

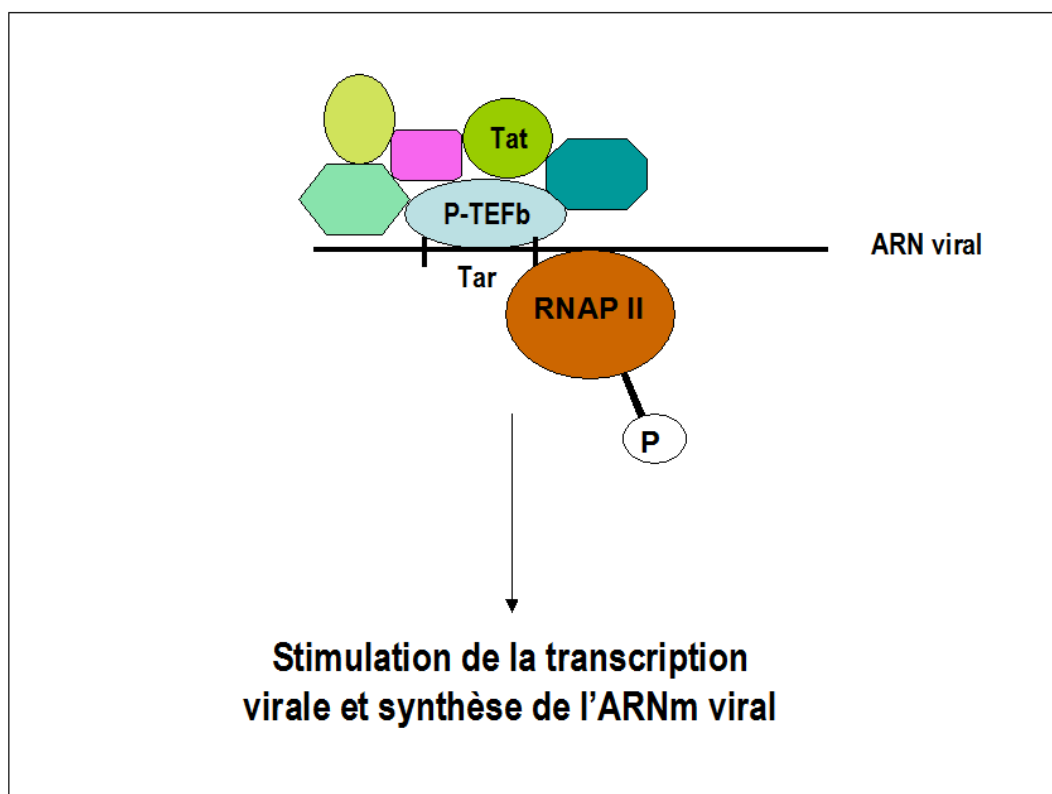


Le but de SIDABLOG est d'exposer, par le biais de lettres d'informations bimensuelles accessibles à tous, le contenu d'articles scientifiques récemment publiés dans les plus importantes revues internationales.

Une nouvelle cible

Le SIDA touche plus de 33 millions de personnes actuellement et ce nombre a encore augmenté de 30% ces dernières années. Plusieurs raisons expliquent cela : tout d'abord le développement des traitements a conduit les gens à moins se protéger et deuxièmement, malgré l'ensemble des traitements développés, le virus devient résistant aux antiviraux existants.

Ainsi la recherche pour le développement de nouveaux traitements et vaccins reste toujours d'actualité. Les cibles de ces médicaments peuvent être les protéines virales ou les protéines cellulaires qui interagissent avec ces dernières. Parmi ces recherches, le facteur d'allongement de la transcription P-TEFb¹ qui interagit avec la protéine virale transactivatrice Tat est une cible potentielle pour affaiblir le virus. Ce facteur P-TEFb est composé d'une kinase (enzyme phosphorylant les protéines) et de la cycline T1 (protéine impliquée dans le cycle cellulaire). Tat s'associe en effet à P-TEFb qui fixe alors l'ARN au niveau de TAR, ce qui entraîne alors la phosphorylation de RNAPII et P-TEFb. Cela permet alors la fabrication du brin d'ARN.

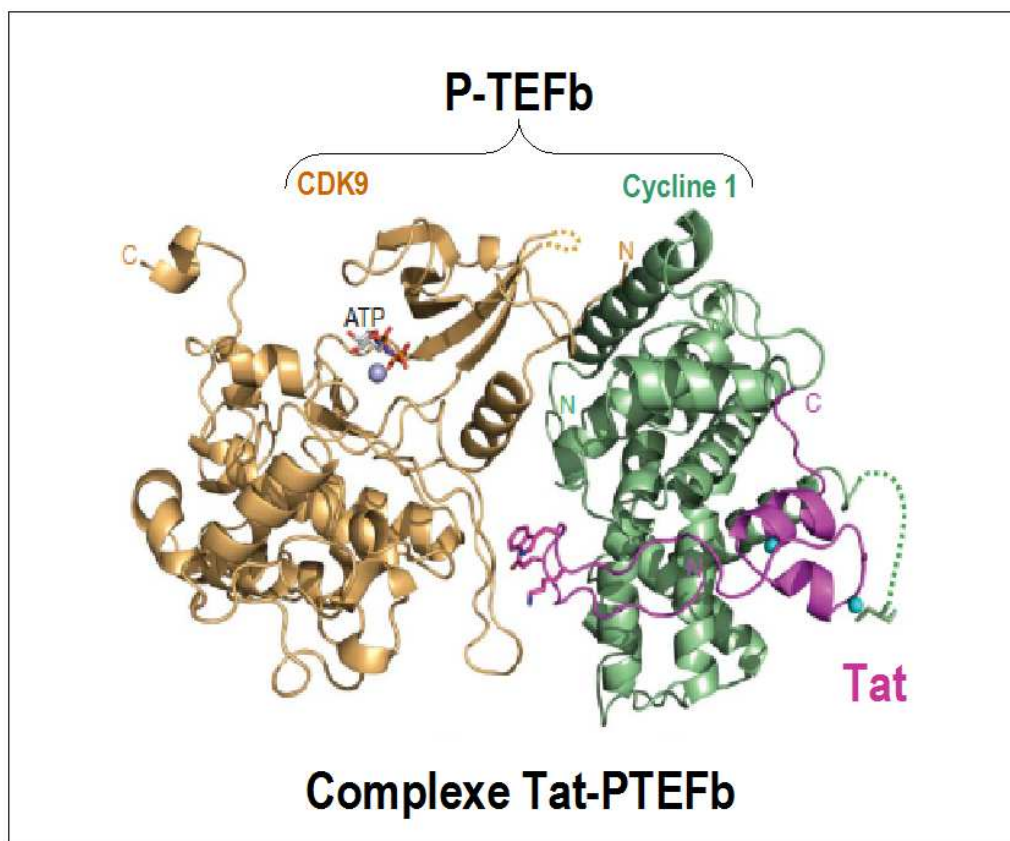


¹ Voir lettre SIDABLOG n°41

Comprendre comment Tat interagit avec P-TEFb est donc une question cruciale dans cette voie. Des chercheurs de l'Université du Nebraska et de l'Iowa ont étudié la structure cristallographique du complexe Tat-P-TEFb. Ils ont montré tout d'abord que l'interaction entre Tat et P-TEFb se produit au niveau de quatre régions proches mais distinctes. Ils ont également observé, en comparant les structures de plusieurs variants de Tat, qu'en l'absence de partenaires, Tat ne semble pas avoir de structures flexibles. Cependant, en présence de la protéine P-TEFb, le domaine d'activation de Tat acquiert une conformation bien ordonnée. Cela entraîne alors une modification de la structure de P-TEFb.

En tenant compte des mutations perpétuelles du génome viral, les auteurs se sont intéressés aussi à la variabilité de Tat et à son implication pour les interactions avec P-TEFb. Ils se sont rendu compte que Tat tolère une variation de 40% sans perte de son activité et que ses régions conservées sont nécessaires pour l'interaction avec P-TEFb.

Ainsi, l'apparition de virus résistants aux drogues actuelles nécessite de nouveaux médicaments capables de bloquer la réplication virale en étant peu affectés par les recombinaisons du virus. C'est pourquoi des études sur les structures sont essentielles pour la mise au point de médicaments bloquants spécifiquement les interactions entre Tat et P-TEFb et, ultimement, la reproduction du virus.



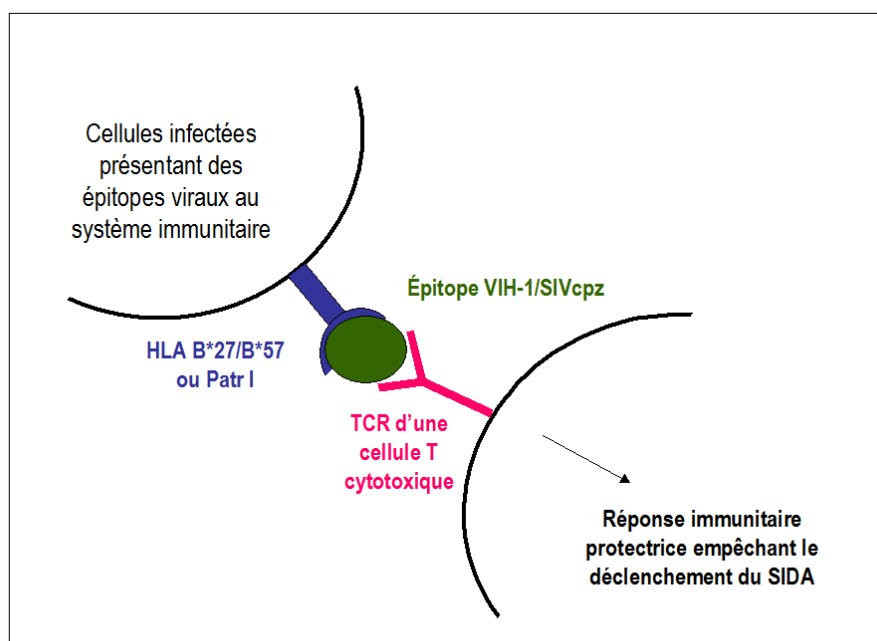
Crystal structure of HIV-1 Tat complexed with human P-TEFb. Tahirov TH, Babayeva ND, Varzavand K, Cooper JJ, Sedore SC, Price DH. *Nature*. 2010 Jun 10;465(7299):747-51.

Le contrôle de l'infection par le chimpanzé

Le SIDA a déjà causé 26 millions de morts et 40 millions de personnes sont encore contaminées. Le virus de l'immunodéficience simienne (VIScpz) qui infecte les chimpanzés est proche du VIH. Ce sont des virus lents de la famille des rétrovirus. Le chimpanzé infecté ne développe généralement pas d'immunodépression. Il peut donc être considéré comme résistant : le chimpanzé est infecté mais la réplication virale est bien contrôlée. Cependant, chez certains animaux sauvages d'une sous-espèce de chimpanzés d'Afrique de l'Est, on a récemment découvert des pathologies immunitaires fortement apparentées aux symptômes du SIDA².

Cependant on ne comprend pas pourquoi ce virus ne cause en général pas de déficience du système immunitaire chez les chimpanzés. Ceci est encore plus étonnant car nous savons que l'homme et les chimpanzés sont les êtres vivants les plus apparentés actuellement. Chez l'homme, seuls quelques patients, ayant contracté le VIH depuis 17 ans au moins, n'ont pas déclaré la maladie du SIDA et sont donc considérés comme résistants. Ce sont les « non-progresseurs » ou « contrôleurs élités³ »

Des études montrent que cette résistance est souvent associée à la présence de variants (les allèles HLA-B*27/B*57) du système HLA⁴, élément du système immunitaire. En effet, la réponse immunitaire déclenche une réponse cytotoxique contrôlant l'infection virale, *via* la reconnaissance de peptides viraux que l'on trouve associés à des molécules présentes sur les cellules-hôtes (molécules HLA chez l'homme). Ces molécules de la famille HLA sont très variées, de sorte que chaque sujet possède sa propre combinaison. Chez les chimpanzés, ces molécules sont appelées « Patr ».



Ce qui est intéressant, c'est que les chimpanzés ont des molécules⁵ qui sont proches des HLA des patients « non-progresseurs ». Elles possèdent des caractéristiques semblables, ce qui pourrait jouer un rôle central dans le contrôle de la maladie et de la charge virale.

² Cependant, chez certains animaux sauvages d'une sous-espèce de chimpanzés d'Afrique de l'Est, on a récemment découvert des pathologies immunitaires fortement apparentées aux symptômes du SIDA (voir lettre SIDABLOG n°22).

³ Voir lettre sidablog n°11.

⁴ Human Leucocyte Antigen.

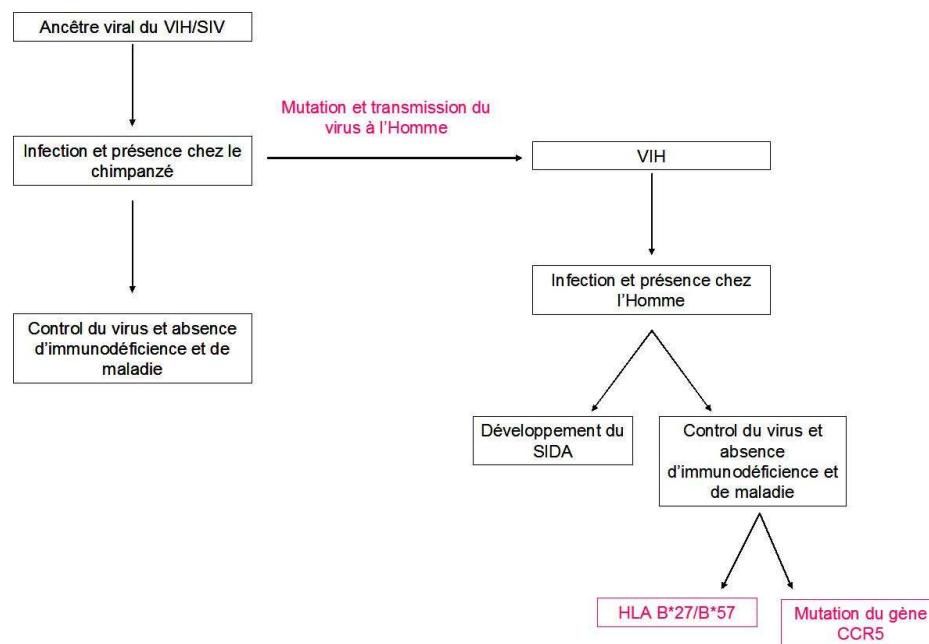
⁵ Le terme HLA est restreint à l'homme. Pour les animaux, on utilise le terme CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité).

Des chercheurs néerlandais ont donc cherché à savoir s'il y avait eu, au sein des chimpanzés, une sélection des molécules « Patr » permettant la résistance au virus et si celles-ci étaient semblables aux molécules HLA-B*27/B*57 humaines. Après avoir identifié et sélectionné les motifs représentatifs de « Patr », ils ont étudié les interactions entre ces molécules et les peptides dérivés de VIH/SIVcpz pouvant déclencher des réponses immunitaires⁶. Ils les ont alors comparés avec les motifs HLA-B*27/B*57. Ils ont alors identifié 4 molécules « Patr » fréquentes (94%) et ont constaté que, comme les molécules HLA-B*27/B*57, elles lient et fixent des peptides, issus de la protéine Gag du VIH-1/SIVcpz, qui sont très peu variables d'une souche virale à l'autre.

Ils ont montré également que les molécules « Patr » chez le chimpanzé ont subi une pression de sélection qui a certainement permis la survie des animaux au cours d'une lointaine pandémie. De ce fait, les molécules ainsi sélectionnées sont proches des molécules HLA-B*27/B*57 de l'homme. De plus, l'ensemble de molécules « Patr » peuvent reconnaître tout un panel d'épitopes (morceaux de la protéine) de Gag. En effet, les chercheurs ont montré que d'autres molécules « Patr » reconnaissent des épitopes de Gag et peuvent déclencher une réponse immunitaire⁷.

Ainsi, il semble évident que les réponses immunitaires décrites jouent un rôle dans la résistance des singes et des hommes « non-progresseurs ». Toutefois, d'autres facteurs⁸, très probablement viraux et de l'hôte, peuvent entrer en jeu dans cette protection.

On ne comprend donc qu'en partie le mode de contrôle de la reproduction virale par les chimpanzés.



AIDS-protective HLA-B*27/B*57 and chimpanzee MHC class I molecules target analogous conserved areas of HIV-1/SIVcpz. Natasja G. de Groota, Corrine M. C. Heijmansa, Yvonne M. Zoetb, Arnoud H. de Rub, Frank A. Verrecka, Peter A. van Veelenb, Jan W. Drijfhoutb, Gaby G. M. Doxiadisb, Edmond J. Remarquea, Ilias I. N. Doxiadisb, Jon J. van Roodb,1, Frits Koningb, and Ronald E. Bontropa. *Proc Natl Acad Sci U S A.*107(34):15175-80.

⁶ Réponse immunitaire à médiation cellulaire.

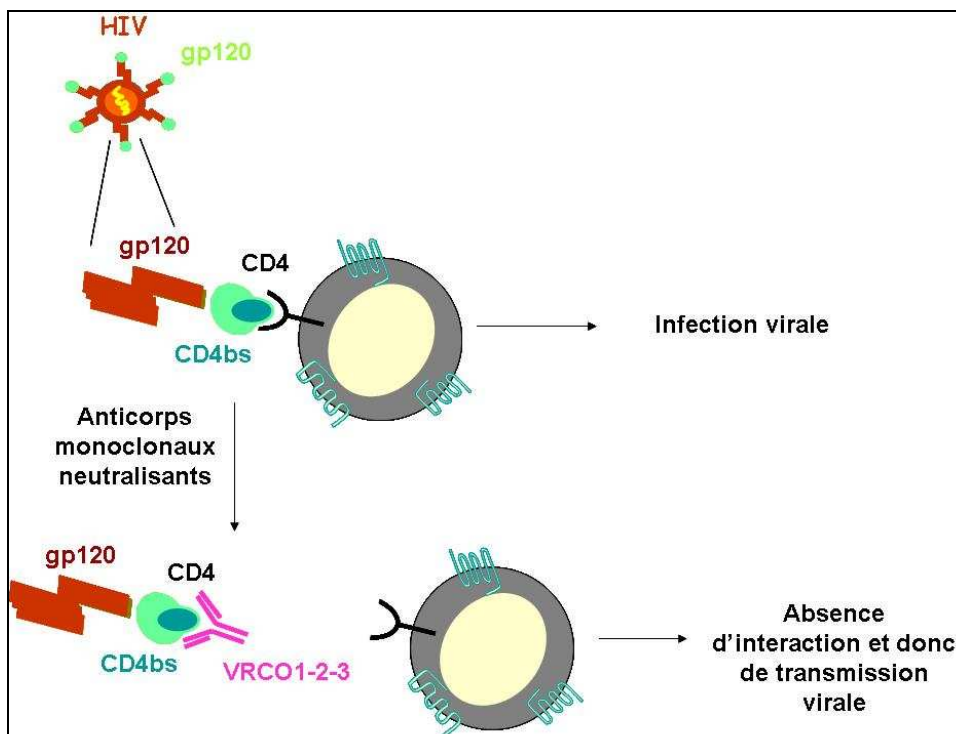
⁷ Réaction immunitaire à médiation cellulaire : attaque contre les cellules infectées.

⁸ Comme par exemple les protéines virales Nef et Vif) et les récepteurs cellulaires à chimiokines.

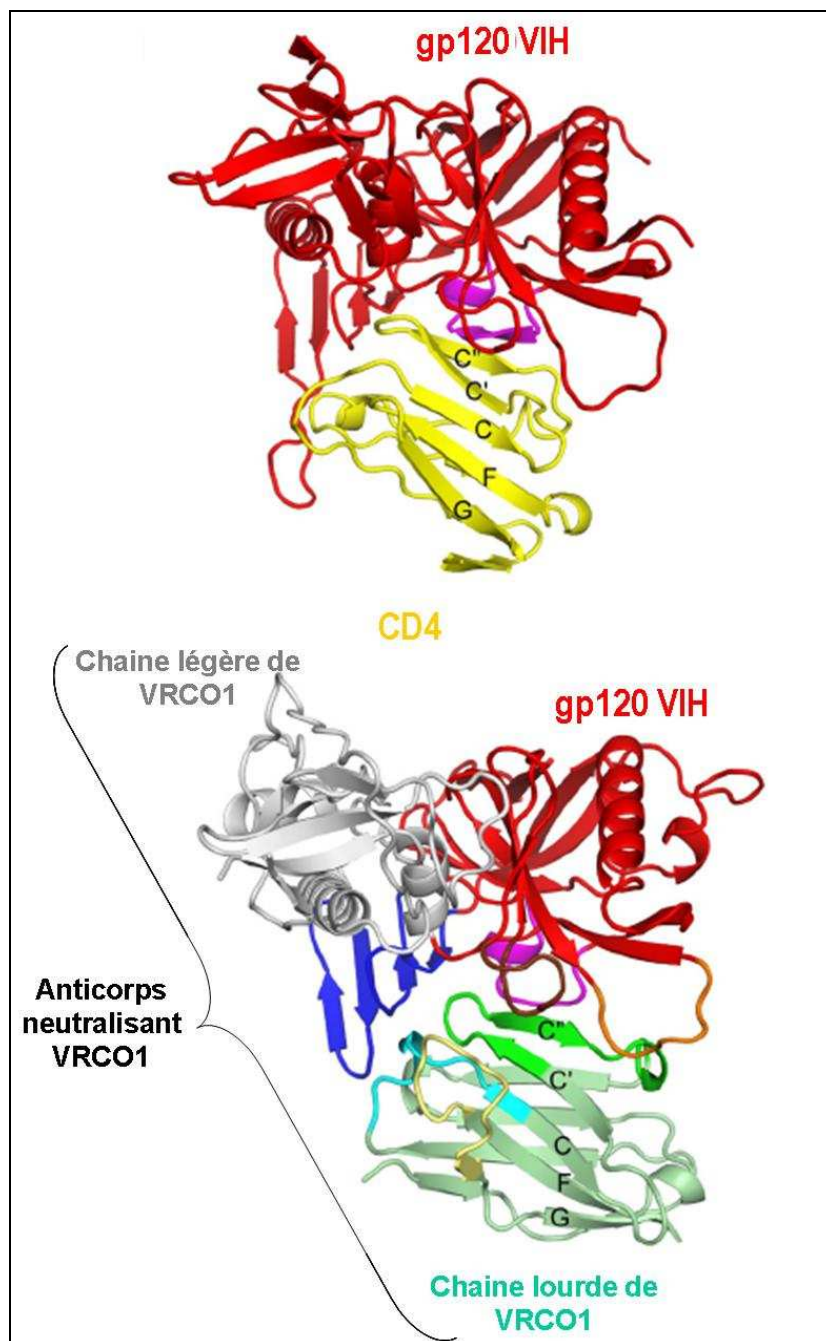
Des anticorps à large spectre ?

Pour fabriquer un vaccin efficace contre le SIDA, il faut en particulier déclencher une production d'anticorps. Ceux-là doivent être neutralisants, c'est-à-dire capables de bloquer l'infection, à titre préventif. C'est un des objectifs de la recherche depuis la découverte du SIDA. Mais ces anticorps peuvent avoir aussi un rôle curatif. Sans être parvenu au terme de cette recherche, on peut aujourd'hui distinguer certains d'entre eux pour leur efficacité.

On sait par exemple que, dès le début des années 90, différents types d'immunothérapies passives ont été développées pour permettre, à titre thérapeutique, la perfusion d'anticorps anti-VIH. Comment s'y est-t-on pris ? Plusieurs anticorps humains ont été produits à partir de sujets infectés. Ces anticorps étaient initialement dirigés contre des parties de l'enveloppe virale, en particulier contre le site de fixation au récepteur CD4 ou contre d'autres déterminants de surface ou de fusion transmembranaire. Les premiers essais d'immunothérapie avec les anticorps 2F5 ou 2G12 ont été publiés au début des années 2000. On a alors montré des effets ponctuels sur la charge virale sans démontrer cependant un réel intérêt clinique à long terme. De surcroît, les patients ont soufferts d'effets secondaires.



L'autre dimension de cette recherche concernait la prévention. On a cherché à provoquer la production d'anticorps neutralisants chez les sujets sains. Les premiers essais vaccinaux menés sur des volontaires ont montré qu'une immunisation par des glycoprotéines d'enveloppe de synthèse peut entraîner précisément une production d'anticorps neutralisants. Malheureusement, cette neutralisation s'exerce *in vitro* contre la souche de laboratoire dont était dérivé le candidat vaccin : le vaccin n'est efficace que contre des virus proches mais distincts de la souche initiale. De plus, même si lors de chaque infection chaque patient produit des anticorps dirigés contre l'enveloppe virale, il n'en produit pas assez pour neutraliser totalement le virus.



Comparaison des affinités gp120-CD4 et gp120-VRCO1

La recherche a cependant permis de récentes découvertes. On sait aujourd'hui que chez certains groupes, 10 à 25 % des patients ont dans leur sérum des anticorps réagissant avec l'enveloppe virale et capables de neutraliser la majorité des souches virales. Au cours d'une première étude, des chercheurs du NIH⁹ ont rapporté l'existence d'anticorps dirigés contre le site de fixation de la protéine d'enveloppe du VIH au récepteur cellulaire CD4¹⁰. Ils sont parvenus à définir la structure du complexe CD4 avec l'un de ces anticorps neutralisants. Ces chercheurs ont développé des protéines artificielles d'enveloppe du virus dont la région qui se fixe normalement à CD4 interagit spécifiquement avec des anticorps. Ceux-ci sont alors capables d'empêcher la fixation et l'entrée du virus à l'intérieur de la cellule.

⁹ National Institute of Health (Bethesda, USA)

¹⁰ **Structural basis of immune evasion at the site of CD4 attachment on HIV-1 gp120.** Chen L, Kwon YD, Zhou T, Wu X, O'Dell S, Cavacini L, Hessel AJ, Pancera M, Tang M, Xu L, Yang ZY, Zhang MY, Arthos J, Burton DR, Dimitrov DS, Nabel GJ, Posner MR, Sodroski J, Wyatt R, Mascola JR, Kwong PD. *Science*. 2009 Nov 20;326(5956):1123-7.

Cette protéine d'enveloppe conserve le domaine de fixation au CD4. Mais les autres régions capables d'être reconnues par des AC ont été transformées pour ne plus l'être. Après plusieurs recombinaisons, ils ont choisi comme molécule candidate RSC3. Cette molécule a été utilisée pour analyser les sérums de patients infectés par le VIH et contenant une grande quantité d'anticorps fortement réactifs. Ils ont alors sélectionné 3 anticorps reconnaissant fortement l'enveloppe du VIH (VRCO1-2-3) et ils ont montré que VRCO1-2 se fixe à CD4 au niveau de la protéine d'enveloppe du VIH. Cet anticorps s'est donc avéré très efficace : il est ainsi capable de neutraliser *in vitro* 90% des souches virales circulantes.

Pour compléter ces travaux, une autre équipe du NIH a analysé la structure cristalline de l'anticorps VRCO1 complexé avec une partie de l'enveloppe du VIH. Ils espéraient ainsi identifier et comprendre les mécanismes de neutralisation. Dans un premier temps, ils ont comparé les similarités et les différences de la reconnaissance du virus par CD4 et l'anticorps VRCO1. Ils ont alors constaté que VRCO1 réalise une liaison très proche de celle de CD4 avec le virus, malgré des différences considérable de structure. De plus, il existe une affinité pour la protéine d'enveloppe virale plus forte que celles de CD4 et des autres anticorps, ce qui lui confère un puissant pouvoir de neutralisation du VIH. Ils ont enfin montré que cette forte neutralisation est possible grâce à la maturation des anticorps au sein des cellules immunitaires B.

Ces travaux montrent donc que les cellules B de l'organisme peuvent produire des anticorps neutralisants très puissants ciblant une région fortement conservée du VIH. La découverte de nouveaux anticorps reste donc une piste intéressante pour atteindre un site vulnérable du VIH et limiter sa propagation. Ces nouvelles analyses constituent bien un progrès véritable sur la voie des anticorps neutralisants et de leur capacité à se jouer de la variabilité du VIH-1.

Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1. Wu X, Yang ZY, Li Y, Hogenkorp CM, Schief WR, Seaman MS, Zhou T, Schmidt SD, Wu L, Xu L, Longo NS, McKee K, O'Dell S, Louder MK, Wycuff DL, Feng Y, Nason M, Doria-Rose N, Connors M, Kwong PD, Roederer M, Wyatt RT, Nabel GJ, Mascola JR. *Science*. 2010 Aug 13;329(5993):856-61.

Structural basis for broad and potent neutralization of HIV-1 by antibody VRCO1. Zhou T, Georgiev I, Wu X, Yang ZY, Dai K, Finzi A, Kwon YD, Scheid JF, Shi W, Xu L, Yang Y, Zhu J, Nussenzweig MC, Sodroski J, Shapiro L, Nabel GJ, Mascola JR, Kwong PD. *Science*. 2010 Aug 13;329(5993):811-7.