONTROL after Treatment Interruption



- The HAART treatment started within less than 10 weeks after contamination

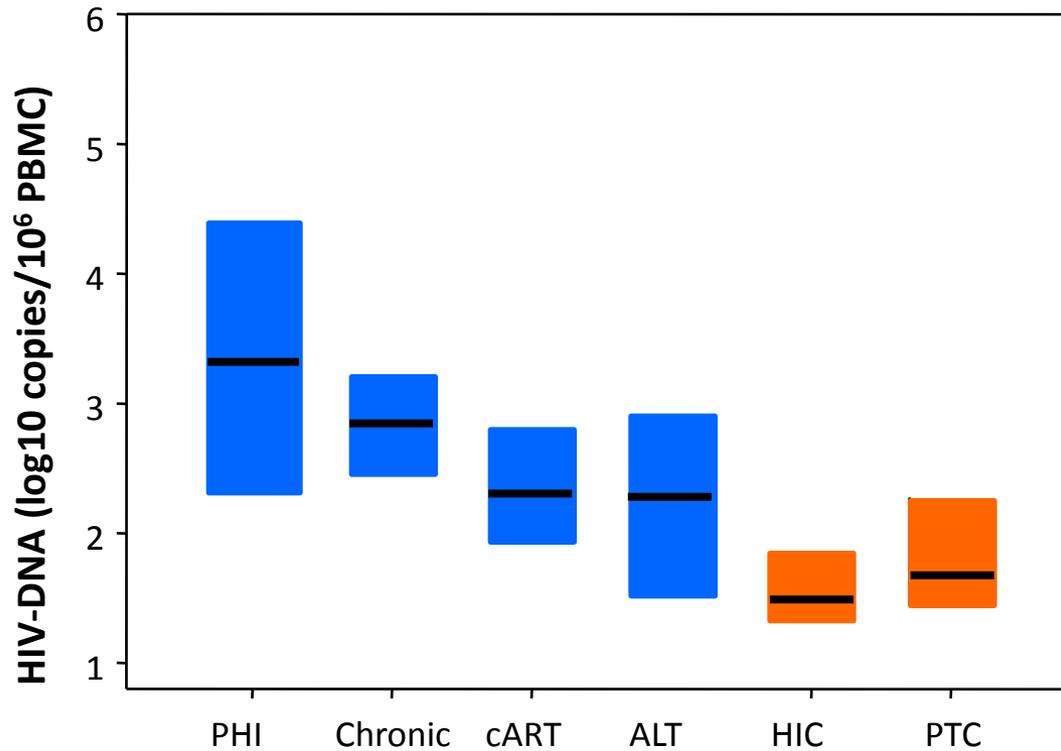
Etude VISCONTI : ANRS EP 047

14 patients en rémission



Saez-Cirion et al Plos Pathogens 2013

Post-treatment controllers have an extremely weak HIV-1 reservoir



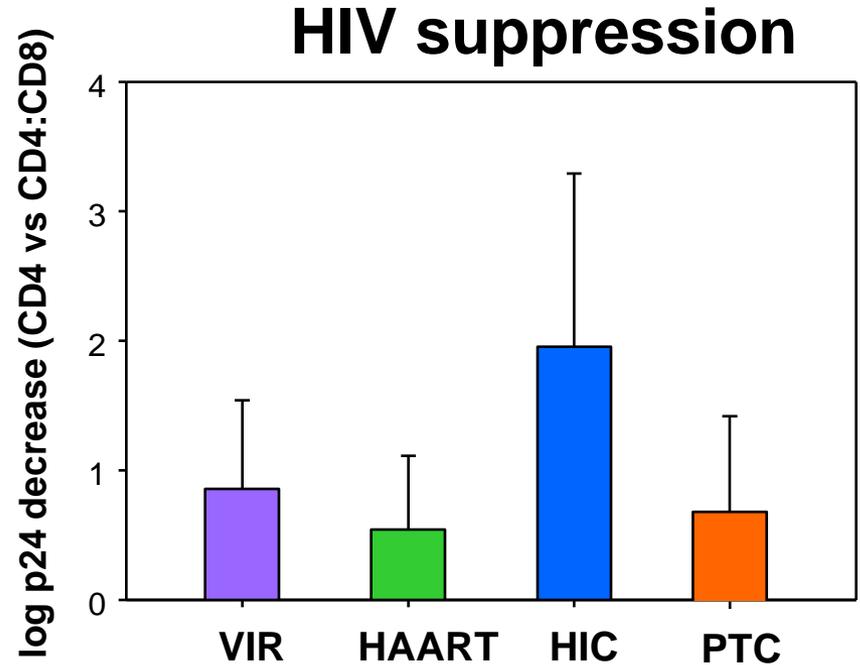
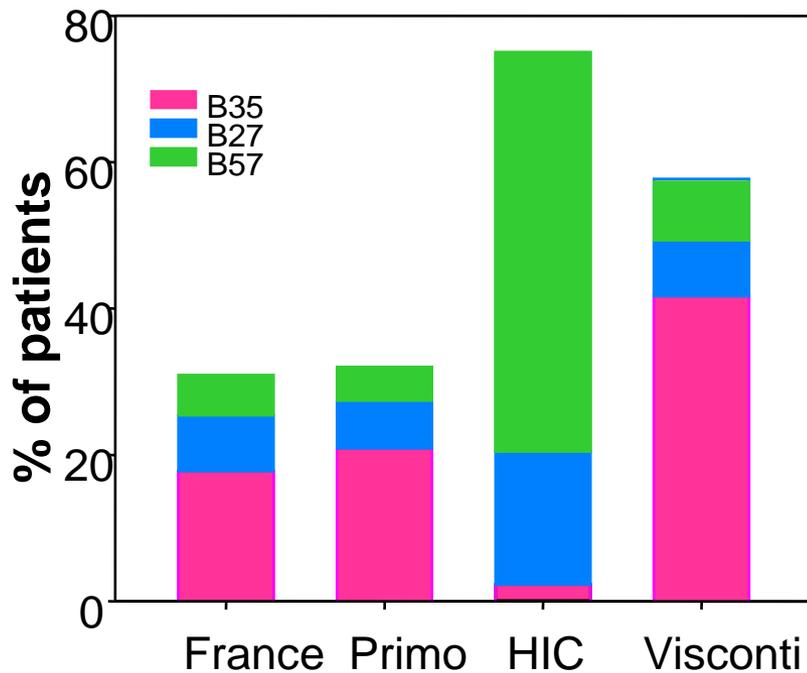
Characteristics of Post-Treatment Controllers

Characteristics of patients included in the study

Number of patients	14	Median year of diagnostic	1999 (1996-2002)
Women	4 (29)	Time on HAART (months)	36.5 (12-92)
<u>Sexual pref. among men (n=7)</u>		Time since interruption (months)	79.5 (48-115)
Heterosexual	1(14.3)	<u>CD4+ T cell counts (cells/ml)</u>	
Homosexual	6(85.7)	First value*	502 (371-955)
<u>Ethnical origine (n=10)</u>		At HAART interruption	927 (354-1639)
Caucasians	10(100)	Last value	899 (441-1598)
<u>Transmission group (n=11)</u>		<u>HIV-1 RNA Viral load (log copies/ml)</u>	
Sexual	10 (91)	First value*	5.0 (3-7.3)
IVDU	0 (0)	Last value	<1.7 (<1.7-2.46)
Others	1 (9)		

3 years on therapy followed by 6.5 years of control off therapy

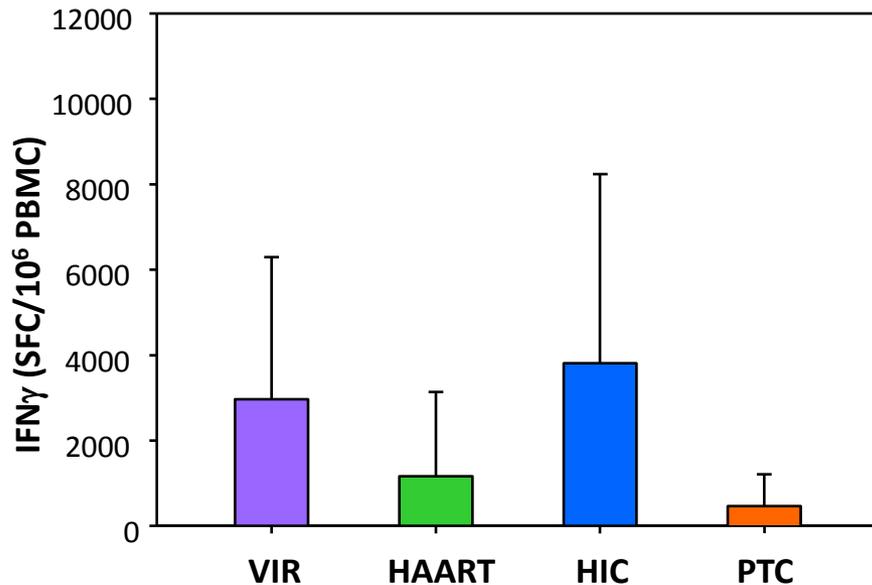
Controllers after early-treatment interruption don't have the favorable MHC background and CD8 T cell responses of spontaneous HIV controllers



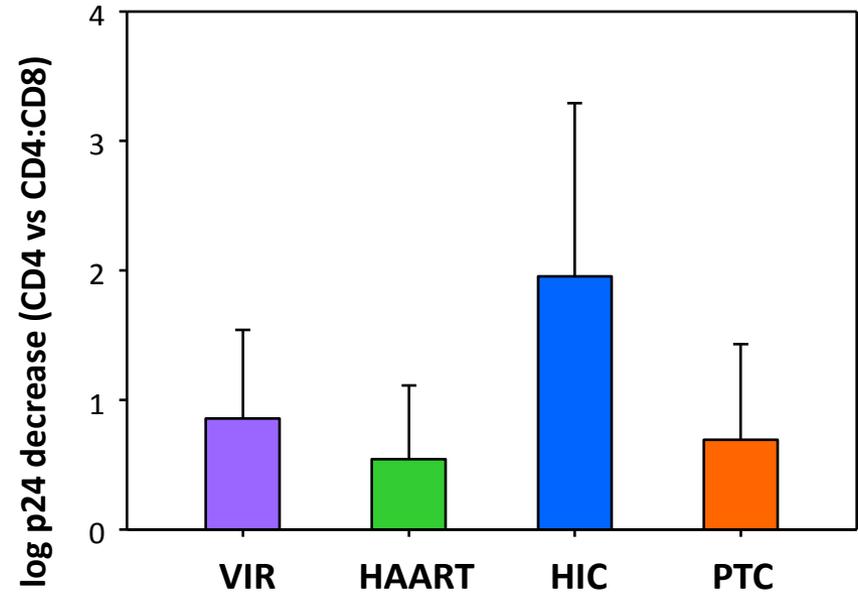
Saez-Cirion et al Plos Pathogens 2013

PTC have weak HIV-specific CD8+ T cell responses

IFN γ ELISPOT

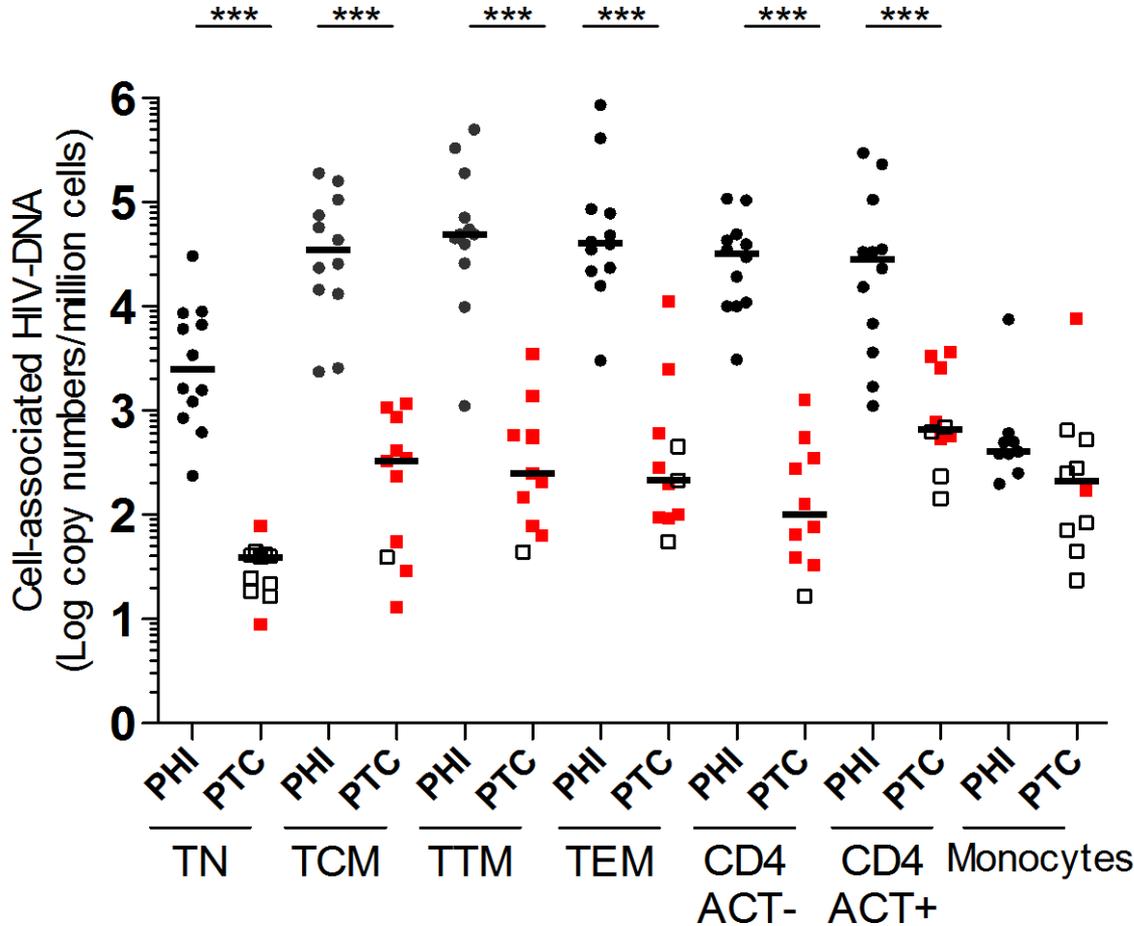


HIV suppression

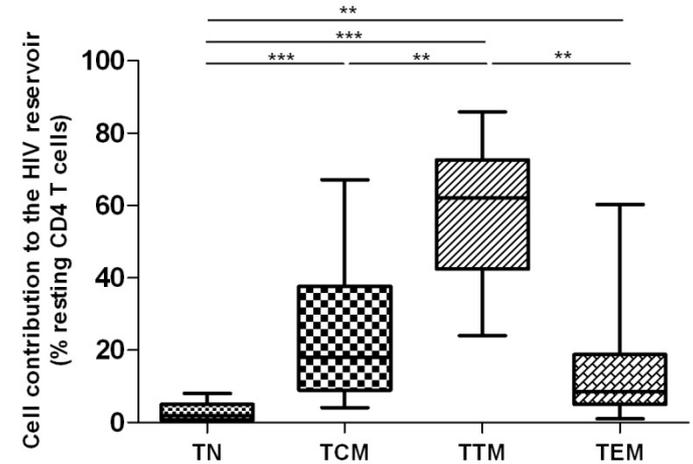


Saez-Cirion et al Plos Pathogens 2013

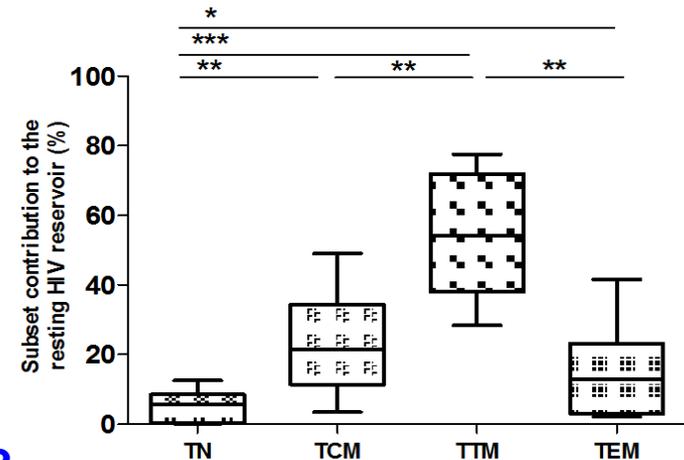
Acutely-infected vs PTC patients



Acutely-infected patients

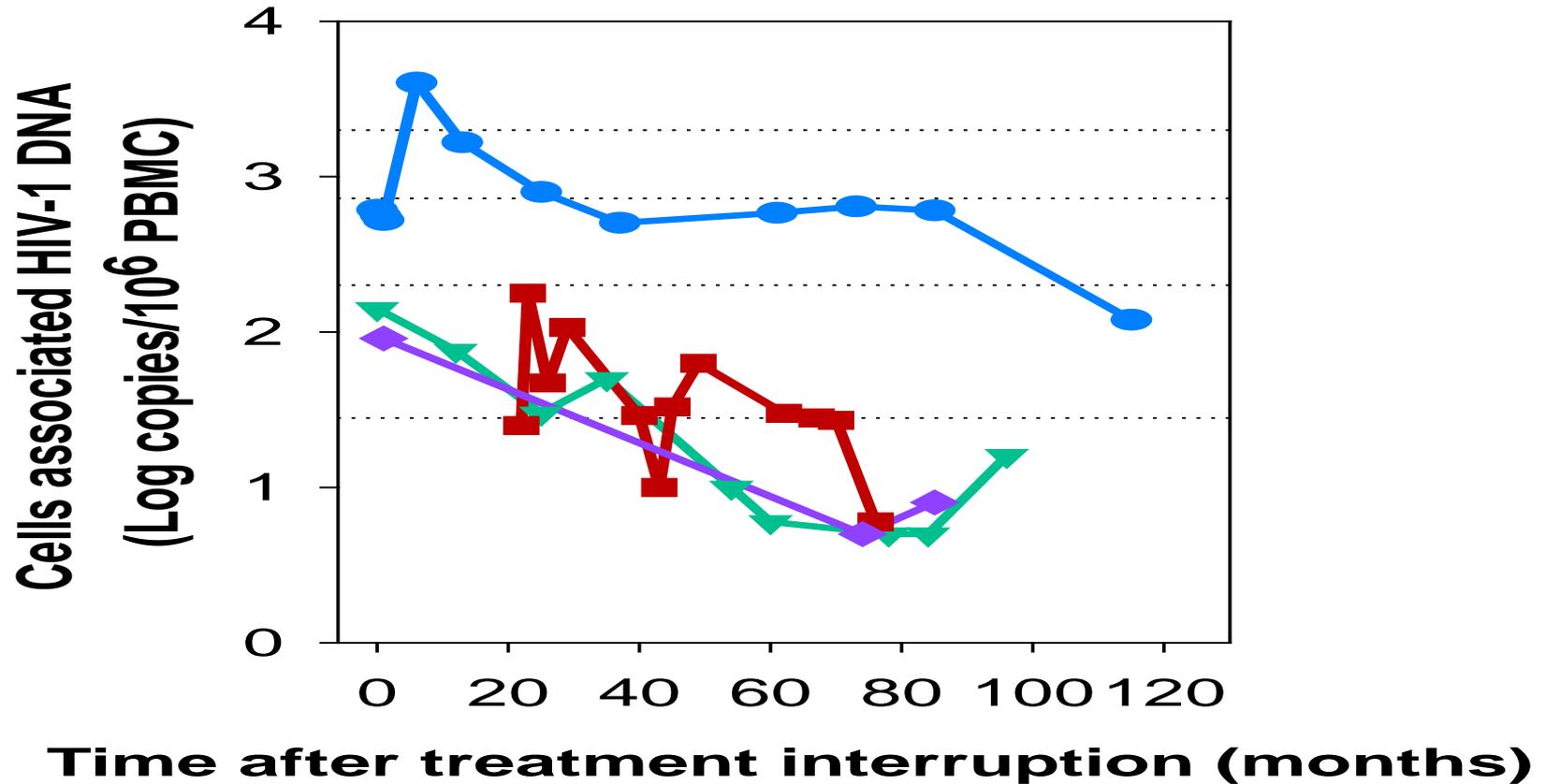


PTC



Saez-Cirion et al Plos Pathogens 2013

Post-treatment controllers have low levels of HIV-1 DNA in PBMC, which further decreased after treatment interruption in some cases



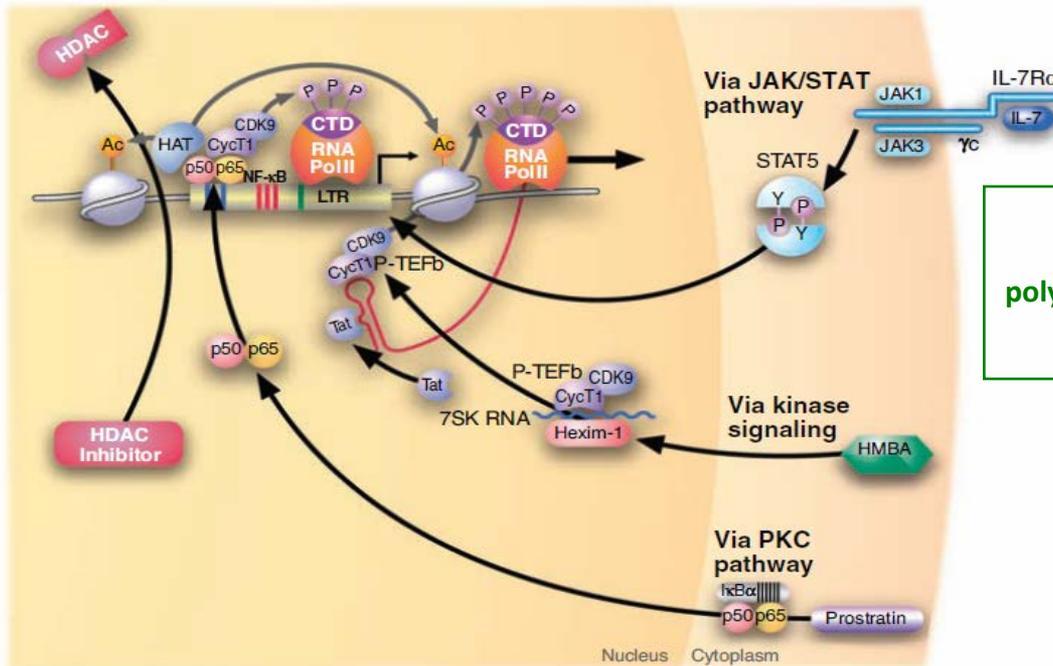
Saez-Cirion et al Plos Pathogens 2013

**Actions sur les
Modifications
épigénétiques :**

Histone hypoacétylation
Histone méthylation
Méthylation de l'ADN



Inhibiteurs d'HDACs
SAHA
Acide valproïque
Chaetocine
5-aza-dc



**Levée de l'Inhibition de
l'élongation par la RNA
polymérase II avec séquestration
de P-TEFb**

HMBA

**Levée du Blocage de la
transcription par les
miARN**

Inhibiteurs des miRNA
antisens
siARN spécifiques

**Levée de la Séquestration
des facteurs
transcriptionnels cellulaires**

Activateurs de la PKC
Bryostatine
Prostratine

CONCLUSIONS

Les données accumulées depuis plus de 10 ans chez les patients à différents stades de la maladie nous montrent que chaque patient a un niveau de réservoirs qui s'établit très précocement et le caractérise d'emblée.

Les réservoirs VIH sont le moteur de l'infection; les prendre en compte peut faciliter des indications d'allègement, de changement ou d'intensification des traitements.

Les traitements par ARV constituent un progrès considérable, cependant ils doivent être pris à vie, ce qui représente des difficultés à terme pour les patients mais aussi des enjeux économiques considérables.

La recherche sur les réservoirs VIH n'est pas une question qui concerne uniquement les patients du Nord. Au contraire, les besoins en traitements qui visent à l'éradication tels que les traitements anti-latence sont encore plus nécessaires au Sud et représente un nouveau challenge dans l'infection à VIH.

Patients and clinicians who participate in the study

Institut Pasteur
Régulation des Infections Rétrovirales

Asier Saez-Cirion
Gianfranco Pancino
Daniel Scott-Algara
Françoise Barré-Sinoussi
Pierre Versmisse

CHR Orléans La Source
Service Maladies Infectieuses

Thierry Prazuck
Laurent Hocqueloux

CHU Hôtel-Dieu
Unité Immuno-Infectiologie
Jean-Paul Viard

CHU Necker Enfants Malades
Laboratoire de Virologie

Christine Rouzioux
Véronique Avettand-Fenoel
Adeline Mélard

Faculté de Médecine Paris Sud
INSERM U1012

Alain Venet
Olivier Lambotte
Cécile Goujard
Isabelle Girault
Camille Lecuroux

INSERM U1018
Laurence Meyer
Faroudy Boufassa

CHU Pitié-Salpêtrière
INSERM UMR-S 945

Brigitte Autran
Charline Bacchus
Benjamin Descours
Assia Samri
Ioannis Theodorou
Julien Guernon

INSERM UPMC U943
Dominique Costagliola
Valérie Portard

ANRS CO6
“PRIMO”

ANRS CO15
“ALT”

ANRS CO18
“HIV controllers”

FHDH
**“French Hospital
Database on HIV”**

Le Réservoir

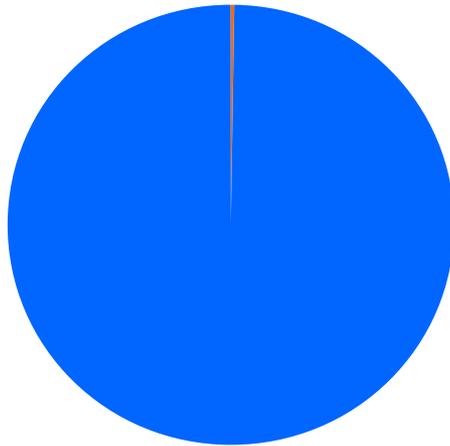


Merci

Un traitement initié très tôt augmente les chances de contrôle après arrêt des traitements

<1 % contrôleurs spontanés

■ HIC ■ Non contrôleurs

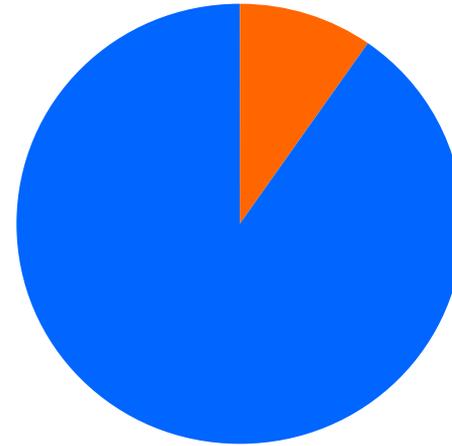


Grabar et al. AIDS 2009
Boufassa et al. PLoS One 2011

~10% contrôleurs après interruption
D'un traitement très précoce

22/232 patients identifiés en France

■ CAT ■ Non contrôleurs



FHDH: Base de données françaises

Hocqueloux et al. AIDS 2010
Goujard et al. AntTher 2012
Saez-Cirion et al Plos Pathogens, 2013

Quelles stratégies pour cibler les réservoirs VIH ?

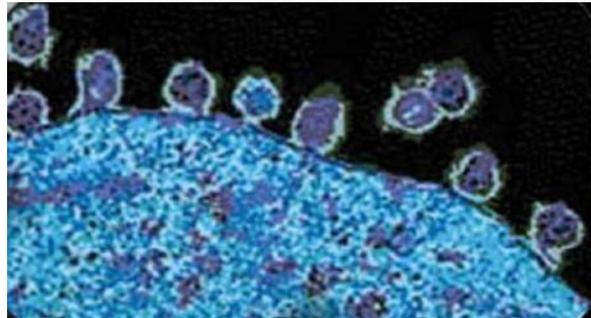
Induire une « rémission »

en traitant précocement et longtemps par ARV puissants ?

Limiter la réplication résiduelle

en intensifiant les antirétroviraux ?

Débloquer les mécanismes de latence et favoriser une transcription contrôlée ?



Limiter l'extension des réservoirs

en rendant les cellules résistantes à l'infection ?

Tuer les cellules infectées

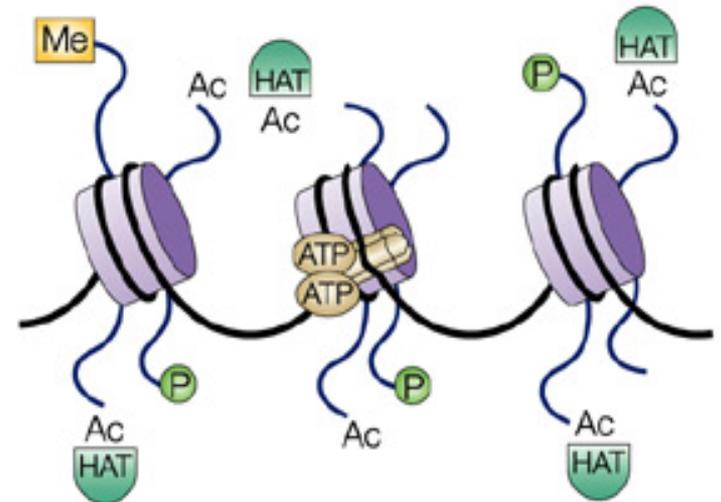
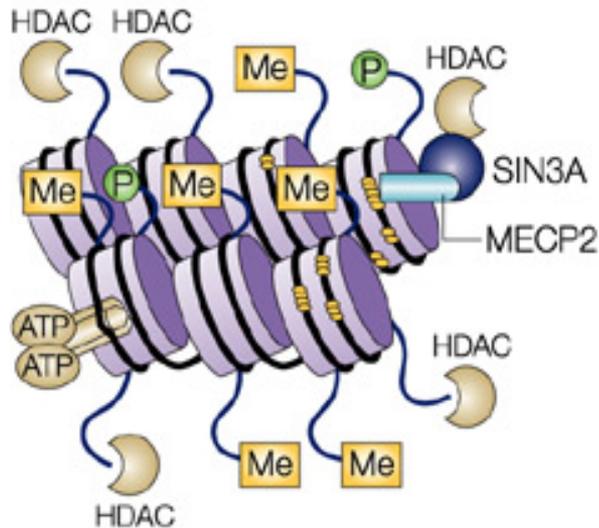
en augmentant les réponses immunitaires spécifiques ?

Combinaison de différentes stratégies

Régulation épigénétique

Hétérochromatine:
Repression
Transcriptionnelle

Euchromatine:
Activation
Transcriptionnelle

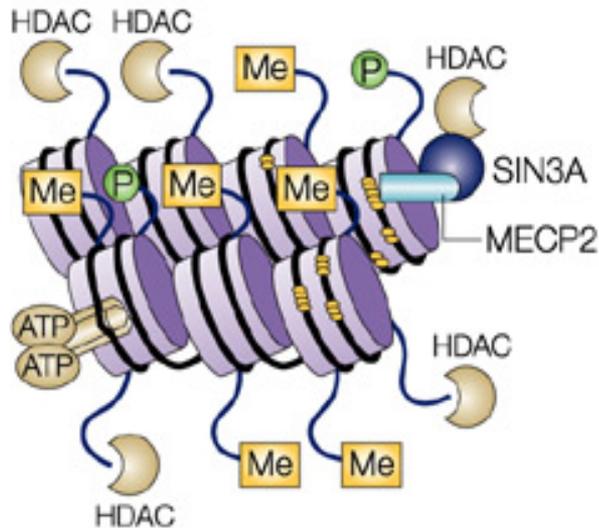


N Sluis-cremer , Pittsburgh

Régulation épigénétique

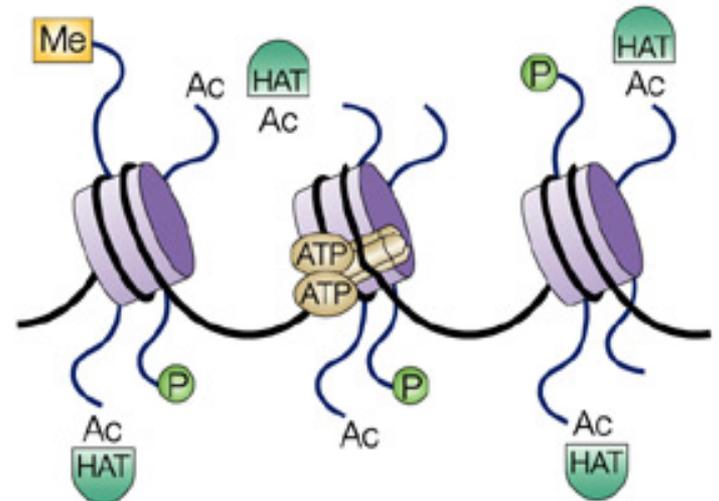
Hétérochromatine:
Repression
Transcriptionnelle

Euchromatine:
Activation
Transcriptionnelle

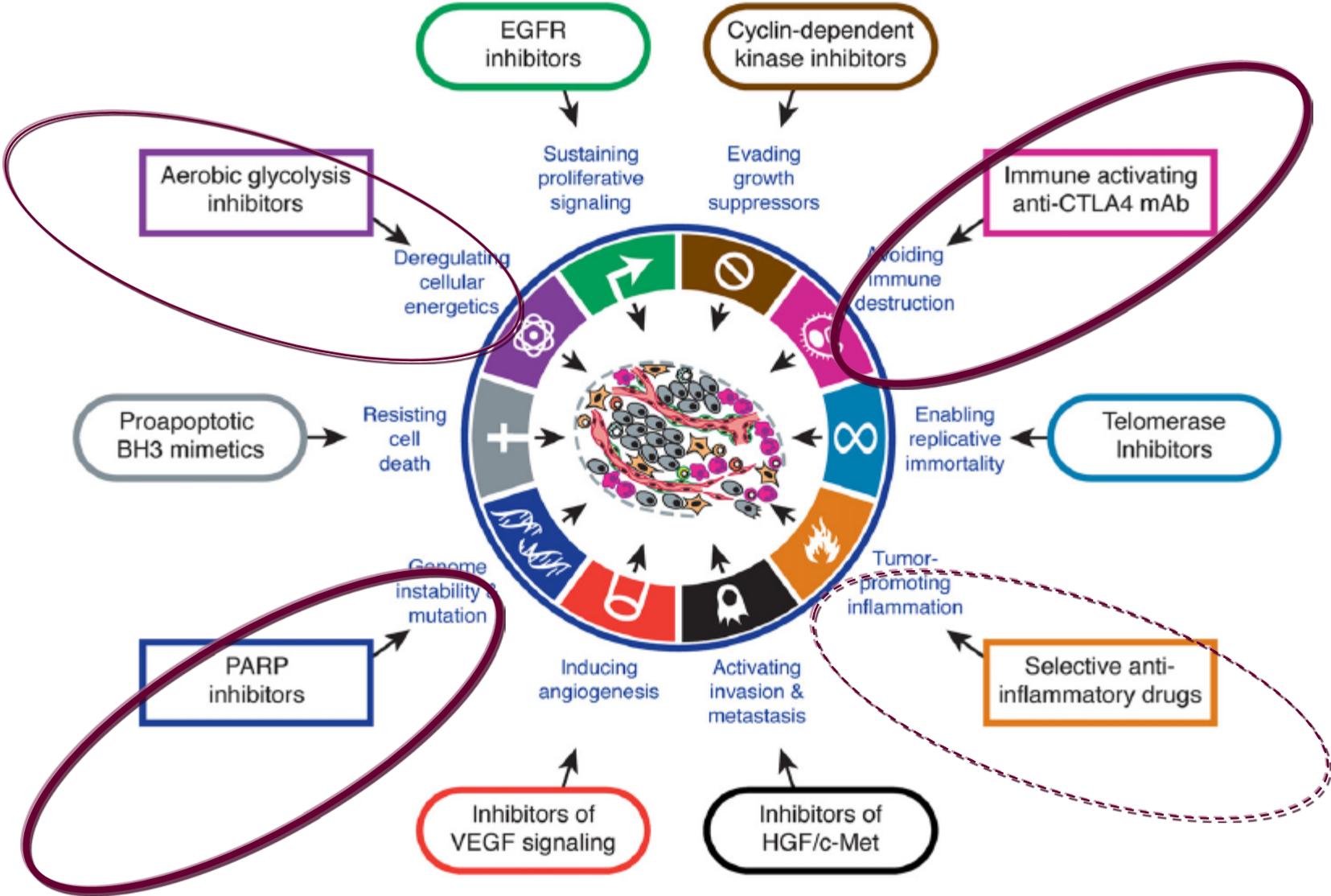


HDACs

Vorinostat: SAHA



N Sluis-cremer , Pittsburgh

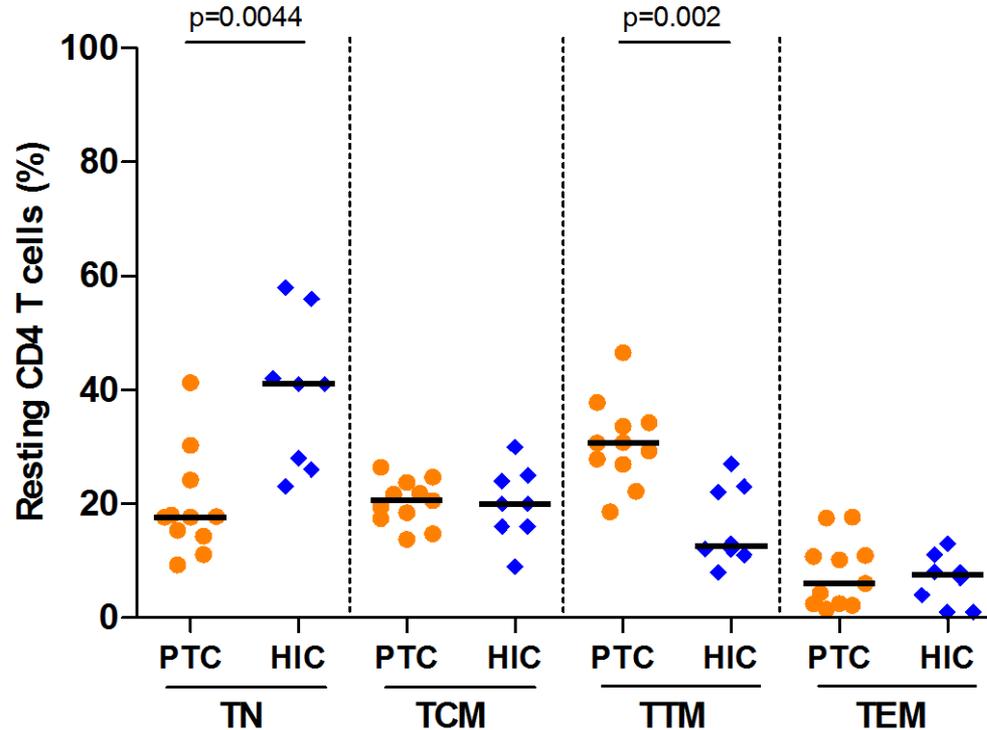


The New Generation of drugs in Cancers

Hanahan D and Weinberg R Cell 2011

Skewed CD4 subsets distribution in Post-treatment controllers

Resting CD4 Cell Subsets Distribution



- Skewed distribution of CD4 subsets:
 - Diminished TN subset
 - Increased TTM subset
- frequencies in PTC compared to HIC

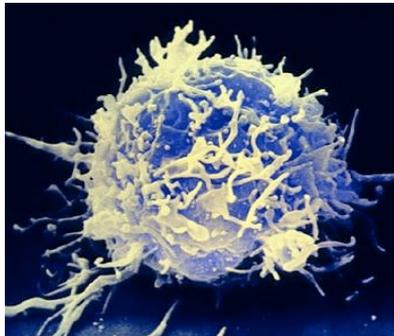
Quelles stratégies pour cibler les réservoirs HIV?

Améliorer la diffusion des médicaments dans les tissus profonds

Intensification des HAART

Augmenter les réponse immunitaires spécifiques

Immuno-modulateurs



Traitement par HAART intense et précoce

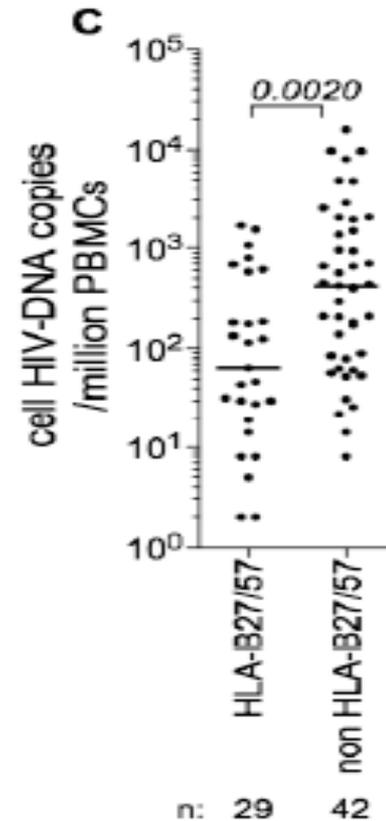
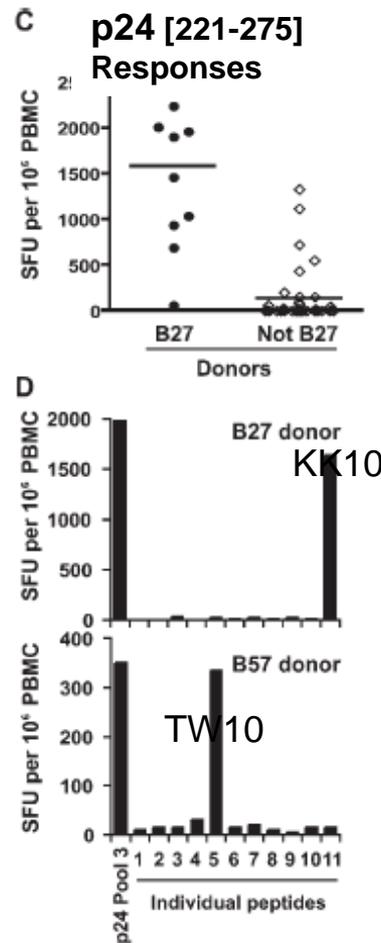
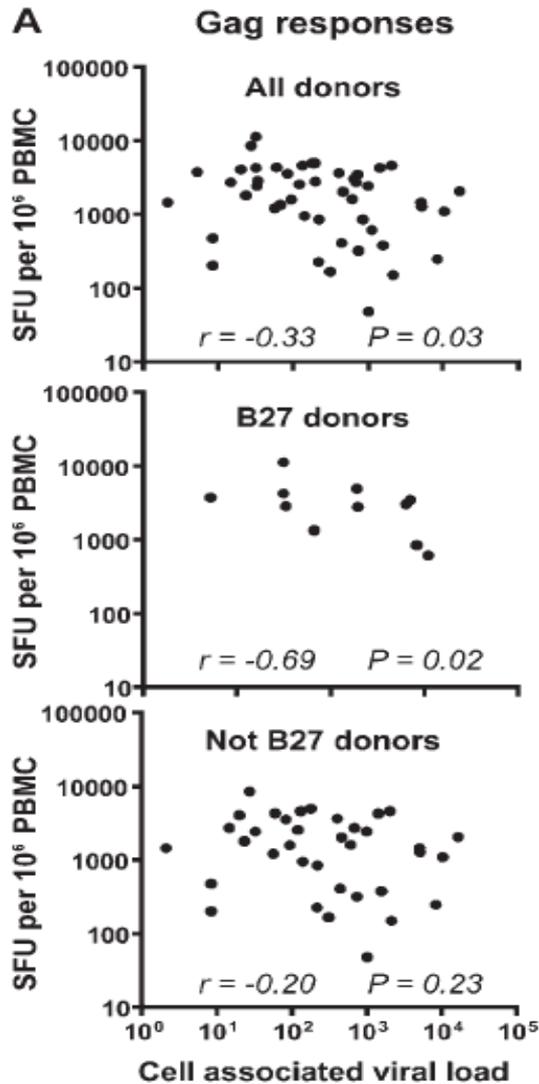
Agir sur les mécanismes de latence

Combinaison de différentes stratégies

ALT ANRS CO-15 cohort: HLA-B27-restricted Gag(KK10)-specific CD7 T cells control the HIV reservoirs

J Almeida et al. J Exp Med 2007

**Cell-associated HIV-DNA
Is lower in B27+/57+ vs negatives**



La thérapie épigénétique

Certains cancers résultent d'altérations épigénétiques régulant anormalement l'expression des gènes suppresseurs des tumeurs

Un exemple dans le cancer de poumon

(Juergens et al, Cancer Discovery dec 2011)

Essai de phase 1-2: cancer du poumon
azacitidine + entinostat: inhibiteur de méthylation de
inhibiteur de désacétylation des histones

l'ADN,

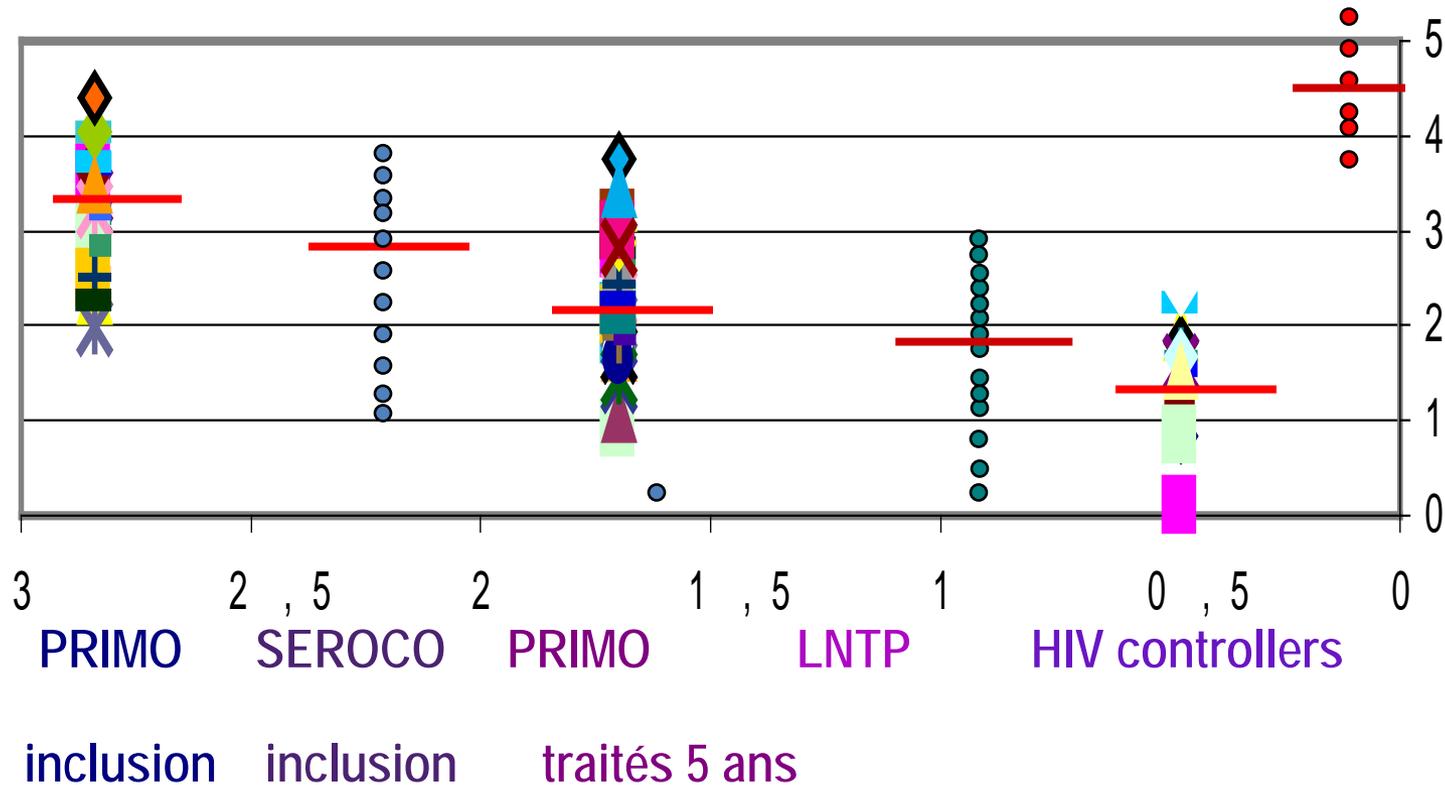
Une bithérapie qui peut permettre de restaurer
l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs

Résultats +++ chez quelques patients

Les réservoirs VIH à différents stades de l'infection à VIH: Cohortes ANRS (

HIV DNA Log copies/10⁶ PBMC

Essai ETOILE : SIDA



*Goujard 2006 Ghosn 2010, Rouzioux 2005, Martinez 2005,
Lambotte 2005, Avettand-Fenoel 2010,*

ERADICATION

STERILISATION : Eliminer toutes les cellules infectées

- Activation des cellules infectées = mort
- Cibler le provirus : prostratine, HDAC.... Associés aux ARV (bloquer l'infection de nouvelles cellules)

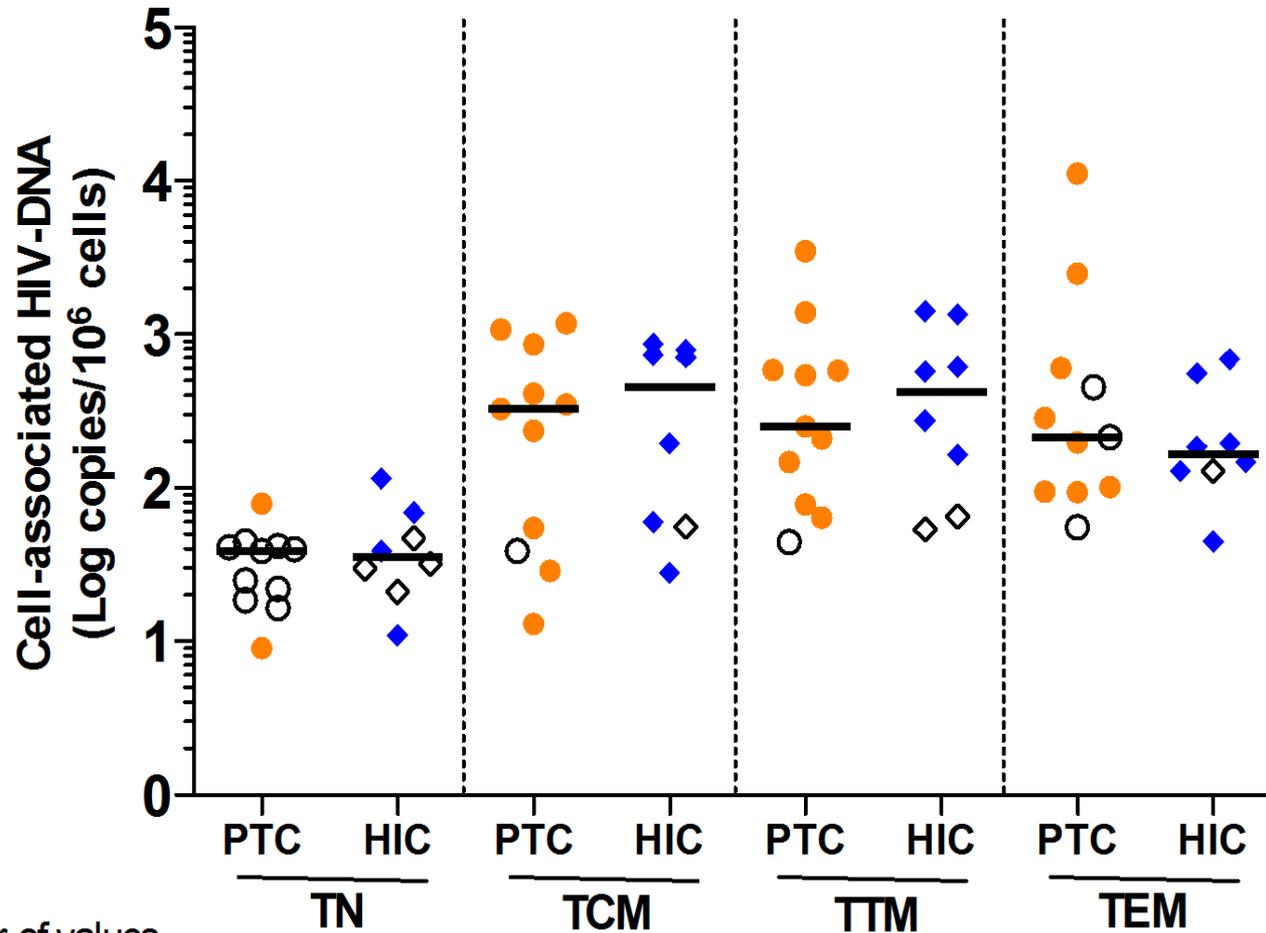
« **Shock and kill** »

REMISSION : Modèle du cancer et **HIV controllers**

- Rendre l'infection non évolutive
- Réduire les réservoirs au maximum
- Bloquer l'expression des gènes
- Préserver le système immunitaire: TT très précoce

Patients VISCONTI : PTC

Similar low reservoir size and distribution in PTC as in HIC



Number of values
below the threshold :

9/11

4/8

1/11

1/8

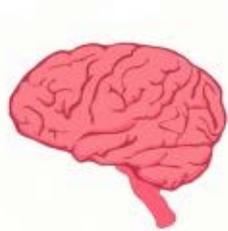
1/11

2/8

3/11

1/8

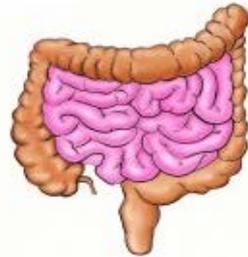
Réservoirs HIV → Réplication virale dans les compartiments anatomiques



Brain



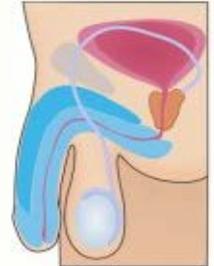
Spleen



Gut-associated lymphoid tissue



Lymph nodes



Genitourinary tract

Système Nerveux Central

Tissus Lymphoïdes

Compartiments Génitaux

Prévenir des atteintes neurologiques

Réduire les risque de transmission sexuelle

**Diminuer le réservoir
diminuer l'activation lymphocytaire**