

# VIH-1 et usage des co-récepteurs

---

Laboratoire de Virologie Nord  
Hospices Civils de Lyon  
Hôpital de la Croix Rousse

“Immunité innée, métabolisme et réplication virale”  
INSERM U851  
IFR 128 BioSciences Lyon Gerland  
Université Claude Bernard Lyon 1

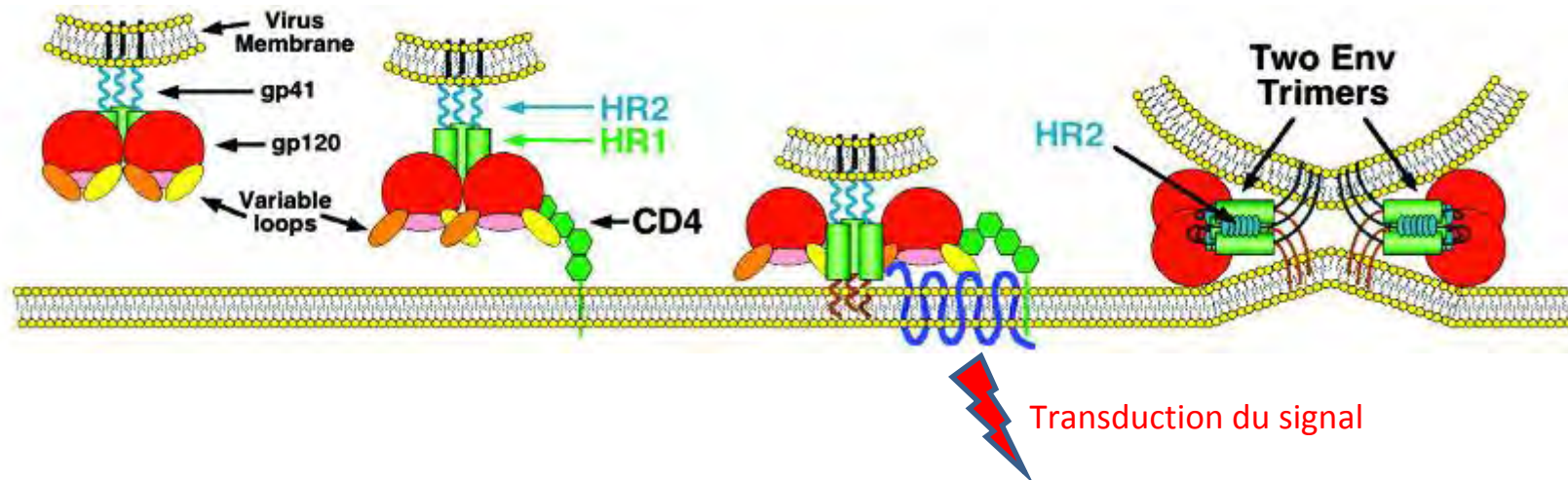
Pr Patrice André

# De l'usage des co-récepteurs

---

- Quelques aspects physio-pathologiques
  - Rôle du laboratoire de Virologie

# Les trois étapes de l'entrée

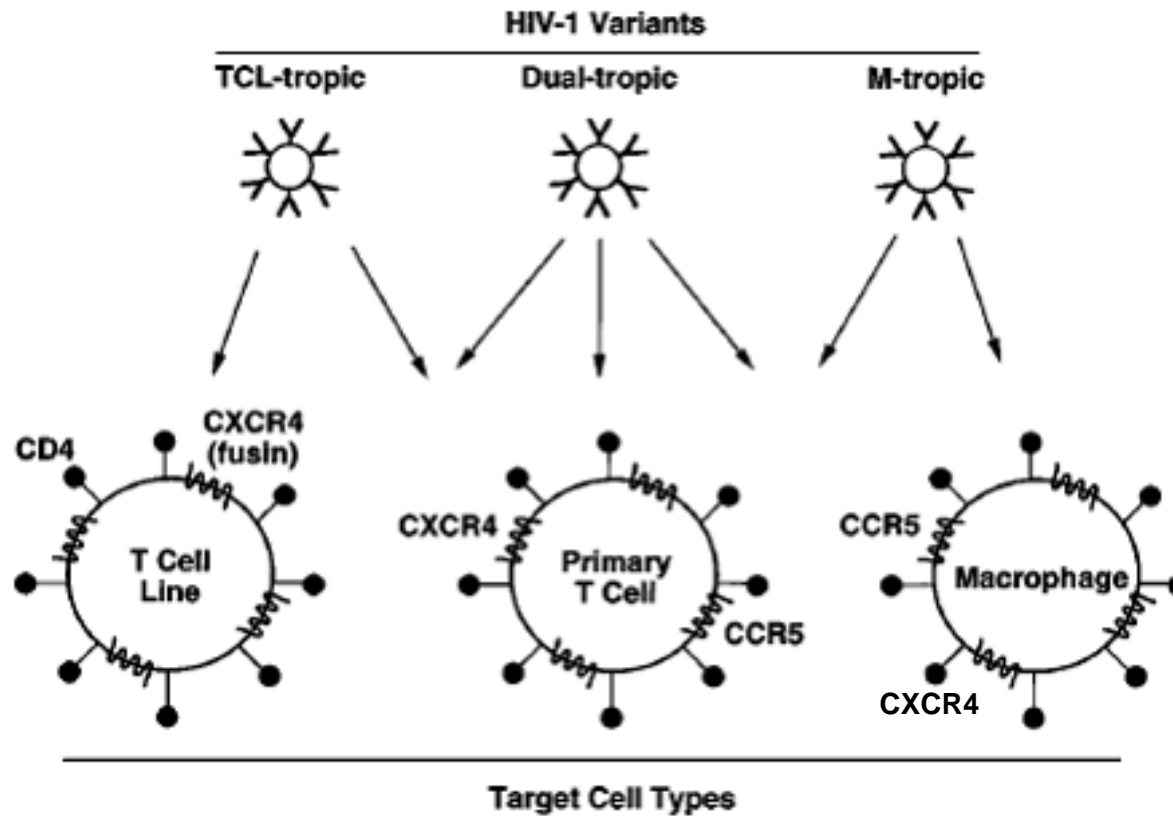


**I-Docking II-Liaison aux corécepteurs III-Fusion  
Insertion**

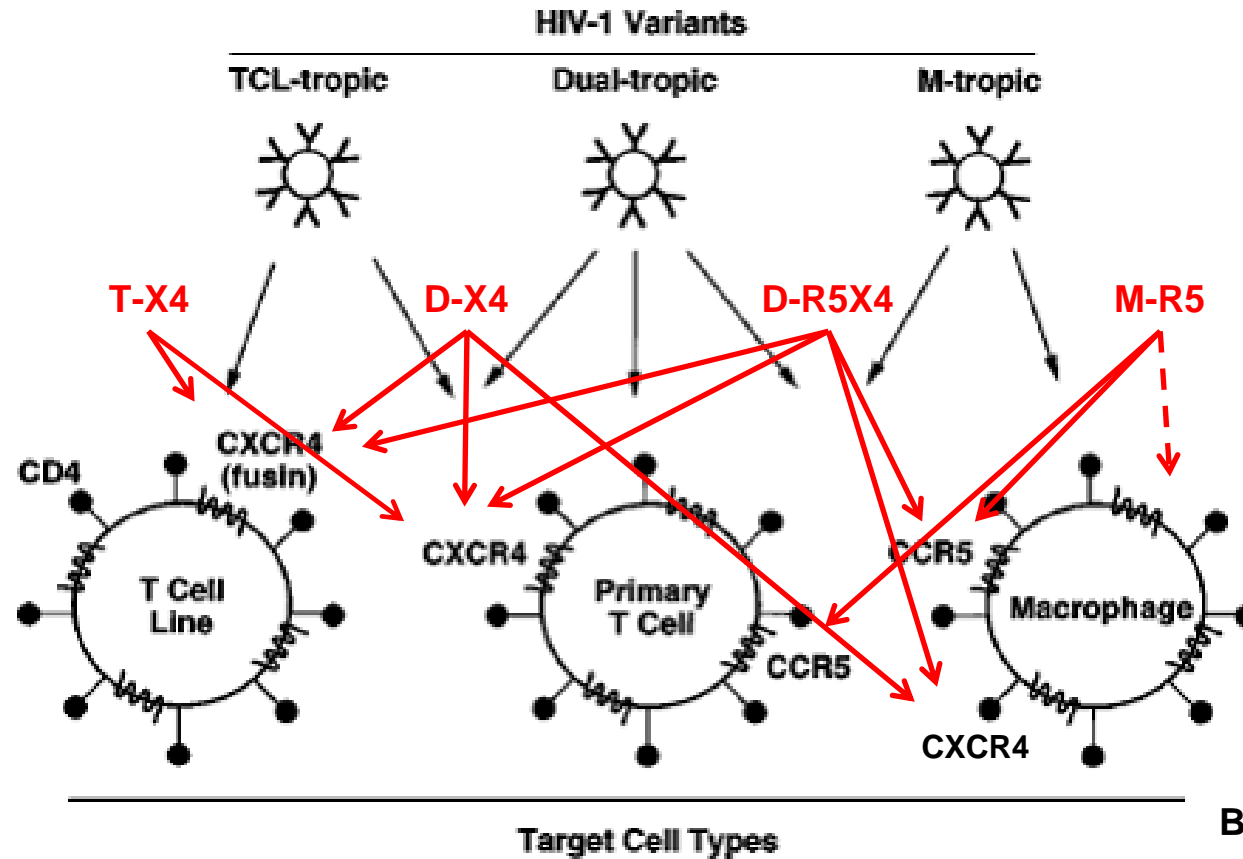
Phénomène très rapide dont la cinétique et l'efficacité dépendent :

- de la qualité des boucles variables V1,2 et V3,
- de la gp41
- de la densité et de la qualité des corécepteurs
- des signaux transmis.

# Classification des VIH-1



# Classification des VIH-1



CD4 T<sub>EMRA</sub> sont CCR5 ++ mais ne sont infectables que par des virus X4 (Oswald-Richter, PLoSPatho 07)

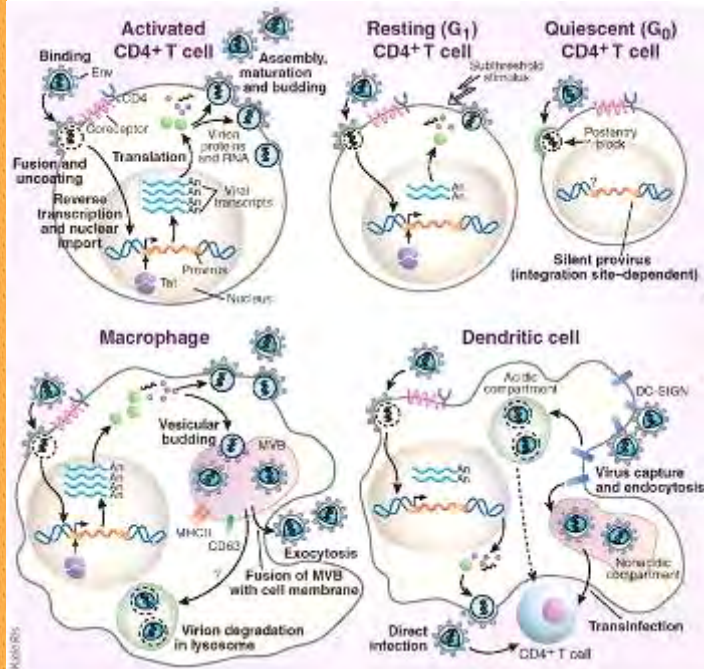
# La nature et le contexte cellulaire de l'expression des co-récepteurs

---

- Conformations variables de CCR5, état métabolique de la cellule, cholestérol... (Lee, JBC, 99)
- Densité des récepteurs à la surface (Lin, AIDS, 06), polymorphisme des co-récepteurs, expression des ligands (Gonzalez, Science, 05)
- Signalisation relayée par CCR5 ou CXCR4 (Weissman, Nat, 97)
  - Mobilisation du  $Ca^{++}$  (Arthos, J Virol, 00), PI3K (non bypassé par VSV) (François, J Virol, 03)
  - G-protein signaling via ERK (Lin, J Virol, 05; AIDS, 06; Mettling, AIDS, 08)
  - Bloc post-entrée levé par CXCR4 mais pas par CCR5 (Oswald-Richter, PLoSPatho, 07)

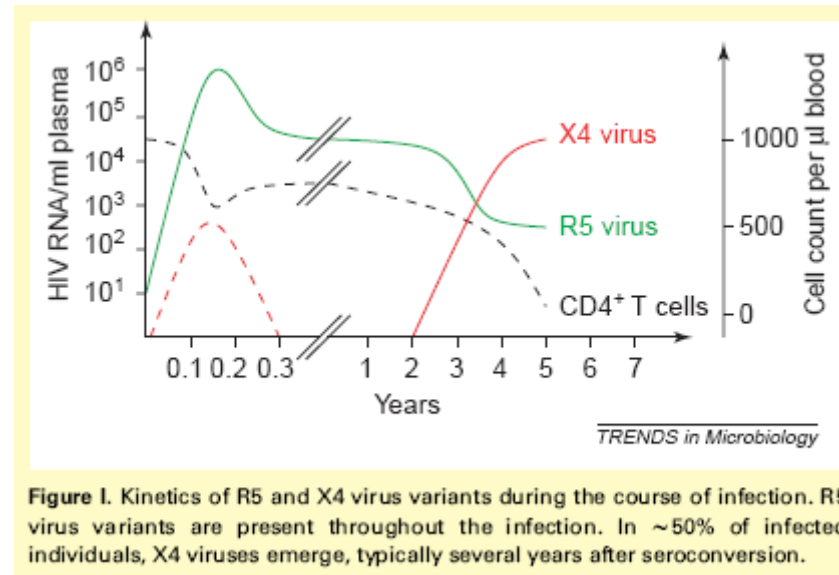
# Les cibles du VIH-1

- CD4 T-cells
  - Naives CXCR4
  - Mémoires CCR5/CXCR4
  - Les naives dominent en début d'infection et décroissent ensuite tandis que les mémoires croissent durant l'infection
  - L'activation des cellules augmente l'expression de CD4 et CCR5
  - CD4 T<sub>EMRA</sub> sont CCR5 ++ mais ne sont infectables que par des virus X4 (Oswald-Richter, PLoS Patho 07); quand les CD4+ T cells sont-elles susceptibles à l'infection par X4 ou R5 ? D'où proviennent les cellules mémoires ? Des effectrices ou des resting naives ?



- Macrophages / cellules dendritiques
  - CCR5 / CXCR4 (monocytes)
  - Réservoir (stade tardif sous HAART ?)
- Autres cellules

# Le switch des co-récepteurs

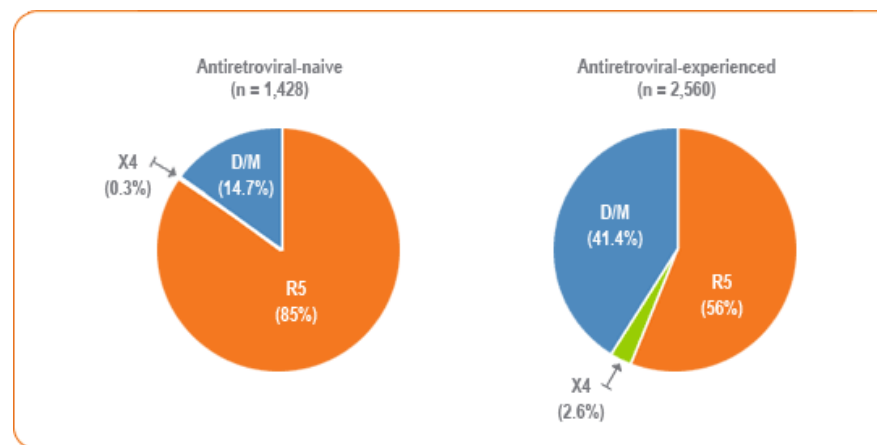


- Stade précoce R5: réplication dans un site riche en CCR5, le tractus intestinal
- Evolution de la quasi espèce virale de R5 vers X4 ?
- Contrôle immunitaire ?
- Evolution des populations cellulaires cibles ?
- Souches X4 sont plus virulentes (plus cytopathogènes ou plus grand nombre de cellules infectées), plus fréquentes pour les sous types B que C, A que D...

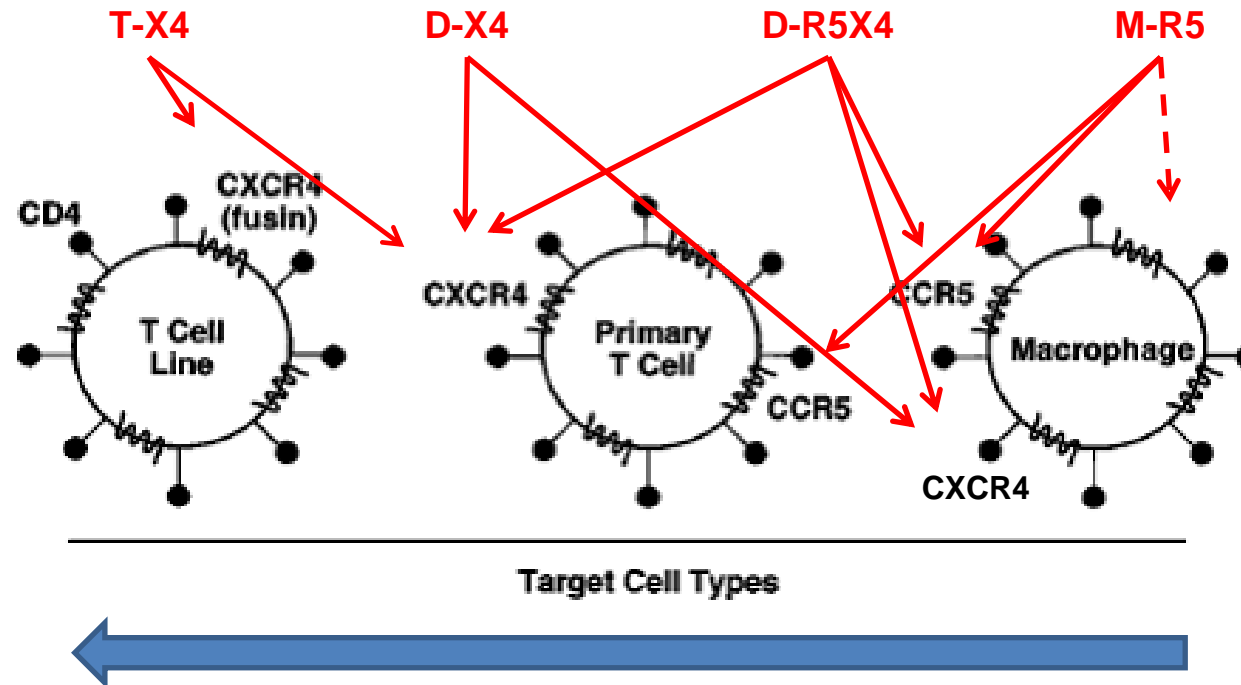
# Les populations virales

**Table 1. The prevalence of both R5 and X4 viruses in treatment naive and treatment experienced HIV-1 infected patients**

STUDY	POPULATION	NO. PATIENTS	R5 VIRUS	DUAL/MIXED VIRUS	X4 VIRUS
Homer cohort <sup>4</sup>	Naïve	979	82%	18%	<1%
Chelsea Cohort <sup>8</sup>	Naïve	402	81%	18%	<1%
ACTG 5211 <sup>9</sup>	Experienced	391	50%	46%	4%
MOTIVATE 1 & 2 <sup>10</sup>	Experienced	2,560	56%	41	

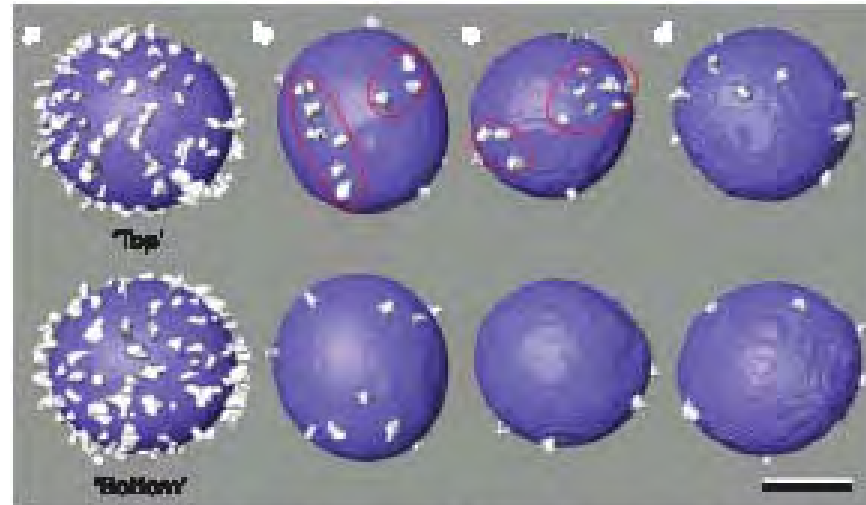


# Les mécanismes du switch



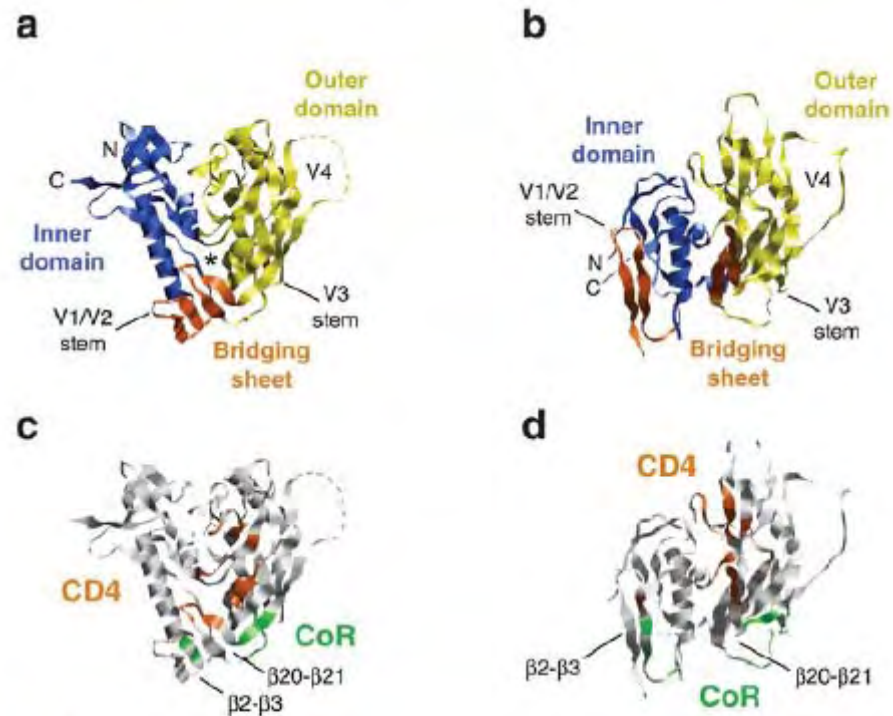
- Phénomène complexe passant par des intermédiaires R5X4 moins performants, plus sensibles aux inhibiteurs d'entrée et aux anticorps neutralisants.
- Participations de plusieurs domaines de la gp120 dont notamment les boucles variables, V3 mais aussi V1,2, 5, mais aussi de gp41.

# Les spicules du VIH-1



**Figure 2 |** Surface-rendered models of a representative SIV (a) and three HIV-1 (b-d) virions with highlighted (white) presumptive Env spikes. The two hemispheres of each virion are arbitrarily labelled as 'Top' and 'Bottom'. Ellipses encircle clusters of three or more spikes. Scale bar, 50 nm.

# Structures de la gp120



**Figure 3**

Comparison of the crystal structures of HIV-1 and SIV gp120 core. (a) Structure of the CD4-liganded HIV-1 gp120 core (HXB2), viewed from the perspective of CD4. The gp120 inner domain (blue), outer domain (yellow), and bridging sheet (orange) are shown. The locations of various gp120 regions are also denoted. (b) Structure of the unliganded SIV gp120 core (Protein Data Bank ID 2BF1), viewed from the perspective of CD4 as in (a). (c) HIV core gp120 in same orientation as (a), depicting CD4 contact residues (orange) and residues that influence coreceptor binding (green). (d) SIV gp120 core in the same orientation as in (b), colored according to the scheme for HIV gp120 in (c).

# Une structure de gp120

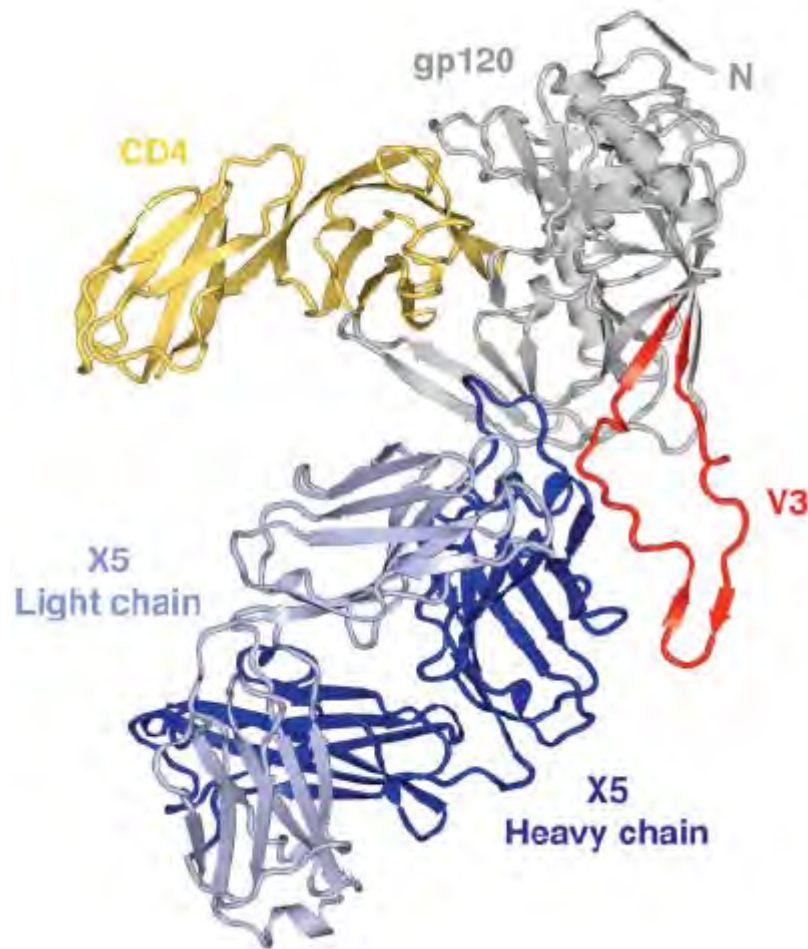
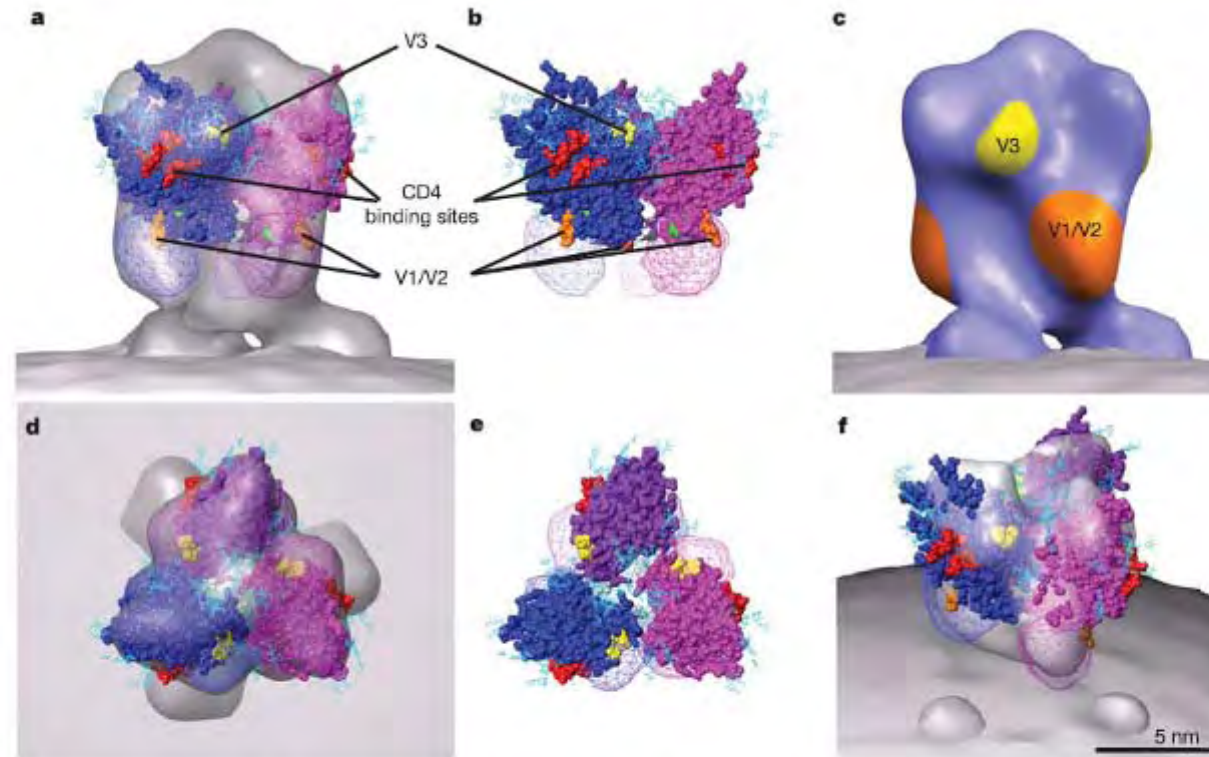


Fig. 1. Structure of an HIV-1 gp120 core with V3. The crystal structure of core gp120 (gray) with an intact V3 (red) is shown bound to the membrane-distal two domains of the CD4 receptor (yellow) and the Fab portion of the X5 antibody (dark and light blue). In this orientation, the viral membrane would be positioned toward the top of the page and the target cell toward the bottom.

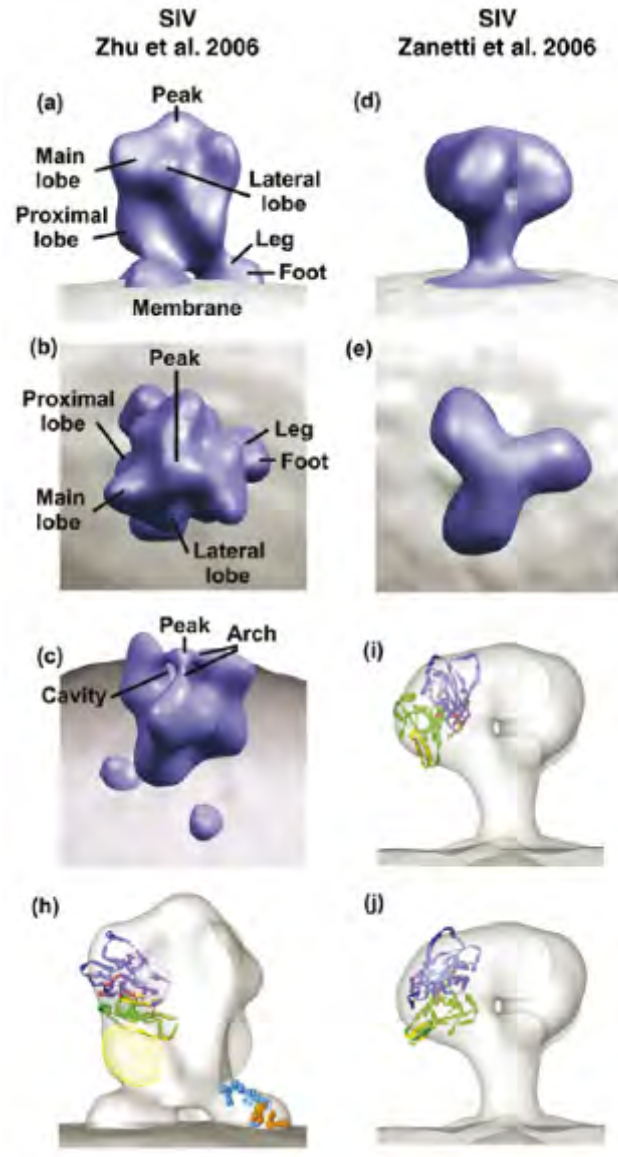
# Données de tomo-cryo-électro-microscopie



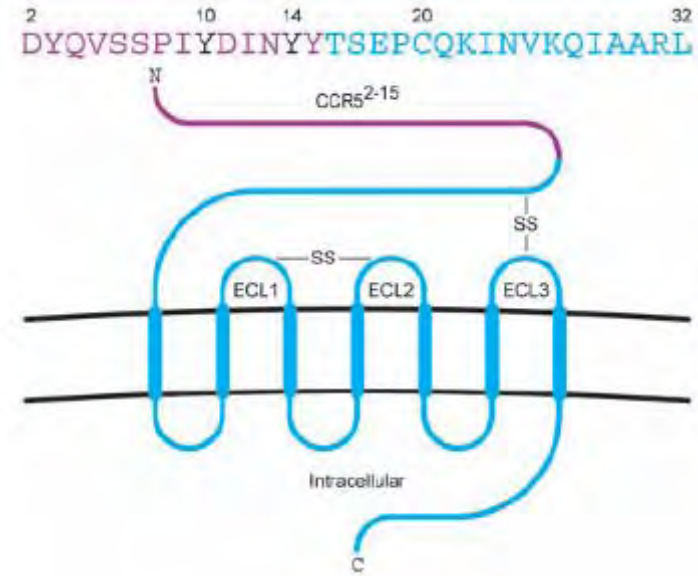
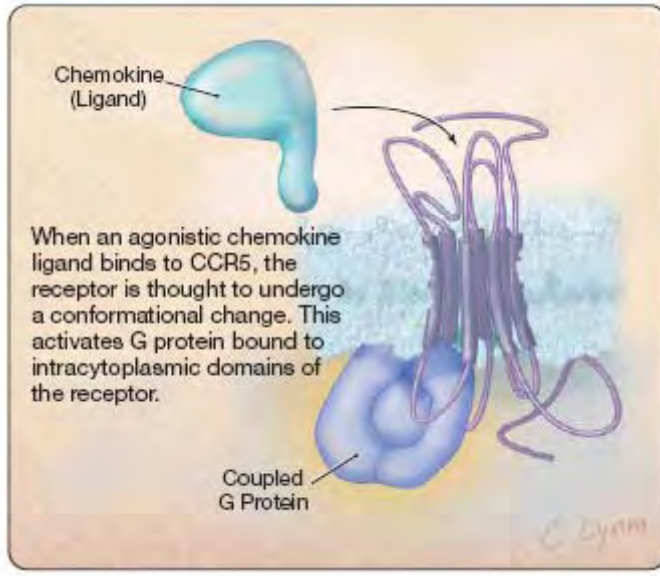
**Figure 4 | Surface-rendered model of SIV Env spike manually fitted with SIV unliganded core atomic model.** Atomic model: Protein Data Bank ID: 2BF1 (ref. 13). Side (a, b) and top (d, e), views, with (a, d) and without (b, e) enshrouding cryoEM surface. Indicated structures: gp120 subunits (blue, magenta, mauve), CD4 binding sites (red), V3 loop stems (yellow), V1/V2

loop stems (orange), N and C termini (green), C2 loop stems (white), proposed V3 and V1/V2 loop sites (mesh-enclosed volumes over stems or (in c) coloured surfaces). f, Spike as in a, but tilted and at higher density threshold, showing low-density region under peak.

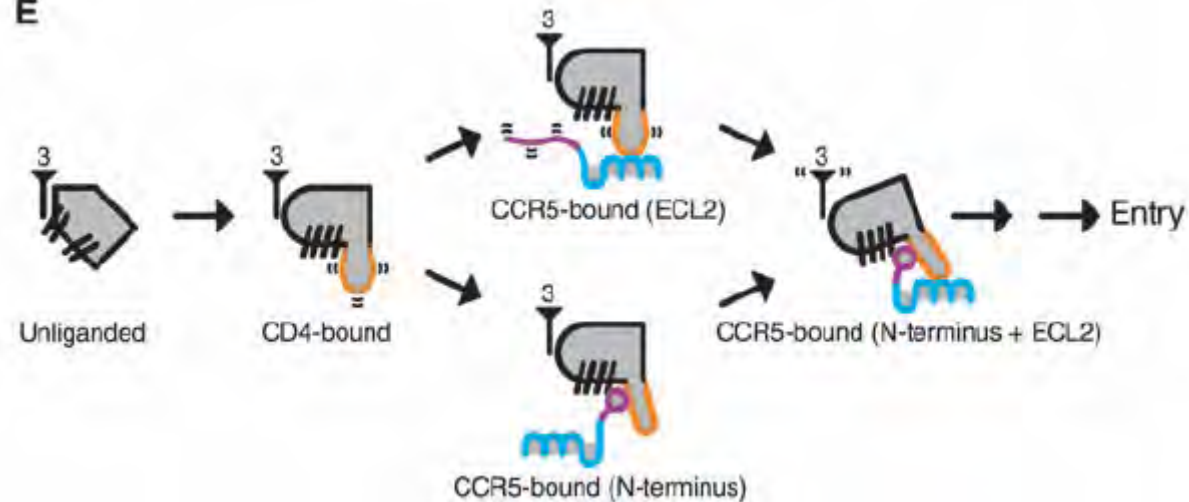
# Données de tomo-cryo-électro-microscopie



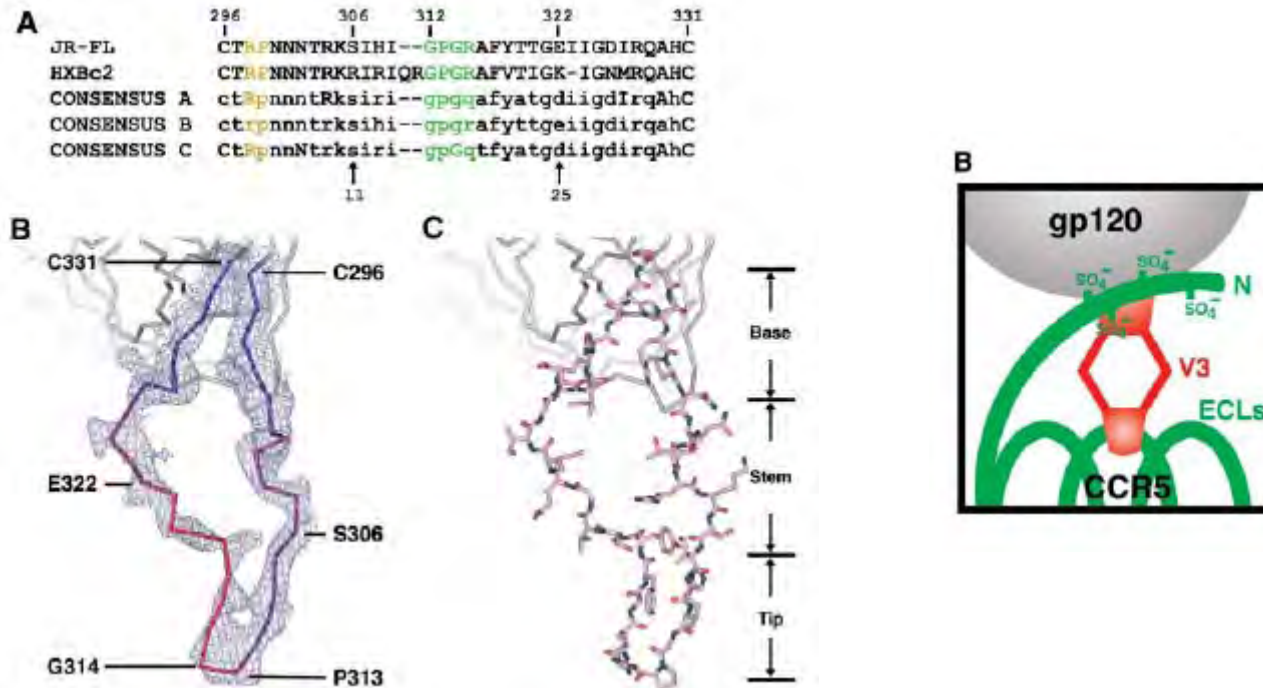
# Liaison de la gp120 à CCR5



E

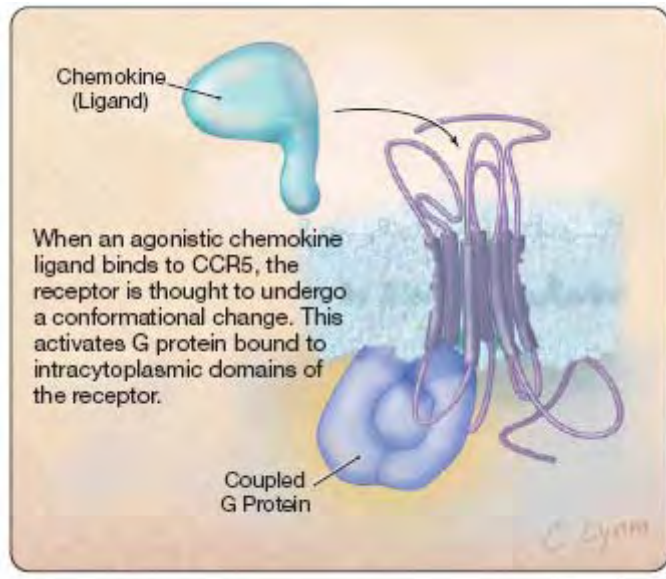


# La boucle V3



- résidus 11, 25, 30 (règle 11-25)
- charge nette globale; faible R5 ( $<5$ ), forte X4 ( $\geq 5$ )
- score spécifique des aa (glycosylation, N301, absence en faveur de X4)
- modèle de structure tridimensionnelle
- MAIS rôle d'autres domaines de gp120 et gp41.

# Agonistes et antagonistes de CCR5



## Agonistes

Activent CCR5

Internalisation

Absence  
d'expression

Transduction ?

Résistance ?

PSC-RANTES

## Antagonistes

Occupent le site

Pas d'internalisation

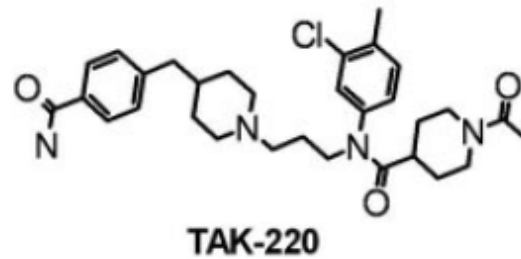
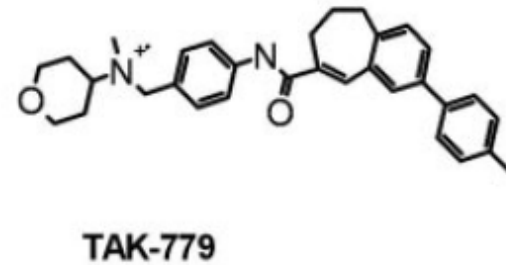
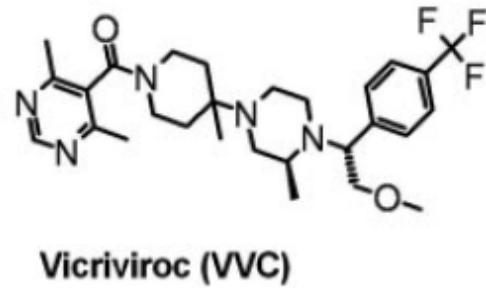
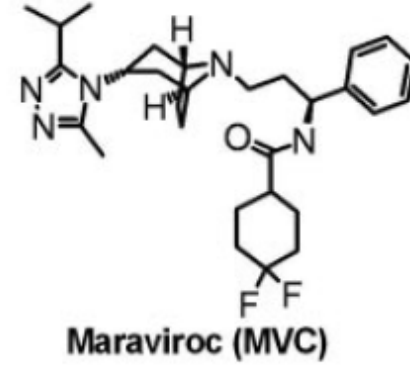
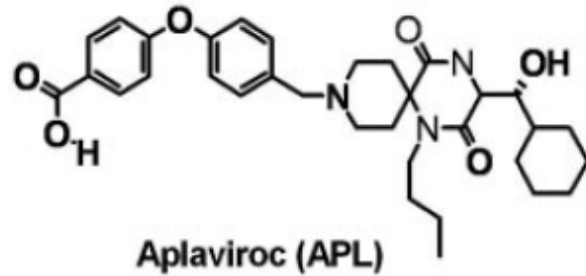
Bloqués à la surface

Pas de transduction

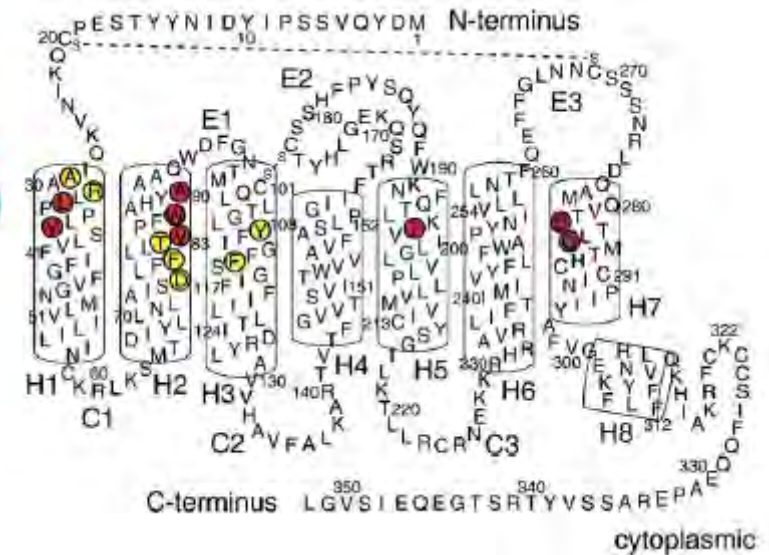
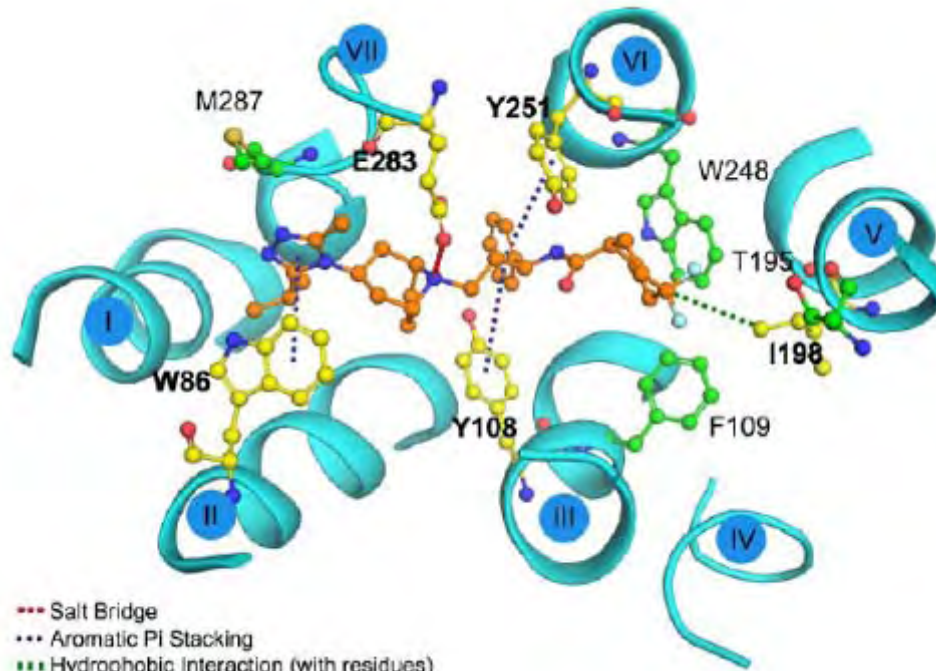
Résistance ?

MVC, VVC

# Les antagonistes



# Fixation des antagonistes (MVC)

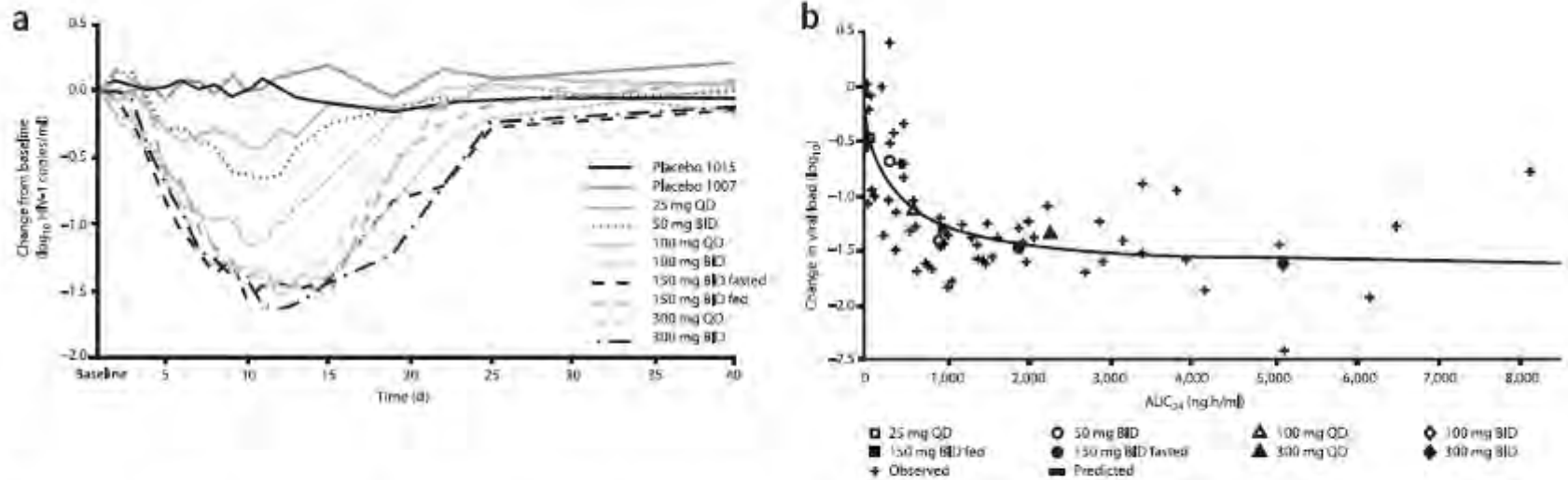


MARAVIROC	
aa CCR5	$\Delta$ IC <sub>50</sub> si A
E283 (H7)	2000x
I198 (H5)	89x
Y108 (H3)	70x
Y251 (H6)	12x

VICRIVIROC	
aa CCR5	$\Delta$ IC <sub>50</sub> si A
E283 (H7)	700x
Y108 (H3)	60x
I198 (H5)	25x
Y251 (H6)	18x

APLAVIROC	
aa CCR5	$\Delta$ IC <sub>50</sub> si A
F109 (H3)	158x
E283 (H7)	61x
W86 (H2)	39x
I198 (H5)	35x

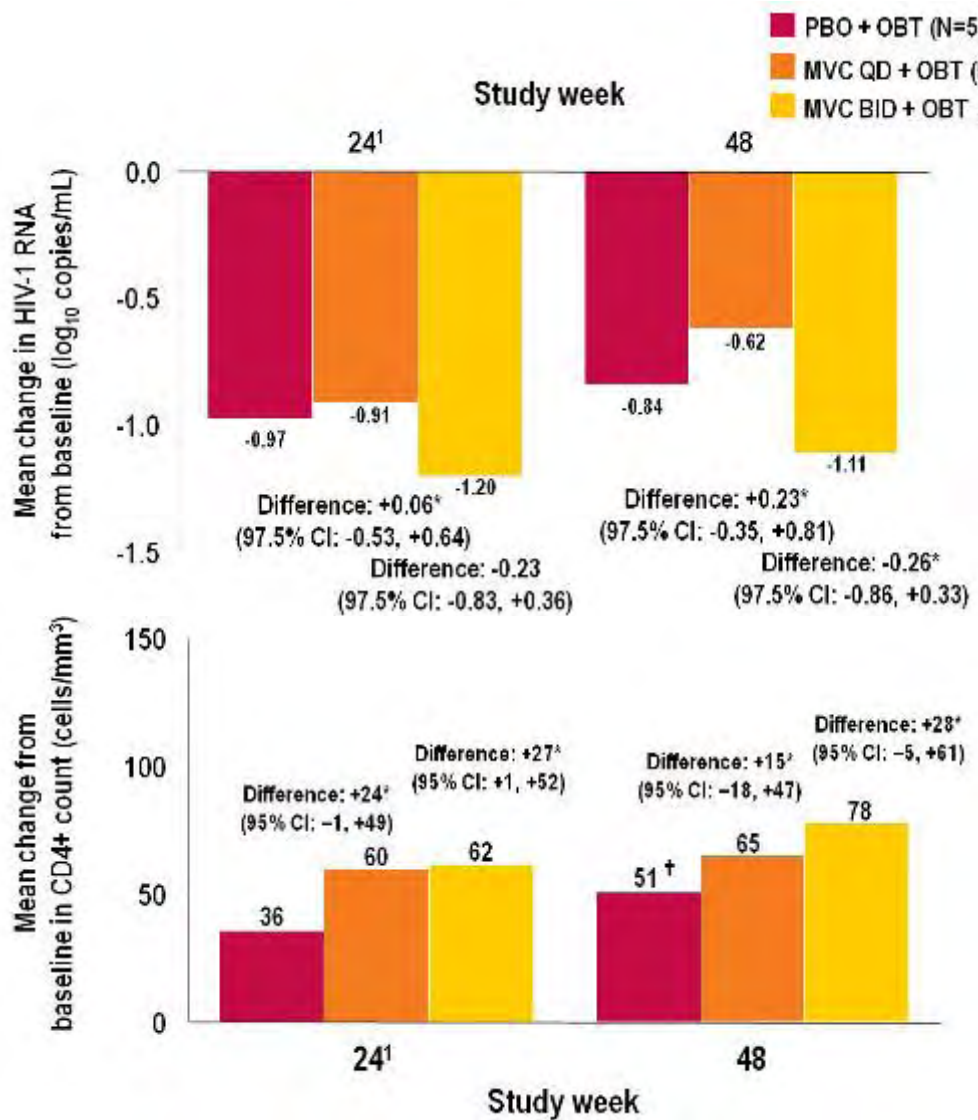
# Efficacité du maraviroc



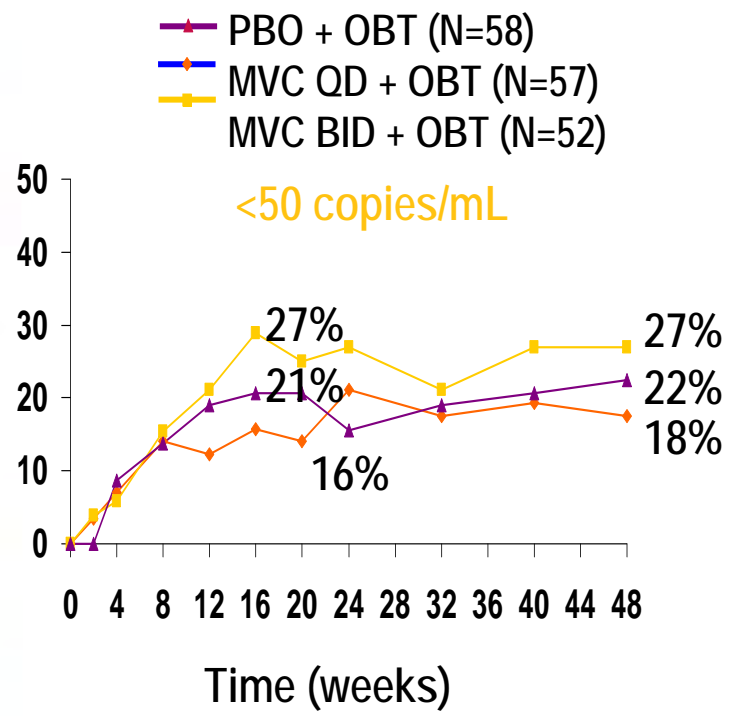
**Figure 1** Change in viral load over time and its correlation with maraviroc steady state AUC<sub>0-24</sub>. (a) Mean change in log<sub>10</sub> plasma viral load over time by dose group. (b) Maraviroc steady state AUC<sub>0-24</sub> versus change in viral load from baseline on day 11. Crosses represent the observed values for each individual patient; other symbols represent the mean values for each treatment group. An E<sub>max</sub> model was fitted, using WinNonlin Professional version 4.1, to describe the relationship between steady state AUC<sub>0-24</sub> and log<sub>10</sub> reduction in viral load on day 11 (solid line). The model predicted a maximum drop in viral load of  $1.44 \pm 0.20$  (standard error) log<sub>10</sub> copies/ml; the AUC<sub>0-24</sub> required to achieve 50% of this reduction was  $353 \pm 196$  (standard error) ng h/ml.

- 63 patients, CCR5
- MVC monothérapie, pendant 10 jours
- deux changements de tropisme, dont un présent avant le traitement, augmentation des D/M (70% et 40%)
- R5X4 non liés génotypiquement aux R5
- réponse au MVC identique
- “réversion” partielle après arrêt du traitement

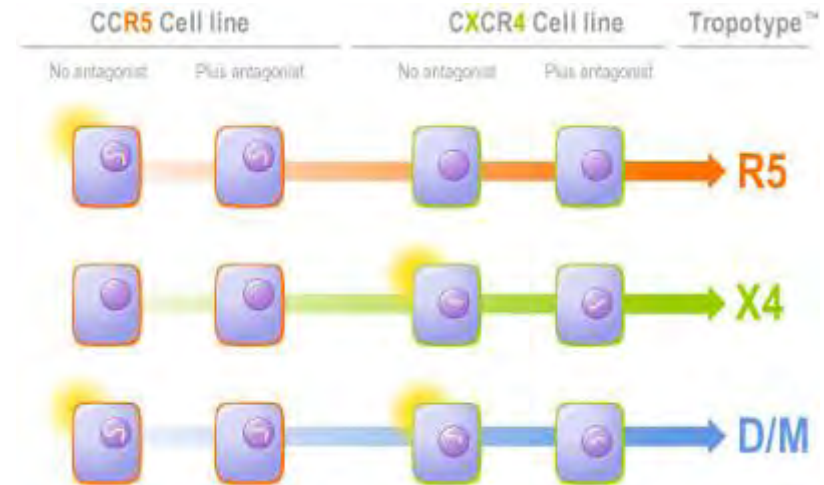
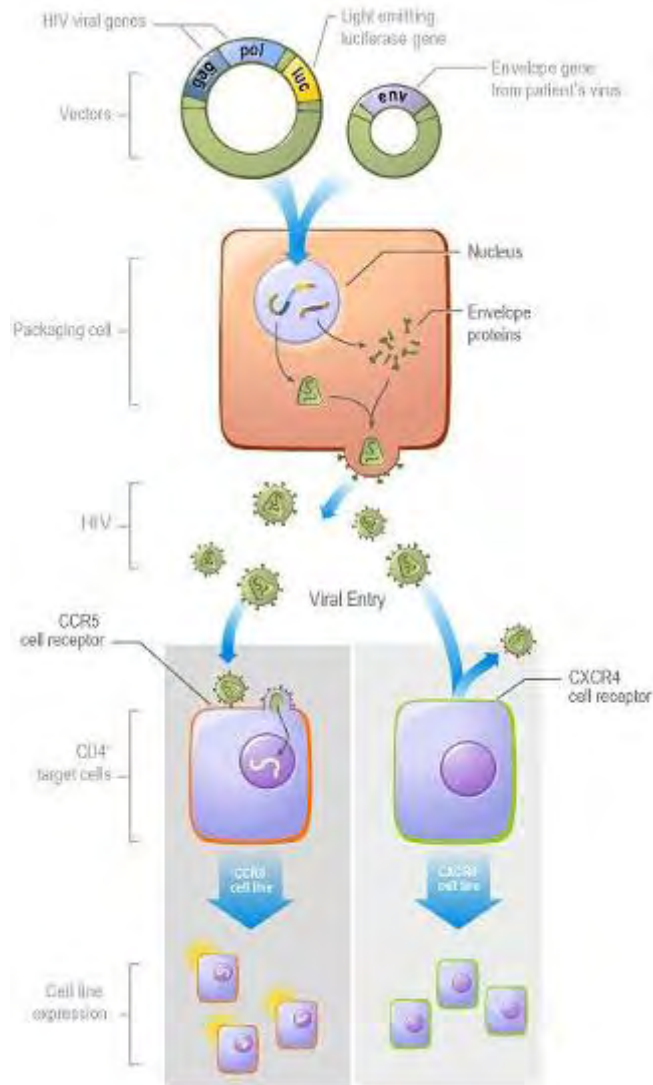
# Efficacité du Maraviroc



≈ 60 patients par groupe  
D/M quasiespecies



# Les tests phénotypiques de détermination du tropisme



- Cellules rapportrices, U87, astrocytome
- faisabilité, 1000 copies
- sensibilité, 0,3% X4 ou D/M

# Les tests de phénotypage

Test	Société	Trofile Monogram	TRT VirAlliance	Antivirogram Virco BVBA	PhenX-R InPheno
Amplicon	Région	Gp160	V1-V3	NH2-V4	V2-gp41
	Taille (pb)	2500	900	1307	
Vecteur		PCXAS-env + HIVgenomic-luc	pNL4-3 delta V	pHXB2 eGFP dans Nef	pNL4-3
Stock viral		défectif	repliquant	repliquant	repliquant
Construction du vecteur		Enzyme de restriction	Recombinaison	Recombinaison	Recombinaison
Cellules productrices		293T	293T	293T	Dérivé d'HeLa
Cellules cibles		U87-CD4-CCR5 U87-CD4-CXCR4	U373-CD4-CCR5 U373-CD4-CXCR4 HIV LTR-lacZ	U87-CD4-CCR5 U87-CD4-CXCR4	SX22-1
Gène reporter		luciférase	$\beta$ -galactosidase	eGFP	$\beta$ -galactosidase

U87, U373, SX22: glioblastome, ostéosarcome

# Analyses génotypiques

	G											11											25											GENOMIACS			11/25	net	geno2	PSSM	Toulo	TROF			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		22	23	24	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35							C4.5	PART	SVM
ADA_FAI	B	C	T	R	P	S	N	N	T	R	R	G	I	H	I	G	P	G	R	A	F	Y	A	T	G	D	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	R5	R5	5	R5	R5	R5	R5
JAN_CYR	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	R	S	I	H	I	G	P	G	K	A	F	Y	T	T	-	D	I	V	G	D	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	R5	R5	5	R5	R5	R5	R5
LAU_FRA	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	R	G	I	N	M/V	G	P	G	R	A	F	Y	T	T	G	E/G	V	I/V	G	D	I	R	K	A	Y	C	R5	R5	R5	R5	4	X4	R5	R5	R5
SAM_RAP	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	K	G	I	H	I	G	P	G	R	A	V	Y	V	R	D	R	I	I	R/G	D	I	R	K	A	H	C	R5	X4	X4	X4	9	X4	X4	X4	DM
ROU-and	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	K	S	I	H/P	I	A/G	P	G	R	A	F	Y	A	T	G	Q/E	I	I	G	N	I	R	Q	A	H/Y	C	R5	R5	R5	R5	7	R5	R5	R5	R5
CHA-mar	B	C	I	R	P	S/G	N	N	T	R	K	G	I	H	I	A/G	P	G	R	A/S	F	Y	T/A	T	G	D	I/V	I	G	D	I	R	K	A	H	C	R5	R5	R5	R5	6	R5	R5	R5	R5
NOI-dom	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	K	G	I	H	I	G	P	G	S	T	F	Y	A	T	G	E	I	I	G	D	I	R	K	A	H/Y	C	R5	R5	R5	R5	5	R5	R5	R5	R5
ALI-hen	AG	C	T	R	P	G	N	N	T	R	T	S	I	H	M	G	P	G	K	A	F	Y	A	T	G	D	I	V	G	N	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	R5	R5	5	R5	R5	R5	R5
OUU-dom	B	C	A	R	P	N	N	N	T	R	K	S	I	S	M	G	P	G	R	A	L	Y	A	T	G	A	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	X4	R5	5	R5	R5	R5	R5
GER-jea	B	C	I	R	P	G	N	N	T	R	K	S	I	S	I	G	P	G	R	A	F	Y	T	T	G	Q	I	I	G	D	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	R5	R5	5	X4	R5	R5	R5
AND-dom	B	C	I	R	P	N	N	N	T	R	K	S	V	P/S	I	G	P	G	R	A	I	Y	A	T	G	A	I	I	G	D	I	R	R	A	Y	C	R5	R5	X4	R5	5	X4	R5	R5	R5
FLO-hen	B	C	T	R	P	S/G	N	N	T	S	K	G	I	H	I	G	P	G	R	A	F	Y	A	T	R	H	I	I	G	D	I	R	K	A	H	C	R5	R5	R5	X4	8	X4	R5	R5	R5
BRA-seb	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	K	G	I	H	I	G	P	G	G	A	F	F	T	T	G	Q	I	I	G	N	I	R	K	A	Y	C	R5	R5	R5	R5	6	R5	R5	R5	DM
IOR-sar	F	C	T	R	P	N	N	N	T	R	T	S	I	N/S	I	G	P	G	R	A	F	Y	A	T	D	T/A	I	I	G	D	I	R	K	A	H	C	R5	R5	R5	R5	4	R5	R5	R5	DM
VIL-joe	B	C	T	R	P	N/S	N	N	T	R	R	S	I	N	I	G	P	G	R	A	F	Y	T	T	G	H	I	I	G	N	I	R	Q	A	H	C	R5	R5	R5	X4	7	R5	R5	R5	DM
MIL-jac	B	C	T	R	P	Y	N	N	T	R	K	S	I	H	I	G	P	G	R	A	F	F	T	T	G	S	V	I	G	D	I	R	Q	A	Y	C	R5	R5	R5	R5	5	X4	R5	R5	DM
PEG-gui	B	C	T	R	P	S	N	N	T	R	K	R/G	I	H/R	I/M	G	I	G	R	A/G	F	Y	T	T	KREG	E/G	I	I/V	G	D	I	R	Q	A	H	C	X4	X4	R5	X4	7	X4	R5	R5	DM
DUC-ala	B	C	T	R	P	N	N	N	T	R	R	S	I	H	I	G	P	G	R	A/V	F	D	A	I	G	K	I	V	G	D	I	R	R	A	H	C	R5	R5	X4	X4	7	X4	X4	X4	DM

Toulouse: 11K/R et/ou 25K ou 25R + ch nette>=5 ou ch nette>=6  
charge (+) K R (H), (-) D E

- Règle 11-25 (24): de charge – (D, E) à + (K, R, N) en 25 > R5 à X4 ou si en 11 charge + (K, R)
- charge nette globale < 5 ou ≥ 5, R5 et X4 respectivement
- glycosylation en N301, absence > X4
- Neural network, matrice de score spécifique PSSM, support vector machine SVM = supports informatiques
- POUR LES SOUS-TYPES B (sauf PSSM)

# Conclusions provisoires et partielles

---

- Intérêt physiopathologique évident, développements attendus
- Rôle du laboratoire de virologie, prédiction du tropisme ?
- problèmes à venir avec les virus résistants sélectionnés

# Remerciements



Hôpitaux de Lyon

## Le laboratoire de Virologie Nord



Université Claude  
Bernard Lyon 1

Mary-Anne Trabaud,

Jean-Claude Tardy, Marie Christine Deldon

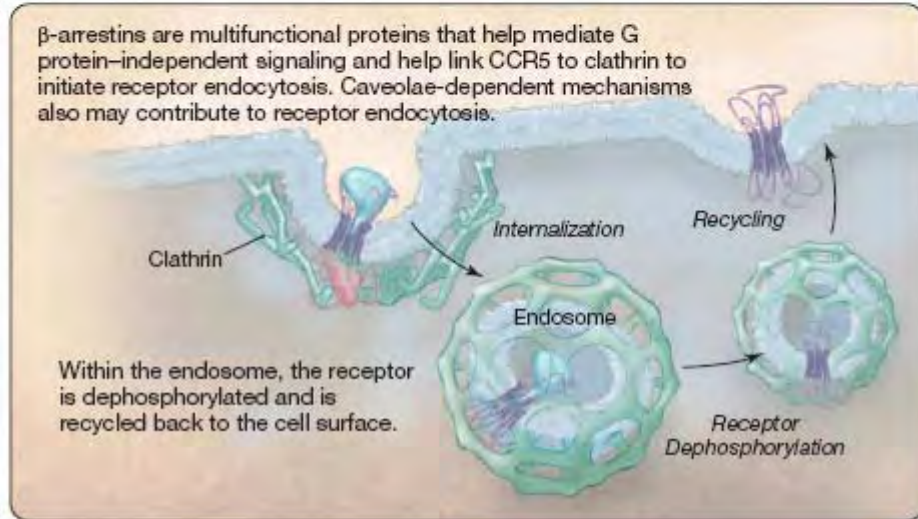
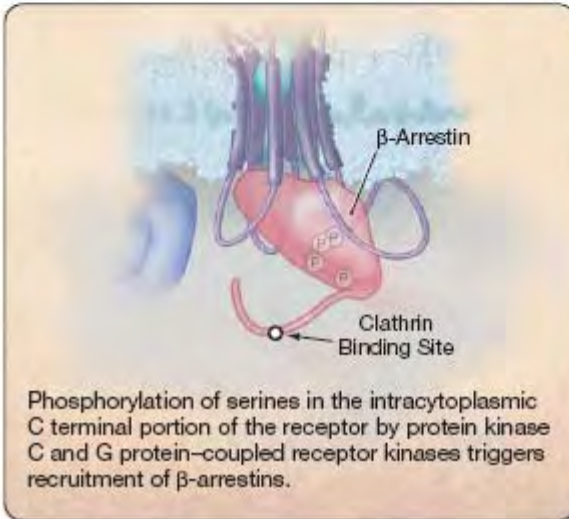
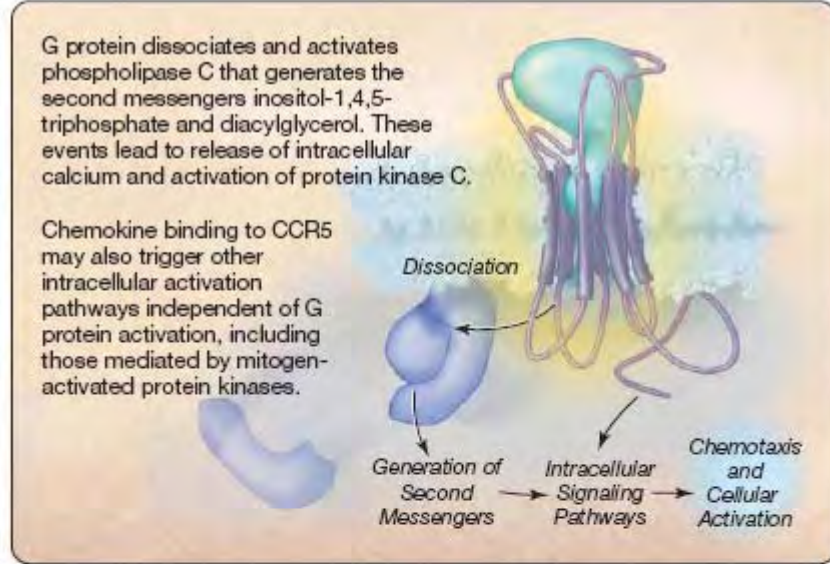
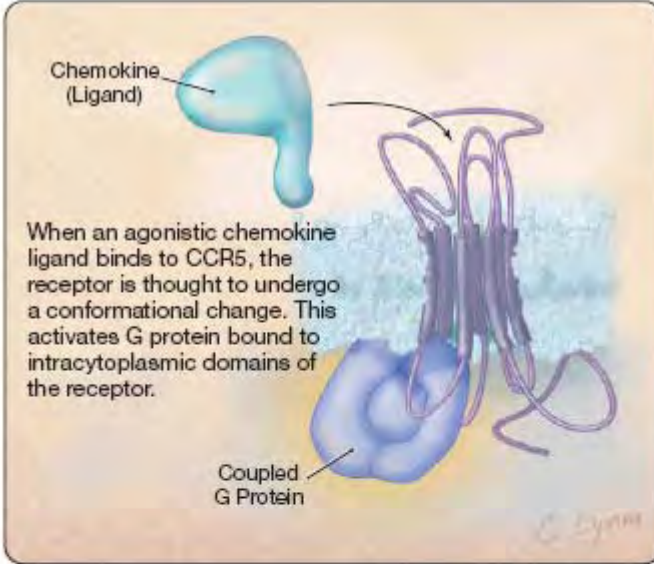
Marie France Rabel, Marie Hélène Teillon

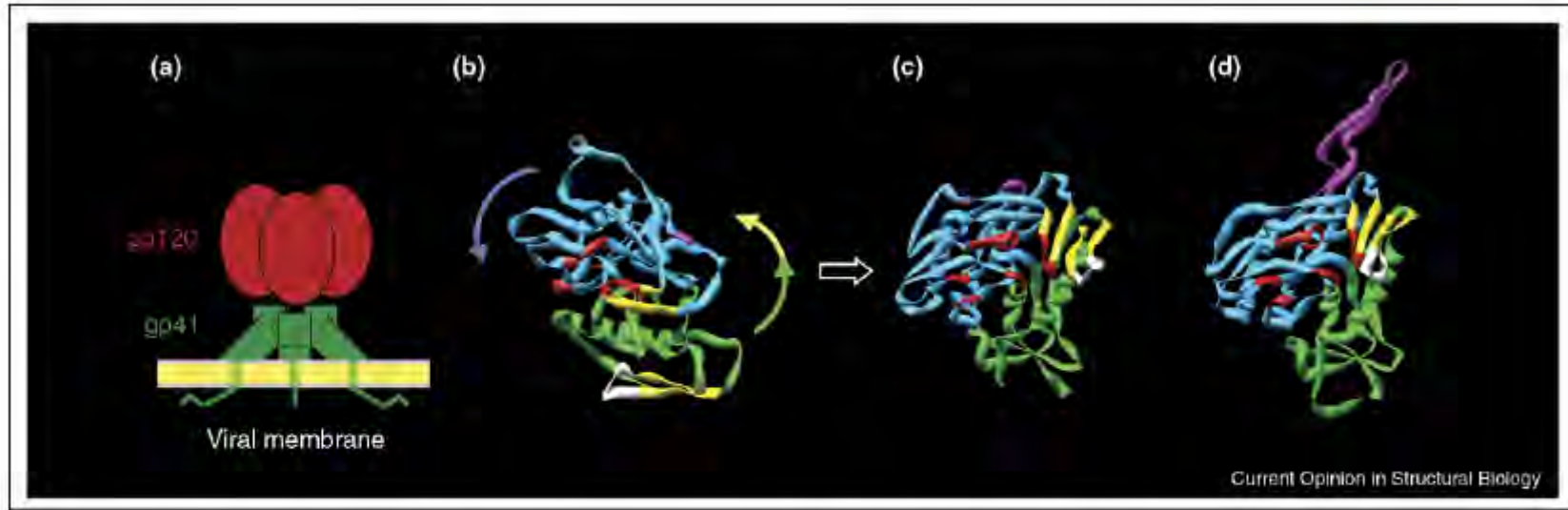
Marc, Pablo, Christine, Blandine, Michèle...



Institut national  
De la santé et de la recherche médicale







Env spike and atomic structures of SU. (a) Schematic representation of an Env spike, showing the trimer of heterodimers configuration. (b) Atomic structure of the unliganded SIV gp120 core (PDB code 2BF1; [2\*\*]). Arrows indicate structural rearrangement following ligand binding. (c) Atomic structure of CD4-liganded HIV-1 gp120 core (CD4 ligand not shown) (PDB code 1GC1; [1]). (d) Atomic structure of liganded HIV-1 gp120 core containing the V3 loop (PDB code 2B4C; [50]). In (b–d), blue, outer domain; green, inner domain; yellow, bridging sheet; red, CD4 binding site residues; mauve, V3 base (a,b) or loop (c); white, V1/V2 stem. The Env trimer axis would be to the right of each monomer, with the viral membrane below.