

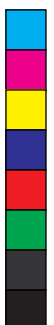


3^e

Forum
de recherches
fondamentales
et cliniques
sur le VIH

6 / 7 mai 2010
Institut Pasteur - Paris

Programme et résumés



Comité scientifique et d'organisation

Victor Appay (Inserm U 945, Université Pierre et Marie Curie)
Brigitte Autran (Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie)
Pierre Delobel (Inserm U 563, CHU de Toulouse)
Diane Descamps (Hôpital Bichat-Claude Bernard)
Olivier Lambotte (Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre)
Jean-Daniel Lelièvre (Inserm U 955, CHU Henri Mondor)
Jean-Michel Molina (Hôpital Saint-Louis, Université Paris Diderot)
Michaela Muller-Trutwin (Institut Pasteur de Paris)
Yazdan Yazdanpanah (Centre Hospitalier de Tourcoing)

ANRS

Geneviève Bétouret (Service Information scientifique et communication)
Sandrine Couffin-Cadiergues (Service recherches cliniques et thérapeutiques sur le VIH)
Elizabeth Fischer (Service recherches fondamentales sur le VIH)
Marie-Christine Simon (Service information scientifique et communication)



Sommaire

Programme.....	8
Résumés des présentations orales	15
1. La recherche sur l'infection VIH – Enjeux 2010-2012 - Le point de vue d'un clinicien au Nord (Jean-Michel Molina)	16
2. Pathogenic and non-pathogenic retroviral infections (Guido Silvestri).....	18
3. Infection par le VIH : une maladie inflammatoire (Isabelle Poizot-Martin).....	19
4. VIH, inflammation et rôle de l'IFN-alpha (Anne Hosmalin).....	20
5. Déséquilibre de production de l'IL-23 par rapport à l'IL-12p70 par les monocytes et les cellules dendritiques au cours de la primo-infection par le VIH-1 (Charles-Antoine Dutertre)	21
6. Reconnaissance innée des cellules infectées par le VIH-1 (Alice Lepelley).....	22
7. Dégranulation des cellules NK : un marqueur prédictif du syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire (IRIS) chez les patients co-infectés par le VIH-1 et la tuberculose ? (Etude ANRS 12153) (Pean Polidy)	23
8. Infection par le VIH-1 et accélération de l'immunosénescence (Victor Appay).....	24
9. La thérapie anti-rétrovirale réverte partiellement le phénotype d'immunosénescence chez les patients VIH même âgés (Delphine Sauce)	25
10. VIH, activation et immunothérapie (Jean-Daniel Lelièvre).....	26
11. Etude de la capacité de certains inhibiteurs de la protéase virale (IP) à induire une dysfonction et une sénescence des ostéoblastes in vitro : vers une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'ostéoporose induite par les IP (Claire Lagathu).....	27
12. Aspects épidémiologiques, cliniques et suivi des PVVIH d'âge ≥ 50 ans suivis au CTA du CHNU de Fann à Dakar (Noel Magloire Manga)	28
13. AIDS progression is associated with the emergence of IL-17 producing NKT cells early after SIV infection (Laure Campillo-Gimenez)	29
14. Génétique humaine de la réponse à l'infection par le virus de l'hépatite C (Laurent Abel).....	30
15. Mise en évidence d'un gène majeur contrôlant la susceptibilité à l'infection par le virus de l'hépatite C dans une population hyperendémique (Cédric Laouénan).....	31

16. Facteurs génétiques et infection VIH, apport des phénotypes "Extremes" (Julien Guernon).....	32
17. Une étude génétique d'association multi-cohortes révèle un nouveau récepteur de chimiokines, CXCR6, impliqué dans la non progression vers le SIDA (Jean-Francois Zagury).....	33
18. Inférence des réseaux fonctionnels de gènes dans l'infection non-pathogène par le V.I.S. (Brice Targat).....	34
19. Propriétés fonctionnelles de gènes d'enveloppe du VIH-1 transmis de la mère à l'enfant (Suzie Thenin).....	36
20. La séquestration de DR5 intracytoplasmique est responsable de la résistance de la mort des LTCD4+ chez les patients HIV Controllers (Lucie Barblu).....	38
21. Le contrôle du VIH-1 après interruption du traitement est associé à des faibles niveaux d'ADN viral (Asier Saez-Cirion).....	39
22. VIH et résistances à l'heure des nouveaux antirétroviraux (Anne-Geneviève Marcelin).....	40
23. VIH et résistance aux anti-CCR5 (Pierre Delobel)	41
24. Variabilité génétique du VHB et pression des antirétroviraux : quel impact dans le contexte du VIH ? (Karine Lacombe)	42
25. Facteurs associés au tropisme du VIH-1 déterminé dans l'ADN proviral chez des patients traités par anti-rétroviraux et ayant une charge virale indétectable dans le plasma : implications pour l'utilisation des antagonistes du corécepteur CCR5 (Cathia Soulie).....	43
26. Exploitation de la voie des microRNA par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (Yamina Bennasser).....	44
27. APOBEC et contrôle de la réponse immunitaire (Arnaud Moris)	45
28. Forte avidité de la réponse T CD4+ dirigée contre Gag chez les HIV Controllers : implications pour les stratégies vaccinales (Lisa A. Chakrabarti)	46
29. Les anticorps neutralisants inhibent le transfert du VIH-1 des cellules dendritiques immatures vers les lymphocytes T CD4 primaires (Alizé Proust).....	47
30. HIV-1 Vif protein binds the antiviral factor APOBEC3G mRNA and regulates its translation (Serena Bernacchi).....	48
31. HIV penetration into human genital mucosa and viral reservoirs (Morgane Bomsel)....	49
32. Réservoirs et pénétration des antirétroviraux (Caroline Solas).....	50
33. Susceptibilité à l'infection par VIH-1 des vésicules séminales humaines (Claire Deléage)	51

34. La protéine p21Cip1/WAF1 contrôle la réplication du VIH-1 dans les macrophages et les lymphocytes T CD4+ primaires (Anna Bergamaschi).....	52
35. Facteurs immunologiques impliqués dans l'établissement et la persistance d'un réservoir pour le VIH (Nicolas Chomont).....	53
Présentations affichées	55
1. Structural dynamic of HIV-1 Reverse Transcriptase as a new target to block HIV replication (Daouda Abba Moussa).....	56
2. Suivi biologique d'une cohorte prospective de 101 patients infectés par le VIH et mis sous traitements antirétroviraux (Komivi Mawusi Aho).....	57
3. Réponse immuno-virologique aux ARV de la patiente RBF168, infectée par la souche prototype VIH 1 groupe P (Elodie Alessandri).....	58
4. De nouveaux acteurs dans la régulation de la production des ARNm tat du VIH-1 (Lilia Ayadi).....	59
5. Impact du polymorphisme génétique de l'orosomucoïde sur la pharmacocinétique de deux inhibiteurs de protéase : l'amprénavir et l'atazanavir (ANRS104 et ANRS107) (Aurélié Barrail-Tran).....	60
6. Multidimensional scaling initialized by singular value decomposition leads to efficient gene expression signature definition for Tcell subsets in HIV infection (Christophe Bécavin).....	62
7. Evaluation de la concordance de deux test non invasifs du foie : fibrotest et fibroscan, chez des sujets mono-infectés vhc et co-infectés vih-vhc (Maryse Bensalem)	63
8. Pharmacogénétique du CYP2B6, impact sur la pharmacocinétique de la névirapine chez des patients cambodgiens infectés par le VIH-1 (Essai ANRS 12154-PECAN) (Julie Bertrand).....	64
9. Caractérisation d'un fragment d'anticorps simple-chaîne de lama inhibiteur de la protéine Nef du VIH-1 (Jérôme Bouchet).....	66
10. Description clinique et immuno-virologique des 81 patients inclus dans l'Observatoire National des « HIV Controllers » (Etude ANRS EP36) (Farouly Boufassa).....	67
11. Disease progression after intrasubtype superinfection in an HLA-B57-positive asymptomatic long-term non-progressor initially infected with a nef-defective HIV-1 strain (Martine Braibant).....	68
12. Histoire de l'infection périnatale par le VIH, 15 ans après la contamination périnatale : niveau d'ADN-VIH et nombre de lymphocytes T CD4 -Etude ANRS-EP38-IMMIP (Florence Buseyne).....	69

13. Nonpathogenesis of SIV infection is associated with reduced inflammation and recruitment of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes (Laure Campillo-Gimenez)	71
14. La présentation d'épitopes cryptiques du VIH-1 pour la surveillance immune par les CTLs et l'échappement viral (Sylvain Cardinaud).....	72
15. Tetherin restricts HIV-1 Cell-To-Cell Transfer (Nicoletta Casartelli).....	73
16. Comparaison du Fibroscan, Fibrotest, score APRI et de deux algorithmes combinant ces méthodes pour le diagnostic non invasif de la fibrose hépatique chez des patients co-infectés VIH-VHC : Collaboration entre la cohorte ANRS CO13 HEPAVIH et FIBROSTIC (Laurent Castera).....	74
17. Épitope ciblé par l'anticorps monoclonal 2G12 : rôle des boucles variables V1V2 et V3 dans l'accessibilité (Antoine Chaillon).....	76
18. HIV Controllers harbor a high avidity memory CD4+ T Cell population directed against Gag : an ANRS EP36 study (Lisa A. Chakrabarti).....	78
19. Datation de la transmission mère enfant du VIH à partir de suivi longitudinal de séquences (Frantz Depaulis)	79
20. Protective HLA alleles limit HIV Reservoir in Central Memory CD4+ T cells (Benjamin Descours).....	80
21. Place de la co-infection par le virus de l'hépatite B de génotype G chez les patients infectés par le VIH : impacts cliniques et thérapeutique (Nathalie Desire).....	81
22. Early divergence in neutrophil apoptosis between pathogenic and non-pathogenic SIV infections of non-human primates (Carole Elbim)	83
23. Early divergence in lymphoid tissue apoptosis between pathogenic and non-pathogenic SIV infections of non-human primates (Jerôme Estaquier)	84
24. Non pathogenesis of SIV infection is associated with reduced inflammation and recruitment of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes, not to lack of an interferon type I response, during the acute phase (Jerôme Estaquier).....	85
25. An interfacial peptide-based strategy targeting HIV-1 Integrase/partner interactions dramatically reduces HIV replication (Monia Fourar)	86
26. A new mechanism enhancing the ability of HIV-1 to escape from antiretrovirals (Slim Fourati).....	87
27. Infection postnatale tardive à VIH-1 en France en l'absence d'allaitement maternel: l'expérience de la cohorte périnatale ANRS CO01 (Pierre Frange).....	88
28. Fréquence rare de virus à tropisme X4/DM chez les patients infectés par un virus VIH-1 non-B au moment de leur primo-infection (Pierre Frange).....	89

29. Description de VIH-1 complexes et de formes recombinantes de deuxième génération isolés chez des patients au moment de la primo-infection en France (1996-2007) : Cohorte PRIMO ANRS (Julie Galimand).....	90
30. COGNIVIH, une échelle brève de dépistage des troubles neurocognitifs chez les personnes vivant avec le VIH : données préliminaires (Jacques Gasnault).....	91
31. HIV-1 integrase inhibition by quinolone compounds: contribution to the rational design of new inhibitors (Allan Guiguen).....	93
32. Contrôle immuno-virologique prolongé après interruption d'un traitement antirétroviral initié en primo-infection HIV-1 (Laurent Hocqueloux).....	94
33. Assembly of the tRNA(Lys,3) packaging complex in HIV-1 (Lydia Kobbi)	95
34. Commitment to apoptosis in productively HIV-1-infected CD4+ T lymphocytes is initiated by lysosomal membrane permeabilization and autophagy (Mireille Laforge)	96
35. Mechanism of impairment of IL-7 responses in HIV Infection: abnormal relocalization of phosphorylated STAT5 (Ivan Landires).....	97
36. Influence de la pénétration des cARTs dans le système nerveux central sur l'incidence des SIDA neurologiques (Emilie Lanoy).....	98
37. Hic1-mediated transcriptional latency regulation of HIV-1 in microglial cell (Valentin Le Douce).....	100
38. Les anticorps neutralisants le VIH inhibent l'infection des cellules dendritiques plasmacytoïdes (Alexandre Lederle).....	101
39. Le Ritonavir et la combinaison Lopinavir/Ritonavir induisent une sénescence prématurée dans les cellules endothéliales d'artère coronaire humaine en culture qui est reversée par le pravastatine (Chloé Lefèvre)	102
40. Effet de la vaccination à l'aide d'une protéine TAT complexée à un sucre sulfaté sur l'infection de macaques cynomolgus par le virus SHIV162P3 (Michel Léonetti)...	103
41. Evaluation de la maladie hépatique chez des patients co-infectés VIH/VHC suivis dans le programme ESTHER/CALMETTE et impact du VHC sur l'évolution de la maladie VIH (Nathalie Lerolle)	104
42. Les cellules germinales testiculaires: une cible cellulaire du VIH-1 ? (Dominique Mahé).....	105
43. Structure-function analysis of the HIV-1 integrase in complex with two cellular proteins: LEDGF and INI1 (Benoît Maillot)	106
44. Sensibilités de différents SIV à TRIM5 (João Mamede).....	107
45. Caractéristiques épidémiologiques des groupes vulnérables de la cohorte des patients du CTA du CHNU de Fann à Dakar (Noel Magloire Manga).....	108

46. Organisation dynamique membranaire des récepteurs CD4 et CCR5 (Patrice Mascalchi).....	109
47. Résistance HMGB1-dépendante des DC infectées par le VIH-1 à l'activité tueuse des NK - Contribution à l'établissement de réservoirs viraux (Marie-Thérèse Melki)..	110
48. Rôle de la transcription dite « ANTISENS » à partir du LTR 3' de l'ADN proviral du HIV-1 (Jean-Michel Mesnard)	111
49. Effet de la température sur la conservation du plasma et sang sur papier filtre, pour le suivi biologique (charge virale et résistance) des patients sous ARV dans les pays du Sud (Marjorie Monleau).....	112
50. Effet d'un traitement antirétroviral combiné de courte durée initié en phase aigüe ou chronique sur l'infection SIV du tractus génital mâle (Marina Moreau)	113
51. Les échecs au traitement antirétroviral chez l'enfant infecté par le VIH-1 à Bobo- Dioulasso : essai ANRS 12103 (Boubacar Nacro).....	114
52. Etude de l'influence du vieillissement et de l'inflammation sur la fréquence et l'incidence des facteurs de risque cardiovasculaires dans une cohorte de Patients infectés par le VIH au Cameroun (Judith L. Ngondi).....	115
53. HIV drug resistance profile of protease and integrase genes in HIV-1 CRF 01_AE infected cambodian patients failing LPV-based 2nd line antiretroviral regimen (Janin Nouhin)	116
54. Dosage plasmatique simultané de huit antirétroviraux par HPLC (Adama Ouiminga)	118
55. Le site d'initiation de la dimérisation (DIS) de l'ARN génomique du VIH-1 est impliqué dans la régulation de l'épissage et de l'encapsidation de l'ARN viral (Jean-Christophe Paillart).....	119
56. Rôle des ligands de TLR7 et NOD2 dans l'augmentation de la réponse muqueuse anti-gp140, adsorbée à la surface de nanoparticules de PLA (Charlotte Primard)	120
57. Evolution des formes circulaires 2-LTR du VIH-1 chez des patients traités par raltegravir et in vitro dans des cellules HELA P4 infectées (Sandrine Reigadas)	122
58. Etude de la résistance chez les patients en échec d'un traitement comprenant raltegravir, etravirine et darunavir/ritonavir dans l'essai ANRS 139 TRIO (Bénédicte Roquebert)	123
59. Small CCR5 Ligand-Mediated Allosteric Inhibition of Gp120 Binding Correlates with Inverse Agonism at CCR5 but not with Anti-HIV Activity (Patricia Rueda)	124
60. La traduction du VIH est initiée d'une manière originale (Bruno Sargueil)	125
61. A functional role for Interleukin-7 in CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cell homeostasis (Rôle de l'interleukine 7 sur l'homéostasie des cellules T régulatrices CD4+ CD25+ FOXP3+) (Federico Simonetta)	126

62. Mécanisme de l'inhibition de la réplication de VIH-1 par un bis-thiadiazolbenzene-1, 2-diamine (Beata Szafarowicz)	127
63. Immune deficiency is associated with increased insulin resistance in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: the ANRS COPANA cohort (Corinne Vigouroux).....	128

Programme

Jeudi 6 Mai

9h15 Accueil

10h – 10h15 Ouverture : Jean-François Delfraissy, Directeur de l'ANRS

10h15 - 11h15 : La recherche sur l'infection VIH : enjeux 2010-2012

**Modérateurs : Brigitte Autran, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris
Yazdan Yazdanpanah, Centre hospitalier de Tourcoing**

10h15 - 10h30

La recherche sur l'infection VIH. Enjeux 2010-2012.

Le point de vue d'un clinicien au Nord.

Jean-Michel Molina, Hôpital Saint-Louis, Université Paris Diderot, Paris

10h30 - 10h45

Le point de vue d'un clinicien au Sud

Serge Eholié, CHU Treichville, Abidjan, Côte d'Ivoire

10h45 - 11h15

La recherche fondamentale, toujours au cœur de la réponse aux nouveaux enjeux de l'infection VIH

Françoise Barré-Sinoussi, Institut Pasteur, Paris

11h15 - 11h40 Pause

11h40 – 13h20 : VIH et inflammation

Modérateurs : Michaela Muller-Trutwin, Institut Pasteur

Christine Katlama, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris

11h40 - 12h10

Pathogenic and Non-Pathogenic Retroviral Infections

Guido Silvestri, Emory University , Atlanta, USA

12h10 - 12h30

Infection par le VIH : une maladie inflammatoire

Isabelle Poizot-Martin, Hôpital Sainte-Marguerite, Marseille

12h30 - 12h50

VIH, inflammation et rôle de l'IFN-alpha

Anne Hosmalin, Inserm U 567, Université Paris-Descartes, Paris

Déséquilibre de production de l'IL-23 par rapport à l'IL-12p70 par les monocytes et les cellules dendritiques au cours de la primo-infection par le VIH-1

Charles-Antoine Dutertre, CNRS/UMR 8104, Inserm, U1016, Paris

12h50 – 13h20 : Communications orales

12h50 - 13h00

Reconnaissance innée des cellules infectées par le VIH-1

Alice Lepelley *et collaborateurs*, Institut Pasteur, Paris

13h00 - 13h10

Dégranulation des cellules NK : un marqueur prédictif du syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire (IRIS) chez les patients co-infectés par le VIH-1 et la tuberculose ? : Etude ANRS 12153

Pean Polidy *et collaborateurs*, Institut Pasteur de Phnom Penh, Cambodge

13h10 - 13h20 Discussion

13h20 - 14h30 Déjeuner et Posters

14h30 - 16h00 : VIH et vieillissement

Modérateurs : Pierre Corbeau, Institut de génétique humaine, Montpellier
Franck Boccard, CHU Saint-Antoine, Paris

14h30 - 14h50

Infection par le VIH-1 et accélération de l'immunosénescence

Victor Appay, Inserm U 945, Université Pierre et Marie Curie, Paris

La thérapie anti-rétrovirale réverte partiellement le phénotype d'immunosénescence chez les patients VIH même âgés

Delphine Sauce *et collaborateurs*, Inserm U 945, Université Pierre et Marie Curie, Paris

14h50 - 15h10

VIH, activation et immunothérapie

Jean-Daniel Lelièvre, CHU Henri Mondor, Créteil

15h10 – 15h40 : Communications orales

15h10 - 15h20

Etude de la capacité de certains inhibiteurs de la protéase virale (IP) à induire une dysfonction et une sénescence des ostéoblastes in vitro : vers une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'ostéoporose induite par les IP

Claire Lagathu *et collaborateurs*, Inserm UMRS 938, Paris

15h20 - 15h30

Aspects épidémiologiques, cliniques et suivi des PVVIH d'âge ≥ 50 ans suivis au CTA du CHNU de Fann à Dakar

Noel Magloire Manga *et collaborateurs*, CHNU Fann, Dakar

15h30 - 15h40

La progression vers un SIDA est associée à l'émergence de cellules NKT productrices d'IL-17 dès la primo-infection SIV

Laure Campillo-Gimenez *et collaborateurs*, Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil

15h40 - 15h50 Discussion

15h50 – 16h20 Pause

16h20 - 18h00 : Les apports de la génétique humaine

Modérateurs : Ioannis Theodorou, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris
Philippe Morlat, CHU de Bordeaux

16h20 - 16h40

Génétique humaine de la réponse à l'infection par le virus de l'hépatite C

Laurent Abel, Inserm U 550, Université Paris Descartes, Paris

Mise en évidence d'un gène majeur contrôlant la susceptibilité à l'infection par le virus de l'hépatite C dans une population hyperendémique

Cédric Laouénan, Inserm U 980, Université Paris Descartes, Paris

16h40 - 17h00

Facteurs génétiques et infection VIH, apport des phénotypes « extrêmes »

Julien Guernon, Inserm UMR-S 945, Université Pierre et Marie Curie, Paris

17h00 – 17h20 : Communications orales

17h00 - 17h10

Une étude génétique d'association multi-cohortes révèle un nouveau récepteur de chimiokines, CXCR6, impliqué dans la non progression vers le SIDA

Jean-François Zagury *et collaborateurs*, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris

17h10 - 17h20

Inférence des réseaux fonctionnels de gènes dans l'infection non-pathogène par le V.I.S.

Brice Targat *et collaborateurs*, Institut des Hautes Etudes Scientifiques, Bures sur Yvette

17h20 - 17h30 Discussion

17h30 – 18h00 : Communications orales

17h30 - 17h40

Propriétés fonctionnelles de gènes d'enveloppe du VIH-1 transmis de la mère à l'enfant

Suzie Thenin *et collaborateurs*, Inserm U 966, Université François Rabelais, Tours

17h40 - 17h50

La séquestration de DR5 intracytoplasmique est responsable de la résistance de la mort des LTCD4+ chez les patients HIV Controllers

Lucie Barblu *et collaborateurs*, CNRS UMR 8147, Université Paris Descartes, Paris

17h50 - 18h00

Le contrôle du VIH-1 après interruption du traitement est associé à des faibles niveaux d'ADN viral

Asier Saez-Cirion *et collaborateurs*, Institut Pasteur, Paris,

18h00 - 18h30 Posters

18h30 - 19h00 Happy Hour

Vendredi 7 Mai

9h00 - 10h30 : Quoi de neuf sur la résistance en 2010 ?

Modérateurs : Diane Descamps, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris
Jean-Michel Pawlotsky, Hôpital Henri Mondor, Créteil

9h00 - 9h15

VIH et résistances à l'heure des nouveaux antirétroviraux

Anne-Geneviève Marcelin, Inserm U943, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

9h15 - 9h30

VIH et résistance aux anti-CCR5

Pierre Delobel, Inserm U 563, CHU de Toulouse

9h30 - 9h45

VIH et résistance au Sud

Avelin Aghokeng, Institut Recherche et Développement, Yaoundé, Cameroun

9h45 - 10h00

Variabilité génétique du VHB et pression des antirétroviraux : quel impact dans le contexte du VIH ?

Karine Lacombe, Inserm UMR S707, Hôpital Saint-Antoine, Paris

10h00 - 10h10

Facteurs associés au tropisme du VIH-1 déterminé dans l'ADN proviral chez des patients traités par antirétroviraux et ayant une charge virale indétectable dans le plasma: implications pour l'utilisation des antagonistes du corécepteur CCR5

Cathia Soulie *et collaborateurs*, Université Pierre et Marie Curie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

10h10 - 10h30 Discussion

10h30 - 11h10 Pause

11h10 - 12h40 : Contrôle de la réplication virale

Modérateurs: Olivier Schwartz, Institut Pasteur, Paris
Olivier Lambotte, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre

11h10 - 11h30

Exploitation de la voie des microRNA par le virus de l'immunodéficience humaine

Yamina Bennasser, Institut de Génétique Humaine, Montpellier

11h30 - 11h50

APOBEC et contrôle de la réponse immunitaire

Arnaud Moris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

11h50 - 12h10

Forte avidité de la réponse T CD4+ dirigée contre Gag chez les HIV

Controllers : implications pour les stratégies vaccinales

Lisa Chakrabarti, Institut Pasteur, Paris

12h10 – 12h40 : Communications orales

12h10 - 12h20

Les anticorps neutralisants inhibent le transfert du VIH-1 des cellules dendritiques immatures vers les lymphocytes T CD4 primaires

Alizé Proust *et collaborateurs*, UMRS U748, Université de Strasbourg

12h20 - 12h30

HIV-1 Vif protein binds the antiviral factor APOBEC3G mRNA and regulates its translation

Serena Bernacchi *et collaborateurs*, CNRS, BMC, Université de Strasbourg

12h30 - 12h40 Discussion

12h40 – 14h00 Déjeuner et Posters

14h - 16h30 : Latence virale, réservoirs et éradication

**Modérateurs : Christine Rouzioux, Hôpital Necker, Université René Descartes, Paris
Alain Lafeuillade, Hôpital Font Pré, Toulon**

14h00 - 14h20

HIV penetration into human genital mucosa and viral reservoirs

Morgane Bomsel, Institut Cochin, Université Paris-Descartes, Paris

14h20 - 14h40

Réservoirs et pénétration des antirétroviraux

Caroline Solas, CHU Timone, Marseille

14h40 - 15h00

Que nous apprend l'étude des réservoirs viraux chez les patients contrôlant l'infection ?

Véronique Avettand-Fenoel, Hôpital Necker, Paris

15h00 – 15h20 : Communications orales

15h00 - 15h10

Susceptibilité à l'infection par HIV-1 des vésicules séminales humaines

Claire Deleage *et collaborateurs*, Inserm U625, Rennes

15h10 - 15h20

La protéine p21Cip1/WAF1 contrôle la réplication du VIH-1 dans les macrophages et les lymphocytes T CD4+ primaires

Anna Bergamaschi *et collaborateurs*, Institut Pasteur, Paris

15h20 - 15h30 Discussion

15h30 - 16h00

Facteurs immunologiques impliqués dans l'établissement et la persistance d'un réservoir pour le VIH

Nicolas Chomont, Vaccine and Gene Therapy Institute, Port Saint-Lucie, USA

16h00 - 16h30 Table Ronde

**Modérateurs : Christine Rouzioux, Hôpital Necker, Université René Descartes, Paris
Alain Lafeuillade, Hôpital Font Pré, Toulon**

**L'éradication virale est-elle envisageable ?
Quelles stratégies thérapeutiques?**

16h30

Clôture

Résumés des présentations orales

1. La recherche sur l'infection VIH – Enjeux 2010-2012

Le point de vue d'un clinicien au Nord

Jean-Michel Molina

*Service des Maladies Infectieuses, Hôpital Saint-Louis et Université Paris Diderot
Paris 7*

jean-michel.molina@sls.aphp.fr

Les progrès considérables accomplis ces 15 dernières années dans le traitement de l'infection VIH/SIDA grâce à des multi-thérapies de plus en plus efficaces et de mieux en mieux tolérées pourraient laisser penser que les principaux objectifs de la recherche ont été atteints au Nord où ces traitements sont facilement accessibles.

En 2008, on estime cependant à encore plus de 1500 le nombre de cas de SIDA en France, en raison principalement d'un dépistage trop tardif de l'infection VIH, et surtout un nombre très élevé de nouvelles infections, près de 7000, qui n'a pas diminué sensiblement ces dernières années, en particulier dans certains groupes à risque.

Par ailleurs, si l'espérance de vie des patients infectés par le VIH sous traitement s'est nettement améliorée elle reste encore inférieure à celle des personnes non-infectées, et on assiste aujourd'hui à l'émergence de nouvelles pathologies chez les personnes infectées par le VIH dont certaines sont liées aux complications à long terme des multi-thérapies antirétrovirales.

Les enjeux de la recherche sur le VIH/SIDA au Nord pour les années à venir sont donc très nombreux et justifient une forte mobilisation dans plusieurs domaines.

Il est tout d'abord nécessaire de développer des programmes de recherche en sciences sociales et humaines permettant de favoriser le dépistage de l'infection par le VIH chez les personnes à risque afin qu'elles puissent avoir rapidement accès à un traitement. La mise au point de nouveaux tests simples et fiables de diagnostic de l'infection VIH est également souhaitable, en particulier pour dépister les infections récentes, source importante de contamination.

Chez les personnes déjà sous traitement, des recherches sont à mener dans différents domaines :

- Il reste nécessaire de développer de nouvelles molécules antirétrovirales, en particulier de nouvelles classes de molécules ayant une activité antivirale puissante, ne sélectionnant pas facilement de résistance, et dont la tolérance à long terme est satisfaisante. En effet, les limites des traitements actuels sont réelles et ne doivent pas être sous-estimées.

- Il faut poursuivre les recherches permettant de mieux comprendre, prévenir et traiter les complications liées à l'utilisation prolongée des traitements antirétroviraux : lipodystrophies, troubles du métabolisme lipidique et glycémique, toxicités rénales, cardio-vasculaires, osseuses, hépatiques et neurologiques.

- Les recherches sur la survenue fréquente de cancers chez les personnes infectées par le VIH doivent être approfondies, et en particulier dans le cadre des cancers viro-induits (lymphomes, cancers anaux, du col utérin, hépatiques). Une action directe sur les virus impliqués doit être envisagée (EBV, HHV-8, HPV, HBV) et la disponibilité prochaine de nouvelles molécules visant le virus de l'hépatite C devrait entraîner une révolution thérapeutique dans ce domaine. Par ailleurs, des traitements visant à corriger le déficit immunitaire persistant chez des sujets bien contrôlés virologiquement devraient être évalués, car ce déficit immunitaire aggrave le risque de survenue de ces cancers. Enfin, les recherches visant à supprimer les agents cancérigènes (tabac) doivent se poursuivre.

- L'enjeu essentiel reste celui de l'éradication définitive du virus, permettant la suspension des traitements antirétroviraux actuels. Une meilleure compréhension du phénomène de latence virale au sein du réservoir viral est indispensable. Des stratégies visant ces réservoirs doivent être évaluées, en utilisant des molécules capables d'éliminer ces réservoirs ou de les réduire, tout en poursuivant les antirétroviraux. Des stratégies visant à empêcher la reprise du cycle de réplication des virus latents lors de l'arrêt des traitements seraient également intéressantes. Enfin, des stratégies visant à stimuler les réponses immunes spécifiques anti-VIH sont également essentielles à évaluer, c'est le cas en particulier des vaccins thérapeutiques dont les objectifs sont donc différents de ceux des vaccins préventifs.

- L'utilisation plus large des antirétroviraux chez les personnes infectées pourrait également avoir un rôle dans la prévention de la transmission de l'infection par le VIH, comme le suggèrent un certain nombre d'études physiopathologiques et observationnelles. Ces stratégies doivent être validées dans le cadre d'études prospectives, et reposent la question du moment optimal de démarrage des traitements antirétroviraux chez les personnes infectées.

La prévention de nouvelles contaminations par le VIH est bien entendu une des grandes priorités de la recherche aujourd'hui. Elle doit s'appuyer sur des recherches en sciences sociales et humaines afin de mieux analyser les facteurs comportementaux conduisant à des pratiques à risque. Les recherches sur un vaccin préventif doivent se poursuivre avec comme objectif la prévention des contaminations par le VIH. Les timides espoirs suscités par les résultats mitigés du vaccin ALVAC/AIDSVAX en Thaïlande doivent être encouragés afin d'essayer de comprendre les facteurs immunologiques de cette protection. Par ailleurs, suite aux résultats négatifs des microbicides classiques, de nouvelles stratégies de prévention utilisant les antirétroviraux administrés par voie locale ou générale doivent être étudiées. Les premières données des modèles animaux sont probantes, et les résultats de certaines études menées chez l'homme seront bientôt disponibles. Il s'agit là d'un domaine d'investigation important et complexe, qui devra s'appuyer sur une meilleure compréhension des premières étapes de l'infection par le VIH et de la diffusion des antirétroviraux dans les compartiments génitaux.

Toutes ces recherches ne pourront être menées qu'avec une implication forte des chercheurs, une étroite collaboration multi-disciplinaire nationale et internationale, un soutien et une participation active des milieux associatifs, et une aide budgétaire publique et privée qui devra s'amplifier.

2. Pathogenic and non-pathogenic retroviral infections

Guido Silvestri

University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, USA

gsilvest@mail.med.upenn.edu

In recent years there has been a growing appreciation of the importance of “comparative AIDS research” (i.e., studies of HIV and SIV infections in different hosts) as a tool to understand HIV pathogenesis and to improve both prevention and therapy of HIV infection. Focus of this lecture is to provide a state-of-the-art summary of the field of natural, nonprogressive SIV infections of hosts such as sooty mangabeys and African green monkeys.

Natural SIV infections are the result of an evolutionary adaptation that allows a peaceful coexistence of lentiviruses and the primate immune system. Of note, this adaptation does not involve control of viremia but, rather, is characterized by phenotypic changes to CD4+ T cells, limited immune activation and preserved mucosal immunity, all of which contribute to the benign phenotype of these infections and, possibly, to the reduced rates of vertical SIV transmission.

In this presentation, I will: (i) summarize the main immunological and virological features of natural, non-pathogenic SIV infections, including the ability to mount robust innate immune responses to the virus; (ii) revisit the main hypotheses that were proposed to explain the apathogenicity of these infections; and (iii) discuss how a different pattern of in vivo infected CD4+ T cells, with central memory cells being relatively spared from direct virus infection, may preserve CD4+ T cell homeostasis and reduce immune activation in SIV-infected natural hosts.

3. Infection par le VIH : une maladie inflammatoire

Isabelle Poizot-Martin

Service d'ImmunoHématologie Clinique, Centre d'Informations et de Soins de l'Immunodéficience Humaine et des Hépatites virales, CHU Sainte Marguerite, Marseille

isabelle.poizot@ap-hm.fr

La persistance d'une activation immunitaire chez des patients traités avec une charge virale plasmatique durablement contrôlée témoigne de l'insuffisance des thérapeutiques utilisées jusqu'à ce jour. Son déterminisme est probablement plurifactoriel (réplication virale résiduelle au niveau du réservoir/sanctuaires, phénomène de translocation microbienne, rôle du CMV voire d'autres agents infectieux,...) et reste encore à ce jour débattu. Mais quel qu'en soit son origine, cette activation immunitaire persistante est doublement délétère: elle constitue un obstacle à une reconstitution immunitaire satisfaisante; elle participe à l'instauration et au maintien d'une inflammation chronique. Cette inflammation chronique contribue au développement d'une athérosclérose, dont la forte prévalence infraclinique notamment au niveau coronarien vient d'être rapportée.

Les conséquences à long terme d'un déficit immunitaire prolongé et d'une inflammation chronique s'expriment désormais au quotidien chez les patients suivis avec notamment la survenue de certains cancers et de complications cardiaques et vasculaires.

La mise à disposition de nouvelles classes thérapeutiques à plus forte capacité de diffusion dans le réservoir/sanctuaires, et pour les inhibiteurs d'entrée, avec des effets immunologiques spécifiques offrent une réelle possibilité d'optimiser davantage l'efficacité du traitement antirétroviral. De nombreux essais cliniques notamment d'intensification sont en cours, certains ont été présentés à la CROI 2010 avec des résultats discordants. Ces premiers essais ont eu le mérite cependant de souligner la nécessité de mieux définir les patients (âge) et les cibles évalués (iléon), et de disposer à présent de nouveaux marqueurs de suivi (marqueurs d'activation immunitaire et d'inflammation). Ces marqueurs permettront par ailleurs d'identifier les patients à plus haut risque d'évolutif.

En attendant les résultats de ces futurs essais, comme nous l'avons fait dans les années 90 vis à vis des infections opportunistes, l'évolutivité des patients suivis pose la question de l'instauration d'une prophylaxie primaire des accidents vasculaires.

4. VIH, inflammation et rôle de l'IFN-alpha

Anne Hosmalin

*Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR 8104, Université Paris-Descartes,
Paris, France*

anne.hosmalin@inserm.fr

Les cellules dendritiques (DC) plasmacytoïdes (pDC) sont le principal type cellulaire producteur d'interférons (IFN) de type I, cytokines au rôle antiviral. Leur capacité de répondre à une stimulation virale in vitro est diminuée à la primo-infection et dans l'infection chronique, en corrélation avec l'immunodéficience. Leur nombre est réduit dans la circulation chez les patients infectés par le VIH. Parmi les mécanismes potentiels de cette cytopénie, l'hypothèse de la domiciliation dans les organes lymphoïdes a été testée. Dans les rates de patients infectés par le VIH, les pDC s'accumulent spécifiquement en corrélation avec la charge provirale. Pourtant, elles ne semblent pas faire partie des cellules porteuses d'IFN- α que l'on détecte nombreuses chez ces patients. Ces données peuvent être éclairées par la comparaison avec les modèles pathogènes et non pathogènes de l'infection chez les primates non humains. Les pDC et les IFN de type I pourraient jouer à la fois un rôle antiviral et un rôle aggravant l'hyperactivation pathogène du système immunitaire dont l'équilibre varierait selon les stades de l'infection.

5. Déséquilibre de production de l'IL-23 par rapport à l'IL-12p70 par les monocytes et les cellules dendritiques au cours de la primo-infection par le VIH-1

Charles-Antoine Dutertre

*Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ;
Inserm, U1016, Paris, France*

anne.hosmalin@inserm.fr

Stéphanie Louis^{1,2,}, Lene Vimeux^{1,2}, Ludovic Fery^{1,2}, Lucy Henno^{1,2}, Seckou Diocou^{1,2},
Sandrine Kahi^{1,2,3}, Christiane Deveau⁴, Laurence Meyer⁴, Cécile Goujard^{4,5} et Anne
Hosmalin^{1,2}*

*1. Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ; 2. Inserm, U1016, Paris, France ; 3. Current address : INSERM SC-10, Hôpital Paul Brousse, 94807 Villejuif, France ; 4. INSERM U822, Cohorte PRIMO-Agence Nationale de Recherche contre le SIDA, 94240, Le Kremlin-Bicêtre, France ; 5. Service de Médecine Interne, Hôpital de Bicêtre, AP-HP, 94270, Le Kremlin-Bicêtre, France ; * Co-premier auteurs*

L'IL-12p70 favorise les réponses immunitaires innées (notamment NK) et adaptatives (réponses cytotoxiques et Th1) collaborant à l'inhibition de la réplication du VIH. Après stimulation *in vitro*, sa production est déficiente chez des patients en phase chronique d'infection par le VIH, malgré une production souvent augmentée de sa sous-unité p40. L'IL-12p70 est composée de deux sous-unités de 35 et 40 kDa (sous-unités p35 et p40, respectivement), la première (p35) étant produite de façon constitutive contrairement à la seconde qui est inductible. La p40 peut aussi s'associer à une sous-unité de 19 kDa (p19) composant l'IL-23, cytokine qui contribue à la polarisation Th17 des réponses T et dont le rôle au cours de l'infection par le VIH-1 est inconnu. L'objectif de cette étude a été de déterminer la contribution respective des monocytes et des mDC dans la production d'IL-12/23p40 (p40) (par cytométrie en flux intra-cellulaire), en parallèle de la quantification (par ELISA) de l'IL-12p70 et de l'IL-23 produites par les PBMC de patients au cours de la primo-infection par le VIH-1. Seize patients non-traités inclus dans la cohorte PRIMO-ANRS ont été suivis prospectivement au cours des 18 premiers mois de la primo-infection et comparés à des sujets non-infectés. L'expression intra-cellulaire de la p40 par les monocytes et les mDC est transitoirement augmentée en réponse au LPS par rapport à l'expression observée chez des sujets non-infectés, et de façon plus prolongée dans les monocytes en réponse au LPS+IFN γ . La production d'IL-23 a été induite par le LPS en quantités fortement corrélées avec la charge virale chez les patients au début de l'infection. La production d'IL-12p70 bioactive a nécessité l'addition d'IFN γ au LPS et a été transitoirement augmentée chez les patients par rapport aux témoins en corrélation avec la charge virale, tandis que la production d'IL-23 a persisté tout au long de la primo-infection jusqu'au stade chronique (plus d'un an). Ainsi, il semblerait qu'il existe une domination de la réponse IL-23 sur l'IL-12 au cours de la primo-infection par le VIH-1, et une potentielle restauration de la réponse IL-12 pourrait être atteinte à l'aide d'un traitement mimant les signaux des lymphocytes T activés.

6. Two pathways of innate sensing of HIV-infected cells

Alice Lepelley

Institut Pasteur, Virus and Immunity Unit, URA CNRS 3015

lepelley@pasteur.fr

Stéphanie Louis¹, Marion Sourisseau¹, Julien Pothlichet², Clémentine Schilte³, Laurence Chaperot⁴, Joël Plumas⁴, Richard E. Randall⁵, Mustapha Si-Tahar², Fabrizio Mammano¹, Matthew L. Albert³ and Olivier Schwartz¹

1. Institut Pasteur, Virus and Immunity Unit, URA CNRS 3015 ; 2. Unité Défense Innée et Inflammation ; 3. Unité d'Immunobiologie des Cellules Dendritiques, 28 rue du Dr. Roux, 75724 Paris, France ; 4. Université Joseph Fourier, Grenoble, France ; 5. University of St. Andrews, St. Andrews, Scotland

Inappropriate activation of host responses to microbes often defines the severity of an infection. Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) produce type-I interferons (IFN) when they encounter HIV-1, in part through TLR-mediated endosomal detection of viral RNAs. Whether additional mechanisms promote recognition of HIV-1 remains unknown. Here, we examined how HIV-infected cells are recognized by pDCs, and by other immune and non-immune cells. We show that infected lymphocytes are more potent inducers of IFN than free viral particles. There are cell-type differences in the recognition of infected lymphocytes. In primary pDCs and pDC-like cells, recognition occurs in large part through TLR7, as demonstrated by the use of inhibitors and by TLR7 silencing. Donor cells expressing replication-defective viruses, carrying mutated reverse transcriptase, integrase or nucleocapsid proteins induced IFN production by target cells as potently as wild-type virus. In contrast, Env-deleted or fusion defective HIV-1 mutants were less efficient, suggesting that, in addition to TLR7, cytoplasmic cellular proteins may also mediate viral sensing. Furthermore, in TLR7-negative 293T epithelial cells, the IRF-3 pathway, through a process involving RIG-I and MDA5, allows sensing of HIV-infected lymphocytes. Therefore, detection of HIV-infected lymphocytes occurs through both endosomal and cytoplasmic pathways. Characterization of the mechanisms of innate HIV-1 recognition allows a better understanding of the immunologic and pathogenic events associated with HIV infection.

7. Dégranulation des cellules NK : un marqueur prédictif du syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire (IRIS) chez les patients co-infectés par le VIH-1 et la tuberculose ? (Etude ANRS 12153)

Pean Polidy

Institut Pasteur de Phnom Penh, Cambodge

polidy@pasteur-kh.org

*Eric Nerrienet¹, Yoann Madec², Sopheakdey Chea¹, Kerya Phon¹, Laurence Borand¹, Sarin chan³, Olivier Marcy³, Marcelo Fernandez³, Françoise Barré-Sinoussi², Gianfranco Pancino², Daniel Scott-Algara^{*2}, et l'équipe Camelia*

1. Institut Pasteur de Phnom Penh, Cambodge ; 2. Institut Pasteur, Paris, France ; 3. Cambodian Comité de la santé, Phnom Penh, Cambodge

Contexte : Ce projet vise 1) à étudier le rôle de la réponse innée, et plus précisément des cellules NK, dans la survenue d'IRIS chez des patients co-infectés VIH/TB en début de traitement pour ces 2 infections et 2) à identifier des marqueurs immunologiques qui pourraient prédire la survenue d'IRIS chez ces patients. Approche: 138 patients VIH/TB inclus dans l'essai Camelia (ANRS1295-CIPRA/KH001-DAIDS-ES ID10425) au Cambodge ont participé à cette étude. L'analyse du répertoire des cellules NK a été réalisée sur sang total par immuno-fluorescence. L'activité des cellules NK et la production de cytokines ont été analysées par le test CD107a, avec et sans stimulation. Les analyses ont été réalisées 2, 8, 14 et 34 semaines après le début du traitement antituberculeux. La moitié des patients ont commencé le traitement ARV à la semaine 2 et l'autre moitié à la semaine 8. Les résultats obtenus à S2 (2 semaines après le début du traitement antituberculeux et avant mise sous ARV) sont présentés ici.

Résultats : 37 des 138 patients VIH/TB participant à cette étude ont développé un IRIS. Avant initiation des ARV, l'activité de dégranulation des cellules NK et la production d'IFN γ ont été analysées pour 33 patients IRIS et 67 non IRIS, et l'analyse du répertoire NK pour 34 patients IRIS versus 78 non IRIS. Nous avons observé une activité de dégranulation significativement plus élevée chez les patients IRIS comparativement aux patients non IRIS (9.6 vs 6.38, $p < 0,005$). De plus, les cellules NK CD107a+/IFN γ + étaient plus nombreuses chez les patients IRIS ($p < 0,005$), alors que la sécrétion d'IFN γ était similaire dans les deux groupes. Au moment de l'IRIS, l'expression de NKP46 et NKG2D à la surface des cellules NK était plus faible chez les patients IRIS comparativement aux patients non-IRIS appariés ($p = 0,04$ et $0,01$, respectivement). Aucune différence en terme d'activité de dégranulation ou de sécrétion d'IFN γ n'a été observée au moment de l'IRIS dans ces 2 groupes. L'activité de dégranulation des cellules NK, avant initiation des ARVs, a été identifiée comme un facteur de risque de développer un IRIS (hazard ratio [intervalle de confiance 95%]: 4.41 [1.60-12.16] pour les cellules NK CD107a+ et 2.80 [1.06-7.37] pour les cellules NK CD107a+/IFN γ +).

Conclusions : L'activité de dégranulation des cellules NK peut être un marqueur prédictif de la survenue d'IRIS dans les patients VIH/TB. Ces résultats soulignent le rôle de l'immunité innée dans la physiopathologie de l'IRIS.

8. HIV-1 infection and accelerated immunosenescence

Victor Appay

Infections et Immunité, INSERM UMR S 945, Faculté de Médecine, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

victor.appay@upmc.fr

The prospect that immune activation or inflammation may be directly related to the increased incidence in HIV infected donors of manifestations that are reminiscent of the human aging process (i.e. cardiovascular disease, malignancies, osteoporosis, cognitive impairment, depression and frailty) is raising increasing concerns. On the immunological side, in addition to promoting viral replication as well as CD4⁺ T cell apoptosis, HIV associated immune activation may also lead to an accelerated decline of immune competence resembling the phenomenon of immunosenescence. I will discuss here the potential relationship between immune activation, HIV disease progression and aging of the immune system. Human aging and HIV-1 infection exhibit a number of parallels with regards to immunological attributes, that are evocative of premature immunosenescence in HIV-1 infected patients, and reflect primarily a reduced capacity to produce all lymphocyte populations. The initial investigation of blood lymphocyte populations led us to turn our attention onto the lymphocyte primary immune resources, i.e. the CD34⁺ hematopoietic progenitor cells. Analyses of CD34⁺ hematopoietic progenitor cell number, phenotype and clonogenic potential underline a marked impairment of primary immune resources with age or HIV disease progression. Systemic immune activation emerges as a major correlate of altered lymphopoiesis in HIV-1 infection. Our data suggest indeed that elevated systemic IA has a direct impact on lymphopoietic activity, resulting in hematosuppressive effects through the action of factors (like SDF-1 α , IP-10 and MIG) that cause exacerbated mobilization and eventually exhaustion of primary lymphoid resources. Our findings provide new insights into the consequences of persistent immune activation in HIV-1 infection, and demonstrate the importance of primary immune resources in HIV pathogenesis and more generally in the development of immunosenescence.

9. Partial reversion of the immunosenescence phenotype by antiretroviral therapy in middle aged and old HIV infected patients

Delphine Sauce

Université Pierre et Marie Curie

delphine.sauce@upmc.fr

Solène Fastenackels^{1}, Martin Larsen^{1*}, Michèle Pauchard², Hocine Ait-Mohand², Luminita Schneider², Faroudy Boufassa³, Malika Iguertsira⁴, Jorge Almeida¹, Antoine Roux¹, Michael Keller⁵, Guy Gorochov¹, Guislaine Carcelain¹, Beatrix Grubeck-Loebenstein⁵, Anne Simon⁴, Laurence Meyer³, Dominique Costagliola², Brigitte Autran¹, Christine Katlama² and Victor Appay¹*

1. INSERM UMR S 945, Infections and Immunity, Université Pierre et Marie Curie-Paris6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France ; 2. INSERM UMR S 943, Université Pierre et Marie Curie-Paris6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France ; 3. INSERM U822, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; 4. AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service de Médecine Interne, 75013 Paris, France ; 5. Institute for Biomedical Aging Research, Innsbruck, Austria

Human aging and HIV-1 infection exhibit a number of parallels with regards to immunological attributes that are evocative of premature immune aging in HIV-1 infected patients. The development of this phenomenon in HIV-1 infection is thought to be the consequence of systemic and immune activation or inflammation. In order to explore the effect of antiretroviral therapy in this context, we performed longitudinal and cross-sectional analyses of immunologic markers (lymphocyte subpopulation counts and phenotype, and lymphopoietic capacity) in treated HIV infected patients. Our results indicate that, through its potent inhibitory effects on HIV replication and therefore immune activation, antiretroviral therapy results in a partial reversion of the phenomenon of immunosenescence. Even in old HIV infected patients (above 65 years) initiation of antiretroviral therapy early after infection enable to maintain satisfactory immune attributes, comparable to those found in younger treated HIV infected patients or non HIV-infected elderly individuals. Early antiretroviral therapy may thus prevent the cumulative effects of both age and HIV-1 infection. Nonetheless, the analysis of treated patients with weak CD4+ T cell reconstitution despite successful virological response shows that poor CD4+ T cell count recovery on antiretroviral treatment is associated with a failure to reverse the development of immunosenescence and to re-establish adequate lymphopoiesis. In some patients, HIV-1 infection can thus result in profound and persistent impairments of the lymphopoietic system, which cannot be reversed with antiretroviral therapy. This is likely due to severe upstream damage in the bone marrow.

10. VIH, activation et immunothérapie

Jean-Daniel Lelièvre

CHU Henri Mondor, Service d'immunologie clinique, INSERM U955, Faculté de Médecine de Créteil, Université Paris Est Créteil

jean-daniel.lelievre@hmn.aphp.fr

L'infection par le virus VIH est caractérisée une déplétion en lymphocytes T CD4+ susceptible d'être corrigée par l'utilisation de traitements antirétroviraux. Malgré l'utilisation de ce type de traitement il persiste chez les patients dont le taux de lymphocytes T CD4 reste inférieur à 500 cellules/mm³ une surmortalité comparativement à la population générale. Ce taux ne peut la plupart du temps être atteint sous traitement antirétroviral, lorsque celui-ci a été débuté tardivement au cours de l'infection, justifiant une recherche sur l'utilisation de traitements complémentaires immunomodulateurs.

Les modèles animaux et les études chez l'Homme ont montré une corrélation importante entre le degré d'activation lymphocytaire (expression notamment des molécules CD38 et HLA-DR par les lymphocytes T) et l'importance du déficit lymphocytaire T CD4. L'origine exacte de l'activation lymphocytaire reste pour l'instant incomplètement élucidée bien que l'existence d'une translocation bactérienne digestive favorisée par un déficit quantitatif et qualitatif (excès de la balance Treg/Th17) des lymphocytes T CD4 intestinaux, soit actuellement retenu comme un de ses déterminants principaux. Les événements cliniques observés au cours de l'infection VIH quand le taux de lymphocytes T CD4 se situe entre 200 et 500 cellules/mm³ et notamment les pathologies cardio-vasculaires semblent directement être la conséquence de cet état d'activation/inflammation du système immunitaire.

Plusieurs stratégies d'immunointervention peut être envisagées pour lutter contre ce phénomène et permettre d'éviter ces conséquences cliniques. On peut distinguer schématiquement des thérapies « immunorestaurantes » et « immunomodulantes ». La première catégorie comprend l'utilisation de molécules qui vise à restaurer le pool de lymphocytes T CD4 que ce soit au niveau périphérique (IL-2) ou au niveau central (IL-7, hormone de croissance). Le deuxième regroupe des stratégies visant à modifier les causes supposées de l'état d'hyperactivation (modification de la flore bactérienne digestive) ou ces conséquences que ce soit sur les lymphocytes T eux mêmes (anti CCR5 /immunosuppresseurs) ou sur d'autres cellules immunitaires et/ou endothéliales (médicaments anti inflammatoires). Dans cette présentation seront présentées les données déjà disponibles sur certaines de ces approches, les essais en cours (immunosuppresseurs, IL7) ainsi que les perspectives envisageables (statines, anti IL1, probiotiques,...).

11. Etude de la capacité de certains inhibiteurs de la protéase virale (IP) à induire une dysfonction et une sénescence des ostéoblastes in vitro : vers une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'ostéoporose induite par les IP

Claire Lagathu

INSERM UMRS 938, Paris, France ; UPMC Univ Paris 06, UMRS 938, Paris, France

claire.lagathu@inserm.fr

Marine Caron-Debarle^{1,2} et Jacqueline Capeau^{1,2,3}

*1. INSERM UMRS 938, Paris, France ; 2. UPMC Univ Paris 06, UMRS 938, Paris, France ;
3. HP, Hôpital Tenon, Paris, France*

Les patients infectés par le VIH sous traitement antirétroviral présentent avec une prévalence importante des co-morbidités classiquement associées au vieillissement. L'ostéoporose est un processus de vieillissement caractérisé par une diminution de la densité minérale (DMO) conduisant à une fragilité osseuse et une augmentation du risque fracturaire. L'utilisation des inhibiteurs de la protéase virale (IP) multiplie par deux la prévalence de l'ostéoporose chez les patients infectés par le VIH. La masse osseuse dépend de l'équilibre entre la résorption et la formation osseuse, assurées respectivement par les ostéoclastes et les ostéoblastes. Le vieillissement associé au défaut de différenciation des précurseurs ostéoblastiques représente un événement clé dans l'initiation et la progression de la perte osseuse. Nous avons évalué l'effet chronique d'IP fréquemment utilisés (atazanavir 5µmol/L et lopinavir 10µmol/L associés au ritonavir 2µmol/L) sur la différenciation ostéoblastique et la sénescence de cellules souches mésenchymateuse (MSC) humaines issues de la moelle osseuse. Un traitement chronique avec les IP des MSC pendant tout le processus de différenciation induit un stress oxydant (production d'espèce réactives de l'oxygène et expression de CHOP10) et diminue parallèlement la différenciation ostéoblastique évaluée par l'accumulation de calcium et l'expression des facteurs de transcription RUNX2 et OSX. Le lopinavir/r diminue l'expression de marqueurs spécifiques des ostéoblastes (ostéocalcine, ostéopontine et collagène1A1 et A2), tandis que l'atazanavir/r augmente leur expression. Ces résultats suggèrent que l'atazanavir et le lopinavir boostés par le ritonavir affectent la différenciation ostéoblastique par des mécanismes différents qui restent à élucider. Pour étudier la sénescence cellulaire, les cellules MSC en cours de prolifération ont été traitées pendant 40 jours (soit 8 passages successifs) par le lopinavir/r ou l'atazanavir/r. Nous avons tout d'abord établi que les IP n'affectaient pas la survie cellulaire. Alors que les cellules témoins ralentissent leur prolifération et rentrent en sénescence après 30 jours de culture, les cellules traitées par des IP entrent en sénescence prématurée dès 15 jours de traitement. En effet, on observe dans ces cellules, une augmentation progressive de l'activité SA-beta-galactosidase, du temps de doublement et du stress oxydant avec un effet plus marqué pour le lopinavir/r que pour l'atazanavir/r. Après 30 jours de traitement par les IP, on observe une augmentation d'expression de la protéine inhibitrice du cycle cellulaire p21WAF1 et une accumulation de la protéine de sénescence, la prélamine A. Ces données obtenues in vitro, qui montrent la capacité de certains IP boostés par le ritonavir à inhiber la différenciation ostéoblastique et à induire une sénescence cellulaire, corroborent les données cliniques et offrent des pistes physiopathologiques à la compréhension des anomalies osseuses observées chez les patients infectés par le VIH sous traitement antirétroviral incluant des IP.

12. Aspects épidémiologiques, cliniques et suivi des PVVIH d'âge ≥ 50 ans suivis au CTA du CHNU de Fann à Dakar

Noel Magloire Manga

Service des Maladies Infectieuses, CHNU Fann, Dakar

noelmagloiremanga@yahoo.fr

NF. Guèye, S. Campaoré, G. Batista, Y. Cissoko, CT. Ndour et PS. Sow

Service des Maladies Infectieuses, CHNU Fann, Dakar

Introduction : L'épidémie de l'infection par le VIH/sida au Sénégal et dans le monde touche surtout les sujets jeunes. Dans les pays où l'accès aux antirétroviraux a été rendu possible dans les années 1990, la question du vieillissement des cohortes se pose avec acuité. Au Sénégal comme dans beaucoup de pays africains les cohortes sont encore jeunes, mais on note en leur sein des sujets âgés. La question ici est de savoir, comment prendre en charge de manière optimale l'infection par le VIH chez les sujets âgés. Une bonne connaissance des différents aspects de cette situation est nécessaire. Ce travail a pour objectif de décrire les aspects épidémiologiques, cliniques et le suivi des PVVIH âgés reçus au centre de traitement ambulatoire (CTA) de Fann. Malades et méthode L'étude était rétrospective, réalisée à partir des dossiers des PVVIH suivis au CTA du service des Maladies Infectieuses de Fann entre 2000 et 2008. La saisie et l'analyse des données étaient faites à partir du logiciel Epi-info 6.04

Résultats : Sur un total de 1852 dossiers consultés, 198 patients (10,7%) étaient âgés de cinquante ans et plus. La moyenne d'âge était de 54,6 \pm 5 ans avec des extrêmes de 50 - 72 ans et une prédominance masculine (sex-ratio M/F= 1,5). Ils étaient en majorité mariés (63,1%) et vivaient en milieu urbains (53%). L'infection était à VIH1 chez 79,8%, à VIH2 (15,7%) et à VIH1-VIH2 (4,5%). Au moment du diagnostic la majorité des patients étaient au stade 1-2 de l'OMS (62,1%) avec un taux de CD4+<200 chez 47% des cas. Les principales affections opportunistes suivantes étaient prédominantes: candidoses bucco-oesophagiennes (48,5%), neuropathies périphériques (36,2%), prurigo (29,8%) et zona (14,1%). Le retard au diagnostic, défini comme un dépistage au stade 3-4 de l'OMS ou à un taux de CD4>200/mm³, était de 54%. Le traitement antirétroviral a été instauré chez 51,5% des cas. Vingt patients (10,1%) sont décédés au cours de leur suivi.

Conclusion : L'infection à VIH du sujet âgé prédomine chez les sujets de sexe masculin et est dépistée aux stades 1-2 de l'OMS dans la majorité des cas.

13. AIDS progression is associated with the emergence of IL-17 producing NKT cells early after SIV infection

Laure Campillo-Gimenez

estaquier@yahoo.fr

MC. Cumont², M. Fay³, H. Kared¹, V. Monceaux², O. Diop⁴, M. Müller-Trutwin⁵, B. Hurtrel², Y. Lévy^{1,8}, J. Zaunders⁶, M. Dy⁷, MC. Leite-de-Moraes⁷, C. Elbim^{1,9} and J. Estaquier^{1,2,8*}*

1. INSERM, U841, Créteil, France ; 2. Institut Pasteur, Paris, France ; 3. Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, France ; 4. Institut Pasteur, Dakar, Sénégal ; 5. Institut Pasteur, Paris, France ; 6. Centre for Immunology, Darlinghurst, Australia ; 7. Unité UMR 8147, Paris, France ; 8. Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Créteil, France ; 9. UMR S 872, Paris, France

Interleukin (IL)-17 is a potent effector cytokine involved in inflammatory response and anti-microbial defense. We report that SIV infection of rhesus macaques (RM) results in the emergence of IL-17 expressing cells during the acute phase. This subpopulation appears at day 14 post-infection concomitantly with an increase in TGF- β and IL-18 expression. This subset, which exhibits phenotypic markers of NKT cells which is distinct to TH17, persists during the chronic phase, and is higher in non-controllers compared to controllers SIV-infected RM. In contrast, in the non-pathogenic model of SIVagm infection of African green monkeys, no change in the level of IL-17-expressing cells is observed in lymphoid organs. Altogether, these results demonstrate that IL-17 producing NKT cells are associated with the pathogenesis of SIV in RM.

14. Génétique humaine de la réponse à l'infection par le virus de l'hépatite C

Laurent Abel

Laboratoire de Génétique humaine des maladies infectieuses, Université Paris Descartes/Inserm U980, Faculté de Médecine Necker, Paris

laurent.abel@inserm.fr

La prévalence de l'hépatite C dans le monde est de l'ordre de 3% avec plus de 170 millions de sujets chroniquement infectés, dont plus de 300.000 en France. L'infection aiguë par le virus de l'hépatite C (VHC) passe le plus souvent inaperçue et conduit à la méconnaissance de l'infection. Le passage à la chronicité survient dans environ 60% à 70% des cas après l'infection aiguë, et l'infection chronique aboutit à la cirrhose chez environ 20% des patients infectés puis au carcinome hépatocellulaire avec une fréquence estimée à 3%. Il existe de nombreux arguments en faveur du rôle majeur de facteurs génétiques de l'hôte dans la réponse à l'infection par le VHC, à la fois dans la constitution d'une infection chronique, et dans le développement d'une fibrose hépatique grave chez les sujets infectés chroniques [1, 2]. L'implication de tels facteurs a récemment été démontrée dans la réponse au traitement des patients infectés chroniques par le VHC, avec l'identification du rôle important d'un variant génétique au niveau du gène de l'IL28B [3-5]. Ce même variant est également impliqué dans le contrôle spontané de l'infection par le VHC, c'est-à-dire dans l'évolution chez les sujets infectés vers la guérison ou le passage à l'infection chronique [6]. Dans cette intervention, je présenterai les différentes stratégies qui peuvent être utilisées pour rechercher le rôle de ces facteurs génétiques humains dans la réponse à l'infection par le VHC. Ces stratégies seront illustrées par des études par exploration du génome entier que nous menons actuellement avec la plate-forme de génotypage de l'ANRS sur une cohorte de patients infectés chroniques par le VHC recueillie en collaboration avec les services d'hépatologie de Necker/Cochin et de la Pitié-Salpêtrière.

References

1. Missiha SB, Ostrowski M and Heathcote EJ. Disease progression in chronic hepatitis C: modifiable and nonmodifiable factors. *Gastroenterology* 2008;134:1699-714
2. Osterreicher CH, Stickel F and Brenner DA. Genomics of liver fibrosis and cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2007;27:28-43
3. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401
4. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009;41:1100-4
5. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105-9
6. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009;461:798-801

15. Mise en évidence d'un gène majeur contrôlant la susceptibilité à l'infection par le virus de l'hépatite C dans une population hyperendémique

Cédric Laouénan

Laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses, INSERM U980, Paris, France ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine Necker, Paris, France

cedric.laouenan@inserm.fr

Sabine Plancoulaine^{1,2}, Mostafa Kamal Mohamed³, Naglaa Arafa³, Iman Bakr³, Mohamed Abdel-Hamid^{5,6}, Claire Rekacewicz⁴, Dorothee Obach^{1,2,4}, Arnaud Fontanet⁴ et Laurent Abel^{1,2}

1. Laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses, INSERM U980, Paris, France ; 2. Université Paris Descartes, Faculté de Médecine Necker, Paris, France ; 3. Department of Community, Environmental and Occupational Medicine, Faculty of Medicine, Cairo, Egypt ; 4. Institut Pasteur, Unité d'Epidémiologie des Maladies Emergente, Paris, France ; 5. National Hepatology and Tropical Medicine Research Institute, Cairo, Egypt ; 6. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Minia, Egypt

L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) est un problème majeur de santé publique dans le monde, et particulièrement en Egypte. Dans les pays en développement, la voie parentérale directe (transfusions sanguines, injections non stérilisées...) est le principal mode connu de transmission du VHC. Néanmoins, notre étude récente au sein d'une cohorte égyptienne endémique pour le virus a mis en évidence de fortes corrélations familiales après ajustement sur les facteurs de risque connus, suggérant l'existence de facteurs génétiques de prédisposition à l'infection par le VHC. Nous avons donc mené, au sein de la même cohorte, une analyse de ségrégation du phénotype d'infection par le VHC per se (séropositif/séronégatif). Ceci a été réalisé avec le modèle régressif de Bonney qui permet de prendre en compte simultanément l'effet génétique, les dépendances familiales (père-mère, père-enfant, mère-enfant et enfant-enfant) et les facteurs de risque associés connus. Au total 312 familles (4509 individus) ont été analysées. La séroprévalence globale était de 12,2% avec un fort effet de l'âge. Les autres facteurs de risque pris en compte étaient les antécédents de traitement parentéral de la bilharziose, de transfusions sanguines, de gestes médicaux invasifs et d'accouchement avec instruments. L'analyse de ségrégation a mis en évidence l'existence d'un gène majeur dominant de prédisposition à l'infection par le VHC. Il persiste des dépendances familiales résiduelles entre époux et parents-enfant. La fréquence de l'allèle de susceptibilité est de 0,013, cela indique que 2,6% des individus sont prédisposés à l'infection par le VHC. Ce gène majeur dominant explique surtout les infections chez les enfants de moins de 20 ans pour lesquels il n'y a pas de facteur de risque connu. Chez les individus plus âgés, l'exposition aux facteurs de risque joue un rôle prépondérant. En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence le rôle des facteurs génétiques de l'hôte dans le contrôle de l'infection par le VHC en situation naturelle d'infection dans une population endémique. Une analyse de liaison génétique paramétrique génome entier est en cours afin de localiser le gène de susceptibilité à l'infection par le VHC.

16. Facteurs génétiques et infection VIH, apport des phénotypes “extrêmes”

Julien Guergnon

INSERM UMR-S 945, Infection et Immunité, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, UPMC, 91 Bd de l'Hôpital, 75013 Paris

julien.guergnon@courriel.upmc.fr

Le locus du CMH est le responsable principal du contrôle du VIH-1, certains allèles étant associés à des seuils de détection inférieurs à 50 copies/ml, et cela en absence de traitement anti-rétroviral.

Depuis 3 ans, la plateforme de génomique ANRS a participé au génotypage et à l'analyse des cohortes PRIMO, HIC, ALT et ELVIS. Au total, ce sont près de 200 individus infectés par le VIH-1 mais résistants à la progression ou contrôlant la virémie qui ont été comparés à 605 individus de la cohorte PRIMO (cohorte d'individus « infectés contrôles »).

La région génomique la plus fortement associée au contrôle du virus ou au retard de la progression vers le stade SIDA est la région du CMH, confirmant les travaux qui ont démontré depuis environ 10 ans le rôle des allèles HLA-B*27 et HLA-B*57 dans ces phénotypes extrêmes. Néanmoins, nos travaux réalisés sur le génome entier suggèrent un rôle prépondérant du CMH de classe III, qui avait été ignoré jusque-là. De plus, de nouveaux allèles HLA dans la classe I semblent également participer au contrôle du virus.

L'ensemble de nos travaux a donc renforcé la connaissance de la région du CMH dans le cadre de l'infection par le VIH-1, mais a surtout démontré que le CMH de classe III pouvait jouer un rôle dans le contrôle du virus à long terme, indépendamment du CMH de classe I.

17. Une étude génétique d'association multi-cohortes révèle un nouveau récepteur de chimiokines, CXCR6, impliqué dans la non progression vers le SIDA

Jean-Francois Zagury

Chaire de Bioinformatique, Conservatoire National des Arts et Métiers

zagury@cnam.fr

Sophie Limou, Sigrid Le Clerc, Cédric Coulonges, Olivier Delaneau, Yves Lévy, Jérôme Estaquier, James Mullins, Hanneke Schuitemaker et Cheryl Winkler

Chaire de Bioinformatique, Conservatoire National des Arts et Métiers

Background: The compilation of previous genome-wide association studies (GWAS) in AIDS shows a major polymorphism in the chromosome 6 HCP5 gene associated both with the control of viral load and the long term non progression (LTNP) to AIDS.

Methods: In order to look for genetic variants impacting long term non progression without a necessary control of viral load, we reanalyzed the genome-wide data of the unique LTNP GRIV cohort by excluding the 'elite controller' patients controlling the viral load at very low levels (<100 copies/mL). Three additional independent seroconverter cohorts were used for replication with a candidate SNP approach (one from Europe, two from the US).

Results: The rs2234358 polymorphism in the CXCR6 locus was the strongest signal ($p=2.5 \times 10^{-7}$, OR=1.85) obtained for the GWAS comparing the 186 GRIV LTNP patients who were not elite controllers with 697 uninfected controls. Importantly, this association was replicated in each of the three independent seroconverter Caucasian cohorts, and the combined p-value passed the Bonferroni threshold ($P_{\text{combined}}=9.7 \times 10^{-10}$). This association with LTNP is independent from the CCR2-CCR5 locus (which is 422 kb away) and the HCP5 polymorphisms. Moreover, the frequency of the rs2234358-T allele was similar among the LTNP non-elite controller patients extracted from each cohort (around 40%), and it was also similar among 4 uninfected control groups (around 50%). When comparing this extended LTNP case group (n=276) with the controls, the p-value was also significant ($p=2.1 \times 10^{-8}$). This CXCR6 genetic variant exhibits an attributable risk of 12% for LTNP, much higher than that obtained for CCR5-Δ32 (5%).

Conclusions: The statistical significance, the replication, and the magnitude of the association demonstrate that CXCR6 is involved in the molecular etiology of AIDS, and particularly in long term non progression. CXCR6 is a chemokine receptor known as a minor co-receptor in HIV-1 infection but likely participates in disease pathogenesis through its role as a mediator of inflammation.

18. Inference of functional gene networks in non-pathogenic S.I.V. infection

Brice Targat

Institut des Hautes Etudes Scientifiques, Bures sur Yvette, France

targat@ihes.fr; arndt@ihes.fr

Béatrice Jacquelin, Steven Bosinger, Christophe Bécavin, Nicolas Tchitchek, Jose Felipe Golib Dzib, Françoise Barré Sinoussi, Guido Silvestri, Michaela Muller-Trutwin and Arndt Benecke

1. Institut des Hautes Etudes Scientifiques, Bures sur Yvette, France ; 2. Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Paris, France ; 3. Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

Several independent functional genomics studies have recently characterized innate immune responses to S.I.V. infection in different non-progressor primate species such as *C. Sabaeus* and *C. Atys* [1, 2, 3]. Comparative studies indicate that S.I.V. triggers a stronger and more rapid innate response in these non-progressors when compared to progressor species such as *M. Mulatta*. Since *C. Sabaeus* and *C. Atys* cells are able to produce IFN-I, the transient ISG response in these animals is likely the result of active regulatory mechanisms that are lacking or are inhibited in S.I.V.-infected *M. Mulatta*. The mechanisms responsible for the attenuation of the IFN-I pathway in the post-acute phase of S.I.V. infection of natural hosts are now the focus of intense studies, as these mechanisms of active attenuation might play a major role in protection against harmful chronic immune activation observed in pathogenic H.I.V. and S.I.V. infections. Required for the elucidation of the positive and negative control of the innate immune responses and the differences between the non-progressing and progressing species is the identification of the functional gene regulatory networks and possible epigenetic regulatory events. Using novel methodology from algebraic geometry and probability theory [4, 5], we have dissected the kinetics and topographics [6] of the transcriptome profiles from the different non-progressing and progressing species. Correlation analysis within and across topographic gene expression groups identifies additional gene expression patterns allowing to better understand the positive and negative regulatory control. Inter-species comparisons also identify conserved and species specific elements of the innate immune responses to S.I.V. infection. Due to higher statistical power the combined datasets permit the use of methodology from statistical mechanics for functional network inference [7]. These works highlighted the need to decipher the factors causing a better coordination of immune responses in non-progressors, and make a compelling case for meta-analysis of functional genomics data across species. Elucidation of the attenuation mechanisms in non-progressing natural hosts may lead to the identification of novel candidates for strategies aimed at blocking the harmful chronic immune activation that is associated with progression to A.I.D.S. in H.I.V. infected individuals.

References

- 1. Lederer S, Favre D, Walters KA, Proll S, Kanwar B, Kasakow Z, Baskin CR, Palermo R, McCune JM, Katze MG (2009) Transcriptional profiling in pathogenic and non-pathogenic SIV infections reveals significant distinctions in kinetics and tissue compartmentalization. PLoS Pathog. 5(2):e1000296.*
- 2. Jacquelin B, Mayau V, Targat B, Liovat AS, Kunkel D, Petitjean G, Dillies MA, Roques P, Butor C, Silvestri G, Giavedoni LD, Lebon P, Barré-Sinoussi F, Benecke A, Müller-Trutwin M (2009) Strong but Rapidly Controlled*

- Interferon Type I Response in Nonpathogenic SIV Infection of African Green Monkeys. J. Clinical Invest. 119(12):3544-55.*
3. Bosinger SE, Li Q, Gordon SN, Klatt NR, Duan L, Xu L, Francella N, Sidahmed A, Smith AJ, Cramer EM, Zeng M, Masopust D, Carlis JV, Ran L, Vanderford TH, Paiardini M, Isett RB, Baldwin DA, Else JG, Staprans SI, Silvestri G, Haase AT, Kelvin DJ (2009) Global genomic analysis reveals rapid control of a robust innate response in SIV-infected sooty mangabeys. *J. Clinical Invest. 119(12):3556-72.*
 4. Lesne A, Benecke A (2008) Feature context-dependency and complexity-reduction in probability landscapes for integrative genomics. *Theor. Biol. & Med. Mod. 5:21.*
 5. Lesne A, Benecke A (2008) Feature context-dependency and complexity-reduction in probability landscapes for integrative genomics. *Theor. Biol. & Med. Mod. 5:21.*
 6. Targat B, Noth S, Brysbaert G, Tchitchek N, Benecke A (2010) Topographic profiling of kinetic gene expression data. *in preparation.*
 7. Benecke A (2008) Gene regulatory network inference using out of equilibrium statistical mechanics. *HFSP J. 2(4): 183-8.*

19. Propriétés fonctionnelles de gènes d'enveloppe du VIH-1 transmis de la mère à l'enfant

Suzie Thenin

Université François Rabelais, Inserm U966, Tours, France

suzie.thenin@etu.univ-tours.fr

Martine Braibant¹, Tanawan Samleerat², Nicole Ngo-Giang-Huong^{3,4}, Gonzague Jourdain^{3,4}, Marc Lallemand^{3,4} et Francis Barin¹

1. Université François Rabelais, Inserm U966, Tours, France ; 2. Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand ; 3. Institut de recherche pour le développement, UMI 174, Chiang Mai, Thailand ; 4. Harvard School of Public Health, Boston, USA

La transmission mère-enfant est la principale cause d'infection à VIH-1 chez l'enfant. De nombreux travaux ont montré que la population virale de l'enfant est restreinte et homogène par rapport à la population virale présente chez la mère. Ceci serait en faveur d'une pression de sélection. Il a été notamment montré que les variants transmis à l'enfant sont résistants à la neutralisation par les anticorps maternels autologues. Néanmoins, les propriétés fonctionnelles de ces virus ont été très peu étudiées à ce jour. Au cours de cette étude nous avons donc analysé les propriétés antigéniques et fonctionnelles de gènes env issus de 2 couples mère-enfant infectés par des virus de sous-type CRF01_AE.

Nous avons étudié les propriétés antigéniques et fonctionnelles de virus pseudotypés exprimant les enveloppes de clones issus d'enfants et de mères appartenant à deux paires mère-enfant, 0978 et 1021, ayant participé à la cohorte PHPT-1 (Perinatal HIV prevention trial) (Samleerat et al., 2008). Nous avons comparé la sensibilité à la neutralisation autologue vis à vis des sérums maternels, la neutralisation hétérologue vis à vis d'un pool de sérums largement neutralisants hétérologues et la neutralisation par l'anticorps monoclonal IgG1b12, ainsi que les propriétés fonctionnelles suivantes: tropisme viral, inhibition de l'entrée virale par du CD4 soluble ainsi que par un antagoniste du corécepteur CCR5 (TAK-779), infectivité et cinétique d'entrée des virus produits.

Nous avons obtenu 3 clones de mère et 3 clones d'enfant infectieux pour le couple 0978 et 1 clone de mère et 2 clones d'enfant pour le couple 1021. Les 9 clones obtenus possèdent un tropisme R5. L'analyse des propriétés antigéniques a révélé que les 9 clones testés présentent une sensibilité très élevée à la neutralisation hétérologue et sont globalement fortement résistants à la neutralisation par l'anticorps IgG1b12. Les 3 clones issus du couple 1021 et 5 clones provenant du couple 0978 sont résistants à la neutralisation autologue alors qu'un clone d'enfant 0978 présente une sensibilité élevée à la neutralisation par les anticorps maternels autologues. L'étude des propriétés fonctionnelles a révélé que les 9 clones présentent une sensibilité équivalente à l'inhibition par le TAK-779. Par contre les résultats d'inhibition par le CD4 soluble, d'infectivité et de cinétique d'infection sont hétérogènes au sein des clones de la mère 0978 ainsi que des clones d'enfants 1021 et 0978. Les 2 clones 1021 divergent pour leur infectivité et leur cinétique d'entrée, et les clones 0978 divergent pour ces 2 propriétés ainsi que pour la résistance au CD4 soluble. Par mutagenèse dirigée, nous avons montré qu'une seule mutation Valine/Alanine, localisée dans le domaine constant C1 du clone sensible à la neutralisation autologue issu de l'enfant 0978 conditionne cette sensibilité. Ce résidu est également impliqué dans la sensibilité au CD4 soluble, dans l'infectivité et dans la cinétique d'entrée de ce clone.

Cette étude a permis, d'une part, de mettre en évidence l'hétérogénéité des propriétés fonctionnelles de gènes d'enveloppe issus de prélèvements précoces d'enfants contaminés par transmission mère-enfant malgré une population virale génétiquement très homogène, et d'autre part de mettre en évidence l'implication possible d'un résidu spécifique dans la neutralisation du virus et dans son entrée dans la cellule.

20. La séquestration de DR5 intracytoplasmique est responsable de la résistance de la mort des LTCD4+ chez les patients HIV Controllers

Lucie Barblu

CNRS UMR 8147

jean-philippe.herbeuval@parisdescartes.fr

Yves Lepelletier¹, Renaud Colisson¹, Christophe Gras¹, Reda Hadj-Slimane¹, Alain Venet², Martine Sinet³, Faroudy Boufassa⁴, Jean-François Delfraissy⁴, Olivier Lambotte^{3,4,5} et Jean-Philippe Herbeuval^{3,4,5}

1. CNRS UMR 8147; Université Paris Descartes, Paris, France ; 2. INSERM U 648; Université Paris Descartes, Paris, France ; 3. INSERM, U802, Bicêtre ; 4. AP-HP, Department of Internal Medicine and Infectious Diseases, Bicêtre Hospital, Bicêtre ; 5. Université Paris-Sud, U802, Bicêtre, France

Viremic HIV-1-infected patients (VIR) exhibit reduced pDC and CD4+ T cell numbers. However, HIV-1-infected controllers (HIC) usually do not progress despite infection for more than ten years. We questioned whether pDC and TRAIL/DR5 pathway are altered in HIC patients that could explain the absence of massive CD4+ T cell depletion. HIC did not exhibit quantitative or qualitative pDC impairment. However, TRAIL death Receptor 5 (DR5) was not expressed on CD4+ T cell membrane after HIV-1 activation in contrast to healthy donors (HD) and VIR. The lack of DR5 surface expression was due to intracytoplasmic sequestration and rendered CD4+ T cells resistant to HIV-1-induced apoptosis. Moreover, DR5 knockdown in CD4+ T cells from HD provided protection against TRAIL-mediated apoptosis. The HIC clinical profile is defined by intracytoplasmic DR5 sequestration associated with HIV-1-induced apoptosis resistance. Thus, TRAIL/DR5 inhibitors represent a new therapeutic approach to prevent CD4+ T cell depletion.

21. HIV-1 control after treatment interruption is associated to low levels of HIV-1 DNA

Asier Saez-Cirion

Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Paris, France

asier.saez-cirion@pasteur.fr

V. Avettand-Fenoel², L. Hocqueloux³, T. Prazuck³, JP. Viard⁴, C. Goujard^{5,6}, M. Sinet⁶, A. Venet⁶, G. Pancino¹ and C. Rouzioux² for the ANRS Visconti Group

1. Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Paris, France ; 2. AP-HP Hôpital Necker and University Paris Descartes, Paris, France ; 3. CHR d'Orléans, Orléans, France ; 4. Hôpital Necker, Paris, France ; 5. AP-HP Hôpital Bicêtre, and 6Inserm U822, Le Kremlin-Bicêtre, France

Spontaneous control of HIV-1 replication in rare infected and untreated individuals (HIV-controllers) has been associated with the presence of protective HLA alleles (e.g. B*27 and B*57) and an efficient HIV-specific T cell response. In contrast, the mechanisms of HIV-1 control in infected patients who received HAART during the acute stage of HIV infection and are able to durably control viral replication, without rebound, after treatment interruption are unknown. We have explored virological and immune status of 7 HIV-1-infected individuals who have controlled plasma viral loads to < 50 RNA copies/ml for a median of 5.6 years [range, 4-5.9 years] after discontinuation of therapy. These patients had been treated within 10 weeks after the symptoms of acute infection and for a median of 6.7 years [range, 1-7.5 years]. HIV-DNA level was low in all 7 patients (1.7 Log copies/106 PBMC, range 0.5-2.4), close to levels found in HIV controllers (1.5 Log), lower than in acute infection HAART-treated patients (2.1 Log) or in chronic untreated patients (3.3 Log). Replication of infecting viruses was detected upon in vitro stimulation of their CD4+ T cells (median 118 ng of p24/ml, range 0.33 - 266). Non-stimulated CD8+ T cells from 3/6 patients showed transiently strong capacities to suppress HIV-1 superinfection of autologous CD4+ T cells. However, ELISPOT revealed low frequencies of IFN γ -secreting HIV-specific CD8+ T cells (618 \pm 958 SFC/106 PBMC), lower than what is observed in HIV-controllers (6843 \pm 4866 SFC/106 PBMC) (p=0.020) and comparable to levels found in patients receiving HAART (865 \pm 1071 SFC/106 PBMC) (p=0.85). The "protective" HLA allele B*57 was absent in these patients. And only one of them had the HLA B-*27 allele. In contrast, 3/7 carried HLA B*35, which has been associated with accelerated progression to AIDS. Conclusions: These patients may have achieved a significant reduction in the level of the viral reservoir through early therapeutic intervention, and may not require high frequencies of HIV-specific CD8+ T cells to maintain control of viremia. In this context, the presence of HLA B*35, which can negatively affect the T cell response, did not seem to influence the durable viral control after discontinuing HAART. This work is funded by the French Agency on AIDS research (ANRS).

22. VIH et résistances à l'heure des nouveaux antirétroviraux

Anne-Geneviève Marcelin

UPMC INSERM U943, Laboratoire de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

anne-genevieve.marcelin@psl.aphp.fr

Depuis la découverte du VIH, 25 antirétroviraux (ARV) ont été enregistrés et ont permis d'augmenter de façon spectaculaire la survie des patients infectés par le VIH en contrôlant la charge virale (CV) plasmatique. Cependant, 20% des patients ont encore une CV détectable sous traitement et présentent un risque de sélection de virus résistants. Outre l'étude de la résistance aux nouveaux antirétroviraux, actuellement, les perspectives d'études de la résistance aux ARV concernent 2 situations différentes : d'une part, les patients en échec qui dans la grande majorité des cas présentent un niveau de CV faible sous traitement et d'autre part, les patients en succès virologique après un long passé thérapeutique et chez qui un changement thérapeutique est envisagé.

En ce qui concerne les patients en échec, les défis sont d'augmenter, la sensibilité des tests de résistance afin de permettre la détection des variants résistants à des niveaux faibles de CV. En effet, certaines molécules à faible barrière génétique, comme les inhibiteurs d'intégrase ou les NNRTI peuvent sélectionner des virus résistants même avec une virémie résiduelle très faible. De plus, la cinétique d'apparition des variants résistants chez ces patients à faible CV résiduelle reste à déterminer.

En ce qui concerne les patients en succès thérapeutique, l'utilisation de molécules mieux tolérées est un enjeu majeur. Des données cliniques récentes ont montré que les options thérapeutiques sont plus limitées du fait de toxicité médicamenteuse au long cours. Chez des patients ayant des échecs thérapeutiques dans le passé, les changements thérapeutiques vont devoir tenir compte d'éventuelles résistances archivées et ceci doit se faire de la manière la plus rationnelle possible.

23. VIH et résistance aux anti-CCR5

Pierre Delobel

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales & INSERM U563, CHU de Toulouse

delobel.p@chu-toulouse.fr

Les mécanismes qui gouvernent la résistance aux antagonistes de CCR5 sont encore mal connus. Une émergence de virus résistants a pu être observée in vivo chez certains patients au cours des essais pivots de développement du maraviroc et du vicriviroc, ainsi qu'in vitro après passages successifs de virus en présence de concentrations croissantes d'antagonistes.

Un premier mécanisme de résistance est lié à l'émergence de virus capables d'utiliser le corécepteur CXCR4 (virus dual-tropic R5X4 ou X4 purs). Ces virus émergents R5X4/X4 sont le plus souvent liés à la sélection de virus minoritaires pré-existants qui n'avaient pas été détectés avant l'initiation du traitement par les antagonistes de CCR5. Entre le séquençage direct de la région V3 de la gp120, simple et accessible mais peu sensible, et les tests phénotypiques, plus sensibles mais d'utilisation restreinte à quelques laboratoires, la place des techniques de séquençage à haut débit, notamment du pyroséquençage, reste à préciser.

Un deuxième mécanisme de résistance aux antagonistes de CCR5 implique la sélection de virus qui gardent un tropisme exclusif pour CCR5 mais qui ont acquis la capacité à entrer dans la cellule cible malgré la présence de l'antagoniste. Un mécanisme non compétitif allostérique semble le plus fréquemment impliqué mais un mécanisme compétitif a récemment été décrit. Les déterminants génétiques de la résistance aux antagonistes de CCR5 ont été principalement localisés au niveau de la région V3 de la gp120 mais également au niveau du peptide de fusion de la gp41. Cependant les corrélations génotype/phénotype de ces virus R5 résistants restent largement méconnues. Aucun pattern de mutation constant n'a pu être caractérisé et les mutations observées semblent variables d'un patient à l'autre. Une prédiction génotypique de la résistance aux antagonistes de CCR5 est donc impossible à ce jour et l'utilisation de tests phénotypiques reste requise pour objectiver cette résistance. Une meilleure connaissance des corrélations génotype/phénotype de ces virus R5 résistants pourrait à terme permettre le développement d'algorithmes génotypiques de prédiction de la résistance aux antagonistes de CCR5.

24. Variabilité génétique du VHB et pression des antirétroviraux : quel impact dans le contexte du VIH ?

Karine Lacombe

Inserm UMR-S707, Paris ; SMIT Saint-Antoine, AP-HP, Paris ; Université Pierre et Marie Curie, Paris VI

karine.lacombe@sat.aphp.fr

Les analogues nucleos(t)ides de la transcriptase inverse actifs contre le virus de l'hépatite B (VHB) exercent une pression de sélection qui se traduit par l'émergence à plus ou moins long terme de mutations sur les gènes *pol* et S du VHB. Les mutations de la polymérase, enzyme indispensable à la réplication virale, entraîne une résistance croisée à toutes les molécules actuellement utilisées pour traiter l'hépatite B, dont certaines possèdent une activité duale contre le VIH. Les mutations S apparaissant sous traitement peuvent être liées aux mutations *pol* par effet « miroir », à cause de la superposition des cadres de lecture des deux gènes *pol* et S. Ces mutations ont deux conséquences. Elles pourraient dans certaines conditions entraîner un échec de dépistage de l'antigène HBs par les tests ELISA classiques et donc être responsables de faux négatifs pour l'hépatite B. Elles favorisent également l'apparition de virus à antigène HBs muté que ne reconnaît pas la réponse immune développée suite à la vaccination contre le VHB, ce qui peut potentiellement se traduire par un échec vaccinal contre le VHB. La fréquence de ces mutations et leur impact sont peu connus dans le contexte du VIH, alors que les patients co-infectés VIH-VHB sont traités depuis longtemps par des molécules à activité duale antiVIH et antiVHB, sans que le contrôle virologique du VHB soit toujours optimal. Nous nous attacherons, après quelques rappels de virologie, à discuter quelle résonance accorder au niveau individuel et collectif à la variabilité génétique du VHB lorsqu'elle est conditionnée par les antirétroviraux prescrits chez les patients infectés par le VIH.

25. Facteurs associés au tropisme du VIH-1 déterminé dans l'ADN proviral chez des patients traités par anti-rétroviraux et ayant une charge virale indétectable dans le plasma: implications pour l'utilisation des antagonistes du corécepteur CCR5

Cathia Soulie

Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMR S-943 Paris, F-75013 France ; INSERM, U943, Paris, F-75013 France ; AP-HP, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Laboratoire de Virologie, Paris, F-75013 France

cathia.soulie@psl.aphp.fr

Slim Fourati^{1,2,3}, Sidonie Lambert-Niclot^{1,2,3}, Isabelle Malet^{1,2}, Marc Wirden^{1,2,3}, Roland Tubiana^{1,2,4}, Marc-Antoine Valantin^{1,2,4}, Christine Katlama^{1,2,4}, Vincent Calvez^{1,2,3} et Anne-Geneviève Marcelin^{1,2,3}

1. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMR S-943 Paris, F-75013 France ; 2. INSERM, U943, Paris, F-75013 France ; 3. AP-HP, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Laboratoire de Virologie, Paris, F-75013 France ; 4. AP-HP, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Service de maladies infectieuses, Paris, F-75013 France

Objectives: Most treated HIV-1 patients have undetectable viral loads and the strategies for managing long-term side effects may involve a new class of antiretroviral-like CCR5 antagonists. Tropism determination based on proviral DNA sequence is necessary for patients with a fully suppressed plasma viral load, as assays analyzing DNA phenotypes have yet to be developed. We aimed to analyse HIV-1 tropism using proviral DNA sequencing and the factors associated with, in a group of patients on antiretroviral (ARV) treatment with an undetectable viral load in plasma.

Methods: Blood samples of 140 HIV-1-infected ARV-treated patients with a plasma viral load of <40 copies/mL were studied. All patients had never been treated with CCR5 antagonists. Coreceptor usage was determined using proviral DNA from the V3 env region sequence by Geno2Pheno (false positive rate 10%) and PSSM algorithms.

Results: Among 140 patients treated using ARV therapy with a fully suppressed plasma viral load, at least 70% of patients had proviral R5-tropic virus. Among all of the studied factors analysed (time since HIV infection diagnosis, treatment duration, time since viral load undetectability, HIV subtype, current treatment, age, number of treatment types, sex, genotypic susceptibility score, nadir and current CD4 cell counts), nadir CD4 T cell counts alone was associated with tropism during a multivariate analysis. R5X4/X4 tropism was present in all nadir CD4 categories.

Conclusions: Proviral DNA tropism determination should be required, even for patients with a CD4 nadir > 350 cells/mm³ cell count, before CCR5 antagonists are used in patients with a fully suppressed plasma viral load.

26. Exploitation de la voie des microRNA par le Virus de l'Immunodéficience Humaine

Yamina Bennasser

*Laboratoire de Virologie Moléculaire, Institut de Génétique Humaine, CNRS
UPR1142, Montpellier*

yamina.bennasser@igh.cnrs.fr

L'une des problématiques des thérapies actuelles contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), est la persistance d'un réservoir viral composé de cellules infectées à l'état latent. Les gènes impliqués dans l'installation ou la rupture de latence du virus ne sont pas identifiés.

Récemment décrits, les microRNA (miRNA) sont des ARN non codants régulateurs de l'expression des gènes cellulaires. L'infection par le VIH entraîne une dérégulation du profil des miRNA. Dans cette étude nous nous intéressons aux miRNA dont l'expression est augmentée suite à l'infection. La surexpression de ces miRNA permet une meilleure réplication du virus. Ces miRNA ne ciblent pas l'ARN viral mais inhibent l'expression de gènes cellulaires et optimisent différentes étapes du cycle viral.

Cette étude analyse les mécanismes développés par le VIH pour exploiter la voie des miRNA afin de réguler de nombreux gènes cellulaires. L'identification des cibles de ces miRNA permettra d'identifier des gènes cellulaires impliqués dans une activité antivirale et/ou le maintien de la latence virale

27. Innate and cellular immune responses participate in the control of viral infections

Arnaud Moris

INSERM UMR-S945 Faculté de Médecine, UPMC, Hôpital Pitié-Salpêtrière

arnaud.moris@upmc.fr

We are currently studying the interplay between innate immunity and the process of antigen presentation by MHC molecules.

The cytidine deaminase APOBEC3G (A3G) enzyme exerts an intrinsic anti-HIV defense by introducing lethal G-to-A hypermutations in the viral genome. The HIV-1 Vif protein triggers degradation of A3G and counteracts this antiviral effect. We have characterized the impact of A3G on the adaptive cellular immune response.

We first examined whether A3G-edited defective viruses, which are known to express truncated or misfolded viral proteins, activate HIV-specific (HS) CD8⁺ CTLs. To this end, we compared the immunogenicity of cells infected with WT or Vif-deleted viruses, in the presence or absence of the cytidine deaminase. The inhibitory effect of A3G on HIV replication was associated with a strong activation of cocultivated HS-CTLs. CTL activation was particularly marked with Vif-deleted HIV, and with viruses harbouring A3G. Enzymatically-inactive A3G mutants failed to enhance CTL activation. We also engineered proviruses bearing premature stop codons in their genome, as scars of A3G editing. These viruses were not infectious but potently activated HS-CTLs. Therefore, the pool of defective viruses generated by A3G represents an underestimated source of viral antigens.

Our results reveal a novel function for A3G, acting not only as an intrinsic antiviral factor, but also as an inducer of the adaptive immune system.

28. Evidence for a high avidity CD4+ T Cell response directed against Gag in HIV Controllers: implications for HIV vaccine design

Lisa A. Chakrabarti

Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris

chakra@pasteur.fr

Benoît Vingert¹, Santiago Perez-Patrigéon¹, Patricia Jeannin¹, Olivier Lambotte², Faroudy Boufassa³, Fabrice Lemaître⁴, William W. Kwok⁵, Ioannis Theodorou⁶, Jean-François Delfraissy² and Jacques Thèze¹ for the ANRS EP36 HIV Controllers Study Group

1. Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris ; 2. AP-HP, Département de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; 3. INSERM U822, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; 4. G5 Dynamiques des Réponses Immunes, Institut Pasteur, Paris ; 5. Benaroya Research Institute at Virginia Mason, Seattle, WA, USA ; 6. INSERM U543, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

HIV controllers are rare individuals who spontaneously control HIV replication in the absence of antiretroviral treatment. Emerging evidence indicates that HIV control is mediated through very active cellular immune responses, though how such responses persist without waning over time is not yet understood. To investigate the nature of memory CD4+ T cells responsible for long-term anti-HIV responses, we characterized the growth kinetics, V β repertoire, and avidity for antigen of patient-derived primary CD4+ T cell lines. Specific cell lines were obtained at high rate for both HIV controllers (16/17) and efficiently treated patients (19/20) in response to the immunodominant Gag293 peptide. However, lines from controllers showed a faster growth kinetics, which could be ascribed to (i) a higher frequency of Gag293-specific cells as measured by ex vivo ELISPOT (ii) a faster generation time as measured by CFSE proliferation analysis. After normalizing for growth rates, IFN- γ responses directed against the immunodominant Gag293 peptide showed higher functional avidity in HIV controllers, indicating differentiation into highly efficient effector cells. In contrast, responses to CMV peptides did not differ between groups. Gag293-specific CD4+ T cells were characterized by a diverse V β repertoire, suggesting that multiple clones contributed to the high avidity CD4+ T cell population in controllers. The high functional avidity of the Gag293-specific response could be explained by a high avidity interaction between the TCR and the peptide-MHC complex, as demonstrated by MHC class II tetramer binding. Thus, HIV controllers harbor a pool of memory CD4+ T cells with the intrinsic ability to recognize minimal amounts of Gag antigen, which helps explain how they maintain an activated antiviral response in the face of very low viremia.

The characteristic properties of high avidity T cells, including high proliferative potential and rapid differentiation into efficient effector cells, may explain many features of the antiviral T cell response in HIV controllers. The implication of these findings for the design of HIV vaccine strategies will be discussed.

29. Inhibition of HIV-1 transfer from immature dendritic cells to primary CD4 T lymphocytes by monoclonal neutralizing antibodies

Alizé Proust

UMR_S U748 INSERM, Université de Strasbourg, Institut de Virologie, Faculté de Médecine, 3 rue Koeberlé, F-67000 Strasbourg, France

hollv@unistra.fr

Maryse Peressin, Julien Pénichon, Vincent Holl and Christiane Moog

UMR_S U748 INSERM, Université de Strasbourg, Institut de Virologie, Faculté de Médecine, 3 rue Koeberlé, F-67000 Strasbourg, France

Langerhans and interstitial dendritic cells (DCs) present in the vaginal mucosal site are one of the first target cells of HIV-1 following sexual transmission. These DCs have been shown to be infected *in vivo* and *ex vivo* and to replicate HIV-1. They were also described to efficiently transfer infectious HIV-1 particles to CD4 T cells. Here, we performed HIV-1 transfer experiment in the aim to determine the role of HIV-1-specific antibodies in the inhibition of HIV-1 transfer from immature DCs to primary CD4 T lymphocytes. DCs were infected for 2 hours, extensively washed before addition of CD4 T lymphocytes in the presence or absence of antibodies. We found that monoclonal neutralizing antibodies added on HIV-1-loaded immature DCs were able to prevent HIV-1 transfer to CD4 T lymphocytes. Moreover, due to a reduced kinetic of HIV-1 fusion in Langerhans and interstitial DCs in the presence of primary CD4 T lymphocytes, monoclonal neutralizing antibodies were also able to inhibit HIV-1 infection of these DCs, although the antibodies were added 2 hours post-infection. The concentration of antibodies able to reduce by 90% the infection of DC was however higher than that required for the inhibition of HIV-1 transfer to CD4 T lymphocytes. Overall, we show that monoclonal neutralizing antibodies prevent both HIV-1 infection of immature DCs and HIV-1 trans-infection of primary CD4 T lymphocytes. These results suggest that, if induced rapidly at the mucosal site of the genital tract, antibodies may participate in the prevention of HIV-1 sexual transmission.

30. HIV-1 Vif protein binds the antiviral factor APOBEC3G mRNA and regulates its translation

Serena Bernacchi

Architecture et Réactivité de l'ARN, Université de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France

s.bernacchi@ibmc-cnrs.unistra.fr

G. Mercenne, D. Richer, G. Bec, S. Henriet, R. Marquet and J.-C. Paillart

Architecture et Réactivité de l'ARN, Université de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France

HIV-1 Vif (viral infectivity factor) is a 23KDa basic protein which is essential to viral fitness and pathogenicity. Vif binds specifically HIV-1 genomic RNA and may contribute to efficient particle assembly. Moreover, Vif is a RNA chaperone that could temporally regulate RNA dimerization and the early steps of HIV-1 reverse transcription. Particular cell lines named non-permissive (CD4+ T lymphocytes, monocytes, macrophages), cannot sustain viral replication of Vif(-) HIV-1 virions. In these cells, Vif counteracts efficiently the antiviral activity of two host cell cytidine deaminases, APOBEC3G (A3G) and A3F by preventing their packaging into viral particles. To this aim, Vif induces their degradation through the proteasomal pathway, or alternatively inhibits their translation by an unknown mechanism. In addition, in vitro experiences showed that Vif forms multimers and that the inactivation of the homodimerization considerably reduces viral infectivity by increasing A3G proteins encapsidation. To gain further insight into the role of Vif in the translational regulation of A3G, we have characterized Vif binding to the full-length A3G mRNA and to fragments corresponding to coding or untranslated regions (UTR) of this mRNA. Filter binding assays and fluorescence titration curves revealed that Vif tightly binds to A3G mRNA. Vif overall binding affinity was higher for the 3' UTR than for the 5'UTR, even though this region contained at least one high affinity Vif binding site. Several Vif binding sites were then mapped by enzymatic footprinting studies. In vitro translation evidenced that Vif requires the 5'UTR to inhibit A3G translation. Mutating the Vif multimerization domain reduced the affinity and specificity of Vif for A3G mRNA. Translational repression of A3G was not affected by mutating the Vif multimerization domain.

31. HIV penetration into human genital mucosa and viral reservoirs

Morgane Bomsel

Institut Cochin- 75014 Paris, France

morgane.bomsel@inserm.fr

The main entry portals of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) during its sexual transmission are the mucosal surfaces of the female and male genital tracts, which are covered by different types of epithelial barriers. The first steps of mucosal HIV-1 transmission have been investigated to date primarily in the different epithelia present in the female genitals and the gastrointestinal tract. In simple epithelia, such as the endocervix, rectum and intestine, HIV-1 can cross such an epithelial barrier by the transcellular pathway of transcytosis initiated by the formation, at the apical pole, of a viral synapse between HIV-1-infected cells and epithelial cells, which induces polarized virus budding at the contact area between the two cell type. The newly budded virus is then rapidly internalized by the epithelial cells (without infecting the epithelial cells, as is the case in-vivo), transcytosed towards the basal pole, and released, still infectious, into the basal environment. In turn, spread of infection from the rectal submucosa could be very fast. In stratified epithelia, such as the vagina, exocervix and anus, early HIV-1 transmission is considered to involve epidermal Langerhans cells (LCs). Surprisingly, how HIV-1 enters the male genitals remains elusive. We could show that inner foreskin is permissive to HIV entry and behave like other non keratinized stratified epithelia, in contrast to the outer foreskin that is resistant to HIV. Furthermore, viral synapses are required for HIV entry in the foreskin, similar to monostratified epithelia. Finally, mixed male and female genital fluids reduce mucosal penetration of HIV. In infected men, HIV may persist and shed intermittently in semen, despite effective HAART treatment, and absence of other STI. It suggests that viral reservoir exist in the male genital tract. The origin and nature of such reservoir, that may included the testis, are poorly understood.

32. Réservoirs et pénétration des antirétroviraux

Caroline Solas

Laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie, CHU Timone, Marseille

caroline.solas@ap-hm.fr

L'existence des réservoirs viraux est un obstacle majeur au contrôle complet de la réplication virale du VIH. L'une des causes de l'échec thérapeutique est d'origine pharmacologique et impliquerait notamment une mauvaise pénétration de certains antirétroviraux dans ces compartiments réservoirs.

L'objectif de cette présentation sera d'évaluer les causes pharmacologiques de la mauvaise pénétration de certains antirétroviraux. Nous présenterons successivement les données actuelles sur la pénétration des antirétroviraux dans les différents réservoirs, à savoir le LCR, le tissu lymphoïde et les sécrétions génitales. Une analyse détaillée des caractéristiques impliquées à la fois dans le passage de ces molécules au travers des différentes barrières physiologiques et dans les différences observées entre les antirétroviraux sera présentée. Nous aborderons également les difficultés méthodologiques rencontrées pour l'évaluation de ces compartiments et les conséquences qu'elles peuvent avoir sur l'interprétation des résultats. Par ailleurs, nous aborderons l'importance de la pénétration des antirétroviraux pour optimiser la réponse virologique et minimiser certains effets délétères de l'infection par le VIH (troubles neurologiques, transmission). Les données de pénétration dans les réservoirs sur les nouvelles molécules seront présentées, apportant des premiers résultats encourageants. Enfin, les limites des évaluations actuelles seront discutées ainsi que les perspectives qui pourraient permettre d'améliorer nos connaissances et d'optimiser la prise en charge thérapeutique actuelle.

33. Susceptibilité à l'infection par VIH-1 des vésicules séminales humaines

Claire Deléage

INSERM U625, Campus de Beaulieu, Rennes, France

claire.deleage@univ-rennes1.fr

H. Denis¹, N. Rioux-Leclercq³, A. Ruffault², B. Jégou¹ et N. Dejuicq-Rainsford¹

1. INSERM U625, Campus de Beaulieu, Rennes, France ; 2. Retrovirology unit, Rennes University Hospital, Rennes, France ; 3. Anatomico-pathology department, Rennes University Hospital, Rennes, France

Background: Semen represents the main vector for HIV dissemination worldwide. Even when HAART achieves undetectable viral load in the blood, semen can still harbor replication competent virus. Therefore, it is essential to determine the origin of HIV in the seminal plasma and assess whether the male genital tract is responsible for local production. The seminal vesicles (SV) may represent an important contributor to HIV shedding in semen as their secretions represents 60% of the seminal fluid. This study is the first to investigate the ability of human SV to support HIV infection.

Methods: Normal human SV were obtained from HIV-negative men. An organotypic culture was developed and characterized by histological examination, MTT assay, in situ detection of cell specific markers as well as real time PCR quantification of cell specific mRNAs. Potential immune target cells were quantified and SV explants were exposed to R5 (SF-162) HIV-1 strains for 3h at 37°C. HIV infection was detected by RT activity measure in culture supernatants and HIV DNA quantification. The infectivity of produced virions was evaluated on PBMC.

Results: Human SV in culture displays preserved tissue architecture and maintenance of all cell types for 15 days. Potential immune target cells in this organ consist mainly of CD68+ myeloid cells, whilst very few CD4+ T lymphocytes are observed. Following exposure to HIV-1 R5, a 10 fold increase in HIV DNA was observed in the SV from 3 donors between day 7 and day 15. Increased RT activity was measured in the culture supernatants. Day 15 supernatants of HIV infected SV lead to productive infection of PBMC.

Conclusions: We demonstrated for the first time that human seminal vesicles can support HIV infection in vitro and therefore could contribute virus to semen. The infection of seminal vesicles from asymptomatic HIV+ men is currently being investigated. Key words : HIV, male genital tract, semen, reservoir, seminal vesicles.

34. La protéine p21Cip1/WAF1 contrôle la réplication du VIH-1 dans les macrophages et les lymphocytes T CD4+ primaires

Anna Bergamaschi

Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris

anna.bergamaschi@pasteur.fr

Annie David, Françoise Barré-Sinoussi and Gianfranco Pancino

Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris

La protéine p21Cip1/Waf1, un inhibiteur des cyclines dépendantes des kinases, a été récemment impliquée dans la résistance des cellules hématopoïétiques souches à l'infection par le VIH-1. Nous avons montré que l'induction de la p21 par l'agrégation des récepteurs FcγR par les complexes immuns (CI) et par l'inhibiteur des histone acétylases (HDACi) MS-275 inhibe la réplication du VIH-1 dans les macrophages dérivés des monocytes (MDM). La transcription inverse, aussi bien que l'intégration du VIH-1 dans le génome de l'hôte sont fortement réduites. Des expériences d'infection à un seul cycle ont montré que la déplétion de la p21 par des siRNA augmente les niveaux de reverse transcrits et de formes intégrées dans les MDM non stimulés et restaure la réplication du VIH-1 dans les MDM activés par les FcγR. Pour confirmer que la p21 est responsable de l'inhibition du VIH-1, nous avons transfecté les MDM avec des vecteurs d'expression de p21 taguée avec GST ou HA. La surexpression des p21 recombinantes réduit la réplication du VIH-1 de 96% et 93% respectivement. L'ensemble de ces résultats indique que la p21 inhibe la réplication du VIH-1 dans les macrophages en bloquant les phases précoces du cycle viral. Afin de tester si la p21 a une activité antivirale dans d'autres cellules cibles du VIH-1, nous avons silencé l'expression de la p21 dans des cellules T CD4+ et nous les avons infectées avec HIV-1NL4.3 pseudotypé par VSV-G. La déplétion de la p21 a entraîné une augmentation significative (63%) de la réplication du VIH-1 par rapport aux cellules T CD4+ transfectées avec un siRNA irrelevant. Ceci suggère que la p21 a une activité inhibitrice sur l'infection par le VIH-1 également dans les cellules T CD4+. Toutefois, il a été précédemment suggéré que la p21 facilite la réplication du VIH-1 lors d'une infection chronique des MDM. Nous nous sommes donc demandé si p21 pouvait influencer différemment les étapes pré et post-intégratives de la réplication du VIH-1. Nous avons transfecté des MDM avec un vecteur VIH-1NL4.3 et nous avons étudié l'effet de l'activation des FcγR sur la transcription virale. L'expression du VIH-1 a été 3,2 fois supérieure dans les MDM activés par les CI que dans les MDM non stimulés. Nos données démontrent que la p21 agit comme une barrière naturelle à la réplication du VIH-1 dans les principales cibles cellulaires du virus. Nos résultats suggèrent aussi que la p21 pourrait jouer un double rôle dans l'infection des macrophages par le VIH-1, en inhibant les étapes pré-intégratives et en favorisant la transcription virale après l'intégration. Des produits pharmacologiques, comme les HDACi, qui sont étudiés pour éradiquer les réservoirs du VIH-1 chez des patients traités par ARV, induisent l'expression de la p21 et pourraient donc avoir un double rôle thérapeutique, en favorisant l'expression du VIH-1 dans les cellules infectées de façon latente et en limitant la réinfection d'autres cibles lymphoïdes et myéloïdes du virus.

35. Facteurs immunologiques impliqués dans l'établissement et la persistance d'un réservoir pour le VIH

Nicolas Chomont

Vaccine and Gene Therapy Institute, Port Sainte-Lucie, USA

nchomont@vgti-fl.org

Bien que les thérapies antirétrovirales (HAART) aient permis de réduire la quantité de virus circulant à des niveaux indétectables, le VIH persiste dans des réservoirs anatomiques et cellulaires. À l'échelle cellulaire, le réservoir le mieux défini est constitué de lymphocytes T CD4 ayant intégré l'ADN du VIH dans leur génome mais ne produisant pas de particules virales. Les thérapies actuelles ne ciblant que les cellules productrices de virus, de nouvelles stratégies sont donc requises pour éliminer ce petit nombre de cellules latentes qui représentent un obstacle à l'éradication du virus. Dans ce contexte, la caractérisation des mécanismes contribuant à l'établissement et à la stabilité du réservoir viral paraît essentielle. Nous avons identifié deux mécanismes majeurs impliqués dans la persistance de ces cellules réservoir. Ainsi, la survie à long terme des cellules T mémoires et la prolifération homéostatique assurent la pérennité de ce petit nombre de cellules. D'autre part, nos résultats montrent que les régulateurs négatifs de l'activation des cellules T jouent un rôle important dans l'établissement d'un réservoir latent pour le VIH. L'ensemble de nos observations suggère que l'éradication du réservoir cellulaire du VIH pourrait voir le jour grâce au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement ces mécanismes.

Présentations affichées

1. Structural dynamic of HIV-1 Reverse Transcriptase as a new target to block HIV replication

Daouda Abba Moussa

CRBM CNRS, Montpellier, France

daouda.abbamoussa@crbm.cnrs.fr

Audrey Agopian¹, Nathalie Bosquet-Dereuddre², Pascal Clayette², Gilles Divita¹

1. CRBM CNRS, Montpellier, France ; 2. SPI-BIO CEA, Fontenay aux roses, France

Reverse transcriptase (RT) plays an essential role in the replication of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and remains a primary target of anti-HIV-1 drugs. The biologically active form of HIV-1 RT is a heterodimer of two subunits, p51 and p66, each consisting of distinct sub-domains: the fingers, the palm, the connection, the thumb and the RNase H sub-domains, the latter only present in p66. The formation of RT is a two-step mechanism, involving first the rapid association of the two subunits “dimerization”, followed by conformational changes “maturation” yielding the biologically active form of the enzyme. We have elaborated a new strategy based on short interfacial peptides that target protein-protein interfaces involved in RT-activation. RT maturation mainly involves interactions between the thumb domain of p51 and RNase-H domain of p66. In a screen of peptides derived from the thumb domain of this enzyme, we have identified a short peptide of Paw, which inhibits the maturation step and abolish replication of HIV-1 LAI with an IC₅₀ of ca 1 nM (Agopian et al, 2009). We have identified the sequence and structural features required for Paw activity and derived a shorter 12-mer peptide P27. P27 is ten-fold more potent in vitro and exhibiting a potent antiviral activity at with an IC₅₀ of 0.32 nM and a selectivity index of about 2000. P27 only binds dimeric RT and stabilizes it in an inactive/non processive dimeric conformation that prevents proper binding of primer/template. Moreover, we have demonstrated that sub-nanomolar concentrations of p27 block the replication of multi-drug resistant strains. Taken together, these results demonstrate that HIV-1 RT maturation constitutes an attractive target for AIDS chemotherapeutics and for the design of more specific new antiviral drugs.

References

Agopian, A., Gros, E., Aldrian-Herrada, G., Bosquet, N., Clayette, P. and Divita, G. A New Generation of Peptide-based Inhibitors Targeting HIV-1 Reverse Transcriptase Conformational Flexibility. J Biol Chem 284, 254-64 (2009). Depollier J, Hourdou ML, Aldrian-Herrada G, Rothwell P, Restle T, and Divita G. (2005) Insight into the mechanism of a peptide inhibitor of HIV reverse transcriptase dimerization. Biochemistry. 44(6):1909-18.

2. Suivi biologique d'une cohorte prospective de 101 patients infectés par le VIH et mis sous traitements antirétroviraux

Komivi Mawusi Aho

Laboratoire de Biologie moléculaire et d'Immunologie (BIOLIM), FMMP Université de Lomé

ahomawus@gmail.com

M. Prince-David, Y. Dagnran, W. Dolou et M. Salou

Laboratoire de Biologie moléculaire et d'Immunologie (BIOLIM), FMMP Université de Lomé

Objectifs : Le but de ce travail était d'établir le profil biologique des patients en fonction des trois schémas de trithérapie (Triomune, Combivir+Névirapine, Combivir+Crixivan) les plus fréquemment utilisés au Togo.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive d'une cohorte prospective de 101 PVVIH mis sous traitement antirétroviral entre 15 mars 2002 et 31 décembre 2004. Les paramètres épidémiologiques, biologiques et thérapeutiques de cet échantillon ont été analysés. **RESULTATS** Cette étude a concerné 101 patients dont l'âge était compris entre 2 et 58 ans avec un âge moyen de 36,81 ans. Les tranches d'âge de 20 à 49 ans ont représenté 88% de notre échantillon. Il y avait une prédominance féminine avec une sex-ratio de 0,23. Sur le plan thérapeutique, 71 patients soit 70,29% étaient sous Triomune. Huit des patients sous Triomune ont présenté un échec immunologique au cours des 18 mois. Sur le plan biologique, l'analyse du taux des CD4, de la NFS et des constantes biochimiques a retrouvé que le suivi biologique a présenté des failles. En effet sur les 101 patients qui ont fait un CD4 en phase « pré-thérapeutique », 101 (100%) ; 54 (53,47%) ; 13 (12,87%) et 3 (2,97%) ont réalisé respectivement un premier, un deuxième, un troisième puis un quatrième contrôle. Sur les 51 patients qui ont réalisé une NFS en phase « pré-thérapeutique », 46 (45,54%) ; 14 (13,8 %) ; et 10 (9,90%) ont réalisé respectivement un premier, un deuxième puis un troisième contrôle. Sur les 42 patients qui ont réalisé un dosage des transaminases en phase « pré-thérapeutique », 40 (39,60%) ; 23 (22,77%) et 10 (9,9%) ont réalisé respectivement un premier, un deuxième puis un troisième contrôle. La Triomune a permis un gain moyen de CD4 de 204,16/mm³ au 12^{ème} mois de traitement. A la NFS, seul le taux d'hémoglobine a significativement augmenté au cours du traitement passant de 9,34g/dl à 10,86g/dl en un délai moyen de 6 mois (p=0,000123). Le nombre total de globules blancs, des lymphocytes totaux et des plaquettes n'a pas subi d'évolution significative sous traitement antirétroviral. Les transaminases hépatiques ont connu une nette élévation au 1^{er} contrôle passant d'une moyenne de 50,21 ui/l à 67,6 ui/l pour les SGOT et de 37,45 ui/l à 50,2 ui/l pour les SGPT.

Conclusion : A la suite de cette étude on retiendra que toutefois que les coûts des bilans du suivi biologique seront à la charge des patients, ce suivi sera toujours médiocre. La Triomune, produit moins coûteux prouve son efficacité du moins sur les 12 premiers mois de prise. Le nombre total des globules blancs et le nombre total des lymphocytes, ne constituent pas des paramètres du suivi du traitement.

Perspectives : Rendre gratuit les bilans de suivi des patients sous traitement antirétroviral
Rendre disponible la Triomune comme traitement de première ligne

3. Réponse immuno-virologique aux ARV de la patiente RBF168, infectée par la souche prototype VIH 1 groupe P

Elodie Alessandri

Laboratoire associé au Centre National de Référence du VIH, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen et Equipe d'Accueil EA2656, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, France

jean-christophe.plantier@univ-rouen.fr

Marie Leoz¹, François Cordonnier², Véronique Lemée¹, Houria Ichou² et JC. Plantier¹

1. Laboratoire associé au Centre National de Référence du VIH, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen et Equipe d'Accueil EA2656, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, France ; 2. Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

Les VIH-1 sont divisés en quatre groupes M à P, depuis la description récente chez une patiente d'origine camerounaise vivant en France, d'un nouveau variant dérivé d'un SIV du Gorille. Malgré la distance génétique importante par rapport aux autres VIH-1, cette souche prototype ne pose pas problème de dépistage sérologique, ni de quantification de l'ARN plasmatique avec les techniques actuelles, Abbott et Roche. Aucune donnée d'efficacité des traitements antirétroviraux (ARV) n'est par contre disponible à ce jour. L'objectif de ce travail était d'étudier la réponse immuno-virologique de la patiente RBF168, à un traitement ARV composé de deux inhibiteurs nucléosidiques et d'un inhibiteur de protéase. Le suivi de la patiente a été réalisé de mars 2004 à décembre 2009. Le suivi virologique a été effectué par la technique Abbott HIV-1 RealTime, ainsi que par une technique développée au laboratoire. Le traitement ARV a été instauré en février 2009. Un séquençage des régions cibles des ARV (protéase, reverse transcriptase (RT), intégrase et gp41) a été effectué avant la mise sous traitement (J0). En l'absence de traitement de mars 2004 à février 2009, le nombre de CD4 moyen était de 320/mm³ (14,2%), associé à une charge virale moyenne de 4,5 Log copies/mL en technique Abbott et 5 Log copies/mL en technique maison. Le nadir de CD4 était de 260/mm³ en juin 2004. L'analyse du séquençage à J0 a montré la présence dans la région protéase, de 11 mutations mineures décrites pour le VIH-1 groupe M, associées à deux mutations atypiques, conduisant à une résistance génotypique à l'atazanavir et au tipranavir ; la mutation L44M identifiée dans la gp41 conférait une résistance génotypique à l'enfuvirtide. Deux mutations (A98G et T69S), associées à trois mutations atypiques en position 103, 179 et 210, étaient présentes dans la RT sans conséquence génotypique ; aucune mutation n'a été observée dans l'intégrase. En février 2009, une trithérapie composée de Truvada + Kaletra a été instaurée sur la base du séquençage. Une intolérance au tenofovir a conduit à un changement pour la combinaison Kivexa à M2. La cinétique de la réponse virologique a montré une réduction de 2 Log en deux mois, et une indétectabilité (au seuil de 40 copies/mL) à M3. A M10, la réponse virologique était toujours inférieure à 40 copies/mL. Sur le plan immunologique, une augmentation moyenne de 80 CD4 (moyenne à 400, 13.5%), a été observée depuis l'instauration du traitement, avec un zénith à 440 en septembre 2004. En conclusion, ce travail a permis de démontrer l'efficacité de la trithérapie sur la nouvelle souche de VIH-1, malgré le polymorphisme génétique naturel important. La réponse virologique apparaît conforme à ce qui est observé pour les variants du groupe M, avec une réponse soutenue à huit mois de traitement par Kivexa + Kaletra. La réponse immunologique apparaît limitée, avec en particulier une stagnation du pourcentage de CD4. Le suivi prospectif doit être poursuivi pour s'assurer de l'efficacité prolongée du traitement et évaluer la cinétique de restauration immunitaire.

4. De nouveaux acteurs dans la régulation de la production des ARNm tat du VIH-1

Lilia Ayadi

AREMS UMR 7214 CNRS-UHP, Vandoeuvre Les Nancy, France, 54506

lilia.ayadi@maem.uhp-nancy.fr

Georges Khoury¹, Lilia Ayadi¹, Florence Oillo¹, Jean Michel Sailou^{1,2}, Sarah Sanglier², Delphine Ropers¹ et Christiane Branlant¹

1. AREMS UMR 7214 CNRS-UHP, Vandoeuvre Les Nancy, France, 54506 ; 2. Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique ECPM, Strasbourg, France, 67087

La protéine Tat du virus VIH-1 est essentielle à la multiplication virale puisqu'elle est nécessaire à la production d'ARN viraux de pleine longueur. Néanmoins, du fait de sa forte toxicité pour l'organisme infecté, le virus contrôle fortement sa production au niveau des étapes d'épissage et de traduction. La limitation de l'expression de la protéine Tat pourrait également participer à la latence du virus. La production des différentes protéines virales est rendue possible par un processus complexe d'épissage alternatif faisant intervenir 4 sites donneurs et 8 sites accepteurs d'épissage et conduisant à la synthèse très contrôlée d'une quarantaine d'ARNm. La régulation de ce processus s'exerce essentiellement sur les sites accepteurs d'épissage qui ont la particularité d'être peu efficaces et permet ainsi de moduler finement leur taux d'utilisation. Les protéines cellulaires SR et hnRNP jouent un rôle primordial dans ces régulations, soit en activant, soit en inhibant la formation des complexes d'épissage. Ainsi, le site accepteur A3, dont l'utilisation est nécessaire à la production des ARNm tat, est situé dans une région très structurée de l'ARN viral et est régulé par plusieurs éléments de séquence en cis. Par leur fixation à ces séquences, des facteurs protéiques comme les protéines SR (ASF, SRp40 et SC35) ou les protéines hnRNP (A1 et H), participent au contrôle de l'épissage à ce site. Des études antérieures avaient montré l'existence d'un élément de séquence principal ESS2, situé dans une longue structure tige-boucle irrégulière (SLS3) localisée en aval du site A3. Nous avons montré que cet élément de séquence constituait un fort site d'entrée de la protéine hnRNP A1, point de départ de l'oligomérisation de la protéine sur l'ARN pour bloquer le site accepteur A3. Les protéines SR SC35 and SRp40 dont les sites de liaison sur l'ARN chevauchent l'élément ESS2, activent fortement l'utilisation de ce site. Plus récemment, nous venons de mettre en évidence une nouvelle régulation de l'épissage au site A3 qui met en jeu deux autres protéines SR, ASF et 9G8, qui activent aussi l'utilisation de ce site. Cependant, nos études expérimentales ont révélé un modèle de régulation différent. Leurs sites de liaison sur l'ARN sont juxtaposés et recouvrent la position C5396 dont la mutation en U trouvée dans les ARN du VIH extraits de cellules chroniquement infectées et résistantes à l'infection, induit une forte diminution du taux d'ARNm tat1 in cellulo. L'analyse par spectrométrie de masse des protéines liées à ce segment d'ARN SLS3 a révélé la présence d'une protéine inhibitrice de l'épissage DAZAP1 dont la fixation sur l'ARN est fortement renforcée par la mutation C en U. Les propriétés d'activation des protéines ASF/SF2 et 9G8 sont ici basées sur leur capacité à bloquer la liaison de DAZAP1 à SLS3. Un autre aspect important de ces régulations pour la pathologie est le fait que l'inhibition de la production de la protéine Tat permet au virus de rester silencieux dans certains tissus servant de réservoirs. Pour éliminer ces virus silencieux, il pourrait être intéressant de pouvoir stimuler l'expression de la protéine Tat. D'où l'intérêt de mieux comprendre les mécanismes de régulation de son expression.

5. Impact du polymorphisme génétique de l'orosomucoïde sur la pharmacocinétique de deux inhibiteurs de protéase : l'amprénavir et l'atazanavir (ANRS 104 et ANRS 107)

Aurélie Barrail-Tran

Service de Pharmacie clinique, CHU de Bicêtre, APHP

aurelie.barrail-tran@bct.aphp.fr

C. Cosson², F. Mentré³, C. Piketty⁴, G. Raguin⁵, PM. Girard⁵ and AM. Taburet¹

1. Service de Pharmacie clinique, CHU de Bicêtre, APHP ; 2. Service de Biochimie, CHU de Bicêtre, APHP ; 3. INSERM, U738, Paris ; Université Paris 7, UFR de Médecine, Paris ; UF de Biostatistiques, Hôpital Bichat, APHP ; 4. Département d'immunologie, Hôpital Georges Pompidou, AP-HP ; 5. Service de Maladies infectieuses, CHU Saint Antoine, APHP

Objectifs : L'amprénavir et l'atazanavir sont deux inhibiteurs de protéase (IP) fortement fixés aux protéines plasmatiques et essentiellement à l'orosomucoïde. Cette protéine présente un polymorphisme génétique au niveau de sa partie protéique donnant trois variants appelés ORM1*F1, ORM1*S et ORM2*A. L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact du polymorphisme génétique de l'orosomucoïde sur la pharmacocinétique de l'amprénavir et de l'atazanavir chez les patients des essais ANRS104 et ANRS107.

Méthode : 13 patients (11 hommes 47 [32-53] ans) infectés par le VIH et inclus dans les groupes 2 et 4 de l'essai ANRS104, traités par amprénavir/ritonavir et 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et 52 patients (50 hommes 41 [29-62]) infectés par le VIH inclus dans l'essai ANRS107 et traités par atazanavir/ritonavir, ténofovir et un INTI ont été étudiés. Le phénotypage des variants de l'orosomucoïde a été déterminé après désialylation du plasma par isofocalisation électrique (Phastsystem, Amersham) sur gels de polyacrylamide puis immunoblotting. Les concentrations d'orosomucoïde ont été mesurées par néphélométrie (BN Prospec, Dade Behring) à la semaine 2 (S2) dans l'essai ANRS104 et à la semaine 6 (S6) dans l'essai ANRS107. Les concentrations d'amprénavir total et libre et d'atazanavir total ont été mesurées à l'équilibre, avant une prise (3 patients traités par amprénavir et 42 patients traités par atazanavir) et au cours de l'intervalle de temps entre 2 doses (10 patients pour chaque IP). La fraction libre de l'amprénavir est le ratio de la concentration libre et de la concentration totale d'amprénavir. Les clairances apparentes et les AUC d'amprénavir libre et total ont été déterminées par une méthode non compartimentale (WinNonLin, Pharsight). Les paramètres pharmacocinétiques de l'atazanavir ont été déterminés par une approche de pharmacocinétique de population (WinNonMiw, Pharsight). Les relations entre les phénotypes, les concentrations d'orosomucoïde et les paramètres pharmacocinétiques de l'amprénavir et de l'atazanavir ont été réalisées par un test de Kruskal-Wallis.

Résultats : Dans les 2 essais, 16/65 patients ont une concentration élevée d'orosomucoïde. Les fréquences des 3 phénotypes sont les suivantes : ORM1*F1-ORM2 35,4%, ORM1*F1S-ORM2 52,3% et ORM1*S-ORM2 12,3%. L'allèle ORM1*F2 n'a pas été observée et tous les patients sont monomorphiques pour l'ORM2. Les concentrations d'orosomucoïde ne sont pas reliées aux phénotypes. La fraction libre de l'amprénavir est significativement plus élevée chez les patients présentant le phénotype ORM1*S-ORM2*A par rapport aux autres phénotypes ORM1*F1S-ORM2*A ou ORM1*F1-ORM2*A (0,116 versus 0,097 et 0,074 ; p=0,037). Chez les patients ORM1*S-ORM2*A, la clairance de l'amprénavir total est

significativement augmentée (50,4 L/h versus 19,8 et 11,6 ; $p=0,001$) avec pour conséquence une diminution de l'aire sous la courbe (AUC) d'amprénavir (7937 ng/mL.h versus 21758 et 37391 ; $p=0,05$) sans différence significative de l'AUC de l'amprénavir libre. Le volume de distribution apparent de l'atazanavir est significativement plus élevé chez les patients présentant le phénotype ORM1*S-ORM2*A par rapport aux phénotypes ORM1*F1S ou ORM1*F1 (87L vs 77L and 80L $p = 0,008$).

Conclusion : Le polymorphisme de l'orosomucoïde influence la pharmacocinétique de l'amprénavir et de l'atazanavir quoique de façon modeste. Ces résultats suggèrent une fixation protéique préférentielle de l'amprénavir et de l'atazanavir sur le variant ORM1*F1 par rapport au variant ORM1*S. Les conséquences sur la diffusion dans les compartiments et réservoirs est actuellement inconnue.

6. Multidimensional scaling initialized by singular value decomposition leads to efficient gene expression signature definition for Tcell subsets in HIV infection

Christophe Bécavin

Institut des Hautes Etudes Scientifiques, Bures sur Yvette, France

arndt@ihes.fr

Colette Mintsa-Eya¹, Brice Targat¹, Sylvie Maiella², Lars Rogge², Arndt Benecke^{1,3}

1. Institut des Hautes Etudes Scientifiques, Bures sur Yvette, France ; 2. Institut Pasteur, Centre d'Immunologie Humaine, Paris, France

Multidimensional scaling (MDS) is a well known multivariate statistical analysis method used for dimensionality reduction and visualization of dissimilarities in multidimensional data. The advantage of MDS with respect to singular value decomposition (SVD) based methods such as principal component analysis (PCA) is its superior fidelity in representing the distance between different instances specially for high-dimensional geometric objects. Molecular dynamics (MD) simulations have been recently shown [1] to be the most efficient way of computing visual representations of high dimensional data in a low dimensional space. Here we investigate the importance of the choice of initial conditions for MD-driven MDS, and show that SVD is the best choice to initiate the MD simulation. Furthermore, we demonstrate that the use of the first principal components of SVD to initiate the MD-MDS algorithm is more efficient than an iteration through all the principal components of cycles of dimensionality reduction and reorientation of the object. Finally, we introduce a k nearest neighbor method to analyze the local structure of the geometric objects and use it to control the quality of the dimensionality reduction. The analysis of the structure of the geometric objects also can be used to define lower bounds on the number of dimensions to be attained by the reduction technique with a controlled loss-of-information [2]. We use our novel geometric analysis methodology to investigate and visualize gene expression data recorded from different Tcell subsets. These transcriptome data reflect gene expression values for over 30.000 human genes. Using the SVD-MDS technology developed here, we are able to derive efficient and highly robust gene expression signatures for the different Tcell subsets studied. These signatures then were exploited in the analysis of gene expression data from HIV infected patients [3] to prove their applicability.

References:

- 1. Andrecut M, Physics Letters A 373 (2009) 2001-2006.*
- 2. Bécavin C, Mintsa-Eya C, Tchitchek N, Lesne A, Benecke A, BMC Bioinformatics (2010) submitted.*
- 3. Weiss L, Letimier FA, Carriere M, Maiella S, Donkova-Petrini V, Targat B, Benecke A, Rogge L, Levy Y, Proc. Natl. Acad. Sci. (2010) under re-vision.*

7. Evaluation de la concordance de deux test non invasifs du foie: fibrotest et fibroscan, chez des sujets mono-infectés vhc et co-infectés vih-vhc

Maryse Bensalem

Service des maladies infectieuses, Centre hospitalier de la région annécienne

mbensalem@ch-annecy.fr

J. Jund², E. Piet¹, C. Michon¹, J. Gaillat¹, J. Pofelski³, G. Beaune⁴ et JP. Bru¹

Centre hospitalier de la région annécienne : 1. Service des maladies infectieuses ; 2. Service information et évaluation médicale ; 3. Service d'hépatogastroentérologie ; 4. Laboratoire de biochimie

Introduction/Objectif : Dans un contexte de moindre recours à la biopsie hépatique grâce à la mise à disposition de tests non invasifs, nous avons tenté de comparer les résultats de fibroscan et de fibrotest : l'objectif était de choisir la stratégie (1 versus 2 tests) permettant de distinguer les fibroses sévères (F3-F4) des fibroses minimales ou modérées (F1-F2). Patients et méthode Etude prospective ayant inclus 104 patients (sex ratio hommes/femmes=2,6), infectés par le vhc (PCR positive), d'un âge moyen de 45 ans \pm 8, d'indice de masse corporelle moyen de 22.4 \pm 3.7 qui ont bénéficié le même jour du fibrotest et du fibroscan. 41 patients étaient co-infectés par le vih . Aucun patient n'a de biopsie hépatique de référence pour cette étude. La concordance des deux tests a été évaluée à l'aide du coefficient de concordance (Kappa). Un modèle de régression logistique a été employé pour la recherche des cofacteurs de fibrose sévère lorsqu'elle est évaluée par chacun des 2 tests.

Résultats : Le coefficient de concordance est de 0,457 (pour un accord de 75,9 %) pour l'ensemble de l'échantillon ; de 0,580 (accord de 85,7 %) pour les mono infectés vhc et de 0,314 (accord de 61 %) pour les co-infectés vih-vhc. Le fibrotest trouve 62 (59,6%) fibroses modérées (74,6% parmi les mono-infectés ; 36,6% les co-infectés). Parmi elles, le fibroscan conclut à une fibrose modérée dans 96,8% des cas (95,7% pour les mono-infectés ; 100% pour les co-infectés). Le fibrotest trouve 42 (40,4%) fibroses sévères (25,4% parmi les mono-infectés, 63,4% les co-infectés). Parmi elles, le fibroscan conclut à une fibrose sévère seulement pour 19 (45,2%) patients (56,3% pour les mono-infectés ; 38,5% pour les co-infectés). En analyse multivariée, la sévérité de la fibrose au fibrotest est significativement corrélée au sexe , à l'infection vih, l'âge et la présence de comorbidités. On ne retrouve pas ces résultats avec le fibroscan. Chez les co-infectés, 100% des sujets ont un fibrotest indiquant une fibrose plus sévère que le fibroscan, versus 77% chez les mono-infectés. La discordance chez les co-infectés était expliquée par des effets collatéraux dans 81% des cas: traitement antirétroviral ou éthylisme perturbant les marqueurs biologiques du fibrotest.

Conclusion : La concordance entre les deux tests est globalement modérée, y-compris chez les mono-infectés, et faible chez les co-infectés. Le fibrotest a tendance à indiquer une fibrose plus sévère que le fibroscan notamment chez les co-infectés, probablement du à la présence de facteurs non-nécessairement liés à la fibrose hépatique (éthylisme et traitement antirétroviral) mais susceptible de perturber les paramètres biologiques utiles pour le fibrotest. En dehors de considération économique, le fibroscan pourrait suffire à l'évaluation de la fibrose hépatique.

8. Pharmacogénétique du CYP2B6, impact sur la pharmacocinétique de la névirapine chez des patients cambodgiens infectés par le VIH-1 (Essai ANRS 12154-PECAN)

Julie Bertrand

UMR738 INSERM, Univ Paris 7

julie.bertrand@inserm.fr

M. Chou², C. Verstyuyft³, O. Segeal⁴, L. Borand⁵, V. Ouk⁶, F. Mentré¹ et AM. Taburet⁷

1. UMR738 INSERM, Univ Paris 7 ; 2. Laboratoire Rodolphe Merieux, Fac de Pharmacie Univ des Sciences de la Santé, Phnom Penh, Cambodge ; 3. Département de Génétique Moléculaire et Pharmacogénétique, Hôpital Bicêtre, APHP, EA2706 Univ Paris Sud ; 4. Service de Médecine Interne, Hôpital Bicêtre, APHP ; 5. Institut Pasteur, Phnom Penh, Cambodge ; 6. Hôpital Calmette, Phnom Penh, Cambodge ; 7. Pharmacie Clinique, Hôpital Bicêtre APHP, Paris, France

Objectif : La névirapine est éliminée principalement par les cytochromes 2B6 et 3A. La fréquence des polymorphismes décrits pour les CYP2B6 516G>T et CYP3A5 6986A>G n'est pas connue chez des patients cambodgiens, de même que l'impact de ces polymorphismes sur la pharmacocinétique et les concentrations de névirapine. De plus la névirapine serait substrat de la p-glycoprotéine, transporteur d'efflux codé par le gène ABCB1. Cette étude pharmacocinétique et pharmacogénétique a été réalisée chez des patients cambodgiens suivis au sein de la cohorte Esther à l'hôpital Calmette de Phnom Penh.

Méthodes : 170 patients cambodgiens, traités par l'association à dose fixe névirapine+stavudine (ou zidovudine)+lamivudine ont été inclus dans l'étude. Des prélèvements sanguins pour le suivi biologique et immunovirologique ont été réalisés 18 mois (M18) et 36 mois (M36) après le début du traitement. Les concentrations de névirapine ont été également mesurées avant la prise du matin au cours de ces évaluations. Un profil pharmacocinétique complet entre deux administrations a été réalisé chez 10 patients qui ont accepté la contrainte et signé le consentement spécifique. L'observance a été mesurée sur une échelle visuelle analogique. Un prélèvement de sang total pour extraction de l'ADN (QUIamp DNAmi kit-Quiagen) a été réalisé chez les patients qui ont signé le consentement à M36. La névirapine a été dosée dans le plasma par méthode CLHP. La variabilité intersérielle est <10%. Les génotypes ont été réalisés par méthode TaqMan. Les paramètres de la pharmacocinétique de population de la névirapine ont été calculés avec le logiciel Monolix et les covariables suivantes recherchées : âge, poids, ALAT, clairance de la créatinine calculée et certains polymorphismes des gènes codant pour les cytochromes CYP2B6 et CYP3A5 et la P-glycoprotéine.

Résultats : 145 patients ont eu une évaluation à M18 et 161 à M36 dont 139 ont participé aux deux évaluations. L'âge médian à M36 est de 37 ans et le poids de 55 kg. Les patients homozygotes pour l'allèle dysfonctionnel des polymorphismes CYP3A5 6986A>G, CYP2B6 516G>T, CYP2B6 1459C>T and ABCB1 3435C>T représentent respectivement 42.4%, 9.2%, 0% et 18% de la population. Le test d'adéquation aux proportions d'Hardy-Weinberg était non significatif pour les quatre polymorphismes. Les concentrations résiduelles médianes de névirapine à M18 et M36 sont de 5700 ng/mL. La clairance orale est de 2,7 L/h avec une variabilité inter et intra patient de 28% et 17% respectivement. Seul le

polymorphisme CYP2B6 516G>T et la clairance de la créatinine impacte significativement le modèle et diminuent la variabilité inter patient de 3 % et 0,3%. Les clairances de la névirapine sont respectivement de 2.95 L/h, 2.62 L/h et 1.86 L/h pour les patients porteurs des génotypes GG, GT et TT.

Conclusion : La fréquence des polymorphismes étudiés est proche de celle de population vietnamienne. Les variabilités inter et intra patient des paramètres pharmacocinétiques de la névirapine sont relativement faibles comparées à celles des inhibiteurs de protéase ou même de l'éfavirenz. Le polymorphisme du gène CYP2B6 516G>T explique une partie de la variabilité interindividuelle.

9. Caractérisation d'un fragment d'anticorps simple-chaine de lama inhibiteur de la protéine Nef du VIH-1

Jérôme Bouchet

Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France ; Inserm U1016, Paris, France

jerome.bouchet@inserm.fr

Stéphane Basmaciogullari^{1,2}, Bettina Stolp³, Oliver T. Fackler³, Patrick Chames⁴, Serge Benichou^{1,2} et Daniel Baty⁴

1. Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France ; 2. Inserm U1016, Paris, France ; 3. Department of Infectious Diseases, Virology, University of Heidelberg, INF 324, 69120 Heidelberg, Germany ; 4. Inserm U624, Marseille, France

La protéine nef du VIH-1 est essentielle in vivo pour la réplication du virus et la pathogénèse du SIDA. Malgré son rôle critique dans la maladie, Nef n'est la cible d'aucune stratégie en thérapeutique antivirale. Les rôles connus de la protéine Nef sont d'exercer une influence positive sur le pouvoir infectieux de particules virales en induisant de profondes perturbations fonctionnelles dans les voies d'endocytose et de signalisation de la cellule hôte. Nous décrivons dans cette étude la conception d'un fragment d'anticorps simple chaîne de lama (sdAb) et sa caractérisation biochimique et virologique. Quand il est exprimé dans les cellules en tant qu'anticorps intracellulaire (« intrabody »), ce sdAb inhibe les fonctions critiques de la protéine Nef. Nous présentons d'abord sa capacité à rétablir l'expression de surface du récepteur CD4 en inhibant son endocytose induite par Nef. Ce sdAb est également capable d'interférer dans l'association de Nef avec la kinase PAK2, et d'empêcher les effets inhibiteurs de Nef sur le remodelage de l'actine. Enfin ce sdAb anti-Nef diminue fortement l'impact positif de Nef sur pouvoir infectieux des particules virales. Des résultats obtenus in vivo par transfert de gène dans un modèle de souris transgéniques exprimant Nef indiquent que le sdAb est également capable de supprimer tous les désordres immunologiques induits par Nef in vivo. Ce sdAb anti-Nef constitue donc un outil original pour élucider les fonctions moléculaires de Nef dans le cycle de réplication virale et pourrait amener au développement de nouvelles stratégies antivirales ciblées sur la protéine Nef.

10. Description clinique et immuno-virologique des 81 patients inclus dans l'Observatoire National des « HIV Controllers » (Etude ANRS EP36)

Faroudy Boufassa

INSERM CESP-U1018, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

faroudy.boufassa@inserm.fr

Asier Saez-Cirion², Jérôme Le Chenadec¹, Azeb Tadesse¹, Véronique Avettand-Fenoel³, Alain Venet⁴, Christine Rouzioux³, Jean-François Delfraissy⁵, Olivier Lambotte⁵, Laurence Meyer¹ and the ANRS EP36 HIV Controllers Study Group

1. INSERM CESP-U1018, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; 2. Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris, France ; 3. Université Paris-Descartes EA3620, Hôpital Necker, Paris, France ; 4. INSERM U802, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France ; 5. Service de Médecine Interne, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Background: HIV Controllers spontaneously maintain undetectable plasma viral loads (VL) for long periods of time. Because of the rarity of these patients, epidemiological data on large groups of HIV controllers are scarce. Here we detail the characteristics and evolution of 81 Controllers enrolled in 2006-2007 in the French ANRS National Observatory.

Methods: To be enrolled HIV controllers must have been HIV-1-infected for ≥ 10 years, asymptomatic, antiretroviral naive, with $>90\%$ of plasma HIV-RNA measurements <400 copies/mL. At inclusion, all previously measured CD4 cell counts and VL, demographic, epidemiological, clinical and current biological data are collected. Mixed-effect linear models were used to assess CD4 cell count slope since HIV diagnosis.

Results: Out of 34 317 patients followed in 35 clinical centers, 81 Controllers patients were enrolled. Median age was 29 years [range: 0.8-65] at HIV diagnosis and 45 years [19-78] at enrollment. Women (43%) and patients infected through intravenous drug use (25%) were overrepresented and homosexual men underrepresented (15%) in controllers when compared to the ANRS SEROCO cohort of HIV-infected adults diagnosed at the same calendar time. Based on the history of viral loads, we identified 30 controllers (no blip group) in whom VL was always below the threshold, and compared them with other HIV controllers who had VL $>$ threshold in less than 50% of measures (rare blip group; $n=39$) and those who had VL $>$ threshold in more than 50% of measures (frequent blip group; $n=12$). No clinical, immunological or virological progression was observed in the no blip group, while 3 immunological (CD4 $<200/mm^3$) and/or virological (VL >1000 copies/mL) progression and 4 cancers were observed in the other groups. The estimated CD4 counts at HIV diagnosis were similar in the three groups and CD4 counts remained stable since HIV diagnosis in the no blip group (slope of $0.01\sqrt{CD4/mm^3/year}$; $p=0.89$) while they significantly decreased in the other groups (respectively -0.26 ; $p<0.005$ in the rare blip and -0.28 ; $p=0.02$ in the frequent blip group). These results were not modified after adjustment on age at HIV-diagnosis, sex and geographical origin.

Conclusions: Spontaneous sustained HIV control is rare since the proportion observed of this phenomenon is here around 0.3%. Surprisingly, females and intravenous drug users are overrepresented, while homosexual male are underrepresented in Controllers. The role of immune inflammation in these patients should be investigated.

11. Disease progression after intrasubtype superinfection in an HLA-B57-positive asymptomatic long-term nonprogressor initially infected with a nef-defective HIV-1 strain.

Martine Braibant

Université François-Rabelais Inserm U966, Tours, France ; Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

braibant@med.univ-tours.fr

Jing Xie, Assia Samri, Henri Agut, Brigitte Autran and Francis Barin

Université François-Rabelais Inserm U966, Tours, France ; Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

We describe the case of an HLA-B57-positive long-term nonprogressor in whom we previously showed that PBMCs accumulated HIV-1 subtype B proviruses defective in the env gene. However, after more than 10 years of control of infection, plasma viremia increased progressively, with a concomitant progressive loss of CD4+ T-cells. We suggest here that this patient was initially infected by a nef-defective HIV-1 variant and that loss of control was due to superinfection with a fully competent virus belonging to the same clade B. Nested PCRs were used to amplify and clone four regions of the HIV-1 genome (gp120 env, nef, vif and P24 gag) at different time points. The ability of the plasma to neutralize pseudotyped viruses expressing env from the superinfecting virus was analyzed. The time course of CD8+ T cells responses specific for Gag and Nef proteins was assessed in IFN- γ -ELISpot assays. Phylogenetic analyses of env, nef, vif and, to a lesser extent, gag sequences clearly suggested the sequential infection of the patient by two distinct strains of subtype B. Plasma collected from this patient on entry into the cohort was unable to efficiently neutralize the superinfecting virus. Only moderate Gag-specific CD8+ T cells responses were observed, in particular against the B57-restricted TW10 immunodominant epitope. These data showed the limited capacity of even a long-lasting natural infection with a putatively attenuated nef-deficient HIV-1 strain to elicit immune responses able to prevent and control superinfection with a virus of the same clade.

12. Histoire de l'infection périnatale par le VIH, 15 ans après la contamination périnatale: niveau d'ADN-VIH et nombre de lymphocytes T CD4 -Etude ANRS-EP38-IMMIP

Florence Buseyne

Institut Pasteur, Laboratoire d'Immunopathologie virale, Paris

florence.buseyne@pasteur.fr

Florence Buseyne¹, Véronique Avettand-Fenoel², Jérôme Lechenadec³, Catherine Dollfus⁴, Daniel Scott⁵, Jean-Paul Viard^{2,6}, Naima Bouallag³, Yassine Benmebarek³, Yves Rivière¹, Josiane Warszawski^{3,7}, Christine Rouzioux² et Stéphane Blanche^{2,8}

1. Institut Pasteur, Laboratoire d'Immunopathologie virale, Paris ; 2. Université Paris Descartes, EA3620, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris ; 3. CESP INSERM U1018, Le Kremlin-Bicêtre ; 4. Hôpital Trousseau, Paris ; 5. Institut Pasteur, Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Paris ; 6. Unité T2i, Hôpital de l'Hotel-Dieu, Paris ; 7. Université Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; 8. Unité Immunologie et Hématologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris

Contexte : Le traitement antirétroviral de haute efficacité (HAART) a transformé l'infection par le VIH en une situation médicale stable sur le long terme. Un nombre croissant d'enfants infectés par la voie materno-fœtale atteignent l'âge adulte. L'effet néfaste de la réplication virale en période d'ontogenèse du système immunitaire mais aussi la plus grande activité du thymus dans les premières années de vie rendent difficiles l'extrapolation des données obtenues chez l'adulte. Des études spécifiques aux sujets infectés en période périnatale sont requises pour améliorer leur prise en charge sur plusieurs décennies.

Hypothèse : L'histoire complète de la maladie (immunologie, virologie, clinique et thérapeutique) influence le statut immunitaire et virologique des sujets infectés qui vivent avec le VIH après l'adolescence.

Objectif : L'étude ANRS-EP38-IMMIP concerne les sujets infectés en période périnatale et âgés de plus de 15 ans. Son objectif est d'explorer les relations entre des facteurs historiques et les statuts immunitaire et virologique contemporains. Les principales caractéristiques de la population étudiée et les résultats concernant le niveau d'ADN VIH et le nombre de CD4 sont présentés.

Méthodes : Entre février 2007 et février 2009, 93 patients suivis en Île-de-France ont été recrutés et un prélèvement sanguin unique a été réalisé. Les trois quart des sujets étaient suivis prospectivement depuis leur naissance dans la cohorte nationale multicentrique d'enfants infectés par voie périnatale, ANRS CO-10. Les analyses univariées ont été réalisées avec des tests non paramétriques et les analyses multivariées par régression linéaire ou logistique.

Résultats : Parmi les 93 patients, d'âge médian de 17 ans (IQR : 15-19), 43% étaient de sexe masculin, 49% étaient nés d'une mère originaire de France métropolitaine et 31% d'une mère originaire d'Afrique sub-saharienne. 22% avaient atteint le stade CDC C. Lors du prélèvement, 4 sujets n'avaient jamais reçu de traitement HAART et 10 sujets étaient en pause thérapeutique. Les sujets traités et non traités lors du prélèvement avaient des

niveaux d'ARN-VIH plasmatique, d'ADN-VIH intracellulaire, et de lymphocytes CD4 significativement différents (Tableau).

	Ensemble n=93	Sujets traités n=79	Sujets non traités n=14	Traités versus non Traités, p
ARN-VIH < 80 copies/ml : n (%)	59 (63%)	59 (75%)	0 (0%)	<0.0001
ADN-VIH (log ₁₀ copies /10 ⁶ PBMCs) (Médiane [IQR])	2.8 [2.5-3.2]	2.8	3.2	<0.05
CD4/μL (Médiane [IQR])	581 [420-761]	612	422	0.004

Le niveau d'ADN-VIH était négativement corrélé avec le nombre de lymphocytes T CD4 ($\rho=-0.34$, $p=0.001$) et la durée cumulée de traitement HAART ($\rho=-0.29$, $p=0.006$). Il était positivement corrélé au nombre de lymphocytes T CD8 ($\rho=0.33$, $p=0.003$), au niveau d'ARN-VIH ($\rho=0.44$, $p=0.001$), ainsi qu'à la virémie cumulée sur les dix dernières années ($\rho=0.54$, $p=0.001$). La corrélation entre le niveau d'ADN-VIH et la virémie cumulée était significative après ajustement sur la détectabilité de l'ARN-VIH, le traitement en cours et le nombre de lymphocytes T CD4.

Le nombre de lymphocytes T CD4 lors du prélèvement était négativement corrélé au taux d'ARN-VIH ($\rho=-0.48$, $p<0.0001$). Il était positivement corrélé au ratio CD4/CD8 chez l'ensemble des patients ($\rho=0.69$, $p<0.0001$) et dans le groupe des sujets traités dont l'ARN VIH était indétectable ($\rho=0.46$, $p=0.0004$).

L'historique de l'immunosuppression a été quantifié par la proportion des mesures des lymphocytes T CD4 inférieures à 25% au cours des 10 années antérieures au prélèvement (PM-CD4<25). Le nombre de lymphocytes T CD4 était négativement corrélé au PM-CD4<25 chez l'ensemble des sujets ($\rho=-0.46$, $p<0,0001$) et chez les sujets traités dont l'ARN-VIH indétectable ($\rho= -0.28$, $p=0,03$).

Conclusions : Après 15 ans d'infection chez les sujets infectés en période périnatale le niveau d'ADN VIH, représentant le réservoir viral sanguin, est significativement corrélé à la virémie cumulée et reflète le contrôle virologique au cours du temps. Le nombre de lymphocytes T CD4 est significativement associé au niveau d'immunosuppression antérieure, y compris chez les sujets dont la réplication virale est contrôlée lors du prélèvement.

13. Nonpathogenesis of SIV infection is associated with reduced inflammation and recruitment of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes

Laure Campillo-Gimenez

U955 Equipe Développement lymphoïde normal et dans l'infection par le VIH, IMRB Créteil

laure.campillo@inserm.fr

M. Laforge, M. Fay, A. Brussel, MC. Cumont, V. Monceaux, D. Ousmane, Y. Levy, B. Hurtrel, J. Zaunders, J. Corbeil, C. Elbim and J. Estaquier

U955 Equipe Développement lymphoïde normal et dans l'infection par le VIH, IMRB Créteil

Type I interferons (IFNs) are synthesized in response to a variety of pathogens, including bacteria, protozoa, and viruses. DNA and RNA viruses induce type I IFNs expression by plasmacytoid dendritic cells (pDCs) through stimulation of Toll Like Receptor (TLR) 7 and 9. The IFN response is an early event in simian immunodeficiency virus (SIV)-infected monkeys. Divergent TLR7 and TLR9 signaling has been proposed to distinguish pathogenic from non pathogenic SIV infection. However, we demonstrate that increased expression of type I IFNs in pathogenic rhesus macaques compared to non pathogenic african green monkeys was associated with the recruitment of pDCs in the lymph nodes and the presence of an inflammatory environment early after infection, instead of a difference in the TLR7/9 response.

14. The presentation of HIV-1 cryptic epitopes for CTL immune surveillance and viral evasion

Sylvain Cardinaud

Institut Pasteur, Unité Cellulaire Antivirale, Paris, France ; UPMC, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm UMR-S945

sylvain.cardinaud@upmc.fr

G. Hoffmann³, R. Bouziat¹, S. Fourati⁵, I. Malet⁵, A. Samri⁴, B. Autran⁴, PM. Kloetzel³, P. van Ender⁶, FA. Lemonnier¹, O. Schwartz² and A. Moris^{2,4}

1. Institut Pasteur, Unité Cellulaire Antivirale ; 2. Institut Pasteur, Unité Virus et Immunité, Paris, France ; 3. Institut für Biochemie, Charité-Universitätsmedizin, Berlin, Germany ; 4. UPMC, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm UMR-S945 and 5. UPMC, Hôpital Pitié-Salpêtrière, UMR-S-943, Paris, France; 6. Inserm U580, Faculté de Médecine René Descartes, Paris, France

Cytotoxic CD8+ T cells (CTLs) play a critical role in controlling HIV-1 infection. In addition to known MHC-I restricted epitopes, we previously showed that HIV-infected patients also develop CTL responses against a pool of cryptic epitopes, which are in fact encoded within alternative reading frames (ARF) of the classical HIV-1 genes. These responses have been shown to be frequent in HIV patients and in the SIV/macaque model, they participate in controlling viral replication. Nevertheless, little is known about the cellular processing and presentation of these cryptic epitopes. QPRSDTHVF (Q9VF/5D) is one such epitope and is encoded within gag-ARF. This epitope is rare among HIV-1 isolates contrary to its parental epitope QPRSNTHVF (Q9VF/5N). We asked whether introducing a D to N mutation within Q9VF might be a mean for the virus to escape CTL responses. We first sought in HIV-infected patients for the presence of proviruses encoding for Q9VF/5D or Q9VF/5N. Surprisingly, out of 20 HIV proviral genomes isolated from PBMCs of donors presenting Q9VF/5D-specific CTL responses, we could not find any virus bearing the Q9VF/5D sequence. In contrast, viruses encoding for Q9VF/5D were isolated from PBMCs of Q9VF/5D nonreactive patient. This observation suggested that under CTL pressure, Q9VF/5D virus were negatively selected contrary to Q9VF/5N apparently not recognized to the immune system. We then assayed in vitro for the recognition of infected cells by Q9VF/5D- or Q9VF/5N-specific CTLs. Strikingly, these CTLs recognize APCs infected with HIV strains encoding for Q9VF/5D (e.g. HIVLAI) but not HIV strains encoding for Q9VF/5N (e.g. HIVNL-AD8), raising the possibility that Q9VF/5N epitope is not presented by infected cells. We finally dissected the mechanism responsible for the lack of Q9VF/5N MHC-I presentation. We modified HIVLAI and introduced a single amino-acid D to N in Q9VF. As a result, cells infected were not recognized by CTLs, indicating that this asparagine (N) alters Q9VF MHC-I presentation. We performed in vitro proteasomal digestions of 28mer peptides encompassing Q9VF/5D or Q9VF/5N and cleaved polypeptides were analyzed by mass spectrometry. The asparagine (N) in Q9VF/5N is a preferential proteasomal cleavage site. Thus suggesting that proteasome cleavages within Q9VF/5N might be responsible for its lack of MHC-I presentation. Altogether, our data suggest that CTLs exert a selection pressure on viral ARFs. HIV-1 can escape immune surveillance by introducing mutations altering processing of ARF-derived epitopes.

15. Tetherin restricts HIV-1 Cell-To-Cell Transfer

Nicoletta Casartelli

Unité Virus et Immunité, Institut Pasteur

ncasarte@pasteur.fr

Marion Sourisseau, Jerome Feldmann, Florence Guivel-Benhassine, Adeline Mallet, Anne-Geneviève Marcelin, John Guatelli and Olivier Schwartz

Unité Virus et Immunité, Institut Pasteur

The IFN-inducible antiviral protein tetherin (or BST-2/CD317/HM1.24) impairs release of mature HIV-1 particles from infected cells. HIV-1 Vpu antagonizes the effect of tetherin. The fate of virions trapped at the cell surface remains poorly understood. Here, we asked whether tetherin impairs HIV cell-to-cell transmission, a major means of viral spread. Tetherin-positive or -negative cells, infected with wild-type or Δ Vpu HIV, were used as donor cells and cocultivated with target lymphocytes. We show that tetherin inhibits productive cell-to-cell transmission of Δ Vpu to targets and impairs that of WT HIV. Tetherin accumulates with Gag at the contact zone between infected and target cells, but does not prevent the formation of virological synapses. In the presence of Tetherin, viruses are then mostly transferred to targets as abnormally large patches. These viral aggregates do not efficiently promote infection after transfer, because they accumulate at the surface of target cells and are impaired in their fusion capacities. Tetherin, by imprinting virions in donor cells, is the first example of a surface restriction factor limiting viral cell-to-cell spread.

16. Comparaison du Fibroscan, Fibrotest, score APRI et de deux algorithmes combinant ces méthodes pour le diagnostic non invasif de la fibrose hépatique chez des patients co-infectés VIH-VHC : Collaboration entre la cohorte ANRS CO13 HEPAVIH et FIBROSTIC

Laurent Castera

Service Hépatogastroentérologie, CHU Bordeaux Hôpital Haut Lévêque, 33604, Bordeaux, France

Maria.Winnock@isped.u-bordeaux2.fr

Dominique Salmon², Maria Winnock³, Elodie Pambrun³, Paul Perez⁴, Marc Arthur Loko³, Julien Asselineau⁴, François Dabis³ et Françoise Degos⁵

1. Service Hépatogastroentérologie, CHU Bordeaux Hôpital Haut Lévêque, 33604, Bordeaux, France ; 2. Unité Maladies Infectieuses et Tropicales, Pôle Médecine, Hôpital Cochin, 27 rue Fg St Jacques, 75014 Paris, France ; 3. INSERM U897, Université Victor Ségalen Bordeaux2, 33076 Bordeaux, France ; 4. CHU Bordeaux, USMR /CIC-EC 33076 Bordeaux, France ; 5. Service Hépatologie, CRB3 INSERM U773, Hôpital Beaujon APHP, 92110 Clichy, France

Contexte : Les méthodes non invasives d'évaluation de la fibrose hépatique sont peu validées chez les patients co-infectés VIH-VHC.

Objectifs : • Comparer la performance diagnostique du Fibroscan (FS), Fibrotest (FT) et APRI par rapport à la biopsie hépatique (PBH, score Métavir), pour la prédiction de la fibrose significative et de la cirrhose. • Evaluer deux algorithmes combinant FS et FT (Castera et al. Gastroenterology 2005) ou APRI et FT (SAFE Biopsy, Sebastiani et al. Hepatology 2009) chez des patients co-infectés VIH-VHC.

Méthodes : Tous les patients co-infectés inclus dans la cohorte multicentrique ANRS CO13HEPAVIH ou FIBROSTIC, ayant des résultats de FS, FT, APRI et une PBH dans un délai d'un an, ont été analysés. Les patients sous traitement anti-VHC ou au stade de décompensation de la cirrhose n'ont pas été inclus. Les seuils du Fibroscan utilisés étaient $\geq 7,1$ KPa pour la fibrose significative et $\geq 12,5$ KPa pour la cirrhose ; pour le Fibrotest, les seuils utilisés étaient ceux du fabricant. La performance diagnostique a été estimée par la mesure de l'aire sous la courbe ROC (AUC). La proportion de patients bien classés et celle de PBH évitables ont été estimées pour les algorithmes.

Résultats : L'étude a porté sur 122 patients co-infectés (63% d'hommes ; âge moyen 45±6 ans). Une fibrose significative (F \geq 2) était présente chez 60% des patients et une cirrhose (F4) chez 18%. Les performances diagnostiques étaient les suivantes :

	FS		FT		APRI			
	>F2	F4	>F2	F4	>F2		F4	
					$\leq 0,5$	$> 1,5$	≤ 1	> 2
Sensibilité (%)	73	64	71	64	77	29	73	46
Spécificité (%)	82	89	55	75	45	90	75	91
Valeur prédictive positive (%)	86	56	70	36	68	81	39	53
Valeur prédictive négative (%)	67	92	56	90	56	46	93	88
AUC	0,81	0,89	0,67	0,79	0,68		0,73	

Pour la fibrose significative le FS avait la meilleure performance diagnostique (AUC=0,81 comparée à celle du FT (0,67, p=0,007 ou à celle de l'APRI (0,68 p=0,026). L'algorithme CASTERA aurait permis d'éviter d'avantage de PBH que l'algorithme SAFE (70% vs 50% respectivement, p=0,002).

Pour la cirrhose, le FS avait également la meilleure performance diagnostique (AUC=0,89) comparée à celle du FT (0,79, p=0,017) ou celle de l'APRI (0,73, p=0,006), mais l'algorithme SAFE aurait permis d'éviter d'avantage de PBH (91% vs 77%, p=0,003). La proportion de patients bien classés, quand la PBH a été évitée est cependant similaire dans les deux algorithmes (87 et 90%).

Conclusion : Le FS affiche la meilleure performance diagnostique, pour la prédiction de la fibrose significative et de la cirrhose comparées à celle du FT ou de l'APRI chez les patients co-infectés VIH-VHC. Les algorithmes testant la combinaison de ces tests non invasifs ne semblent pas améliorer leur performance.

17. Épitope ciblé par l'anticorps monoclonal 2G12 : rôle des boucles variables V1V2 et V3 dans l'accessibilité

Antoine Chaillon

Université François Rabelais, Inserm U966, Tours, France ; Hôpital Bretonneau, Laboratoire de Virologie, CHU Tours, France

antoine.chaillon@univ-tours.fr

Martine Braibant¹, Alain Moreau¹ et Francis Barin^{1,2}

1. Université François Rabelais, Inserm U966, Tours, France ; 2. Hôpital Bretonneau, Laboratoire de Virologie, CHU Tours, France

Background : L'anticorps monoclonal humain 2G12 possède une activité neutralisante de large spectre in vitro et son rôle protecteur in vivo a été démontré sur des modèles animaux. L'épitope cible se caractérise par une dépendance à la glycosylation reposant sur 3 sites majeurs de N-glycosylation (PNGS) en positions N295, N332, et N392 de la gp120. La quasi-espèce virale infectant chaque patient est composée de variants génétiquement proches mais possédant des propriétés biologiques diverses. Nous avons donc analysé la sensibilité à la neutralisation par 2G12 de protéines d'enveloppes fonctionnelles issues de différents variants présents chez quatre patients non progressifs à long terme (LTNP). Nos premiers résultats ont permis d'identifier des régions/séquences potentiellement associées à l'échappement à 2G12. Il s'agit de la boucle variable V1V2 et d'un PNGS additionnel en position 302 (V3) qui pourraient ainsi limiter l'accès à l'épitope de cet anticorps. Stratégie Nous avons sélectionné de nos premiers travaux deux clones env issus de 2 patients LTNP qui se singularisaient par un profil opposé de sensibilité à 2G12 dans des tests de neutralisation de virus pseudotypés. Le premier (11005CL7), résistant à 2G12 malgré la présence des 3 PNGS majeurs décrits précédemment, se caractérisait par une V1V2 longue et richement glycosylée (86 aa, 8 PNGS) et un site additionnel de glycosylation sur la boucle V3 (N302). Le second (5008CL2), doté d'une boucle V1V2 courte et peu glycosylée (69aa, 6 PNGS) était très sensible à 2G12. Afin d'étayer notre hypothèse du rôle de V1V2 dans la sensibilité à la neutralisation par 2G12, nous avons réalisé des gènes chimères de glycoprotéine d'enveloppe en intervertissant cette boucle V1V2 dans le squelette de gp120 des 2 pseudovirus étudiés. L'imputabilité du PNGS additionnel (N302) dans la sensibilité particulière à 2G12 a également été étudiée par mutagenèse dirigée du site d'intérêt. Dans l'hypothèse d'un éventuel effet additif de ces 2 paramètres, nous avons enfin réalisé des enveloppes chimères et mutées.

Méthode : A partir de ces 6 constructions d'enveloppes chimères et/ou mutées (2 chimères V1V2, 2 enveloppes mutées en N302 et 2 enveloppes chimères et mutées), 6 pseudovirus ont été produits selon la même méthodologie originale : elle a consisté en l'insertion de la quasi-totalité de la gp120 d'intérêt au sein du gène env du virus prototype NL4.3. suivie d'un sous-clonage dans le vecteur d'expression pCI. La co-transfection de ce vecteur pCI-env avec le vecteur pNL4.3Δenv luc+ a permis de générer des virus pseudotypés porteurs de l'enveloppe d'intérêt et exprimant le gène rapporteur de la luciférase. Nous avons ensuite étudié la sensibilité à 2G12 de ces 6 pseudovirus et des 2 virus parentaux d'intérêt 5008CL2 et 11005CL7.

Résultats et conclusions : La substitution d'une V1V2 courte à une V1V2 longue et richement glycosylée conduit à une augmentation significative de la sensibilité à 2G12. La réciproque est vérifiée. Il en va de même avec le PNGS en position N302 (V3). L'étude d'un

éventuel effet additif de ces 2 paramètres et la prédiction des modifications structurales consécutives est en cours. Outre la stratégie originale entreprise, ces travaux ont permis d'identifier le rôle potentiel de séquences protéiques impliquant notamment des sites de glycosylation dans les boucles variables V1V2 et V3 de la gp120 dans l'accessibilité à l'épitope ciblé par 2G12. Ces données devraient contribuer à une meilleure compréhension de la structure et de l'accessibilité de l'épitope 2G12 sur la gp120.

18. HIV Controllers harbor a high avidity memory CD4+ T Cell population directed against Gag: an ANRS EP36 study

Lisa A. Chakrabarti

Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris, France

chakra@pasteur.fr

Benoît Vingert¹, Santiago Perez-Patrigéon¹, Patricia Jeannin¹, Olivier Lambotte², Faroudy Boufassa³, Fabrice Lemaître⁴, William W. Kwok⁵, Ioannis Theodorou⁶, Jean-François Delfraissy² and Jacques Thèze¹

1. Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris, France ; 2. AP-HP, Department of Internal Medicine and Infectious Diseases, Bicêtre Hospital ; 3. INSERM U822, Bicêtre Hospital, Le Kremlin-Bicêtre, France ; 4. G5 Dynamiques des Réponses Immunes, Institut Pasteur, Paris, France; 5. Benaroya Research Institute at Virginia Mason, Seattle, WA, USA ; 6. INSERM U543, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France

HIV controllers are rare individuals who spontaneously control HIV replication in the absence of antiretroviral treatment. Emerging evidence indicates that HIV control is mediated through very active cellular immune responses, though how such responses persist without waning over time is not yet understood. To investigate the nature of memory CD4+ T cells responsible for long-term anti-HIV responses, we characterized the growth kinetics, V β repertoire, and avidity for antigen of patient-derived primary CD4+ T cell lines. Specific cell lines were obtained at high rate for both HIV controllers (16/17) and efficiently treated patients (19/20) in response to the immunodominant Gag293 peptide. However, lines from controllers showed a faster growth kinetics, which could be ascribed to (i) a higher frequency of Gag293-specific cells as measured by ex vivo ELISPOT (ii) a faster generation time as measured by CFSE proliferation analysis. After normalizing for growth rates, IFN- γ responses directed against the immunodominant Gag293 peptide showed higher functional avidity in HIV controllers, indicating differentiation into highly efficient effector cells. In contrast, responses to CMV peptides did not differ between groups. Gag293-specific CD4+ T cells were characterized by a diverse V β repertoire, suggesting that multiple clones contributed to the high avidity CD4+ T cell population in controllers. The high functional avidity of the Gag293-specific response could be explained by a high avidity interaction between the TCR and the peptide-MHC complex, as demonstrated by MHC class II tetramer binding. Thus, HIV controllers harbor a pool of memory CD4+ T cells with the intrinsic ability to recognize minimal amounts of Gag antigen, which helps explain how they maintain an active antiviral response in the face of very low viremia.

19. Datation de la transmission mère enfant du VIH à partir de suivi longitudinal de séquences

Frantz Depaulis

UMR 7625 Ecologie et Evolution, ENS Ulm, Paris

depaulis@ens.fr

Faustine Zoveda¹, Tanawan Samleerat^{2,3}, Sébastien Ballesteros¹, Marc Lallemand³ et Francis Barin²

1. UMR 7625 Ecologie et Evolution, ENS Ulm, Paris ; 2. Laboratoire de Virologie Université F Rabelais Inserm ERI 19, Tours ; 3. PHPT - IRD UMI 174 , Chiang Mai, Thaïlande

L'étude porte sur des cas de transmission mère enfant du virus dans une population Thaïlandaise. Les données de polymorphisme du gène env de la mère et leur suivi au cours des premiers mois du nouveau-né sont utilisées pour dater la transmission du virus de la mère à l'enfant (logiciel BEAST). Dans huit cas sur neuf les résultats corroborent les tests biomédicaux par PCR et permettent de distinguer les transmissions durant la grossesse de celles se produisant lors de l'accouchement. Le cas discordant suggère une coinfection de plusieurs variants au moment de l'accouchement.

20. Protective HLA alleles limit HIV Reservoir in Central Memory CD4+ T cells

Benjamin Descours

bdescours@gmail.com

Véronique Avettand-Fenoel², Catherine Blanc³, Assia Samri¹, Adeline Mélard², Virginie Supervié⁴, Ioannis Theodorou¹, Guislaine Carcelain¹, Christine Rouzioux² et Brigitte Autran¹

1. UMRS945 ; 2. EA3620 ; 3. Plateforme cytométrie en flux IFR113 ; 4. UMRS943

Background: The natural equilibrium observed between Long Term Non Progressors (LTNP) and HIV lead us to analyze the impact on HIV reservoir size and distribution among resting CD4 T cells of i) a strong HIV immune control conferred by the over-represented protective HLA B*27 and/or B*57 alleles and ii) a prolonged control of viremia as observed in LTNP-Elite Controllers (LTNP-ECs).

Methods: From 18 LTNPs, we sorted live resting CD4 subsets as defined by combination of CD45RA/CCR7/CD27 and quantified the cell-associated HIV-DNA (cell HIV-DNA) in each fraction, tested the viral inducibility in vitro and evaluated the HIV-specific CD8 T cell responses.

Results: Overall a stable hierarchy was observed in the distribution of HIV among resting CD4 T cells: Transitional memory (TTM) as the most infected subset followed by Central memory (TCM) cells. Naïve (TN) and Effector memory (TEM) cells as equal contributors to the HIV reservoir, though ten fold less than TTM and TCM. Antigen mimicry induced HIV replication in all CD4 subsets except in LTNP-ECs TN in which IL-7 could however rescued HIV production. Interestingly, the lower infection level of TCM reflects a relative protection of TCM in HLA-B27/57 patients only. Lower TCM infection level and preservation of the TCM pool size were both specifically and significantly associated with a stronger HIV-specific CD8 T cell responses observed in such patients. In contrast, protection of TN, TCM and TTM without preservation of TEM reflects natural control of viremia observed in Elite Controllers.

Conclusion: HLA and Elite control impact differently on the HIV reservoir distribution over the CD4 T cell differentiation stages. Elite control imply a wide protection of long-lived cells while strong HIV-specific immunity in HLA-B27/57 patients results in maintenance of a larger and healthier TCM pool, crucial for mounting robust immune responses.

21. Place de la co-infection par le virus de l'hépatite B de génotype G chez les patients infectés par le VIH : impacts cliniques et thérapeutique

Nathalie Desire

ER1 Dynamique, Epidémiologie, et Traitement des Infections Virales (DETIV) ; IFR 113 Immunité, Cancer et Infection ; UFR 967 Faculté de médecine Pierre et Marie Curie ; Université Pierre et Marie Curie Paris 6 - Paris Universitas

vincent.thibault@psl.aphp.fr

Teresa Sanchis, Hind Stitou, Marc-Antoine Valantin, Roland Tubiana, Christine Katlama et Vincent Thibault

Laboratoire de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière ; Assistance Publique (APHP), ER 1 Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 ; Département des Maladies Infectieuses, Hôpital Pitié-Salpêtrière ; Assistance Publique (APHP), Université Pierre et Marie Curie, Paris 6

Depuis sa découverte chez des homosexuels infectés par le VIH, peu d'études se sont intéressées à l'épidémiologie du génotype G du virus de l'hépatite B (VHB-G). Une des particularités du VHB-G est une insertion de 36 nucléotides en 5' de la région core qui abolit la production d'Ag HBe. Les porteurs chroniques du VHB-G sont généralement co-infectés par un virus d'un autre génotype, expliquant la présence de l'Ag HBe dans leur sérum. L'impact de la co-infection par différents génotypes du VHB chez un individu est mal connu mais une étude récente rapporte une atteinte histologique plus sévère chez les patients VIH porteur du VHB-G. L'hypothèse d'une résistance du VHB-G aux traitements antiviraux a été également évoquée. Objet de l'étude Les objectifs étaient de développer un outil capable de détecter et quantifier spécifiquement le VHB-G par rapport aux autres génotypes puis d'utiliser cette méthode pour étudier l'épidémiologie, l'impact clinique et l'évolution de la co-infection par le génotype G au cours de traitements antiviraux. Méthodes Une technique basée sur la PCR en temps réel au moyen d'amorces et de sondes MGB spécifiques (Taqman, ABI) a été développée puis validée. Elle permet l'identification et la quantification spécifique du VHB-G au sein d'un mélange de VHB de plusieurs génotypes. Cet outil diagnostique a été appliqué sur des prélèvements de la cohorte VIH-VHB suivis à la Pitié-Salpêtrière. Résultats obtenus Notre approche repose sur la conception d'un système d'amplification au pourtour de l'insertion de 36 nucléotides du VHB-G. Deux amorces ont été dessinées de part et d'autre de l'insertion en privilégiant des zones conservées au sein de tous les génotypes décrits. Deux sondes marquées, l'une non spécifique des génotypes, l'autre spécifique de l'insert de 36 nt. du VHB-G ont été validées en mode multiplex. Cet outil présente une excellente spécificité pour le génotype G et une très bonne corrélation avec les systèmes commerciaux de quantification sur une plage de 2 à 7 Log UI/mL. Au moyen de clones représentatifs des génotypes G et A mélangés dans des proportions variables, cette technique permet une quantification relative de chaque génotype avec une précision de l'ordre de 5 à 10%. Chez les patients infectés par le VIH, une prévalence de 25% (31/125) d'infection par le VHB-G a été trouvée alors qu'elle est <1% dans la population mono-infectée par le VHB. Aucun lien n'a été identifié entre la co-infection par le VHB-G et la charge virale totale VHB. La quantification différentielle et séquentielle du VHB-G chez 6 patients ayant une répllication virale persistante sous ténofovir démontre que le génotype G n'émerge pas sous traitement antiviral. Conclusion Une nouvelle méthode permettant la quantification relative des souches de VHB de génotype G au sein d'un mélange de différents génotypes a été mise au point. La découverte d'une prévalence importante du

génotype G chez les patients VIH est inattendue et pose de nombreuses questions d'ordre épidémiologique et clinique. Nos données n'indiquent pas une résistance intrinsèque du VHB-G au ténofovir.

22. Early divergence in neutrophil apoptosis between pathogenic and non-pathogenic SIV infections of non-human primates

Carole Elbim

Institut Pasteur, Paris, France

estaquier@yahoo.fr

V. Monceaux², YM. Mueller⁶, MG. Lewis⁷, S. François¹, O Diop⁵, k. Akarid², B. Hurtrel², MA. Gougerot-Pocidallo¹, Y. Levy³, PD. Katsikis⁶ and J. Estaquier^{2,3,4}

1. Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, France ; INSERM, U773, Paris, France ; 2. Institut Pasteur, Paris, France ; 3. INSERM, U841, Créteil, France ; 4. AP-HP, Créteil, France ; 5. Institut Pasteur, Dakar, Sénégal ; 6. Department of Microbiology and Immunology, Philadelphia, PA, USA ; 7. BIOQUAL, Rockville, MD, USA

We used pathogenic and non-pathogenic simian models of SIV infection of Chinese and Indian rhesus macaque (RMs) and African green monkeys (AGMs), respectively, to investigate the relationship between polymorphonuclear neutrophils (PMN) death and the extent of viral replication, and disease outcome. Here, we showed that PMN death increased early during the acute phase of SIV infection in Chinese RMs, and coincided with the peak of viral replication on day 14. The level of PMN death was significantly more severe in RMs that progressed more rapidly to AIDS and coincided with neutropenia. Neutropenia was also observed in Indian RM, and it was higher in non-Mamu-A*01 compared to Mamu-A*01 animals. In stark contrast, no changes in the levels of PMN death were observed in the non-pathogenic model of SIVagm-sab infection of AGMs despite similarly high viral replication. PMN death was a Bax and Bak-independent mitochondrial insult, which is prevented by inhibiting calpain activation but not caspases. Viral replication was not required for this apoptosis and inactivated SIV could induce PMN death. This may account for the decline in PMN numbers that occurs during primary SIV infection in pathogenic SIV infection, and may have important implications for subsequent viral replication and disease progression.

23. Early divergence in lymphoid tissue apoptosis between pathogenic and non-pathogenic SIV infections of non-human primates

Jerôme Estaquier

Unité de Physiopathologie des Infections Lentivirales, Institut Pasteur, Paris, France ; Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

estaquier@yahoo.fr

MC. Cumont¹, O. Diop², B. Vaslin⁵, C. Elbim³, L. Viollet¹, V. Monceaux¹, S. Lay¹, G. Silvestri⁶, R. Le Grand⁵, M. Müller-Trutwin⁴ and B. Hurtrel^{1,}*

1. Unité de Physiopathologie des Infections Lentivirales, Institut Pasteur, Paris, France ; 2. Institut Pasteur, Dakar, Sénégal ; 3. Unité INSERM U841, Créteil Henri Mondor, Créteil, France ; 4. Unité de Régulations des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris, France ; 5. CEA, DSV/DRM/Service de Neurovirologie, Fontenay aux Roses, France ; 6. Department of Pathology, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA

The events that contribute to the progression to AIDS during the acute phase of a primate lentiviral infection are still poorly understood. In this study, we have used pathogenic and non-pathogenic simian models of SIV infection of rhesus macaque (RM) and African green monkeys (AGM), respectively, to investigate the relationship between apoptosis in lymph nodes and its relationship with the extent of viral replication, immune activation and disease outcome. Here we show that, in SIVmac251-infected RMs, a marked increase in lymphocyte apoptosis is evident during primary infection at the level of lymph nodes. Interestingly, the levels of apoptosis correlated with the extent of viral replication and the rate of disease progression to AIDS, with higher apoptosis in RMs of Indian genetic background when compared to those of Chinese origin. In stark contrast, no changes in the levels of lymphocyte apoptosis were observed during primary infection in the non-pathogenic model of SIVagm-sab infection of AGMs despite similarly high viral replication. A further and early divergence between SIV-infected RMs and AGMs was observed in terms of dynamics of T and B cell proliferation in lymph nodes, with RMs showing significantly higher levels of Ki67+ cells in the T cell zones in association with relatively low levels of Ki67+ in the B cell zones, whereas AGMs displayed a low frequency of Ki67+ in the T cell area but a high proportion of Ki67+ cells in the B cell area. As such, this study suggests that species-specific host factors determine an early immune response to SIV that is predominantly involves either cellular or humoral immunity in RMs and AGMs, respectively. Taken together, these data are consistent with the hypotheses that: (i) high levels of T cell activation and lymphocyte apoptosis are key pathogenic factors during pathogenic SIV infection of RMs, and (ii) low T cell activation and apoptosis are determinants of the AIDS-resistance of SIVagm-infected AGMs despite high levels of SIVagm replication.

24. Non pathogenesis of SIV infection is associated with reduced inflammation and recruitment of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes, not to lack of an interferon type I response, during the acute phase

Jerôme Estaquier

INSERM U955, Créteil, France ; Institut Pasteur, Paris, France ; AP-HP, Créteil, France

estaquier@yahoo.fr

L. Campillo-Gimenez^{1#}, M. Laforge^{1#}, M. Fay², A. Brussel³, MC. Cumont³, V. Monceaux³, O. Diop⁴, Y. Lévy^{1,8}, B. Hurtrell³, J. Zaunders⁵, J. Corbeil⁶ and C. Elbim^{1,7}

1. INSERM U955, Créteil, France ; 2. Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, France ; 3. Institut Pasteur, Paris, France ; 4. Institut Pasteur, Dakar, Sénégal ; 5. Centre for Applied Medical Research, Darlinghurst, Australia ; 6. Université Laval, Québec, Canada ; 7. UMR S 872, Paris, France ; 8. AP-HP, Créteil, France

Divergent Toll-like receptor (TLR)-7 and TLR-9 signaling has been proposed to distinguish pathogenic from non pathogenic SIV infection in primate models. Herein, we demonstrate that increased expression of type I IFN in pathogenic rhesus macaques as compared to non pathogenic African green monkeys was associated with the recruitment of plasmacytoid dendritic cells (pDCs) in the lymph nodes and the presence of an inflammatory environment early after infection, instead of a difference in TLR-7/9 response.

25. An interfacial peptide-based strategy targeting HIV-1 Integrase/partner interactions dramatically reduces HIV replication

Monia Fourar

CRBM CNRS, Montpellier, France

Monia.Fourar@crbm.cnrs.fr

Edwige Gros, Elvire Guiot, Eric Deprez, Pascal Clayette and Gilles Divita

CRBM CNRS, Montpellier, France

HIV-1 Integrase (IN) is currently a major pharmacological target for the development of new anti-HIV drugs. Most of IN inhibitors described so far essentially target its enzymatic activities. We have elaborated a new strategy based on short interfacial peptides that target protein-protein interfaces involved required for IN activation and its implication in the pre-integration complex. We have identified a short peptide of pT16 that tightly binds both recombinant and cellular HIV-1 IN. The peptide pT16 not only prevents association of IN with its DNA substrate, but also, in contrast to most IN inhibitors described so far, promotes dissociation of preformed IN-DNA complexes. As a result, the peptide inhibits both 3' processing and strand-transfer activities of IN in vitro. From a mechanistic point of view, we show that pT16 significantly destabilized IN and induced the dissociation of essential interactions between IN and its partners, therefore favouring IN degradation. Especially, we demonstrated that IN forms stable complexes with Reverse Transcriptase in the presence of DNA/RNA substrate which are abolished in the presence of nanomolar concentrations of pT16. In order to circumvent problems related to the poor cellular uptake of therapeutic peptides, pT16 was complexed with peptide-based nanoparticles system Pep1. pT16 nanoparticles enter cells efficiently and strongly inhibit HIV-1 replication in MT4 cells, with EC50 values under the nanomolar range and a selectivity index of about 4800. Our study demonstrated, for the first time, that a short peptide targeting protein-protein interfaces within the pre-integration complex can efficiently inhibit HIV-1 replication. This work validates the consistency of an interfacial inhibitor strategy, and opens new perspectives for the targeting of therapeutic drugs.

26. A new mechanism enhancing the ability of HIV-1 to escape from antiretrovirals

Slim Fourati

INSERM U943, UPMC, Laboratoire de Virologie de la Pitié Salpêtrière

slim.fourati.psl@aphp.fr

Isabelle Malet, Mawuena Binka, Stephanie Boukobza, Marc Wirden, Cathia Soulié, Anne Simon, Christine Katlama, Viviana Simon, Vincent Calvez et Anne-Geneviève Marcelin

INSERM U943, UPMC, Laboratoire de Virologie de la Pitié Salpêtrière

The HIV-1 Vif protein counteracts the antiviral activity of the cytidine deaminases APOBEC3G and APOBEC3F. Natural variation in Vif may result in reduced efficacy against APOBEC3 proteins and in increased HIV-1 diversity. We speculated that this mechanism could facilitate viral escape from certain antiretroviral drugs. We analyzed the protease (PR), reverse transcriptase (RT) and Vif sequences of viruses from plasma obtained from 92 HIV-1 infected individuals failing antiretroviral (ARV) treatment and 65 antiretroviral-naïve patients. Mutation K22H in Vif was more frequent in patients failing to ARV compared to ARV-naïve patients. In vitro experiments showed that mutant K22H failed to completely neutralize APOBEC3G. Upon infection of MT-2 cells, most of the K22H proviral clones encoded increased numbers of G-to-A mutations. Among these mutations, the lamivudine drug-resistance associated mutation M184I in RT was detected in 25% of clones in the absence of any lamivudine exposure. In our population, among pretreated patients, 72% of K22H viruses vs 42% in WT K22 viruses harbored at least 2 drug resistance-associated mutations in a GA/GG dinucleotide context. More specifically, K22H viruses harbored significantly more G16E and M36I in Protease than in those isolated from pretreated patients harboring WT K22 viruses. This study provides evidence that patients experiencing virological failure frequently harbor mutated Vif variants (i.e. K22H). Such Vif alleles lose their ability to counteract APOBEC3 proteins, leading to an increase of G-to-A viral mutations that can facilitate the emergence of some antiretroviral resistance mutations.

27. Infection postnatale tardive à VIH-1 en France en l'absence d'allaitement maternel : l'expérience de la cohorte périnatale ANRS CO01

Pierre Frange

EA 3620, Université Paris Descartes, AP-HP, Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris ; Unité d'Immunologie, Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris

pierre.frange@nck.aphp.fr

M. Burgard, E. Lachassine, J. Le Chenadec, ML. Chaix, C. Chaplain, J. Warszawski, C. Dollfus, A. Faye, C. Rouzioux et S. Blanche

Unité d'Immunologie, Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, Hôpital Necker, AP-HP, Paris ; EA 3620, Université Paris-Descartes, Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker, AP-HP, Paris ; Service de Pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, AP-HP, Bondy ; INSERM, U822, IFR 60, Le Kremlin Bicêtre ; Université Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre ; Service d'Epidémiologie et de Santé Publique, Hôpital Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre

Objet : Estimer le risque d'infection postnatale tardive par le VIH-1 en France, la plupart des transmissions mère-enfant (TME) étant détectées peu après la naissance en l'absence d'allaitement.

Méthodes : Dans la cohorte périnatale nationale ANRS CO01, les enfants sont suivis jusqu'à 24 mois, avec réalisation d'une PCR VIH à la naissance, à 1, 3 et 6 mois et d'une sérologie « tardive » à 18-24 mois. La proportion d'enfants allaités est très faible (<0.2%). Selon les critères de définition récemment révisés par le CDC, un enfant est considéré comme non infecté après 2 résultats négatifs de PCR ADN et/ou ARN VIH sur des prélèvements sanguins différents réalisés à un âge ≥ 1 mois, dont une au moins à ≥ 4 mois.

Résultats : Parmi les 4537 enfants considérés comme non infectés à 6 mois entre 1984 et 2005 d'après ces critères, une infection à VIH a été ultérieurement diagnostiquée dans 5 cas malgré des PCR toutes négatives de la naissance à 6 mois, alors que les virus maternels étaient correctement détectés par les mêmes tests virologiques. Dans 3 cas, le diagnostic a été porté entre 14 et 18 mois. Les 2 autres infections ont été dépistées tardivement, à 10 et 12 ans, en raison de symptômes de SIDA ; le premier enfant avait eu une sérologie VIH négative à 19 mois ; le second avait été perdu de vue après une sérologie négative à 9 mois. Une étude phylogénétique réalisée dans ce dernier cas a révélé une forte homologie entre les virus de la mère et de l'enfant. Aucun mode connu de TME (y compris l'allaitement et l'usage d'aliments « prémastiqués ») n'a été retrouvé. Par contre, les facteurs de risque de transmission virale intrafamiliale déjà suggérés auparavant ont été systématiquement constatés : difficultés socio-économiques majeures et virémie maternelle élevée au cours du suivi des enfants.

Conclusion : Des infections post-natales tardives à VIH-1 peuvent toujours être diagnostiquées, même dans les pays du Nord en l'absence d'allaitement connu. Démontrée dans un cas, une TME est probable chez les 4 autres enfants. Malgré la rareté de telles infections, ces résultats incitent à être vigilant au cours du suivi des enfants, notamment en cas de facteurs de risque de transmission virale intrafamiliale.

28. Fréquence rare de virus à tropisme X4/DM chez les patients infectés par un virus VIH-1 non-B au moment de leur primo-infection

Pierre Frange

EA 3620, Université Paris Descartes, AP-HP, Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris ; Unité d'Immunologie, Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris

pierre.frange@nck.aphp.fr

Marie-Laure Chaix¹, Stéphanie Raymond³, Julie Galimand¹, Christiane Deveau⁴, Laurence Meyer⁵, Cécile Goujard⁵, Christine Rouzioux¹, Jacques Izopet³ et le groupe de coordination de la cohorte ANRS CO 06 PRIMO

1. EA 3620, Université Paris Descartes, AP-HP, Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris ; 2. Unité d'Immunologie, Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris ; 3. INSERM U563, Laboratoire de Virologie, Hôpital Purpan, Toulouse ; 4. INSERM, U822, Université Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud ; AP-HP, Hôpital Bicêtre, Service d'épidémiologie et de santé publique, Le Kremlin-Bicêtre ; 5. Service de Médecine interne et Maladies infectieuses, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

Objectifs: Etude de la fréquence de virus X4/DM chez les patients infectés par un virus VIH-1 non-B au moment de leur primo-infection et étude de la concordance entre les tests génotypiques et phénotypiques pour la détermination du corécepteur du virus VIH-1.

Méthode : 131 patients ont été inclus dans la cohorte ANRS CO 06 PRIMO entre 1996 et 2007 et sont infectés par des virus de sous-types non-B. A partir des cellules mononucléées de patients, le gène env du VIH a été amplifié. Le tropisme viral a été déterminé par 2 méthodes génotypiques différentes (l'algorithme SVMgeno2pheno10% et la combinaison de la règle 11/25 et de la charge nette de l'enveloppe virale) puis par un test phénotypique (Raymond S, J Clin Virol, 2009).

Résultats : La répartition des virus parmi les différents sous-types ou CRFs était la suivante: 19 A (14.5%), 4 C (3.1%), 6 D (4.6%), 8 F (6.1%), 9 G (6.9%), 2 CRF01_AE (1.5%), 67 CRF02_AG (51.1%), 2 CRF09_cpx (1.5%) et 2 CRF27_cpx (1.5%). Douze virus (9.2%) avaient un sous-type indéterminé. Seize virus (12.2%) étaient classés comme ayant un tropisme X4/DM ("virus X4") avec l'un et/ou l'autre des tests génotypiques utilisés. Dix virus (7.6%) étaient classés X4/DM avec l'algorithme SVMgeno2pheno10%: ils appartenaient aux sous-types suivants A (n=1), D (n=3), CRF01_AE (n=2), CRF02_AG (n=2) et CRF27_cpx (n=1); le dernier ayant un sous-type indéterminé. Neuf souches (6.9%) étaient considérées comme X4/DM avec la règle combinée: 1 A, 4 D, 2 CRF02_AG, 1 G et 1 souche de sous-type indéterminé. Trois virus, appartenant au sous-type D, étaient classés X4/DM avec des résultats concordants entre les 2 méthodes génotypiques. Cependant, un seul virus (0.8%), appartenant au sous-type A, était défini comme de tropisme mixte par le test phénotypique. Parmi les 67 virus CRF02_AG, 2 (3%) étaient classés X4/DM avec la règle combinée génotypique et 2 autres (3%) avec le SVMgeno2pheno10%, mais aucun des quatre n'était trouvé X4 ou de tropisme mixte par le test phénotypique.

Conclusions : Nos résultats suggèrent que le réservoir viral cellulaire était constitué de virus X4/DM dans une très faible proportion de cas au moment de la primo-infection dans le cas d'infections par des virus VIH-1 de sous-types non-B. La proportion de virus non-B X4 peut être surestimée en cas d'utilisation de tests de prédiction génotypique.

29. Description de VIH-1 complexes et de formes recombinantes de deuxième génération isolés chez des patients au moment de la primo-infection en France (1996-2007) : Cohorte PRIMO ANRS

Julie Galimand

Université Paris Descartes EA 3620, Paris

marie-laure.chaix@nck.aphp.fr

Julie Galimand, Pierre Frange, Christine Rouzioux, Christiane Deveau, Véronique Avettand-Fenoël, Jade Ghosn, Caroline Lascoux, Cécile Goujard, Laurence Meyer et Marie-Laure Chaix

Objectif : Bien que les virus VIH-1 de sous-type B circulent majoritairement en France, la proportion de virus non-B augmente progressivement au cours du temps (26% des patients diagnostiqués au moment de leur primo-infection en 2005-2006). L'objectif de notre étude était d'identifier la fréquence de virus recombinants entre les gènes de la reverse transcriptase (RT) et de l'enveloppe.

Méthodes : Nous avons étudié les virus isolés chez 591 patients inclus dans la Cohorte PRIMO ANRS entre 1997 et 2007. Les gènes de la RT et de l'enveloppe (région C2V3) ont été amplifiés puis séquencés. Afin de déterminer le sous-type, nous avons réalisé une analyse phylogénétique des séquences de ces 2 gènes.

Résultats : L'analyse phylogénétique a montré une concordance entre la RT et l'enveloppe chez 91.7% des virus: 71.6% étaient de sous-type B ; 28.4% appartenaient à un sous-type non-B ou à une forme recombinante circulante (CRF). L'analyse phylogénétique était discordante entre les 2 gènes de 49 virus suggérant des événements de recombinaison dans 8.3% des cas. Parmi ces 49 virus complexes, nous avons décrit 31 formes recombinantes de 2ème génération (impliquant un CRF) et 18 virus ayant une recombinaison entre sous-types. Ces virus complexes étaient plus fréquemment isolés chez des patients d'origine sub-saharienne (28.3%) que d'origine caucasienne (6.3%, $p < 0.0001$). Néanmoins, 30/49 (61%) patients infectés par un virus complexe étaient d'origine caucasienne. De plus, parmi les 15/49 patients (30.6%) infectés par un virus contenant une séquence de sous-type B dans l'un des 2 gènes, 14 d'entre eux étaient d'origine caucasienne. Nous avons également décrit des virus recombinant entre les 2 types de VIH-1 circulant majoritairement en France : le sous-type B et la forme recombinante CRF02_AG.

Conclusion : Notre étude illustre la grande diversité des VIH-1 circulant en France au cours des 10 dernières années avec une forte proportion de virus non-B, de CRFs et de formes recombinantes complexes chez les patients originaires d'Afrique sub-saharienne mais également dans la population caucasienne.

30. COGNIVIH, une échelle brève de dépistage des troubles neurocognitifs chez les personnes vivant avec le VIH : données préliminaires

Jacques Gasnault

UF SSR "Pathologies Neurovirales" Service de Médecine Interne CHU Bicêtre, le Kremlin-Bicêtre, F-94275 France

jacques.gasnault@bct.aphp.fr

A. Dulioust¹, P. Sellier², P. Dolphin¹, C. Paquet³ et le groupe COGNIVIH⁴

1. UF SSR "Pathologies Neurovirales" Service de Médecine Interne CHU Bicêtre, le Kremlin-Bicêtre, F-94275 France ; 2. Service de Médecine Interne Groupe Hospitalier Lariboisière Fernand Widal, F - 75Paris, France ; 3. CMMR Paris Ile de France Nord, GH Lariboisière-Fernand Widal, 75010 Paris, France ; 4. Groupe COGNIVIH (E.Badsi, B.Belliard, M. Bendenoun, JF.Bergmarnn, J.Cervoni, V.Delcey, M.Diemert, J.Dumurgier, J.Hugon, P.Lapalus, JD. Magnier, A.Meauzoone, A.Rami, C.Wavrant)

Contexte: L'infection par le VIH peut induire des troubles neurocognitifs (TNC) en dépit de traitements efficaces. Depuis l'avènement des combinaisons antirétrovirales, l'incidence des démences sévères liées au VIH a considérablement chuté. Parallèlement la prévalence des TNC mineurs continue à augmenter, notamment au sein de certains groupes (co-infectés VHC, Nadir CD4 bas, difficultés d'observance, âge supérieur à 50 ans, ...). Le besoin de cibler les patients nécessitant un bilan neurocognitif plus approfondi est maintenant clairement identifier tant dans la littérature que dans la pratique quotidienne. Un tel dépistage requiert la mise au point de tests simples, rapides et sensibles comme l'International HIV Dementia Scale (Sacktor N et al, AIDS 2005). A l'heure actuelle, il n'existe pas de batterie validée en langue française. Nous présentons ici des données préliminaires de la batterie COGNIVIH, adaptée de l'International HIV Dementia Scale.

Méthodes: La batterie COGNIVIH est composée de 4 tests neuropsychologiques choisis pour leur capacité à explorer des champs cognitifs déficitaires au cours des TNC associés au VIH : mémoire épisodique verbale (MIS/MIS-D, coté sur 4), rapidité motrice (finger tapping test sur 10 secondes, coté sur 4), rapidité psychomotrice (séquence gestuelle de Luria chronométrée sur 10 secondes coté sur 4) et un tests composite (dessin de l'horloge coté sur 7). La passation est simple et brève (inférieure à 10 minutes). Le score maximal est de 19. La première étape a consisté à établir des normes (encore provisoires) dans un groupe de sujets séronégatifs ne présentant pas de TNC. A titre exploratoire, cette batterie a été testée dans trois groupes de Personnes Vivant avec le VIH (PVV) : VIH+ indemnes de TNC, VIH+ présentant des TNC mineurs associés au VIH sans comorbidités neurologiques (TNCVIH), VIH+ présentant des TNC mineurs associés à des comorbidités neurologiques (TNCCOM). De plus, chez les PVV ont été également réalisés un questionnaire de plaintes cognitives (3 questions), un inventaire de dépression (échelle de Beck) et un questionnaire d'autonomie dans la vie quotidienne (IADL4). Les comparaisons entre les différents groupes ont concerné les scores bruts (score total de la batterie COGNIVIH et de chaque sous-tests) ainsi qu'un score de déficit global calculé après transformation des scores bruts en T-score et transposition sur une échelle ordinale de déficit (de 0 à 5).

Résultats : Des données normatives, pour le score COGNIVIH et ses différents sous-tests, ont été établies chez 65 sujets VIH- (H=27, F=38) d'âge moyen 38,7 ans ± 12.9 ans (cf

tableau). Comparativement à ces valeurs normales, le score COGNIVIH ne diffère pas chez les sujets VIH+ sans TNC ($p=0.24$) mais est significativement plus bas chez les sujets TNCVIH ($p<0.0001$) ainsi que chez les sujets TNCCOM ($p<0.0001$). Le score COGNIVIH diffère significativement chez les TNCVIH comparativement aux sujets VIH+ sans TNC ($p<0.001$).

Conclusion: L'utilisation de la batterie COGNIVIH dans une population de personnes vivant avec le VIH permet de distinguer les sujets qui présentent de troubles neurocognitifs de ceux qui n'en présentent pas. Ces résultats préliminaires nécessitent d'être confirmés dans une plus large population.

31. HIV-1 integrase inhibition by quinolone compounds: contribution to the rational design of new inhibitors

Allan Guiguen

Laboratoire de Virologie Moléculaire, Institut de Biologie et de Médecine Moléculaires, Université Libre de Bruxelles (ULB), B-6041 Gosselies, Belgium

allan.guiguen@ulb.ac.be

P. Vandurm², C. Cauvin², B. Georges³, K. Le Van³, V. Martinelli¹, C. Cardona¹, G. Mbemb⁴, JF. Mouscadet⁴, L. Hevesi³, J. Wouters² and C. Van Lint¹

1. Laboratoire de Virologie Moléculaire, Institut de Biologie et de Médecine Moléculaires, Université Libre de Bruxelles (ULB), B-6041 Gosselies, Belgium ; 2. Laboratoire de Chimie Biologique Structurale, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix (FUNDP), B-5000 Namur, Belgium ; 3. Laboratoire de Chimie des Matériaux Organiques, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix (FUNDP), B-5000 Namur, Belgium ; 4. LBPA, CNRS, Ecole Normale Supérieure de Cachan, 61, 94235 Cachan, France

HIV-1 integrase (IN) is responsible for the chromosomal integration of the newly synthesized double-stranded viral DNA into the host genome. IN is essential for viral infectivity and represents a new and important target of potential clinical relevance for HIV chemotherapy. IN catalyzes proviral integration through a two-step, metal ion-dependent process. In this study, we synthesized two quinolone compounds containing a β -diketoacid/ester group as chelating moiety. Both compounds were evaluated for their enzymatic and antiviral activity, acidic compound being more potent than ester compound. X-ray diffraction, UV-visible spectroscopy studies and theoretical calculations were performed in order to identify the most stable conformations of the diketoacid structure. Molecular modelling studies were also performed in order to characterize the binding mode of the compounds. Based on these docking studies, pharmacomodulations were proposed in order to increase the inhibitory potency of the series of HIV-1 integrase inhibitors.

32. Contrôle immuno-virologique prolongé après interruption d'un traitement antirétroviral initié en primo-infection HIV-1

Laurent Hocqueloux

Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Centre Hospitalier Régional, Orléans

lhocqueloux@yahoo.fr

Thierry Prazuck¹, Véronique Avettand-Fenoel^{2,3}, Alain Lafeuillade⁴, Bernard Cardon⁵, Asier Saez-Cirion⁶, Gianfranco Pancino⁶, David Zucman⁷, Jean-Paul Viard^{3,8} et Christine Rouzioux^{2,3} pour le groupe Clinique de l'AC32 « Réservoirs »

1. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Centre Hospitalier Régional, Orléans ; 2. Laboratoire de Virologie, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; 3. EA 3620, Université Paris Descartes, Paris ; 4. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Font Pré, Toulon ; 5. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Tenon, Paris ; 6. Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris ; 7. Service de Médecine Interne, Hôpital Foch, Suresnes ; 8. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Contexte: l'intérêt de débiter un traitement antirétroviral (TAR) au moment de la primo-infection VIH-1 (PIH) reste controversé. Nous rapportons les cas de plusieurs patients présentant un contrôle immuno-virologique très prolongé après l'arrêt d'un TAR initié en PIH.

Méthodes: étude observationnelle rétrospective dans le cadre du groupe Clinique de l'AC32 « Réservoirs » de l'ANRS. L'étude porte sur 72 patients traités avec succès au moment de la PHI, dont 32 ont interrompu le TAR. Trois groupes sont définis en fonction du moment de la perte du contrôle de la réplication virale (ARN-VIH) après arrêt du TAR (échec viral défini par deux charges virales consécutives > 50 copies / ml).

Résultats: Cinq patients, qualifiés de « contrôleurs post-traitement » (CPT), présentent un contrôle virologique total avec un recul médian de 6,3 années. Ces patients ont un nombre de lymphocytes CD4+ stables dans le temps, ainsi qu'un faible niveau d'ADN-VIH (médiane: 2 log₁₀ copies / 10⁶ PBMC), niveau qui reste tout à fait stable après un recul de 4 ans. Aucun d'entre eux n'a présenté d'événement B ou C du CDC, ni n'a eu besoin de reprendre le TAR. Il est remarquable qu'aucun de ces patients CPT n'a de phénotype HLA « protecteur » (allèles B*27 ou B*57). Le ratio [durée de TAR / délai d'initiation après début de la PIH] est le seul facteur prédictif d'être CPT, versus être « contrôleur temporaire » pendant au moins 6 mois (CT; N = 6) ou « non contrôleur » (NC, N = 21) (P = 0,006 et 0,04, respectivement). Les groupes CT et NC montrent un déclin des CD4+ plus rapide que les CPT (P = 0,0002 et 0,04, respectivement).

Conclusions: certains patients, qui ont reçu une TAR à la fois très précoce et prolongé, sont capables de contrôler durablement la charge virale après arrêt du traitement. Ce traitement précoce pourrait avoir considérablement diminué le réservoir viral et préservé l'immunité anti-VIH, innée et spécifique, ce qui pourrait avoir induit un nouvel équilibre entre le virus et le système immunitaire de l'hôte. L'observation de ces patients est à l'origine de l'étude VISCONTI de l'ANRS.

33. Assembly of the tRNA(Lys,3) packaging complex in HIV-1

Lydia Kobbi

Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS - 1, Avenue de la Terrasse, 91190, Gif-sur-Yvette, France

kobbi@lebs.cnrs-gif.fr; mirande@lebs.cnrs-gif.fr

Guillaume Octobre, José Dias, Martine Comisso and Marc Mirande

Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS - 1, Avenue de la Terrasse, 91190, Gif-sur-Yvette, France

The human immunodeficiency virus, or HIV-1, infects cells of the immune system, and is responsible for the acquired immuno-deficiency syndrome (AIDS). This retrovirus contains a dimer of a single-stranded RNA genome that must be converted into double-stranded DNA during viral replication. The reverse transcriptase involved in this process is encoded by the viral genome. The tRNA(Lys,3) species from the host cell is used by the reverse transcriptase of HIV-1 as a primer for the synthesis of the first, viral minus-strand DNA.

During the budding process, all the viral components assemble at the cell membrane in order to form new HIV-1 particles, which are then released outside of the cell. During this step, the three tRNA(Lys) species of the host cell are specifically packaged into the viral particle (1).

One of the proteins responsible for the specific packaging of tRNA(Lys) has been identified as lysyl-tRNA synthetase (LysRS) (2). In humans, there are two isoforms of LysRS, the cytoplasmic (cLysRS) and the mitochondrial (mLysRS) species. These two forms are encoded by the same gene by means of alternative splicing. The two LysRS species share a large part of their sequence, but it has been shown that the only source of LysRS detected in the virions is the mitochondrial form (3), while the cytoplasmic form is exclusively found at the level of the Multi-Aminoacyl-tRNA Synthetase Complex (MARS), a stable multiprotein assembly containing eight other aminoacyl-tRNA synthetases.

We used the yeast two-hybrid system to screen viral proteins that may form a specific complex with LysRS. The Pol region of the polyprotein GagPol is able to interact with LysRS. This interaction involves the p6* and IN domains of Pol. On the other hand, this interaction involves the catalytic domain of LysRS, a domain shared by mLysRS and cLysRS. LysRS is also a component of the cytosolic MARS complex. LysRS is associated within this complex via its interaction with the scaffold protein p38. We showed that this interaction is also mediated by the catalytic domain of LysRS. The two LysRS species, cLysRS and mLysRS, are equally able to bind p38 in a two-hybrid assay, but only cLysRS is recovered within MARS. Thus, cLysRS and mLysRS have the capacity to bind p38 or Pol in vitro, but only cLysRS is targeted to MARS, and mLysRS to HIV-1 particles, in vivo. This implies that the two LysRS species follow distinct targeting pathways, to MARS or to the mitochondria, in vivo.

References

1. Jiang, M. et al. (1993) *J. Virol.* 67:3246-3253
2. Cen, S. et al. (2001) *J. Virol.* 75:5043-5048
3. Kaminska, M. et al. (2007) *J. Virol.* 81:68-73

34. Commitment to apoptosis in productively HIV-1-infected CD4+ T lymphocytes is initiated by lysosomal membrane permeabilization and autophagy

Mireille Laforge

estaquier@yahoo.fr

Frederic Petit², Harper Francis⁴, Haloui Houda³, Anna Senik^{1,3} and Jérôme Estaquier^{2,3,5}

1. INSERM U542, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France ; 2. URA CNRS 1930, Institut Pasteur, France ; 3. INSERM 841, Créteil, France ; 4. FRE 2937, Villejuif, France ; 5. AP-HP, Créteil, France

Primary CD4+ T lymphocytes, supporting in vitro HIV-1 replication, are destined to die by apoptosis. We explored the initial molecular events that act upstream from mitochondrial dysfunction, in CD4+ T lymphocytes exposed to the HIV-1LAI strain. We demonstrate in cells expressing the p24 viral antigen that the lysosomes are undergoing limited membrane permeabilization, allowing the lysosomal efflux of cathepsins (Cat) to the cytosol. We demonstrate that once released into the cytosol, Cat-D induces the conformational change of Bax and its insertion into the OMM. Inhibition of Cat-D activity/expression also conferred a transient survival advantage upon productively HIV-1-infected cells, indicating that Cat-D was an early trigger of apoptosis. Concomitantly, we demonstrate the occurrence of autophagy. Indeed, HIV infection is associated with the conversion of autophagosomes into degrading autolysosomes, which is characteristic of the autophagy pathway associated with the formation of LC3 aggregates in p24+ cells. We also demonstrate that Beclin 1 and Atg5 (30 kDa) levels, and LC3-II accumulation are higher in HIV-infected CD4+ T cells than in uninfected CD4+ T cells. Invalidation of the autophagic Atg5 and Beclin genes, by transfection with specific siRNAs, reduce cell death. All these data imply a clear involvement of LMP and autophagy with regards to cell death induction. This process during HIV infection may represent a general regulator of host cell-pathogen interactions contributing in the control of viral infection.

35. Mechanism of impairment of IL-7 responses in HIV Infection: abnormal relocalization of phosphorylated STAT5

Ivan Landires

Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris, France

landires@pasteur.fr

Florence Bugault¹, Olivier Lambotte², Pierre de Truchis³, Jean-François Delfraissy², Anne Danckaert⁴, Jacques Thèze¹ and Lisa Chakrabarti¹

1. Unité d'Immunogénétique Cellulaire, Institut Pasteur, Paris, France ; 2. Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, Centre Hospitalo-universitaire de Bicêtre, France ; 3. Département de Médecine et Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France ; 4. Plateforme d'Imagerie Dynamique-Imagopole, Institut Pasteur, Paris, France

Interleukin-7 (IL-7) is a cytokine that plays a central role in controlling the homeostasis of CD4+ T cells both in the thymus and the periphery. Importantly, the signalling pathways triggered by IL-7 are altered following HIV infection, which may contribute to the loss of CD4+ T cells. To better understand how HIV perturbs CD4+ T cell homeostasis, we are performing a detailed analysis of IL-7 signalling responses in CD4+ T cells from viremic patients. Using quantitative image analysis and flow cytometry, we have found that the JAK/STAT pathway is perturbed in HIV infection: STAT5 is hyperphosphorylated at the Tyr694 position, both at baseline and in response to IL-7 stimulation. STAT5 phosphorylation correlated with viral load at baseline, suggesting that HIV replication directly contributed to this abnormal activation. Physiologically, STAT5 phosphorylation at Tyr694 is critical for its dimerization, nuclear translocation and DNA binding. Paradoxically, the increased STAT5 phosphorylation in viremic patients was associated to a decrease, rather than an increase, in IL-7 functional responses, with a defective induction of the survival factor Bcl-2. We are now exploring whether other post-translational modifications of STAT5 could explain this loss of function. The phosphorylation of STAT5 at position Ser726, which regulates STAT5 transcriptional activity, was analyzed by quantitative image analysis. In CD4+ T cells from healthy donors, the Ser726 phosphorylation was constitutive at baseline, and showed a moderate increase after IL-7 stimulation. Interestingly, a larger fraction of STAT5 phosphorylated at Ser726 was localized to the cytoplasm in CD4+ T cells from viremic patients ($p < 0.05$), and thus could not activate transcription. Taken together, these results suggest that the impairment in IL-7 functional responses in HIV infection may result from a defective recruitment of phosphorylated STAT5 to nuclear transcriptional complexes.

36. Influence de la pénétration des cARTs dans le système nerveux central sur l'incidence des SIDA neurologiques

Emilie Lanoy

INSERM, U943, Paris, F-75013 France

elanoy@ccde.chups.jussieu.fr

Miguel Hernan², Marguerite Guiguet¹, Lauren Cain², Michelle Bentata³, Jacques Gasnault⁴, Dominique Costagliola^{1,5} et FHDH-ANRS CO4

1. INSERM, U943, Paris, F-75013 France; UPMC Univ Paris 06, UMR S943, Paris, F-75013 France ; 2. Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health, Boston, MA 02115, USA ; 3. Service de Médecine Interne, Hôpital Avicenne, Bobigny, F-93009 France ; 4. Service de Médecine Interne, CHU Bicêtre, le Kremlin-Bicêtre, F-94275 France ; 5. AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Paris, F-75013 France

Contexte : L'incidence des complications neurologiques associées au SIDA (neuroSIDAs) a beaucoup diminué avec l'avènement des combinaisons antirétrovirales (cART). Cependant, l'impact de la pénétration antirétrovirale dans le système nerveux central (SNC) sur la survenue de ces événements n'a pas été évalué. Chez des patients infectés par le VIH sous cART, nous avons étudié l'influence de la pénétration des molécules antirétrovirales dans le SNC sur l'incidence des neuroSIDAs en comparant trois approches d'analyse statistique.

Méthodes : L'analyse a concerné les données de patients infectés par le VIH, suivis entre 1996 et 2007 dans la cohorte FHDH-ANRS CO4, âgés de 18 ans ou plus, sans antécédent de neuroSIDA, naïfs d'antirétroviraux, ayant débuté un cART comportant exactement 3 molécules renforcées ou non par ritonavir. Le suivi débutait à la date d'initiation du cART. Les neuroSIDAs survenant pendant le premier mois après l'initiation du traitement ont été exclus. Un score de pénétration dans le SNC, développé par Letendre et al., de 0 (basse) à 1 (élevée) a été assigné à chaque molécule antirétrovirale. Pour chaque cART étudié, un score de pénétration et d'efficacité dans le SNC (score CPE) a été obtenu en additionnant les scores de chacune des molécules qui le constituaient. Par exemple, la combinaison zidovudine/lamivudine/abacavir correspondait à un score CPE de 2,5 tandis que la combinaison lamivudine/tenofovir/atazanavir et didanosine/lamivudine/saquinavir/ritonavir avaient des scores CPE respectifs de 1 et 0,5. Nous avons considéré trois catégories de cART en fonction de leur score CPE : cART de pénétration basse (CPE<1), intermédiaire (CPE 1-1,5) et haute (CPE>=2). Un modèle de Cox multivarié ajusté sur l'âge, le groupe d'exposition, l'année d'initiation du cART, le taux de lymphocytes CD4, la charge virale VIH plasmatique et les antécédents de SIDA à l'initiation du cART a été utilisé pour estimer l'effet du score CPE du premier traitement prescrit sur l'incidence des neuroSIDAs dans une approche en intention de traiter (analyse ITT). Dans une seconde approche, les suivis ont été censurés à la date de changement de traitement pour un traitement avec un score CPE différent (analyse avec censure). Pour tenir compte des facteurs ayant pu influencer le changement de traitement, une troisième analyse a été effectuée en pondérant sur l'inverse de probabilité de censure pour changement de score (analyse IPSW).

Résultats : Parmi les 13 874 patients ayant initiés une cART suivis pendant 53 666 personnes-années, 135 neuroSIDAs (38 encéphalopathies à VIH, 26 leucoencéphalites multifocales progressives (LEMP), 50 toxoplasmoses cérébrales et 21 cryptococcoses méningées) sont survenus. Les nombres de neuroSIDAs observés chez les patients initiant

un premier cART avec des scores CPE <1, 1-1,5 et ≥ 2 étaient respectivement de 22 (taux d'incidence : 2,5/100 000 personnes-années), 62 (1,8) et 63 (1,6). Une diminution du risque est observée avec l'élévation du score de pénétration; comparés au score CPE <1, les rapports de risque (RR) associés avec les scores 1-1,5 et ≥ 2 étaient respectivement de 0,6 IC95%=[0,3;1,2] et 0,6 IC95%=[0,3;1,3] (analyse ITT). Les deux autres analyses retrouvaient des résultats comparables : RR 0,6 IC95%=[0,3;1,6] et 0,6 IC95%=[0,2;1,4] (analyse avec censure); RR 0,7 IC95%=[0,3;1,6] 0,6 IC95%=[0,2;1,5] (analyse IPSW).

Conclusion : Les cARTs avec une pénétration élevée dans le SNC sont associés avec un risque diminué de survenue d'un neuroSIDA, de façon non significative. Même dans une base de la taille de la FHDH-ANRS CO4, la puissance n'est pas suffisante, d'où l'intérêt de mener ce travail dans le cadre d'une collaboration internationale, la HIV-Causal collaboration.

37. Hic1-mediated transcriptional latency regulation of HIV-1 in microglial cell

Valentin Le Douce

U748 Inserm

valentin.ledouce@gmail.com

Olivier Rohr et Christian Schwartz

U748 Inserm

Latently infected HIV-1 reservoirs are one of the current obstacles hindering an efficient treatment for AIDS. Since their discovery, understanding the molecular processes implicated in their establishment and persistence has been a new challenge. Transcription factors such as COUP-TF Intercating Protein 2 (CTIP2) have been described to recruit enzymatic activities onto the HIV-1 promotor, leading to gene extinction through epigenetic remodelling. In the present study we describe the impact of the tumor suppressor hypermethylated in cancer 1 (hic1) as another potential repressor of HIV-1 gene transcription. In microglial cells, Hic-1 represses HIV-1 replication as a result of its recruitment to the viral promoter and through the inhibition of Tat function. Confocal microscopy observations revealed that hic-1 relocates Tat into nuclear ball-like structures similar to those previously observed with CTIP2. Immunoprecipitation experiments confirmed that HIC-1 associated with Tat. Interestingly, a single mutation of the HIC-1 lysin 314 abrogated its interaction with Tat and its ability to repress HIV-1 expression. Our results highlight a new HIV-1 repressor that may be implicated in HIV-1 persistence. Further investigations will be performed to precisely characterize HIC-1 functions in latently infected cells.

38. HIV-1 neutralizing antibodies inhibit plasmacytoid dendritic cells infection

Alexandre Lederle

UMR_INSERM/UdS, Institute of Virology, 3 rue Koeberlé, F-67000 Strasbourg

alexandre.lederle@etu.unistra.fr

Julien Penichon, Thomas Decoville, Sylvie Schmidt, Christiane Moog and Vincent Holl

UMR_INSERM/UdS, Institute of Virology, 3 rue Koeberlé, F-67000 Strasbourg

Plasmacytoid dendritic cells (PDC) have been described to link innate and adaptive immunity. Indeed, these cells are able to capture and present antigens, and produce high amounts of cytokines, especially antiviral type I interferons. PDC are productively infected by HIV in vitro and in vivo, and several studies have shown a decrease in circulating PDC number that was correlated with an increase of plasma viral load. However, the inhibitory effect of neutralizing antibodies on PDC infection has not been yet assessed. We used a human PDC cell line (GEN2.2) and we isolated PDC from human blood of healthy donors (primary PDC). Neutralizing assays were performed by infecting PDC (GEN2.2 and primary cells) in the presence of different antibody concentrations. The percentage of infected PDC was determined by intracellular p24 staining using flow cytometry. We showed that GEN2.2 PDC cell line was productively infected by R5 HIV primary isolates and that neutralizing antibodies were able to inhibit their infection. As FcγR participate in antibody-mediated HIV inhibition in myeloid DC, the role of FcγRII was assessed in PDC. FcγRII⁺ PDC (30 to 50% of total PDC) were recovered from human blood after BDCA-4 positive selection but not after BDCA-2 positive selection or depletion. We found an efficient inhibition of primary PDC infection by neutralizing antibodies. This activity was similar to the one observed with GEN2.2 PDC cell line. However, for non-neutralizing inhibitory antibodies we could not detect an inhibition of the primary PDC infection by HIV. The induction of efficient HIV-specific antibodies that prevent PDC infection should be one of the goals in HIV vaccine development in order to maintain the PDC antiviral function during infection.

39. Le Ritonavir et la combinaison Lopinavir/Ritonavir induisent une sénescence prématurée dans les cellules endothéliales d'artère coronaire humaine en culture qui est reversée par le pravastatine

Chloé Lefèvre

INSERM UMRS 938

martine.caron@inserm.fr

Martine Auclair, Emilie Capel, Corinne Vigouroux, Jacqueline Capeau, Franck Boccara et Martine Caron-Debarle

INSERM UMRS 938

Objectif : Les patients infectés par le VIH présentent de façon précoce des complications cardiovasculaires et une atteinte athéromateuse qui ont été associées au traitement par inhibiteurs de la protéase virale (IPs). Ces atteintes peuvent résulter d'une dysfonction et d'une sénescence prématurée des cellules endothéliales. Il a été montré que les IPs peuvent induire directement une dysfonction des cellules endothéliales en culture, mais aussi conduire à une sénescence des adipocytes et des fibroblastes en culture. En conséquence nous avons évalué la capacité de deux IPs à induire un vieillissement cellulaire et une dysfonction dans les cellules endothéliales d'artère coronaire humaine (HCAECs). **Méthodes :** Les HCAECs sont cultivées pendant 30 jours avec ou sans Ritonavir (RTV 7,5µM) ou Lopinavir (10µM) associé au Ritonavir (2µM) (LPV/r) et par la pravastatine (25µM) ou le FTI (20µM) pendant les dernières 72h et 48h de traitement, respectivement. La dysfonction endothéliale est évaluée à 10, 20 et 30 jours par : la production d'oxyde nitrique (NO) (fluorescence du DAF-FM-2DA), l'expression protéique de la NO synthase, le stress oxydatif (oxydation du CMH2DCFDA, réduction du NBT), l'inflammation (sécrétion de IL-6, IL-8, MCP1) et la sécrétion d'endothéline-1, sICAM et sVCAM et de PAI-1. La prolifération, la réplication et la sénescence sont mesurées par le niveau de doublement de population et l'incorporation du BrdU dans l'ADN, l'activité beta-galactosidase associée à la sénescence, ainsi que les altérations de la morphologie cellulaire et nucléaire. L'expression protéique de la prélamine A, un marqueur de la sénescence, est aussi évaluée. **Résultats :** Le traitement chronique avec le RTV et le LPV/r induit une dysfonction endothéliale caractérisée par une augmentation du stress oxydant (3-12 fois) et de l'inflammation (sécrétion d'IL-6, d'IL-8 et de MCP1, 2-4 fois) et une diminution de la production de NO (2-3 fois). Les IPs augmentent la sécrétion d'endothéline 1 (10-15 fois), de PAI-1 (2-4 fois) et des molécules d'adhésion ICAM et VCAM (2-7 fois). Les IPs diminuent la prolifération (2-3 fois) et la réplication cellulaire (4-5 fois). Ils induisent aussi une sénescence cellulaire caractérisée au jour 30 par une augmentation de l'activité SA-beta galactosidase (5-7 fois), une dysmorphie nucléaire et une accumulation de prélamine A farnesylée (10-12 fois). L'inhibition de la farnésylation de la prélamine A par la pravastatine et le FTI-277 normalise les effets délétères des IPs sur les fonctions et le vieillissement des cellules endothéliales. **Conclusion :** Une exposition prolongée des HCAECs en présence de RTV ou de LPV/r induit une dysfonction endothéliale et une sénescence prématurée, qui peuvent être reversées par la pravastatine et le FTI-277. Ces résultats indiquent que les IPs sont impliqués à différents niveaux dans les dysfonctions endothéliales, au niveau fonctionnel et au niveau vieillissement. Cette toxicité des IPs pourrait rendre compte de la survenue précoce des maladies artérielles coronaires chez les patients infectés par le VIH sous traitement antirétroviral. Les statines pourraient être proposées en option thérapeutique dans ce contexte.

40. Effet de la vaccination à l'aide d'une protéine TAT complexée à un sucre sulfaté sur l'infection de macaques cynomolgus par le virus SHIV162P3

Michel Léonetti

CEA, DSV, iBiTec-S, SPI, LIAS, 91191 Gif sur Yvette

michel.leonetti@cea.fr

Nathalie Derreudre-Bosquet², Sabrina Turbant¹, Frédéric Martinon², Gervaise Moine¹, Alexandra Savatier¹, Adeline Gadzinski¹ et Roger Le Grand²

1. CEA, DSV, iBiTec-S, SPI, LIAS, 91191 Gif sur Yvette ; 2. CEA, DSV, iMETI, Service d'Immunovirologie, 92265 Fontenay aux Roses

Nous avons comparé le potentiel vaccinant de deux candidats vaccins Tat. Le premier est constitué par la protéine Tat libre et biologiquement active. Le second, qui est constitué de la protéine Tat préalablement complexée à un sucre sulfaté, le pentosane polysulfate (PPS), est dépourvu d'activité de transactivation et potentiellement non-toxique. Trois groupes de six macaques cynomolgus ont été vaccinés cinq fois avec de l'Alum, Tat + Alum, Tat/PPS + Alum, respectivement. Les singes vaccinés déclenchent une réponse humorale et cellulaire spécifique de Tat. Douze semaines après la dernière vaccination, les macaques ont été éprouvés en suivant un protocole « faibles doses-répétées » au cours duquel une dose infectieuse 50 de virus SHIV162P3 a été inoculée par voie intrarectale, jusqu'à dix fois de suite, à une semaine d'intervalle. Le nombre d'épreuves nécessaires pour infecter les macaques n'est pas modifié par les deux types de vaccins par rapport au contrôle. Le suivi de charge virale indique que le groupe vacciné avec Tat libre présente un profil infectieux semblable au groupe contrôle. En revanche, le groupe vacciné avec Tat/PPS présente une diminution de charge virale 21 jours après l'infection. Ces résultats indiquent que la réponse immunitaire déclenchée contre Tat complexée à un sucre sulfaté impacte la charge virale alors que la réponse immunitaire induite contre Tat libre est sans effet.

41. Evaluation de la maladie hépatique chez des patients co-infectés VIH/VHC suivis dans le programme ESTHER/CALMETTE et impact du VHC sur l'évolution de la maladie VIH

Nathalie Lerolle

CHU du Kremlin Bicêtre, Paris, France

oliseg@hotmail.com

N. Lerolle³, S. Limsreng¹, S. Ken², B. Guillard², CL. Kao¹, S. Ly², I. Fournier-Nicolle², C.R. Hak¹, JP. Brosseau³, P. Khuon¹, J.F. Delfraissy³, V.Ouk¹ et O. Segeal³

1. Hôpital Calmette, Phnom Penh, Cambodge ; 2. Institut Pasteur, Phnom-Penh, Cambodge ; 3. CHU du Kremlin Bicêtre, Paris, France

Objectifs : Evaluer le pourcentage d'hépatite C chronique active et la sévérité de la maladie hépatique chez les PVVIH suivis à l'hôpital Calmette de Phnom-Penh (programme ESTHER) et présentant une sérologie VHC positive. Comparer l'évolution de la maladie VIH à un groupe de témoins mono-infectés par le VIH.

Méthodologie : Les patients ont été inclus s'ils présentaient des Ac anti-VHC positifs. Un groupe de patients séronégatifs pour le VHC a été choisi au hasard parmi la cohorte avec un ratio de trois témoins pour un patient co-infecté VIH/VHC. Les patients co-infectés ont été évalués de façon transversale sur le plan clinique, biologique (TP, albumine, bilirubine, FibroTest-ActiTest), virologique (PCR VHC qualitative, génotype) et échographique. Les données concernant l'infection VIH ont été recueillies chez tous les patients.

Résultats : Parmi les 507 PVVIH testés pour l'hépatite C, 54 (11%) avaient une sérologie VHC positive, et 50 ont accepté de participer à l'étude, dont 58% d'hommes. L'âge médian était de 44 ans. La PCR qualitative était positive chez 31 patients (62%). Les génotypes les plus fréquents étaient les génotypes 1b et 6 (64% et 25%). Un seul patient présentait une co-infection par le VHB, 7 (23%) une intoxication alcoolique chronique et 4 (13%) un diabète. Onze patients (36%) présentaient au moins un signe clinique, biologique ou échographique de cirrhose. Le FibroTest-ActiTest retrouvait une fibrose sévère F3 ou F4 chez 51% des patients. En comparaison aux 160 patients témoins, la durée de l'infection VIH, le taux de CD4 initial, la fréquence de l'échec clinique et virologique sous antirétroviraux était similaire. En revanche, le nombre de patients en échec immunologique (critères OMS) était plus important dans le groupe co-infecté (32% vs 15%, p : 0.037). Par ailleurs, une cytololyse était observée plus fréquemment chez les patients co-infectés au moment du diagnostic de VIH (64% vs 40%, p : 0.018) et à 6 mois du début des ARV (8 vs 1%, p : 0.1).

Conclusion : L'hépatite C est active chez 60% des PVVIH présentant des Ac anti-VHC. La moitié de ces patients présente une fibrose sévère sur le FibroTest-ActiTest. L'échec immunologique sous ARV et la toxicité hépatique des traitements semblent plus fréquents chez les patients co-infectés.

42. Les cellules germinales testiculaires: une cible cellulaire du VIH-1?

Dominique Mahé

Inserm U625, Rennes I University, France

dominique.mahe@univ-rennes1.fr

C. Deléage¹, A.P. Satie¹, V. Roulet¹, A. Le Tortorec¹, F. Guillé², B. Jégou¹ et N. Dejucq-Rainsford¹

1. Inserm U625, Rennes I University, France ; 2. Service d'urologie, CHUR de Pontchaillou, Rennes, France

Introduction : Plusieurs études ont maintenant démontré que le VIH-1 s'attache à la surface des spermatozoïdes in vitro mais qu'il ne pénètre pas dans les spermatozoïdes isolés (Ceballos, J Exp Med, 2009). Cependant, l'ADN du VIH a été détecté dans une fraction de spermatozoïdes anormaux issus d'hommes VIH+ (Muciaccia, Human Reprod, 2007), suggérant l'infection clonale de leurs progéniteurs, les cellules germinales testiculaires. Des travaux récents de notre groupe, réalisés in vivo dans le modèle SIV/macaque, montrent la présence in situ de matériel viral (ARN et protéines) associés à des cellules germinales testiculaires (Le Tortorec, PLoS ONE, 2008). Le but de cette étude est de déterminer la nature des interactions entre les cellules germinales testiculaires humaines et le VIH. M&M Les cellules germinales humaines (2n, 4n et n) sont isolées à partir de testicules sains issus d'orchidectomies. L'expression de récepteurs pour le VIH-1 (CD4, CCR5, CXCR4, CCR3, CXCR7, Galactosyl Ceramide, récepteur au Mannose, Heparan sulfate) est recherchée en extra- et intra-cellulaire par cytométrie de flux. L'attachement et l'entrée du VIH dans les cellules germinales testiculaires sont analysés d'une part par quantification ELISA de la protéine virale p24 après incubation des cellules à 4°C ou 37°C avec la souche de VIH-1 X4 IIIB, et d'autre part via l'étude de la fixation de la gp120 IIIB à la surface cellulaire en cytométrie de flux. **Résultats :** Comme attendu, aucune expression du récepteur CD4 n'est détecté à la surface des cellules germinales testiculaires. En revanche, les cellules germinales expriment les récepteurs alternatifs galactosylceramide et CCR3. Les corécepteurs des chimiokines CXCR4 et CCR5, présents en intracellulaire chez certains donneurs, ne sont pas détectés à la membrane. Nos résultats montrent l'attachement de la souche de VIH-1 IIIB à la surface de ces cellules, en dépit d'une absence de fixation de la protéine recombinante gp120. **Conclusions :** Les cellules germinales testiculaires expriment des récepteurs alternatifs pour le VIH-1 et fixent le virus à leur surface par un mécanisme qui pourrait être indépendant de la glycoprotéine d'enveloppe gp120. Les molécules impliquées dans cette fixation et la capacité de ces cellules à supporter l'entrée virale sont actuellement en cours d'étude. Sources of support: ANRS, Région Bretagne, Inserm.

43. Structure-function analysis of the HIV-1 integrase in complex with two cellular proteins: LEDGF and INI1

Benoit Maillot

*IGBMC, UDS, U596 INSERM, UMR7104 CNRS, 67404 Illkirch ; France UMR 7213
Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, UDS*

bmaillot@igbmc.fr

Benoit Maillot, Corinne Crucifix, Florence Granger, Sylvia Eiler, Nicolas Levy, Pascal Didier, Ludovic Richert, Yves Mely, Dino Moras, Patrick Schultz and Marc Ruff

*IGBMC, UDS, U596 INSERM, UMR7104 CNRS, 67404 Illkirch ; France UMR 7213
Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, UDS*

Integration of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) cDNA into the human genome is catalyzed by the viral integrase protein (IN) that requires cellular cofactors for viral infectivity. Recently, we solved a cryo-EM structure at 14 Å resolution of the HIV-1 integrase in complex with the lens epithelium-derived growth factor (LEDGF), a cellular transcriptional coactivator, in presence and absence of DNA (1). This structure revealed the molecular mechanism of DNA integration in the human genome. Another cellular co-factor, the integrase interactor 1 protein (INI1/SNF5) which is a part of the SWI/SNF complex, an ATP dependant chromatin remodeler, has been shown to binds directly to integrase. Its function in the viral DNA integration process is not well characterized, but its presence is critical for viral infectivity. We stably formed, in vitro, a complex comprising IN, LEDGF and integrase binding domain of INI1. In vitro functional assays have been performed and a 18 Å resolution cryo-EM structure of the ternary complex has been solved. The structure function analysis and the effect of INI1 on the DNA binding, 3'processing and integration reaction will be presented.

References

1. Michel, F., Crucifix, C., Granger, F., Eiler, S., Mouscadet, J.F., Korolev, S., Agapkina, J., Ziganshin, R., Gottikh, M., Nazabal, A., Emiliani, S., Benarous, R., Moras, D., Schultz, P. and Ruff, M. (2009). Structural basis for HIV-1 DNA integration in the human genome, role of the LEDGF/P75 cofactor. *EMBO J.*, 28, 980-991.

44. Sensibilités de différents SIV à TRIM5

João Mamede

Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, CNRS-UMR5535

jmamede@igmm.cnrs.fr

Marc Sitbon, Jean-Luc Battini, and Valérie Cournaud

Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, CNRS-UMR5535

Sensitivity of circulating SIV isolates to TRIM5 proteins Overall, at least 35 species of African nonhuman primate species are naturally infected with SIV, with a seroprevalence ranging from 10% to 60% in the wild. Thus, African monkey species is the largest SIV reservoir and could represent a potential risk for the introduction of new retroviral zoonoses into the exposed human population. Indeed, it is now clearly demonstrated that the HIV epidemic originated quite recently from zoonotic transmission of viruses from chimpanzees and sooty mangabeys in Africa. The host range of retroviruses is influenced by antiviral proteins such as TRIM5_{lpha}, a restriction factor that recognizes and inactivates incoming retroviral capsids (CA). Here, we wanted to investigate whether SIV (SIV_{gsn}, SIV_{mus}, SIV_{mon}, SIV_{mnd1}, SIV_{col} and SIV_{tal}) found in primate bushmeat from Cameroon are sensitive to TRIM5 restriction. For this purpose, we swapped the fragment of the capsid that spans the cyp-A binding loop in a gag-pol SIV_{mac} expression vector with that of SIV isolates from the SIV_{gsn} lineage (SIV_{mon}, SIV_{gsn} and SIV_{mus}), SIV_{mnd1}, SIV_{col} and SIV_{tal}. Gag expression was determined by immunoblotting. Stable CHO cells expressing distinct TRIM5 were obtained by transduction with primate TRIM5 of different origins. We then evaluated by single-round infectivity assays the restriction of these CA chimeras into CHO cells and CHO cells stably expressing either different TRIM5_{alpha} (human, chimpanzee, African green monkey, and rhesus macaque) or the owl monkey TRIM-cyp. Infectivity was assayed by FACS 48 hours post-infection. We observed that human and chimpanzee TRIM5_{lpha} did not restrict any of the SIV CA we tested. However, some SIV CA were restricted by agm-TRIM5_____ (SIV_{mon}, SIV_{mnd-1}) or slightly restricted by rh-TRIM5_{lpha} (SIV_{gsn}, SIV_{mon}). Interestingly, we found that SIV_{mnd1}'s CA and SIV_{gsn}'s CA are targeted by owl monkey Trim-cyp protein suggesting that the interaction between cyclophilin A and lentiviral CA is a widespread phenotype among lentiviruses. So far, TRIM5_{lpha} does not seem to constitute a natural barrier to SIV infection of humans.

45. Caractéristiques épidémiologiques des groupes vulnérables de la cohorte des patients du CTA du CHNU de Fann à Dakar

Noel Magloire Manga

Service des Maladies Infectieuses, CHNU Fann, Dakar

noelmagloiremanga@yahoo.fr

NF. Guèye, S. Campaoré, G. Batista, Y. Cissokho, CT. Ndour et PS. Sow

Service des Maladies Infectieuses, CHNU Fann, Dakar

Introduction : L'épidémie de l'infection par le VIH/sida au Sénégal est de type concentré avec une prévalence plus importante au sein des populations à risques que sont les travailleuses du sexe et les MSM. Peu d'études ont été jusque là réalisées sur les toxicomanes qui constituent une autre population à risque dans d'autres pays. Une meilleure connaissance des caractères épidémiologiques de ces trois populations de patients qui constituent des groupes vulnérables permettra d'améliorer la lutte contre le VIH. Ce travail a pour objectif de décrire les aspects épidémiologiques et le suivi de ces patients au CTA de Fann.

Malades et Méthode : Etude rétrospective réalisée à partir des dossiers des PVVIH suivis au CTA du service des Maladies Infectieuses de Fann entre 2000 et 2008. Le centre de traitement ambulatoire (CTA) du CHNU de Fann est une des structures pilotes de l'initiative sénégalaise d'accès aux antirétroviraux (ISAARV). Il réalise des activités de dépistage volontaire et anonyme et contribue au dépistage des patients admis en hospitalisation à la clinique des Maladies Infectieuses et dans les autres services de Fann.

Résultats : Sur un total de 1852 dossiers consultés, 59 appartenaient à des groupes vulnérables. Il s'agissait de 12 toxicomanes, 26 MSM et 18 TS. La moyenne d'âge était de 46,7+/-5 ans pour les toxicomanes, 32,4+/-10 ans pour les MSM et 32,2+/- 8,6 ans pour les TS. Les célibataires représentaient 83% des cas et prédominaient dans tous les groupes. Les patients vivaient en zone urbaine dans 62,3% des cas. Le VIH1 représentait plus de 85% dans tous les groupes. Au moment du diagnostic 66,7% des TS étaient au stade I-II de l'OMS contre 88,5% des MSM et 41,7% des toxicomanes. Le retard au diagnostic définit comme un dépistage au stade III –IV de l'OMS ou à un taux de CD4>200/mm³ était de 48,2% contre 59% des autres patients. Parmi les groupes vulnérables le retard au diagnostic était moins important chez les MSM. Le traitement antirétroviral a été instauré chez 44,4% des TS ; 46,2% des MSM et 33,3% des toxicomanes. Trois décès (5% des cas) ont été enregistrés au cours du suivi dont 2 chez les toxicomanes et 1 chez les MSM.

Conclusion : Les groupes vulnérables représentent une faible proportion des patients suivis au CTA de Fann. Ils proviennent des zones urbaines de Dakar et sont dépistés plus précocement.

46. Organisation dynamique membranaire des récepteurs CD4 et CCR5

Patrice Mascalchi

CNRS, IPBS, Toulouse

mascal@ipbs.fr

B. Lagane², F. Bachelier², F. Dumas¹, A. Lopez¹ et L. Salomé¹

1. CNRS, IPBS, Toulouse ; 2. Institut Pasteur, Inserm U819, Paris

Le processus d'entrée du VIH dans les cellules cibles immunitaires repose sur l'attachement séquentiel de la glycoprotéine d'enveloppe gp120 au récepteur primaire CD4, puis au corécepteur CCR5 ou CXCR4 afin de permettre la fusion des membranes virale et cellulaire. Plusieurs de ces récepteurs sont requis dans une surface restreinte de la membrane de la cellule pour permettre une liaison efficace avec les protéines gp120 sous forme de trimères. Cependant, leur organisation dynamique membranaire et les mécanismes moléculaires qui la régissent n'ont pas été totalement élucidés. Dans ce contexte, notre équipe a précédemment démontré par FRET*, sur des cellules modèles HEK293T surexprimant CD4 et CCR5 étiquetés, l'existence d'une interaction spécifique et constitutive entre ces 2 récepteurs, renforcée par la présence de gp120 et inhibée par l'ajout de CD4 soluble [1]. Ce résultat a ensuite été confirmé par une étude de FRAP** à rayon variable sur cette même lignée cellulaire, qui a permis d'évaluer la stœchiométrie de cette association à au moins 5 protéines CCR5 pour 1 CD4 [2]. L'ensemble de ces résultats nous a permis de proposer un premier modèle dynamique membranaire. De manière à valider ce modèle et comprendre l'origine de l'organisation dynamique des récepteurs, nous avons transposé notre étude sur des cellules immunitaires compétentes vis-à-vis de l'infection par le VIH (lignée lymphocytaire), exprimant les récepteurs CD4 et CCR5 sauvages à des taux natifs. Dans ces conditions, l'approche la plus adéquate était le suivi de particule unique (SPT***), utilisant des anticorps spécifiques des récepteurs, couplés à des nanoparticules fluorescentes, et permettant l'obtention de données dynamiques individuelles alors que le FRAP analyse des populations de récepteurs. Le poster résumera le développement de cette stratégie de SPT sur cellules immunitaires vivantes, et présentera la comparaison des données dynamiques ainsi collectées avec le modèle préalablement établi à partir de l'étude par FRAP à rayon variable.

References

1. Gaibelet G, Planchenault T, Mazeres S, Dumas F, Arenzana-Seisdedos F, Lopez A, Lagane B, Bachelier F. 2006. *J Biol Chem* 281:37921-37929.
2. Baker A, Saulière A, Gaibelet G, Lagane B, Mazères S, Fourage M, Bachelier F, Salome L, Lopez A, Dumas F. 2007. *J Biol Chem* 282 :35163-35168.

* Förster Resonance Energy Transfer

** Fluorescence Recovery After Photobleaching

*** Single Particle Tracking

47. Résistance HMGB1-dépendante des DC infectées par le VIH-1 à l'activité tueuse des NK - Contribution à l'établissement de réservoirs viraux

Marie-Thérèse Melki

Immunité anti-virale Biothérapies et Vaccins, Institut Pasteur

mmelki@pasteur.fr

Héla Saïdi et Marie-Lise Gougeon

Immunité anti-virale Biothérapies et Vaccins, Institut Pasteur

HIV-1 has evolved ways to exploit DCs, thereby facilitating its dissemination and evasion from antiviral immunity. The fate of DCs may be dependent on NK cells. NK-DC interaction may lead to DC maturation or destruction. Indeed, NK-mediated killing of immature DCs (iDCs) is believed to keep in check the quality and quantity of DCs undergoing maturation. Considering that HIV-1 infection is associated with quantitative and qualitative alterations of DCs, we addressed the question of the impact of HIV-1 infection of DCs on their susceptibility to NK killing. iDCs were derived from CD14+ bead-purified monocytes and, in some cases, infected with R5-HIV-1. Cocultures of iDCs with autologous activated NK cells (aNK) were performed at various ratios. The influence of NK-DC interaction on DCs was analyzed by flow cytometry, combining 7-AAD staining with maturation and cell death/survival markers. Gene array analyses were used to detect gene expression variations between different coculture conditions. siRNA magnetofection was performed to silence c-FLIP and c-IAP2 gene expression in DCs. Live video microscopy was used to dissect events during aNK-iDC contact. We show that, while uninfected iDCs are susceptible to NK killing, involving the TRAIL/DR4 but not the perforin-pathway, HIV-1 infected DCs become resistant to NK cytotoxicity. We report that the crosstalk between NK and infected DCs induces a dramatic increase in the expression of two anti-apoptotic molecules, c-FLIP and c-IAP2, responsible for the resistance of infected DCs to TRAIL apoptosis. Moreover, we show that HMGB1, a key mediator of NK-DC cross-talk, plays a pivotal role in this process, being responsible for the upregulation of the apoptosis inhibitors in infected DCs. Furthermore, one consequence of the HMGB1-dependent survival of infected DCs is an increase in HIV-RNA and DNA levels in DCs, contributing to the establishment of viral reservoirs. These data show that under physiological conditions, DC killing by NK cells occurs through rapid induction of DC apoptosis, mediated via the DR4/TRAIL pathway. Once DCs are infected with HIV, NK cells increase their survival through an HMGB1-dependent mechanism triggering HIV replication and persistence in DCs. This study provides new insights into how HIV hijacks DCs and uses the NK-DC interaction to maintain viability of long-term reservoirs, and it identifies potential therapeutic targets to eliminate infected DCs.

48. Rôle de la transcription dite « ANTISENS » à partir du LTR 3' de l'ADN proviral du HIV-1

Jean-Michel Mesnard

Université Montpellier 1, Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé (CPBS), CNRS, UM5236, CPBS, F-34965 Montpellier, France ; Université Montpellier 2, CPBS, F-34095 Montpellier

jean-michel.mesnard@univ-montp1.fr

Isabelle Clerc¹, Sylvain Laverdure¹, Sébastien Landry², Charlotte Arpin-Andre¹, Antoine Gross¹, Benoît Barbeau² et Jean-Michel Mesnard¹

1. Université Montpellier 1, Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé (CPBS), CNRS, UM5236, CPBS, F-34965 Montpellier, France ; Université Montpellier 2, CPBS, F-34095 Montpellier ; 2. Département des Sciences Biologiques et Centre de Recherche BioMed, Université du Québec à Montréal, 2080 Saint-Urbain, Montréal, Québec, Canada H2X 3X8

Il a été longtemps considéré que seul le LTR 5' était impliqué dans l'expression de l'information virale chez les rétrovirus humains. Pourtant, l'ADN proviral contient un deuxième LTR en 3' qui potentiellement représente pour le virus un moyen efficace d'exprimer d'autres gènes sous le contrôle d'un deuxième promoteur. Dès 1988, Miller a décrit la présence sur le brin complémentaire à celui codant pour le gène Env d'un cadre ouvert de lecture codant pour une protéine d'environ 190 acides aminés (Science, 239 : 1420-22). Cependant, la production d'une protéine virale à partir de ce cadre ouvert nécessite la synthèse d'ARNm à partir d'une transcription s'initiant au niveau du LTR 3'. Elle a été nommée « transcription antisens » car elle produit des transcrits orientés dans le sens opposé à ceux synthétisés à partir du LTR 5'. C'est probablement à cause de cette caractéristique plutôt étonnante que la possibilité de produire des protéines virales par cette voie a été rapidement abandonnée. En outre, ces protéines sont très difficiles à caractériser. En effet, elles sont faiblement exprimées dans les lignées cellulaires chroniquement infectées et possèdent un mode de régulation au niveau de leur expression totalement différent des autres protéines rétrovirales. A la fois les progrès techniques et l'accumulation de résultats récents ont permis de renverser la tendance et surtout ont démontré le rôle considérable que peuvent jouer ces protéines dans l'établissement de l'infection par les rétrovirus humains et probablement dans le développement de pathologies. En 2002, nous avons clairement démontré, dans des cellules infectées par HTLV-1 (Human T-cell Leukemia Virus type 1), la présence d'une protéine rétrovirale (appelée par nous-mêmes HBZ pour HTLV-1 bZIP factor) traduite à partir de transcrits antisens synthétisés à partir du LTR 3' (Gaudray et al., J. Virol., 76 : 12813-22). Par la suite, la production de telles protéines a été confirmée pour tous les PTLV (Primate T-cell Lymphotropic Virus). En 2007, nous avons démontré la production de transcrits antisens dans des cellules T infectées par HIV-1 (Landry et al., Retrovirology, 4 : 71). Depuis, nous étudions la production de la protéine ASP (Antisens Protein) à partir de cette transcription antisens chez HIV-1. Nous avons pu démontrer que la protéine exprimée à partir du LTR 3' du HIV-1 est une protéine qui se localise au niveau de la membrane plasmique des cellules T. Ainsi, comme les PTLV, HIV-1 est capable d'exprimer une protéine grâce à la production de transcrits dont l'expression est contrôlée par un promoteur localisé dans le LTR 3'. La caractérisation de cette nouvelle protéine rétrovirale représente une nouvelle voie de recherche extrêmement prometteuse en terme de résultats originaux dans le domaine du HIV-1.

49. Effet de la température sur la conservation du plasma et sang sur papier filtre, pour le suivi biologique (charge virale et résistance) des patients sous ARV dans les pays du Sud

Marjorie Monleau

UMR 145, IRD (Institut de Recherche pour le Développement) ; Université de Montpellier 1, Montpellier, France

marjorie.monleau@mpl.ird.fr

Christelle Butel, Eric Delaporte et Martine Peeters

UMR 145, IRD (Institut de Recherche pour le Développement) et Université de Montpellier 1, Montpellier, France

Thème : VIH et Résistance dans les pays du Sud Objectifs Le sang (DBS) et le plasma (DPS) déposés et séchés sur papier filtre sont faciles à collecter et à stocker, et ont été testés avec succès comme une alternative au plasma pour mesurer la charge virale (CV) et pour tester la résistance aux ARVs. Cependant, les conditions de conservation adéquates doivent encore être établies. De plus, l'ADN proviral présent dans les DBS peut biaiser les résultats. Nous avons évalué l'impact de la température sur la conservation à long terme, ainsi que la contribution de l'ADN des DBS.

Méthodes : Des échantillons de sang résiduels de 34 patients infectés par le VIH-1 (CV moyenne = 3,93 log₁₀ copies/ml) ont été utilisés pour préparer des DPS et DBS et entreposés à 20 et 37°C. Les acides nucléiques ont été extraits, avec ou sans traitement à la DNase, après 1, 2 et 3 mois de stockage pour effectuer une quantification de la CV VIH-1 (Biocentric) et une RT-PCR nichée (protocole ANRS), correspondant à 700bp dans la RT, pour les tests de résistance.

Résultats : Après 3 mois à 20°C, la CV était correctement quantifiable à partir des DBS. La conservation des DBS à 37°C n'a eu aucun effet sur les mesures de CV après 1 mois et entraîne une légère diminution après 2 et 3 mois (0,37 log₁₀ copies/ml). À partir des DPS, aucune diminution significative de la CV a été observée après 1 et 2 mois à 20°C, contrairement à 37°C, (diminution de 0,70 et 1,07 log₁₀ copies/ml après 1 et 2 mois, respectivement). Après 1 mois à 20°C, les RT-PCR étaient positives pour 50% des DPS avec une CV initiale > 10 000 copies/ml. À partir des DBS, les amplifications PCR ont été possibles jusqu'à 3 mois à 20 et 37°C pour les échantillons avec une CV > 5 000 copies/ml. Après traitement à la DNase, les mesures de CV et les résultats de PCR dans les DBS deviennent comparables aux résultats obtenus à partir de DPS.

Conclusions : De manière générale, les analyses virologiques réalisées à partir des spots conservés à 20°C ou à partir des DBS donnent de meilleurs résultats qu'avec les spots conservés à 37°C ou avec les DPS, ce qui confirme l'effet négatif de la température et l'influence de l'ADN proviral. En détail, la mesure de la charge virale et le test de résistance sont encore réalisables à partir des DBS après 3 mois à 37°C, quand la CV initiale est supérieure à 5 000 copies/ml, et à partir des DPS jusqu'à un mois de stockage à 37°C, quand la CV initiale est supérieure à 10 000 copies/ml. Cependant, l'ARN viral est dégradé et l'ADN proviral dans les DBS contribue largement aux résultats.

50. Effet d'un traitement antirétroviral combiné de courte durée initié en phase aiguë ou chronique sur l'infection SIV du tractus génital mâle

Marina Moreau

Inserm U625, Rennes I University, France

marina.moreau@univ-rennes1.fr

A. Le Tortorec¹, H. Denis¹, C. Deleage¹, A.P. Satie¹, O. Bourry¹, P. Roques², B. Jégou¹, R. Le Grand² et N. Dejucq-Rainsford¹

1. Inserm U625, Rennes I University, France ; 2. Service d'immuno-virologie, CEA, Fontenay-aux-roses, France

Background: We previously evidenced the infection of human and macaque semen-producing organs by HIV-1 and SIV (Le Tortorec et al, Plos One, 2008; Le Tortorec et al, Retrovirology, 2008; Roulet et al, Am J Pathol, 2006). The male genital tract (MGT) is suspected to constitute a viral reservoir since persistent HIV shedding is found in the semen of a subset of HIV infected individuals under effective HAART with undetectable viremia. Using a macaque model, we investigated the impact of short term HAART, initiated during the acute or chronic stages, on SIV infection of the MGT.

Methods: Adult male Cynomolgus macaques were treated with AZT/3TC/IDV for 2-4 weeks at 4h and 21 weeks post-intravenous inoculation of SIVMAC251. The presence of SIV in the testis, epididymis, prostate and seminal vesicles was analyzed at the end of the treatment period by nested PCR for SIV gag DNA and in situ hybridization for SIV gag RNA.

Results: HAART initiated during the acute stage prevents the peak of plasma viral load (PVL) and leads to a significant decrease of the virus dissemination in MGT tissues, but SIV RNA+ cells remain detectable in situ in all MGT tissues. In macaques treated during the chronic stage, the average frequency of viral DNA detection in MGT tissues is similar to that of placebo animals. However in the 2 animals in which HAART induced undetectable PVL, a decrease of viral DNA detection is observed in all MGT organs, although to a lesser extent in the testis.

Conclusions: Short term HAART initiated during the acute stage of infection dramatically reduces SIV dissemination in the MGT but does not prevent it. A similar treatment initiated during the chronic stage only reduces SIV infection of MGT organs when achieving undetectable viremia. Whether prolonged HAART can eradicate SIV from the MGT will next be investigated. **Keywords:** SIV, HAART, male genital tract, reservoir **Sources of support:** ANRS, Région Bretagne, Inserm

51. Les échecs au traitement antirétroviral chez l'enfant infecté par le VIH-1 à Bobo-Dioulasso : essai ANRS 12103

Boubacar Nacro

Département de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou 01 BP 676 Bobo 01 Burkina Faso

bnacro@fasonet.bf

E. Zouré¹, M. Barro¹, H. Hien², F. Rouet², H. Peyrière³ et O. Mathieu³

1. Département de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou 01 BP 676 Bobo 01 Burkina Faso ; 2. Service d'Immuno-microbiologie, Centre Muraz 01 BP 390 Bobo 01 Burkina Faso ; 3. Laboratoire de Pharmacologie médicale, Département de Pédiatrie et Département de Bactériologie-Virologie, CHU Montpellier, France ; 4. Université de Montpellier 1, EA 4205 « Transmission, Pathogenèse et Prévention de l'infection par le VIH » ; 5. UMR 145 IRD, Université Montpellier 1, France

Objectif : Evaluer les échecs du traitement antirétroviral (TAR) par le ddl+3TC+EFV en prise unique au cours d'un essai clinique. **Méthodologie :** Un essai clinique de phase II (ANRS 12103) utilisant une combinaison faite de ddl : 240mg/m², 3TC : 8mg/Kg, EFV en fonction du poids de l'enfant : 200 mg entre 10 et 15 Kg, 250 mg entre 16 et 20 Kg, 300 mg entre 21 et 25 Kg, 350 mg entre 26 et 32 Kg, 400 mg entre 33 et 40 Kg, 600 mg si le poids est supérieur à 40 Kg en prise unique journalière avaient été suivis pendant 12 mois avec dosage trimestriel des CD4 et de la charge virale. Des tests génotypiques avaient été réalisés pour des charges virales supérieures à 1000 copies par millilitre après 3 et 6 mois de traitement.

Résultats : Sur 52 enfants inclus, 10 présentaient une charge virale supérieure à 1000 copies/mL. Sept avaient présenté des résistances, tous aux Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Reverse (INNRT), 6 aux 3TC en plus des INNRT. Le taux de résistance était de 11,7%. Les génotypes retrouvés étaient CRF 02 et CRF 06. Les traitements de seconde ligne ont été proposés en fonction de ces résultats. A 12 mois de suivi, il avait été noté 19% d'échec thérapeutique.

Conclusion : Le taux d'échec thérapeutique demeure important. La charge virale et les tests de résistance ont un intérêt certain pour évaluer l'efficacité du TAR et le choix des molécules de seconde ligne.

52. Etude de l'influence du vieillissement et de l'inflammation sur la fréquence et l'incidence des facteurs de risque cardiovasculaires dans une cohorte de Patients infectés par le VIH au Cameroun

Judith L. Ngondi

Laboratoire de Nutrition et de Biochimie Nutritionnelle, BP 812 Département de Biochimie, Université de Yaoundé, Yaoundé, Cameroun

ngondijudithl@hotmail.com

Henriette Dimodi, Dieudonnée Kuate et Julius Oben

Laboratoire de Nutrition et de Biochimie Nutritionnelle, BP 812 Département de Biochimie, Université de Yaoundé, Yaoundé, Cameroun

Objectif : Cette étude a pour but d'évaluer l'influence du vieillissement et de l'inflammation sur la fréquence et l'incidence des facteurs de risque cardiovasculaires dans une cohorte de PVVIH camerounais.

Méthodes : il s'agit d'une étude retro prospective et prospective des données sociodémographiques, biologiques et cliniques d'une cohorte de 520 hommes et femmes infectés par le VIH, âgés de 20-69ans. Nous avons comparé la fréquence et l'incidence des facteurs de risque cardiovasculaires (syndrome métabolique, hypertension, diabète, obésité, hyperlipidémies) en fonction des tranches d'âge (20-29 ; 30-39 ; 40-49 ; ≥50 ans) et du statut inflammatoire (protéine C-réactive>50 mg/l) à 12, 24 et 36 mois après initiation de la trithérapie.

Résultats : Nous avons noté que le vieillissement augmente de la fréquence et l'incidence du diabète, de l'hypertension artérielle diastolique et systolique à 12, 24 et 36 mois après initiation du traitement. La fréquence des facteurs de risque cardiovasculaires après 36 mois de traitement, dans les différentes tranches d'âge (20-29 ; 30-39, 40-49 et ≥50 ans) était respectivement de : hypertension artérielle (9,7% ; 8,5% 14,3% et 20,3%) ; surcharge pondérale (5,9% ; 9,1% ; 7,4% et 4%) ; diabète (0,1% ; 0,8% ; 3,01% et 6,7%). Cependant, la fréquence des dyslipidémies et du syndrome métabolique était plus faible chez les patients de 50 ans et plus. Par ailleurs, 40% de patients avaient un taux de CRP supérieur aux valeurs seuils et 75% avaient plus de 50 ans. L'inflammation augmentait également la fréquence des facteurs de risque cardiovasculaires après 36 mois de traitement. 50% de cas d'hypertension, 57% de cas d'hypercholestérolémie et 80% de cas d'hypertriglycéridémie avaient un taux de supérieur aux valeurs seuils.

Conclusion : Il en ressort que le vieillissement à un impact sur l'incidence du diabète, de l'hypertension artérielle alors que l'inflammation augmenterait la fréquence des dyslipidémies dans cette population.

53. HIV drug resistance profile of protease and integrase genes in HIV-1 CRF 01_AE infected cambodian patients failing LPV-based 2nd line antiretroviral regimen

Janin Nouhin

HIV/Hepatitis Laboratory, Pasteur Institute, Phnom Penh, Cambodia

enerrienet@pasteur-kh.org

Sopheak Ngin¹, Sreymom Ken¹, Vara Ouk², Marie-Laure Chaix³, Jean-François Delfraissy⁴ and Eric Nerrienet¹

1. HIV/Hepatitis Laboratory, Pasteur Institute, Phnom Penh, Cambodia ; 2. Esther Program, Calmette Hospital, Phnom Penh, Cambodia ; 3. EA3620, Univ Paris Descartes, APHP, virology, Hopital Necker, Paris, France ; 4. ANRS, France

Background: By the end of 2009, the number of HIV-1 infected patients on RTI-based 1st line and PI-based 2nd line ARV regimen in Cambodia reached 34,000 and 1,500, respectively. We already reported good virological and immunological responses after 1 to 4 years in cohorts of patients on 1st line and more recently, among an Esther cohort of 70 patients after 2 years on LPVr-based 2nd line regimen. However, the number of patients on LPV/r-based 2nd line increases dramatically and the number of protease inhibitors (PI) available remains strictly limited. Emergence of LPV resistant associated mutations is becoming a major concern. Whether other PI-based 2nd line regimen or Integrase Inhibitors (II) as a 3rd line might be used in such countries needs further investigation.

Objective: This study aimed to describe the resistance pattern of both the protease (PR) and integrase (IN) genes in HIV-1 CRF01-AE infected patients failing LPV-based 2nd line regimen in Cambodia.

Methods: HIV-1 drug resistance analysis for patients on virological failure (VL>250 cp/ml) after a LPV/r-based 2nd line were performed at Pasteur Institute of Cambodia. PR and IN genes were PCR amplified and directly sequenced. Drug resistance mutations were analyzed and interpreted according to the ANRS algorithm (V. 18, July 2009).

Results: By the end of 2009, 1,539 blood specimens have been referred to Pasteur Institute of Cambodia for resistance genotyping, 180 of them were from patients on PI-based second line regimen. The nature of 2nd line ARV drugs was documented for 112 genotypes done for 102 patients. Ninety-one genotypes were done for 71 patients using LPV/r as PI under 2nd line. Protease gene could not be amplified for 34 (47.8%) patients presenting low viral load (Median VL: 2.6, [IQR: 2.5 – 3]). Sixteen patients of 71 (22.5%) (Median VL: 4.4 [IQR:3.2-5.5]) did not show any mutations associated to resistance to PI, whereas 21 (29.6%) (20 men, 1 woman) developed resistance to PI. In this group of 21 patients (Median VL: 4.8 [IQR 4.1-5.3]), the median duration on 2nd line was 24 months (IQR: 12.5 – 34.5). All the virus of these patients were found possibly resistant to TPVr because of the natural polymorphism of CRF 01 AE viruses. 17/21 were found resistant to LPV/r and 3 possibly resistant to LPV/r. Twenty of 21 (95.2%) were resistant for IDV, 16 and 15 were resistant to APV and ATV respectively. Ten patients were resistant to NFV, 9 others being possibly resistant to NFV. For SQV, 9/21 were resistant to SQV and 8 possibly resistant. Finally, 18/21 (86%) were resistant for at least 3 PIs and (14/21) 67% for at least 4 PIs. In contrast, only one patient was resistant to DRV and 3 possibly resistant. In order to further investigate if IIs might be

used as a 3rd line, we already analyzed the IN genes of 15 of these 21 patients. Natural polymorphism mutations were observed in positions: D10E, K14R, A21T/P, V31I, S39G/N, T112V, G123S, T125A, R127K, G134N, I135V, K136R/Q, D167E, V201I, N232D, L234I, and S283G. No IIs (RAL, EVG) resistant associated mutations were observed in these 15 patients.

Discussion: Clinical investigations revealed that most of these 21 patients experienced RTIs and PIs early around 2000. For such patients, whether IIs, associated or not to DRV, might be used as a 3rd line regimen should be further investigated. This study also highlights the urgent need to improve the virological follow-up of ARV-treated patients in low- middle-incomes countries in order to maintain them on 1st or 2nd lines as long as possible.

54. Dosage plasmatique simultané de huit antirétroviraux par HPLC

Adama Ouiminga

Unité d'Immunologie du Centre MURAZ, Bobo-Dioulasso

adamaouiminga@yahoo.fr

Serge Diagbouga¹, Mamadou Sawadogo² et Corinne Charlier³

1. Unité d'Immunologie du Centre MURAZ, Bobo-Dioulasso ; 2. Université de Ouagadougou ; 3. Service de Toxicologie Clinique, Médico-légale, de l'Environnement et en Entreprise du CHU de Liège

Introduction : L'utilisation des inhibiteurs de la protéase (IP) et des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) du VIH présente un progrès important dans le traitement du VIH/SIDA. Compte tenu d'une importante variabilité interindividuelle pharmacocinétique, la détermination des concentrations plasmatiques des IP et des INNTI est indiquée pour une meilleure compréhension d'un éventuel échec thérapeutique et une optimisation des traitements antirétroviraux en assurant des niveaux de concentration optimale pour améliorer l'efficacité du traitement et réduire les effets secondaires.

Matériel et méthodes : Ce travail propose une méthode de dosage par chromatographie liquide haute performance de huit antirétroviraux, deux INNTI (névirapine, éfavirenz) et six IP, lopinavir, ritonavir, indinavir, atazanavir, nelfinavir, saquinavir) dans le plasma. Les molécules sont extraites d'1,6 ml de plasma en phase solide par une solution d'ammoniac à travers une cartouche SPE Oasis HLB 1 cc 30 mg en présence d'un étalon interne. Après trois étapes de lavage, nous éluons les médicaments avec le méthanol, nous évaporons l'alcool, et reconstituons le résidu avec 100 µL de phase mobile constitué d'un gradient tampon de dihydrogénophosphate de sodium dihydraté (25 mM, pH 3,1) et d'acétonitrile (87 ; 13). Nous injectons un volume de 40 µL dans le système HPLC couplée à la détection UV (DAD Waters Alliance 2). La séparation est réalisée sur une colonne (Symmetry® column C8, 4,6 × 250 mm, 5µm) avec un mode gradient pour un débit de 1 ml/mn. La détection est réalisée à différentes longueurs d'onde (de 210 à 282 nm).

Résultats : Tous les médicaments étaient élués en 45 mn. Les courbes de calibration avec les concentrations de 0,025 – 10 mg/L montraient des coefficients de détermination (r²) entre 0,990 et 1. Les limites de quantification comprises entre 0,05 et 0,32 mg/l sont compatibles avec les marges thérapeutiques et les concentrations résiduelles rapportées dans la littérature. Les coefficients de variation de la répétabilité et de la reproductibilité sont inférieurs à 15%. L'exactitude et les rendements d'extraction sont compris respectivement entre 70 et 115 % et 79 et 105%. Nous avons obtenu une bonne résolution pour les pics de chaque médicament.

Conclusion : Cette méthode permet une détermination simple et une quantification simultanée des IP et INNTI sans interférence dans l'ensemble avec les molécules les plus couramment co-administrées et d'autres substances endogènes comme exogènes. Cette méthode de dosage, pour laquelle un appareillage HPLC classique suffit permet le suivi thérapeutique des patients infectés par le VIH. L'HPLC-UV est une méthode analytique précise et fiable. Elle est praticable avec un équipement standard de laboratoire. Cette méthode peut être utilisée en routine et en recherche clinique pour gagner du temps et diminuer les coûts comparés à d'autres méthodes existantes.

55. Le site d'initiation de la dimérisation (DIS) de l'ARN génomique du VIH-1 est impliqué dans la régulation de l'épissage et de l'encapsidation de l'ARN viral

Jean-Christophe Paillart

Architecture & Réactivité de l'ARN, CNRS, Université de Strasbourg, IBMC, Strasbourg, France

Lucile Sinck¹, Ludovic Didierlaurent², Roland Marquet¹ et Marylène Mougel²

1. Architecture & Réactivité de l'ARN, CNRS, Université de Strasbourg, IBMC, Strasbourg, France ; 2. UMR5236, CNRS, Université Montpellier 1, CPBS, Montpellier, France

During the packaging process, HIV-1 genomic RNA (gRNA) is preferentially selected amongst a multitude of cellular and viral spliced mRNAs. As for all retroviruses, RNA is incorporated into viral particles as a dimer of two homologous molecules. Packaging of HIV-1 gRNA involves specific interactions between a trans-acting factor, the Gag precursor, and cis elements present in the leader region of the gRNA (packaging signals). This region located at the 5'-end folds into four stem-loop structures, SL1 to SL4, involved in several important steps of the HIV-1 life cycle (RNA dimerization and packaging, splicing, initiation of translation). The location of the HIV-1 Dimerization Initiation Site (DIS or SL1), immediately upstream of the SD site, results in its presence in all spliced viral mRNAs. The DIS in the context of HIV-1 spliced mRNAs is fully functional *in vitro* but does not promote their packaging, while it is a major element for gRNA encapsidation. Moreover, the fact that RNA dimerization takes place during *in vitro* transcription suggests it could affect the fate of HIV-1 RNAs by modulating splicing, transport or/and localization. In order to determine if RNA dimerization and splicing could be related, we either mutated the DIS or/and moved it away from the SD. We then analyzed the yield of viral RNAs in transfected 293T cells and in viral particles by quantitative RT/PCR and evaluated the importance of the DIS and SD proximity on splicing and RNA packaging. We found that all mutations affecting either the DIS or the distance between the DIS and the SD site decreased gRNA packaging efficiency, while multi-spliced viral RNAs were slightly increased. Interestingly, we observed a 2-3 fold increase in splicing efficiency when the DIS was disrupted or displaced away from the SD. These results suggest that the DIS and/or RNA dimerization could possibly regulate viral RNA splicing and gRNA selection. This work is supported by grants from ANRS & SIDACTION (JCP) and by a fellowship from the ANRS (National Agency against AIDS) to LS and LD.

56. Rôle des ligands de TLR7 et NOD2 dans l'augmentation de la réponse muqueuse anti-gp140, adsorbée à la surface de nanoparticules de PLA

Charlotte Primard

IBCP UMR 5086 CNRS Université de Lyon ; GIMAP Université Jean Monnet, St Etienne

vincent.pavot@ibcp.fr

Nicolas Rochereau, Vincent Pavot, Céline Terrat, Elsa Luciani, Astrid Calamel, Stéphane Paul et Bernard Verrier

IBCP UMR 5086 CNRS Université de Lyon ; GIMAP Université Jean Monnet - St Etienne

Background: The use of TLR ligands such as as TLR7 as mucosal adjuvant for vaccine administration is already largely described, but the use of Nod ligand is still poorly described. However, NOD receptors are capable of inducing non-specific immune responses to tumors or infections, leading to the production of pro-inflammatory proteins (IL-1 β , IL-6, TNF, IL-8), chemokines or nitric oxide. These properties could induce a strong adjuvant effect when associated to vaccination. To test this hypothesis, we take advantage of the biodegradable nanoparticle platform using biocompatible and biodegradable poly(L-lactic acid) (PLA) nanoparticles . They exhibit potent adjuvant properties to improve the effectiveness of HIV vaccine, inducing strong humoral responses. Therefore, we have investigated if co-administration of these PLA nanoparticles carrying HIV gp140 with NOD2 ligand could amplify the mucosal responses in mice, using TLR7 ligand as an alternative.

Objectives: Evaluate the adjuvant properties of NOD2 ligand with comparison to TLR7 ligand as a mucosal adjuvant, when co-administered with PLA nanoparticles carrying HIV-1 gp140.

Methods: To design PLA nanoparticles, we used the solvent diffusion method, a one-step and surfactant-free process. The efficacy of Adsorption of HIV-1 gp140 protein onto PLA nanoparticles was investigated as a function of the nanoparticle size and stability of the formulations was controlled. Uptake of Coumarin 6 fluorescents PLA nanoparticles was checked in an in vitro reconstructed intestinal mucosa, Caco-2 and Raji M cells cultured on trans-wells. The number of particles which crossing the mucosa are counted by FACS. To assess their immunogenicity properties, we compare two routes of immunization, enteric and subcutaneous, in B6D2 mice. We administered 10 μ g of gp140-PLA using five groups of five and two mice as negative control (naked PLA). Each group received respectively, gp140-PLA alone, gp140-PLA + TLR7a, gp140-PLA + NOD2a, gp140-PLA + TLR7a & NOD2a or gp140-PLA + chimeric TLR7/NOD2a. TLR7 and NOD2 ligands were obtained from Invivogen. For the subcutaneous group, vaccine formulation was injected every two weeks during 34 days (three injections). For the enteric route, ten tube-feeding were performed in 18 days. For each group, humoral and mucosal responses were analyzed every two weeks, in vaginal washes, faeces and sera. 35 days after the first immunisation, mice were euthanized and spleens were collected to perform Elispots (INF γ).

Results: Crossing of the reconstructed intestinal mucosa by fluorescent PLA nanoparticles carrying gp140 is spontaneous and is three-fold increase in the presence of M cells. Furthermore PLA formulations with gp140 exhibit a strong colloidal stability, more than one

month at RT. All these observations encouraged us to perform a head to head experiment in mice, comparing enteric and subcutaneous immunization. By analyzing cellular immune responses, upon subcutaneous injection in mice, we could observe that gp140-PLA formulation when co-administered with chimeric TLR7/NOD2 ligand induced potent IFN γ Elispot response as compared to non-adjuvanted gp140-PLA formulation. In the same manner, co-administration of gp140-PLA with NOD2 ligand by tube-feeding induced potent IFN γ Elispot responses. Concerning the humoral immune responses, we noticed that co-administration of gp140-PLA and Nod2 ligand through subcutaneous route was the best way to induce higher mucosal IgG humoral response in rectal and vaginal washes. However, only co-administration with TLR7 ligand leads to rectal IgA responses.

Conclusion: A co-adjuvant effect was clearly observed, when PLA are co-administered with TLR7 or NOD2 ligands as exemplified by the appearance of mucosal immunity rectal IgA. Use of NOD2 ligand as mucosal adjuvant will deserve further experiments; we are currently investigating the mechanisms involved in our observations.

57. Evolution des formes circulaires 2-LTR du VIH-1 chez des patients traités par raltegravir et in vitro dans des cellules HELA P4 infectées

Sandrine Reigadas

Laboratoire de virologie, EA2968

sylvain.cardinaud@upmc.fr

ML. Andreola², L. Wittkop³, O. Cosnefroy², G. Anies¹, P. Recordon-Pinson¹, R. Thiébaud³, B. Masquelier¹ and H. Fleury¹

1. Laboratoire de virologie, EA2968, 2UMR5234, CNRS, Université de Bordeaux ; 2. IFR66 Pathologies Infectieuses et Cancer ; 3. INSERM U897, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

Background: Raltegravir (RAL), an HIV-1 integrase inhibitor, has shown potent antiretroviral activity in HIV-1 infected patients. As previously shown, 2-LTR circle formations and the frequency of circle junction deletions increase in diketo acid derivatives-treated cells. We aimed at analyzing the evolution of 2-LTR episomal HIV-1 DNA in vitro and ex vivo in the presence of RAL. In addition, we investigated the effect of RAL on the structure of the 2-LTR circle junctions.

Methods: 2-LTR HIV-1 episomal DNA was quantified using a real-time PCR assay amplifying viral sequences across the junction of the 2LTRs. 25 antiretroviral-experienced patients receiving a RAL-containing regimen were included. The total HIV-1 DNA and 2-LTR DNA were quantified in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from these patients before starting RAL (M0) and in follow-up samples up to month 12 (M12). We further evaluated the effect of RAL in HeLa-P4 cells and analyzed its effect on the 2-LTR circles formation.

Results: Among 21 patients with undetectable 2-LTR at baseline, seven became detectable during the follow-up. Three of four patients with detectable 2-LTR at baseline had undetectable 2-LTR DNA during the follow-up ($p=0.27$). The mean 2-LTR increased significantly ($+0.07 \log_{10}/\text{month}$, $p=0.02$) in RAL-treated patients and a 2-LTR increase was also observed in RAL-treated HeLa-P4 cells with a peak at 3 days post-infection. 2-LTR showed a high prevalence of deletions ex vivo (64.5%) and in vitro (50%) in the presence of RAL, which was not statistically different to prevalence in untreated patients or cells.

Conclusions: Both in vitro and ex vivo data suggest an increase of 2LTR HIV-1 DNA in the presence of RAL while the evolution of total HIV-1 DNA showed a decrease over time in RAL-treated patients. The high frequency of deletions on RAL could be related to an increased accessibility of host's cell nuclease to the LTR junctions.

58. Etude de la résistance chez les patients en échec d'un traitement comprenant raltegravir, etravirine et darunavir/ritonavir dans l'essai ANRS 139 TRIO

Bénédicte Roquebert

APHP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Université Paris 7, France

benedicte.roquebert@bch.aphp.fr

C. Colin², AM. Taburet³, C. Fagard², A.Storto¹, C. Katlama⁴, JM. Molina⁵, C. Jacomet⁶, G. Chêne², Y. Yazdanpanah⁷, D.Descamps¹ and the ANRS 139 TRIO Trial

1. APHP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Université Paris 7, France ; 2. INSERM U897, Bordeaux, France ; 3. APHP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; 4. APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; 5. APHP, Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; 6. Hôpital de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ; 7. Hôpital de Tourcoing, Tourcoing, France

Background: ANRS 139 TRIO trial is an ongoing 96-week phase II non-comparative trial that evaluated in highly experienced patients combination of raltegravir, etravirine and darunavir/r. Patients enrolled had a past history of virologic failure (VF) while on NNRTI, with ≥ 3 primary PI and NRTI mutations and ≤ 3 darunavir and NNRTI mutations at screening. VF, defined as a plasma viral load (VL) > 50 c/ml at week (W)24 or between W24 and W48 on 2 consecutive specimens for those undetectable at W24, was observed in 14/103 patients enrolled. We analyzed emergence of resistant mutant viruses at time of the VF and investigated the impact of baseline integrase (IN) polymorphisms on VF occurrence.

Methods: Bulk sequencing of protease (PR), reverse transcriptase (RT) and IN genes was performed for 103 patients at baseline and 14 patients at time of VF. Additionally, IN clonal analyses were performed at baseline and at VF in patients with successful IN gene amplification. Impact of baseline IN polymorphisms on VF occurrence was analyzed using Fisher exact and Wilcoxon tests.

Results: In the 14 failing patients median plasma VL at VF was 90c/ml [IQR:60-783]. Darunavir, etravirine and raltegravir plasma concentrations were detectable in 12/14 patients at time of VF. PR, RT and IN bulk sequences were available for 7 failing patients. Emergence of I50V darunavir mutation at W16 replaced with L76V at W24 was observed in only one patient at VF. Etravirine resistance mutations emerged in 3 patients (V179D(n=1); V90I(n=1); Y181C(n=1)) at VF. INI resistance mutations were found neither at baseline nor at time of VF. IN clonal analyses in 3 patients with successful IN gene amplification (90 to 130 clones for each patient) showed neither the presence nor the selection of minority variants carrying INI resistance mutations at baseline or at VF, respectively. At baseline IN gene was analyzed in 97/103 patients. IN polymorphisms $>20\%$ were observed at 13 positions: 17, 31, 39, 72, 101, 112, 113, 119, 124, 125, 201, 206 and 234. No impact of baseline IN polymorphisms was observed on VF neither at W24 nor at W48.

Conclusion: VF occurred in a small proportion of patients and plasma viral load was low at the time of VF. No raltegravir resistance mutations were observed using bulk sequencing or clonal analyses, and darunavir and etravirine associated mutations were detected in only one and 3 patients, respectively at VF. No impact of baseline IN polymorphism was observed on VF occurrence.

59. Small CCR5 Ligand-Mediated Allosteric Inhibition of Gp120 Binding Correlates with Inverse Agonism at CCR5 but not with Anti-HIV Activity

Patricia Rueda

Institut Pasteur, Paris, France

patricia.rueda@pasteur.fr

Javier Garcia Perez², Isabelle Staropoli¹, Esther Kellenberger³, Jose Alcamí², Fernando Arenzana-Seisdedos¹ and Bernard Lagane¹

1. Institut Pasteur, Paris, France ; 2. Institut de Salud Carlos III, Madrid, Spain ; 3. Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

Background: Low molecular weight CCR5 ligands prevent the viral envelope protein gp120 from binding to CCR5 and infection by HIV-1 R5-tropic viruses. They bind to transmembrane domains of CCR5 and impede chemokine (CHK) binding to the receptor by an allosteric mechanism. Nevertheless, whether the CCR5 conformational changes induced by these compounds also account for inhibition of gp120 binding is poorly explored. Some of these compounds are inverse agonists for CCR5, thus suggesting that they stabilize G protein uncoupled, inactive states of the receptor. We show that TAK779 and Maraviroc (MVC) regulate G protein coupling to different extents, thus allowing us to examine the role that inverse agonism plays in the inhibition of CHK and gp120 binding and HIV infection.

Methods: Standard ligand binding methods and GTPγS binding assays to measure G protein activation were used. 35S-gp120 from the Bx08 HIV-1 strain was produced using a Semliki forest virus type vector in BHK cells. Viral progeny with the renilla-luciferase gene was used to infect U87 cells or PBMCs.

Results: CCR5 shows constitutive activity in HEK cells that was inhibited to different extents by MVC and TAK, which act as weak and full inverse agonist, respectively. Dissociation of pre-bound 125I-MIP1 α from CCR5 that was initiated by infinite dilution of the CHK was accelerated in the presence of TAK, and to a lesser extent by MVC. Binding of MIP1 α vanishes with GTP analogs that interrupt G protein coupling, thus suggesting that inverse agonism contributes to allosteric alteration of MIP1 α binding by the inhibitors. In contrast, gp120 acts as a neutral antagonist and binds to CCR5 independently of G proteins. Yet, competitive binding and dissociation assays showed that the inhibitors allosterically alter gp120 binding. Off-rate constants for the protein ($k_{off} = 0.59h^{-1}$) increase to a greater extent with TAK than with MVC ($k_{off} = 5.4$ vs $1.6h^{-1}$). In spite of this, MVC ($IC_{50} \approx 1nM$) is more potent than TAK ($IC_{50} > 100nM$) for inhibiting viral infection.

Conclusions: TAK and MVC remove CHK and gp120 from CCR5 with an efficiency that correlates with their inverse agonist efficacy. Of note, gp120 dissociation from CCR5 does not depend on G protein uncoupling. Gp120 dissociates more rapidly from TAK-occupied than from MVC-occupied CCR5, although TAK inhibits HIV infection less potently than MVC. Thus, blocking of infection by these compounds may not solely rely on the allosteric inhibition of gp120 binding.

60. La traduction du VIH est initiée d'une manière originale

Bruno Sargueil

CNRS - Paris Descartes UMR 8015

bruno.sargueil@parisdescartes.fr

Nathalie Chamond, Nicolas Locker et Nathalie Ulryck

CNRS - Paris Descartes UMR 8015

L'initiation de la traduction des ARNm eucaryotes procède classiquement par l'assemblage d'un complexe ribonucléoprotéique comprenant la petite sous unité ribosomale à l'extrémité 5' du messager. Le complexe d'initiation ainsi formé balaie la région 5' non traduite (5'UTR) jusqu'à trouver un codon d'initiation, site où se forme le ribosome complet qui débute l'élongation. Pour certains messagers viraux, dont ceux du virus de l'Hépatite C, les ribosomes sont directement attirés sur le codon d'initiation, lors d'un phénomène appelé « Entrée Interne des ribosomes ». Il a été montré que tous les facteurs cellulaires canoniques de l'initiation ne sont pas requis et que la structure tridimensionnelle de la 5'UTR de l'ARNm est alors responsable du recrutement et de l'activation des ribosomes. Ceci confère au virus une propriété particulière : ses messagers peuvent être traduits dans des conditions où les ARNm cellulaires restent silencieux (stress, phase spécifique du cycle cellulaire, clivage des facteurs d'initiation cellulaires par des protéines virales). Nous avons récemment montré que les lentivirus de primates utilisent un système particulier pour traduire leur ARN génomique par entrée interne des ribosomes: les séquences et les structures responsables du recrutement des ribosomes sont entièrement localisées dans la région codante gag, et permet la production de plusieurs isoformes de la protéine. Ce mécanisme de traduction est à ce jour unique, puisqu'il est complètement indépendant de la présence d'une région 5' Non traduite pourtant indispensable au deux mécanismes décrits ci-dessus. Cette propriété confère au virus la possibilité de traduire la protéine Gag indépendamment de tous les événements et interactions qui ont lieu au niveau de la 5' UTR tout au long du cycle cellulaire. Nous avons précédemment décrit ce phénomène, montré qu'il était commun aux lentivirus des primates, et modélisé les structures secondaires impliquées. Nous cherchons maintenant à identifier les structures d'ARN déterminantes, leur caractère dynamique éventuel, et les protéines virales ou cellulaires impliquées afin de mieux comprendre le mécanisme moléculaire. Pour ce faire nous avons mis au point plusieurs techniques dédiées dont un système de détermination des structures d'ARN à haut débit. Nous nous intéresserons particulièrement à la régulation de l'expression de la protéine Gag afin de mieux comprendre les liens entre la traduction et d'autres événements du cycle viral comme la dimérisation et l'encapsidation, le tout étant possiblement régi par une dynamique structurale de l'ARN génomique. Enfin, dans une perspective thérapeutique, nous isolerons des petites molécules qui interféreraient spécifiquement avec la traduction du VIH, en se liant spécifiquement à son ARN génomique.

61. A functional role for Interleukin-7 in CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cell homeostasis

Federico Simonetta

INSERM U.1012

federico.simonetta@u-psud.fr

Kim Martinet, Alejandra Urrutia, Isabelle Girault and Christine Bourgeois

INSERM U.1012

Interleukin-7 (IL-7) is currently under clinical investigation for treatment of severe lymphopenia associated with HIV infection. IL-7 plays a critical role in T cell development and survival. All major CD4 T cell subsets, including naïve, memory and Th17 CD4 T cells, strictly rely on IL-7 for their peripheral homeostasis. The only important exception seems to be represented by CD4+ CD25+ regulatory T cells (Tregs) which have been reported to express low levels of the IL-7 receptor alpha chain (CD127) and whose peripheral biology is considered to be essentially independent of IL-7. To elucidate a potential role of IL-7 in Treg biology, we first investigated CD127 expression on murine Tregs. Taking into account their phenotypic heterogeneity, we demonstrated differential CD127 expression depending on Treg subsets considered. Notably, we observed high CD127 expression on Tregs expressing the activation markers ICOS and CD103. Moreover, we demonstrated that in contrast to conventional CD4 T cells, Tregs significantly up-regulate CD127 expression during in vitro and in vivo activation. Importantly, high CD127 expression on Treg cells was also predominantly detected ex vivo in some specific sites, notably peritoneal cavity, bone marrow and skin. We next investigated the biological relevance of differential expression of CD127 on Tregs. We demonstrated that CD127^{high} Tregs presented higher levels of STAT5 phosphorylation than their CD127^{low} counterpart upon IL-7 treatment in vitro. Similarly, we observed higher survival of CD127^{high} Tregs when compared with CD127^{low} Tregs upon IL-7 treatment in vitro. Finally, we assessed the in vivo effect of IL-7 on Treg survival in an adoptive transfer model. Tregs were transferred into Rag^{-/-} IL7^{-/-} mice and mice were injected on day 1, day 3 and day 5, with either IL-7 (1µg) or PBS. Administration of IL-7 increased recovery of Tregs in spleens at day 6. We thus demonstrated that IL-7 is an important factor for Tregs survival both in vitro and in vivo, in agreement with its well established role in survival of other CD4 T cell populations. Globally our results demonstrated low CD127 expression is not an intrinsic characteristic of Treg cells and identified Tregs as a target of endogenous or therapeutic IL-7.

62. Mécanisme de l'inhibition de la réplication de VIH-1 par un bis-thiadiazolbenzene-1, 2-diamine

Beata Szafarowicz

Laboratoire Biophotonique et Pharmacologie, UMR 7213 CNRS, Equipe Biophotonique des interactions moléculaires et cellulaires, Faculté de Pharmacie

beata.szafarowicz@unistra.fr

Christophe Pannecouque, Natalia Volkova, Vasiliy Bakulev, Wim Dehaen, Yves Mély et Dirk Daelemans

Laboratoire Biophotonique et Pharmacologie, UMR 7213 CNRS, Equipe Biophotonique des interactions moléculaires et cellulaires, Faculté de Pharmacie

The viral nucleocapsid protein (NC) plays crucial roles in the HIV-1 virus replication, mainly through its nucleic acid chaperone properties[]. These properties mostly rely on its highly conserved 'CCHC' zinc finger domain. Due to its highly conserved structure, NC is a promising target for anti-HIV-1 therapy. Different classes of anti-NC molecules have already been developed or selected by means of high throughput screening strategies. The most important ones are the zinc ejectors agents, which are generally efficient but suffer from limited selectivity[]. Here we report on the characterization of the inhibitory mechanism of N,N'-bis (1,2,3-thiadiazol-5-yl)benzene-1,2-diamine (NV038) that efficiently blocks the replication of a wide spectrum of HIV-1, HIV-2 and SIV strains, by interfering with the early reverse transcription reaction[]. Using the intrinsic fluorescence of Trp37 of NC(11-55), we found that NV038 efficiently removes zinc from the peptide leading to its unfolding. Zinc ejection was confirmed by the inability of the peptide in the presence of NV038 to destabilize the secondary structure of cTAR, the complementary sequence of the transactivation response element[]. In addition, the loss of NC(11-55) ability to destabilize cTAR was found to closely match the ejection of zinc from the fingers, further confirming that NV038 efficiently removes the bound zinc ions from NCp7.

References :

- [] Darlix J.L., Mely, Y. *Properties, functions and drug targeting of the multifunctional nucleocapsid protein of the human immunodeficiency virus*. 2007. *Advances in Pharmacology*, 55, 299-346.
- [] De Rocquigny, H., Shvadchak, V., Avilov S., Dong Ch. Z., Dietrich U., Darlix J. L. and ves Mély Y. 2008. *Targeting the Viral Nucleocapsid Protein in Anti-HIV-1 Therapy. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8.
- [] Pannecouque Ch., Szafarowicz B., Volkova N., Bakulev V., Dehaen W., Mély Y., and Daelemans D. 2010. *Inhibition of the HIV-1 replication by a bis-thiadiazolbenzene-1,2-diamine that chelates the zinc ions from the retroviral nucleocapsid zinc fingers*. *Antimicrob. Agents Chemother.* doi:10.1128/AAC.01671-09.
- [] Beltz, H., C. Clauss, E. Piemont, D. Ficheux, R. J. Gorelick, B. Roques, C. Gabus, J. L. Darlix, H. de Rocquigny, and Y. Mely. 2005. *Structural determinants of HIV-1 nucleocapsid protein for cTAR DNA binding and destabilization, and correlation with inhibition of self-primed DNA synthesis*. *J Mol Biol* 348:1113-26. This work and BS are supported by ANRS.

63. Immune deficiency is associated with increased insulin resistance in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: the ANRS COPANA cohort

Corinne Vigouroux

INSERM UMR_S 938, Centre de Recherche Saint-Antoine, 27 rue Chaligny, Paris 12^e ; UPMC, Site Saint-Antoine, UMR_S 938, 27 rue Chaligny, Paris 12^e ; AP-HP, Hôpital Tenon, Service de Biochimie et Hormonologie, 4 rue de la Chine Paris 20^e

Corinne.Vigouroux@inserm.fr

Faroudy Boufassa, Cécile Goujard, Jean-Paul Viard, Bénédicte Lefebvre, Patrick Yeni, Olivier Bouchaud, Robert Carlier, Jacqueline Capeau and Laurence Meyer for the ANRS COPANA Cohort Study Group

1. Equipe "VIH et IST", Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations, INSERM U1018 ; 2. Services d'Epidémiologie et de Santé Publique et de Médecine Interne, Hôpital Bicêtre, APHP ; 3. Centre de Diagnostic et de Thérapeutique, Hôpital Hôtel Dieu, APHP, Paris ; 4. Services des Maladies Infectieuses des Hôpitaux APHP St Antoine et Bichat, Paris et Avicenne, Bobigny ; 5. Service de Radiologie, Hôpital R Poincaré, Garches ; 6. Service de Biochimie, Hôpital Tenon, APHP ; 7. INSERM, CDR St-Antoine U938, Paris

Objective: To evaluate relationships between immunovirological status, metabolic markers and fat distribution in recently diagnosed (<1 year) antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients.

Design: We analyzed baseline data for 748 patients enrolled in the French ANRS COPANA multicenter cohort.

Methods: We examined clinical, immunovirological, glucose and lipid parameters according to baseline CD4 cell counts, before any antiretroviral treatment. In a metabolic sub-study of 214 patients, we determined the subcutaneous/visceral fat (SAT/VAT) surface area on L4 computed tomography, as well as levels of serum adipokines, inflammatory markers, and glucose/insulin during an oral glucose tolerance test.

Results: Median age was 34 years; 30% of the patients were female and 34% were of sub-Saharan origin. Twenty percent of patients had low CD4 cell counts ($\leq 200/\text{mm}^3$) at enrolment. Compared to the other patients, patients with low CD4 cell counts had low total, LDL- and HDL-cholesterol levels but high levels of triglycerides and markers of insulin resistance and inflammation (hsCRP, IL-6, TNF- α and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2). No difference in body fat distribution was noted. Altered lipid levels were related to lower CD4 counts and higher HIV RNA levels. After adjustment for sex, age, geographic origin, BMI, waist circumference, SAT and VAT, insulin resistance was not related to any of the inflammatory markers but the relations with low CD4 cell counts, older age, and higher BMI persisted.

Conclusion: In recently diagnosed antiretroviral-naïve HIV-infected patients, immune deficiency was associated with an abnormal lipid profile and increased insulin resistance, independently of low-grade systemic inflammation and in the absence of body fat redistribution.



Service information scientifique et communication
ANRS
101 rue de Tolbiac - 75013 Paris
www.anrs.fr



