

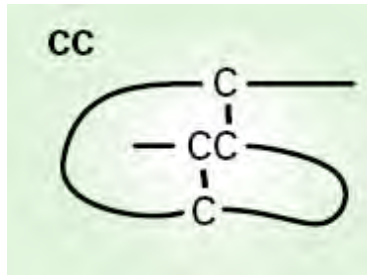
**CCR5, nouvelle cible anti-VIH:
*problématiques, données actuelles
et perspectives***

Pierre DELOBEL

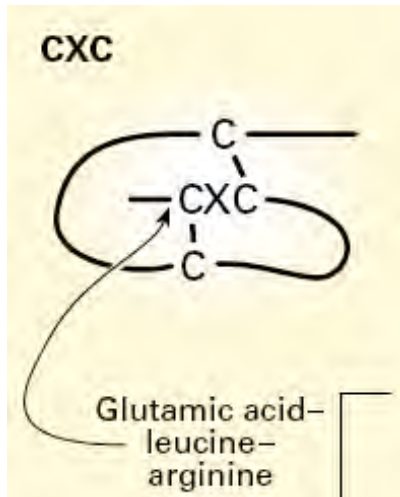
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales et EA2046-IFR30, CHU de Toulouse
Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, Institut Pasteur, Paris

**CHEMOKINES — CHEMOTACTIC
CYTOKINES THAT MEDIATE
INFLAMMATION**

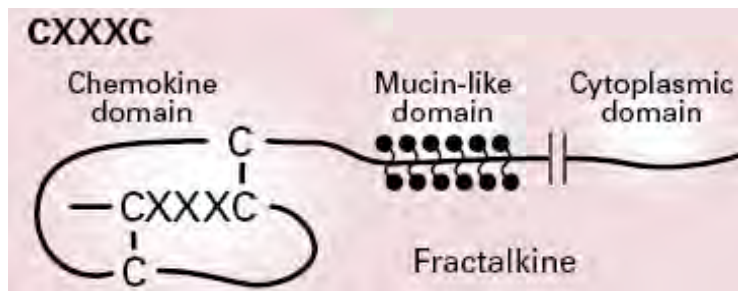
Chimiokines/Récepteurs








MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES \Leftrightarrow CCR5



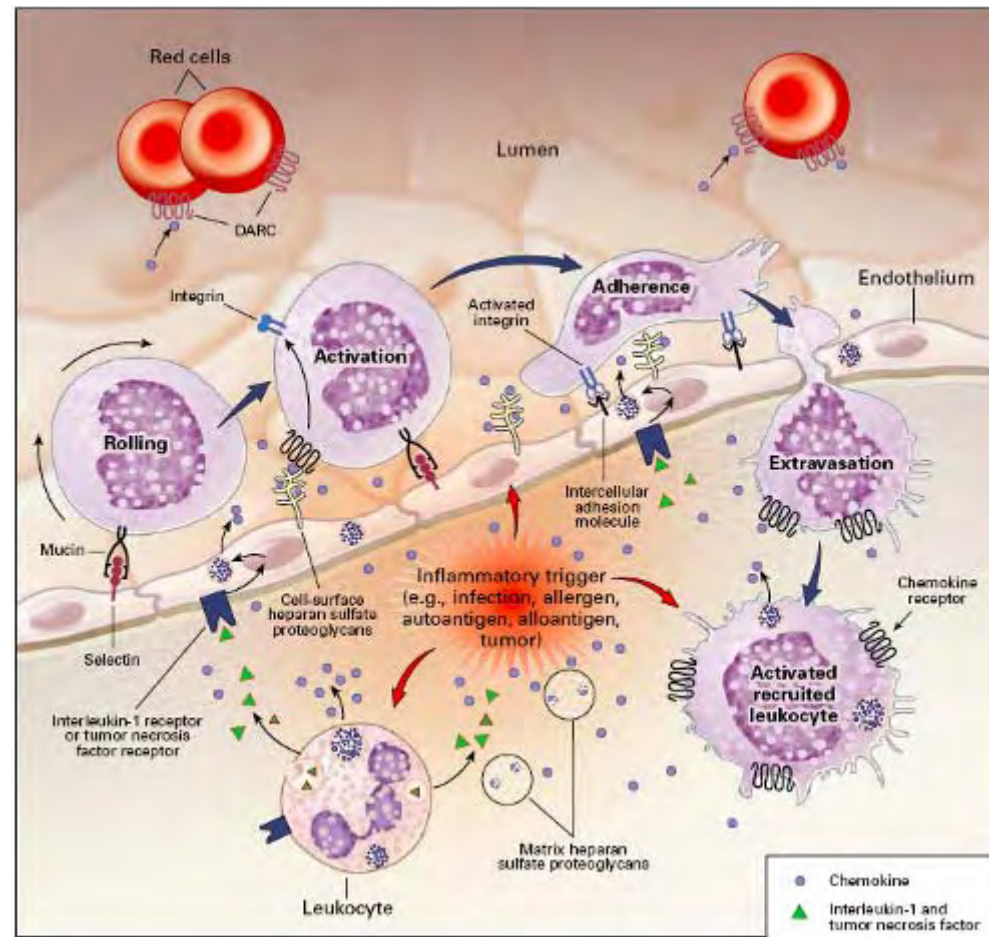
SDF-1 α \Leftrightarrow CXCR4



Chimiokines/Récepteurs

Chemokine	Receptor	Cell Type
	 Chemokine receptor	
MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-3, -4; eotaxin-1, -2; RANTES	CCR1 CCR3	Eosinophil 
MCP-1, -2, -3, -4, -5 MCP-3, -4; eotaxin-1, -2; RANTES	CCR2 CCR3	Basophil 
MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-1, -2, -3, -4, -5 MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES I-309 MDC, HCC-1, TECK	CCR1 CCR2 CCR5 CCR8 ?	Monocyte 
Fractalkine	CX ₃ CR1	
SDF-1	CXCR4	
MCP-3, -4; MIP-1 α ; RANTES MCP-1, -2, -3, -4, -5 TARC MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES MIP-3 β (ELC) PARC, SLC, 6CKine (Exodus-2)	CCR1 CCR2 CCR4 CCR5 CCR7 ?	Activated T cell 
Fractalkine	CX ₃ CR1	
IP-10, MIG, I-TAC	CXCR3	





Chimiokines: un rôle central dans la réponse immunitaire



Chimiokines: un rôle central dans la réponse immunitaire

Inflammatory Disease	Infiltrate	Chemokine
Acute respiratory distress syndrome	Neutrophil	Interleukin-8; GRO- α , - β , - γ ; ENA-78
Asthma	Eosinophil, T cell, monocyte, basophil	MCP-1, -4; MIP-1 α ; eotaxin; RANTES
Bacterial pneumonia	Neutrophil	Interleukin-8, ENA-78
Sarcoidosis	T cell, monocyte	IP-10

Chimiokines: un rôle central dans la réponse immunitaire

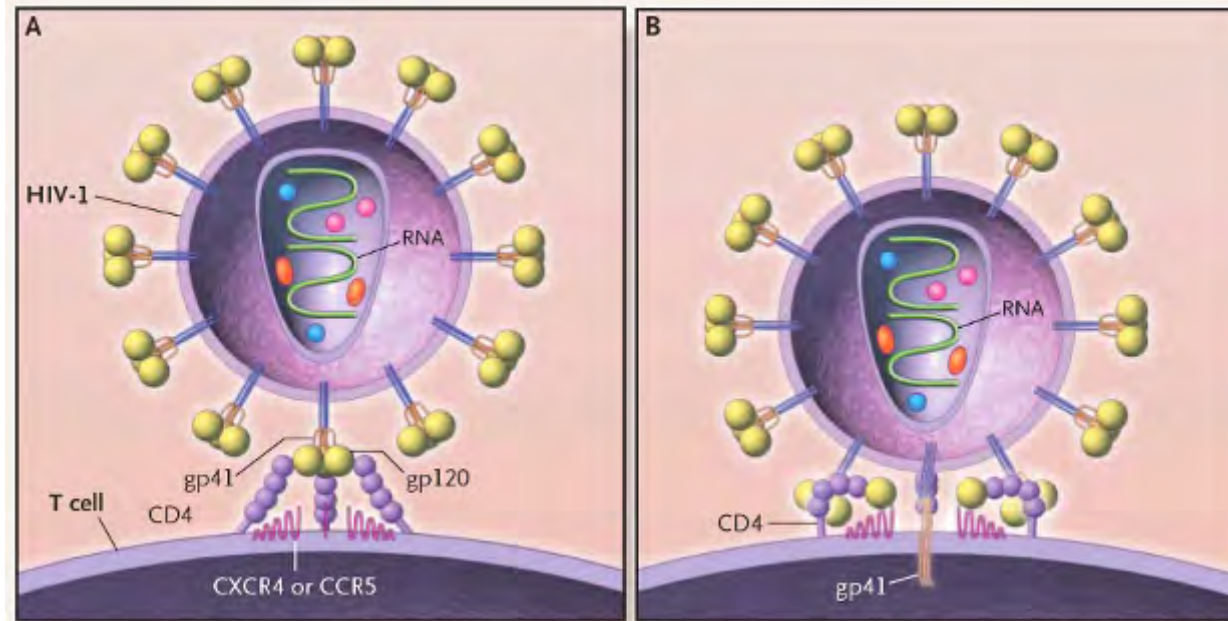
Inflammatory Disease	Infiltrate	Chemokine
 <p>Rheumatoid arthritis Osteoarthritis</p>	Monocyte, neutrophil	<p>MIP-1α, MCP-1, interleukin-8, ENA-78</p> <hr/> <p>MIP-1β</p>
 <p>Atherosclerosis</p>	T cell, monocyte	MCP-1, -4; IP-10
 <p>Inflammatory bowel disease</p>	Monocyte, neutrophil, T cell, eosinophil	MCP-1, MIP-1 α , eotaxin, IP-10, interleukin-8
 <p>Psoriasis</p>	T cell, neutrophil	MCP-1, IP-10, MIG, GRO- β , interleukin-8

Chimiokines: cibles thérapeutiques

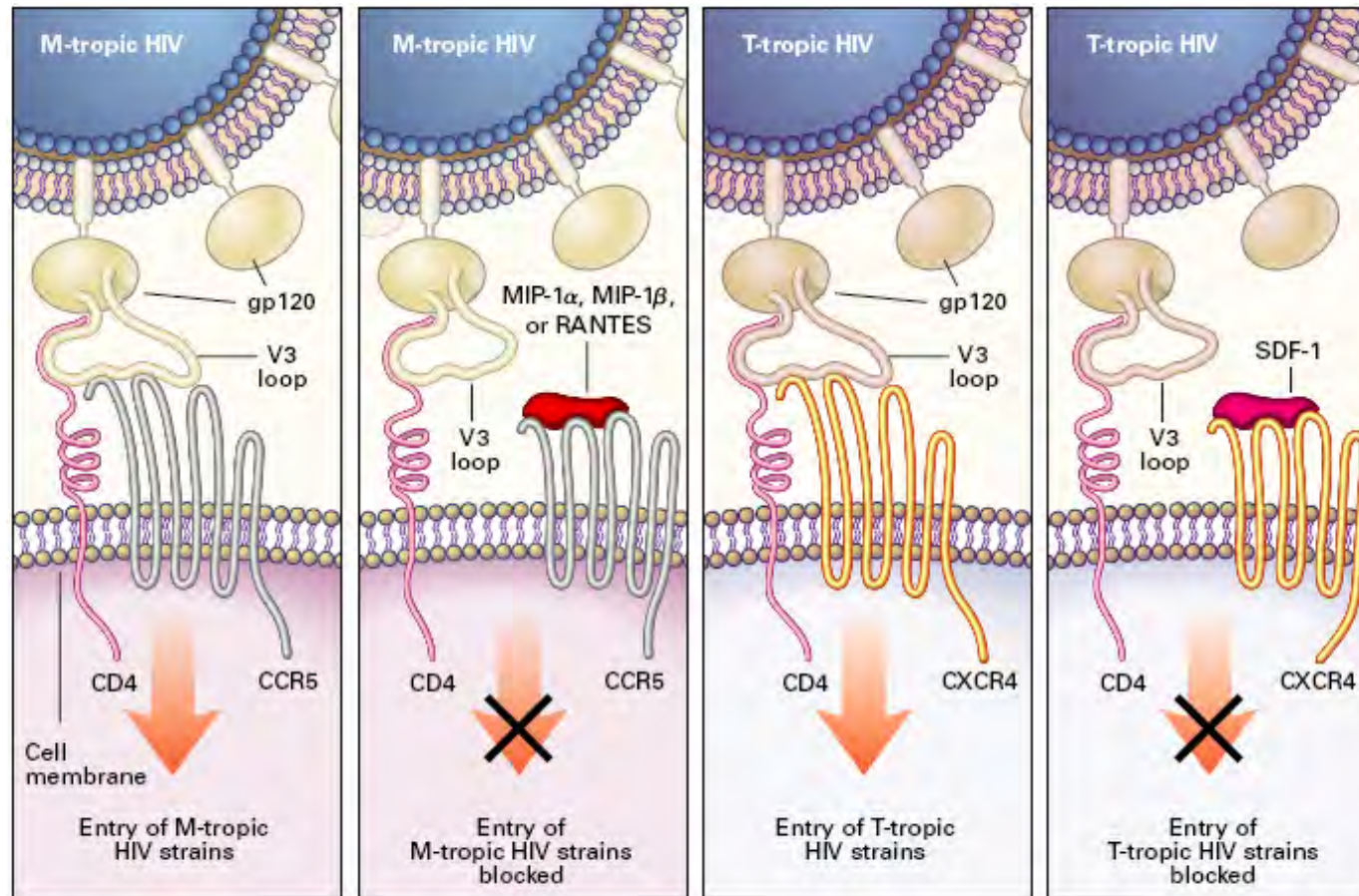
Table 3. Status of Chemokine-Receptor Antagonists in Development.*

Chemokine Receptor	Clinical Indication	Trial Status and Sponsor as of Winter 2005–2006
CCR1	Rheumatoid arthritis	Phase 2, Pfizer Phase 1, Millennium–Aventis
	Multiple sclerosis	Phase 2, Berlex
CCR2	Rheumatoid arthritis	Phase 2b, Millennium Phase 1, AstraZeneca Phase 1, Incyte
	Type 2 diabetes	Phase 1, Incyte
	Multiple sclerosis	Phase 2, Merck Phase 1, Millennium Phase 1, Incyte
CCR3	Allergic rhinitis and asthma	Phase 2, Cambridge Antibody Technology Phase 2, GlaxoSmithKline
CCR5	HIV	Phase 3, Pfizer Phase 2, Schering-Plough
CCR9	Inflammatory bowel disease	Phase 2, ChemoCentryx
CXCR1, CXCR2	Chronic obstructive pulmonary disease	Phase 1, GlaxoSmithKline
CXCR3	Psoriasis	Phase 2, Tularik–Amgen
CXCR4	Stem-cell mobilization	Phase 3, AnorMED

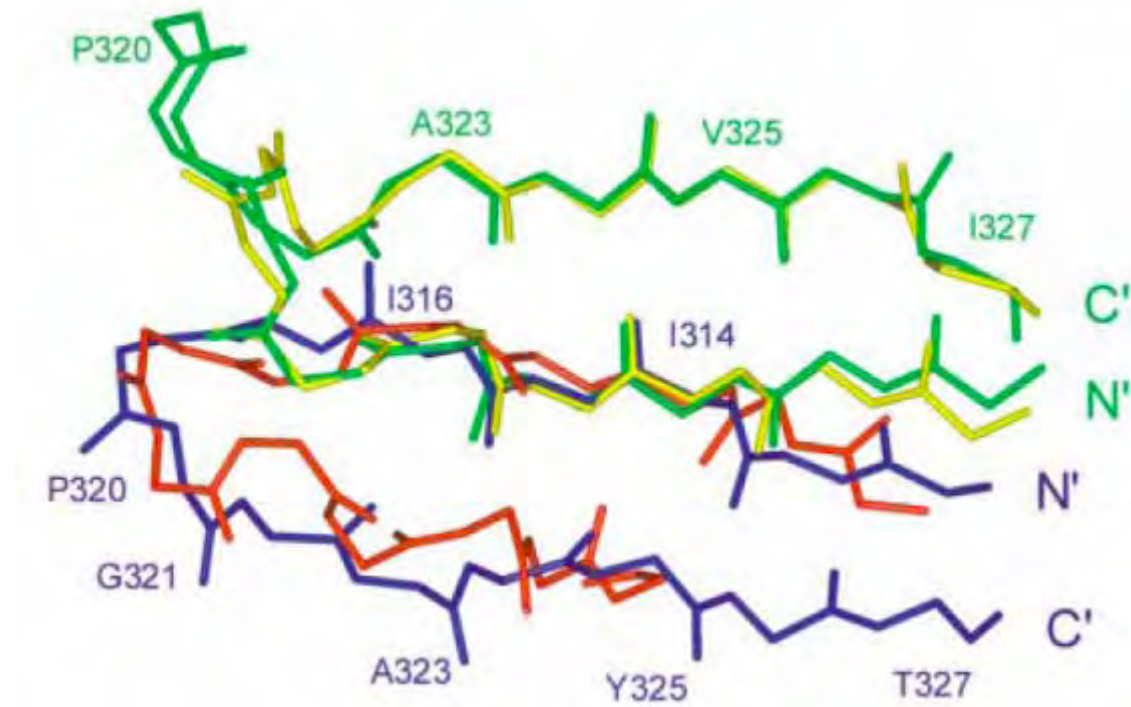
CCR5/CXCR4: corécepteurs d'entrée du HIV



CCR5/CXCR4: corécepteurs d'entrée du HIV



Homologie structurale chimiokine/boucle V3 gp120 HIV-1



CCR5: cible thérapeutique

Cell, Vol. 86, 367-377, August 9, 1996, Copyright ©1996 by Cell Press

Homozygous Defect in HIV-1 Coreceptor Accounts for Resistance of Some Multiply-Exposed Individuals to HIV-1 Infection

CCR5-WT

CCR5-Δ32

```

      780          790          800          810          820          830
AGC TCT CAT TTT CCA TAC AAT CAG TAT CAA TTC TGG AAG AAT TTC CAG ACA PTA AAG ATA GTC
Ser Ser His Phe Pro Tyr Ser Gln Tyr Gln Phe Tyr Lys Asp Phe Gln Thr Leu Lys Ile Val
      170
AGC TCT CAT TTT CCA TAC AAT AAA GAT AAT CAT CTT GGG ***** STOP
Ser Ser His Phe Pro Tyr Ile Lys Asp Ser His Leu Gly (24aa)
      170
```

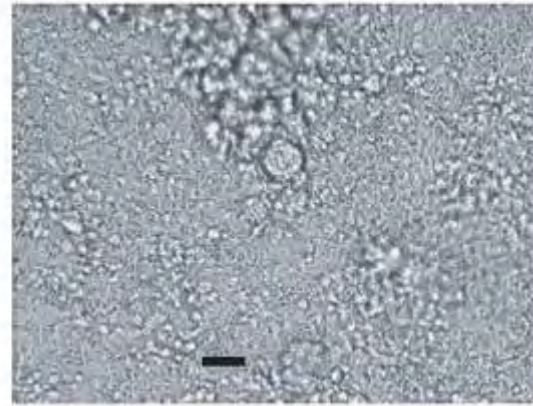
Caractérisation du tropisme R5 ou X4: méthodes et biais

Phénotype Syncytium Inducing/Non-Syncytium-Inducing

MT-2 cells



PBMC



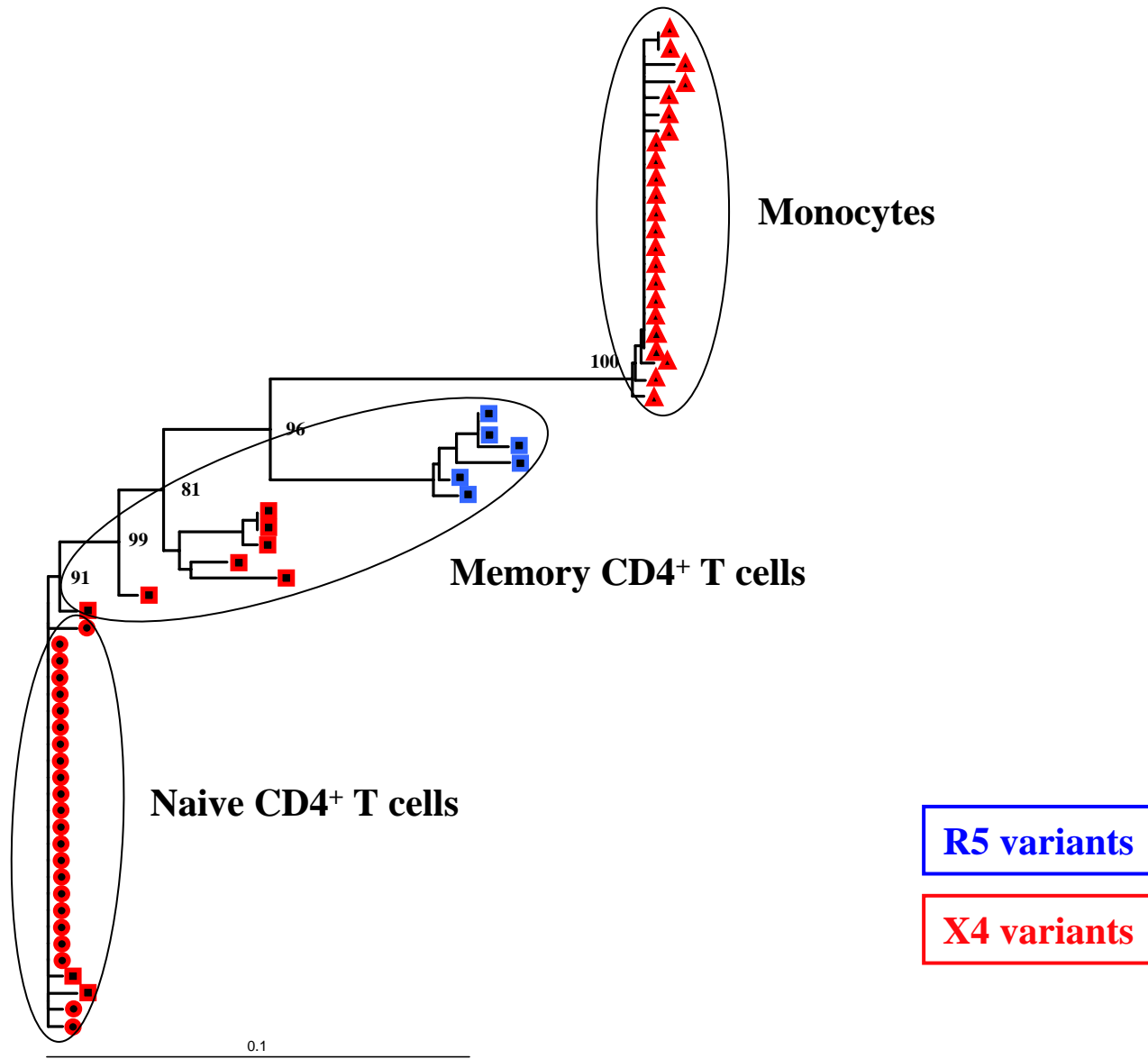
Phénotype T-tropic/M-tropic

A new classification for HIV-1

NATURE | VOL 391 | 15 JANUARY 1998

	Coreceptor used [2]		Syncytium induction [3]	
	CCR5	CXCR4	NSI	SI
R5	+	-	+	-
R5X4	+	+	-	+
X4	-	+	-	+

Dynamique d'évolution des populations virales



Caractérisation du tropisme viral R5 ou X4

Génotypage R5/X4 par séquençage de la région V3 *env* du VIH-1

Génotypage R5/X4 par séquençage de la région V3 *env*

Algoorythmes génotypiques

- présence d'un acide aminé chargé positivement (**R ou K**) en **position 11 et/ou 25** de la région V3
- charge nette de la boucle V3 $[(R+K)-(D+E)] \geq +5$
- mutation du site de N-glycosylation [NXS/T]



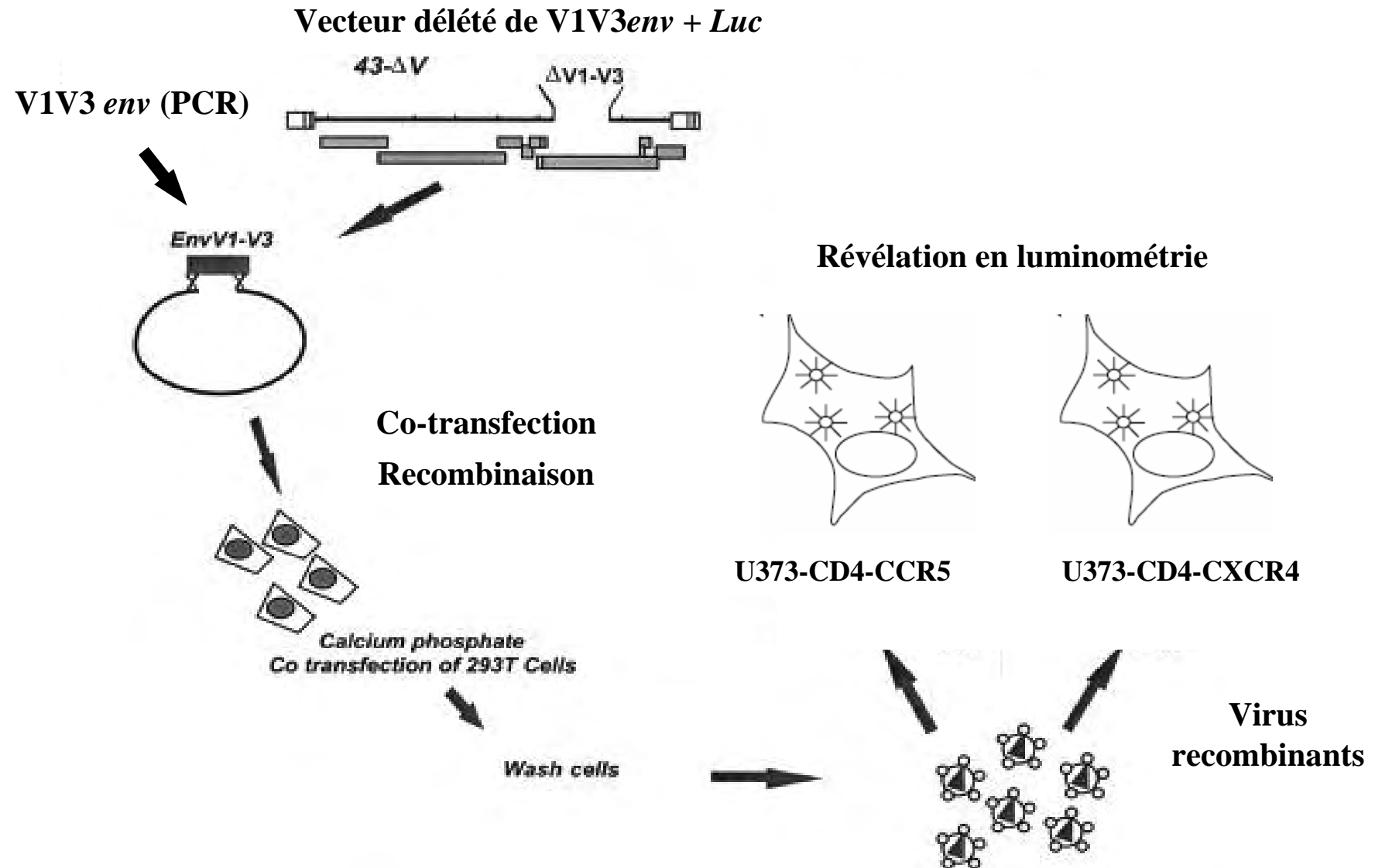
Génotypage R5/X4 par analyse clonale de la région V3 env

Consensus	T P L C V T L E C T D T D N I T R N S T N N N A T G S G G I I M E K G E I K N C S F N I T T S L R D K V Q K E Y A L F Y K L D V V P I D N N N N N I N K T N T N Y T N Y R L I S C				
CHS9					
CHS12					
CHS7					
CHS11					
CHS16					
CHS8					
CHS1					
CHS3					
CHS5					
CHS2					
CHS13					
CHS4					
CHS6					
CHS15					
Consensus	N T S T I T Q A C P K V S F E P I P I H Y C T P A G F A L L K C K D K K F N G T G P C K N V S T V Q C T H G I R P V I S T Q L L L N G S L A E E E V V I R S S N F T D N A K T I I V				
CHS9					
CHS12					
CHS7					
CHS11					
CHS16					
CHS8					
CHS1					
CHS3					
CHS5					
CHS2					
CHS13					
CHS4					
CHS6					
CHS15					
Consensus	Q L N E S V V I N C T R P N N N T R K K S I H I G P G R A F Y T T G Q I I G D I R Q A H C N L S R E A W N N T L K K I V	11/25	net charge	genotype	phenotype
CHS9		G/Q	+4	R5	R5
CHS12		S/Q	+4	R5	R5
CHS7		S/Q	+3	R5	R5
CHS11		S/Q	+3	R5	R5
CHS16		S/Q	+3	R5	R5
CHS8		S/Q	+3	R5	R5
CHS1		S/Q	+3	R5	R5
CHS3		S/Q	+3	R5	R5
CHS5		S/Q	+3	R5	R5
CHS2		R/Q	+6	X4	X4
CHS13		R/Q	+6	X4	X4
CHS4		R/Q	+6	X4	R5X4
CHS6		R/Q	+7	X4	R5X4
CHS15		R/Q	+7	X4	R5X4

Caractérisation du tropisme viral R5 ou X4

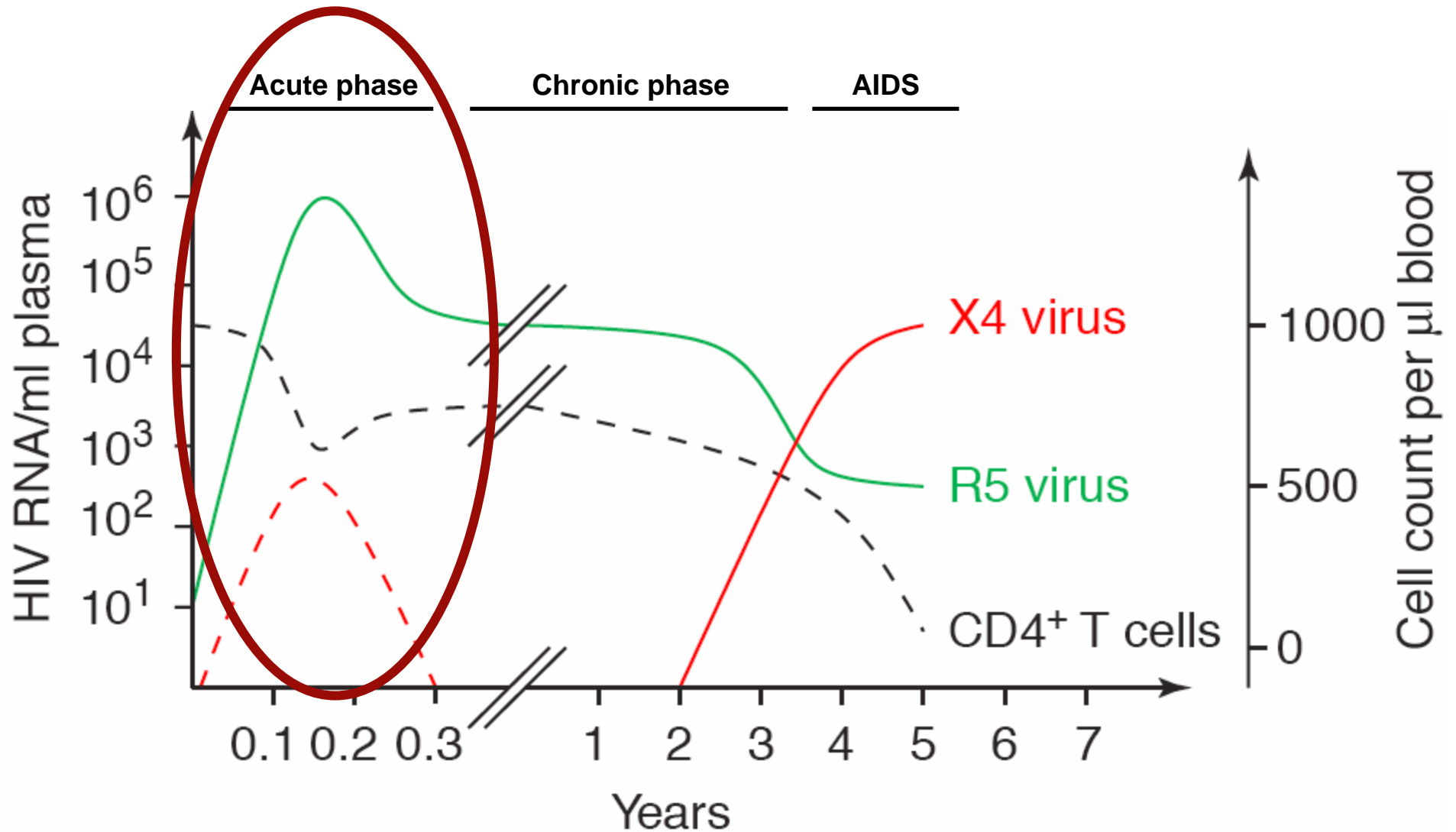
Phénotypage R5/X4 par
Recombinant Virus Assay

Phénotypage R5/X4 par création de virus recombinants



**Evolution du tropisme viral au cours de
l'histoire naturelle de l'infection à VIH:
*le switch R5/X4***

Evolution du tropisme viral au cours de l'infection à VIH

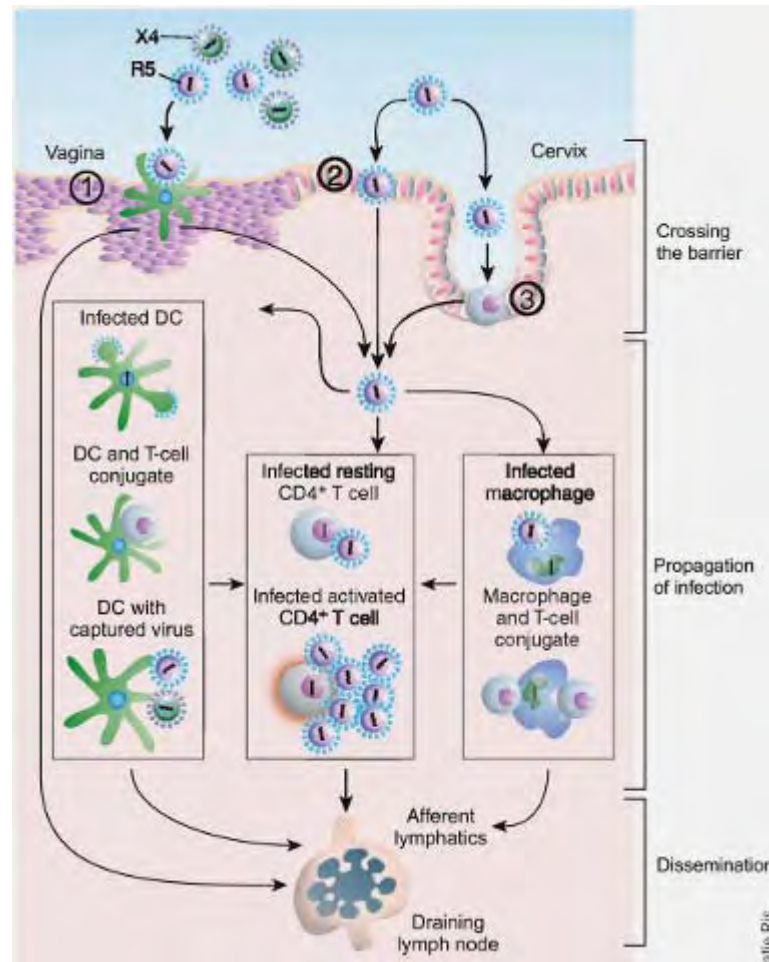


Prédominance des variants R5 en primo-infection

- **compartimentation des virus R5 dans l'appareil génital?**
- **pénétration muqueuse préférentielle des virus R5?**
 - CCR5 sur cellules épithéliales
 - taux élevés de SDF1: compétition/CXCR4
 - cellules cibles intra-muqueuses: DC, Langerhans
- **avantage sélectif pour les virus R5 post-entrée:**
 - réponse immunitaire/virus X4?
 - réplication préférentielle des virus R5: cellules cibles

Résistance à l'infection si mutation CCR5 Δ 32 homozygote

Prédominance des variants R5 en primo-infection



Prédominance des variants R5 en primo-infection

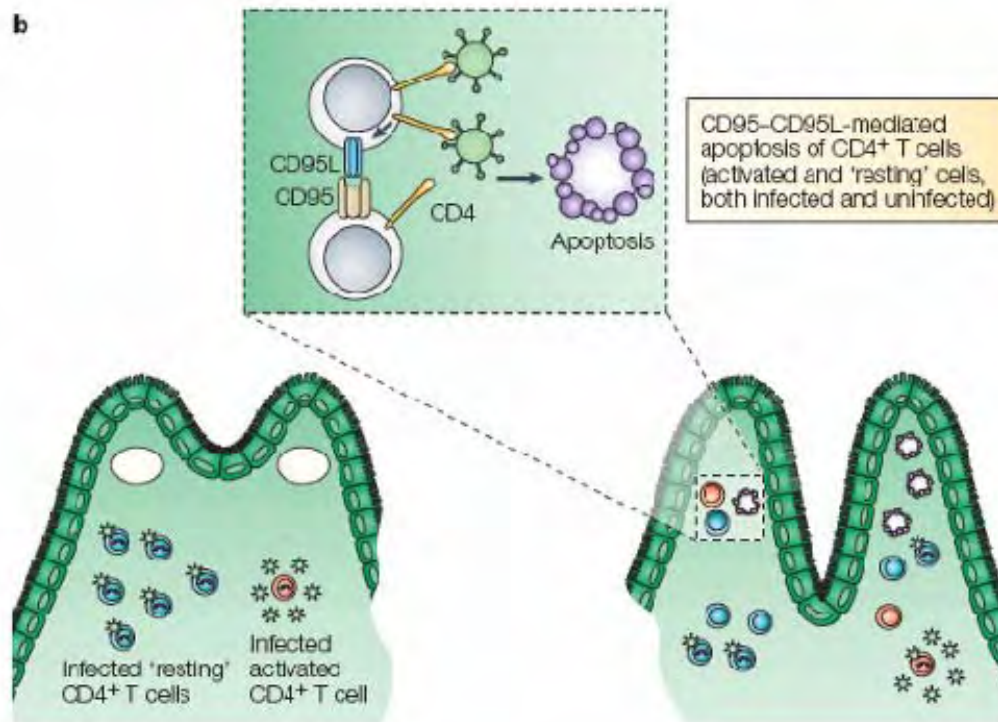
mais établissement de l'infection par des virus R5:

- également si contamination verticale ou par injection
- avantage des R5 en cas de transmission d'une population virale mixte R5 et X4

prédominance R5 apparente (X4 minoritaire?)

réplication préférentielle des virus R5:
population cible initiale = GALT

Pathogénicité des variants R5 en primo-infection: GALT



- Cible principale de la réplication du VIH
- Atteinte très précoce au cours de la primo-infection
- Déplétion majeure rapide et prolongée

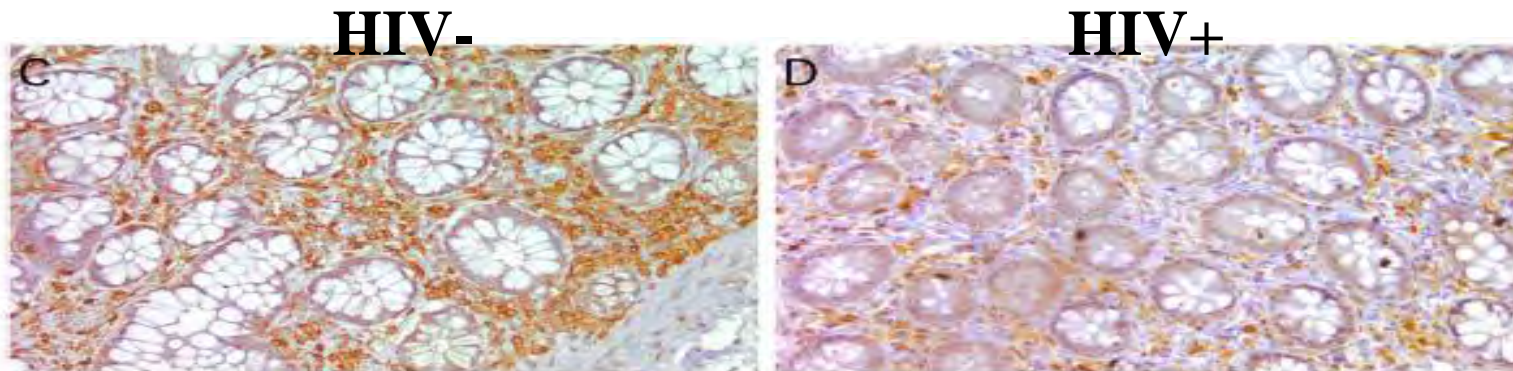
Pathogénicité des variants R5 en primo-infection

articles

Massive infection and loss of memory $CD4^+$ T cells in multiple tissues during acute SIV infection

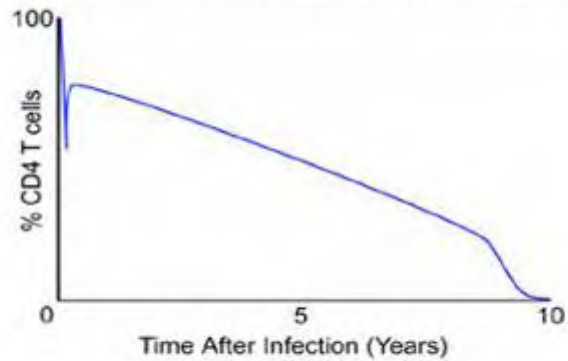
Joseph J. Mattapallil¹, Daniel C. Douek², Brenna Hill², Yoshiaki Nishimura³, Malcolm Martin³ & Mario Roederer¹

NATURE | VOL 434 | 28 APRIL 2005 | www.nature.com/nature



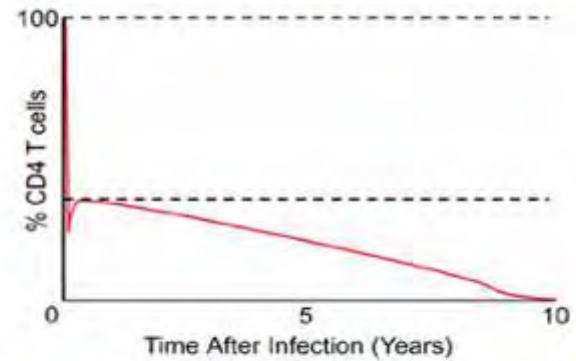
Déplétion des T-CD4⁺ au cours de la primo-infection

HIV Disease Course



- Blood CD4 T cell counts

HIV Disease Course

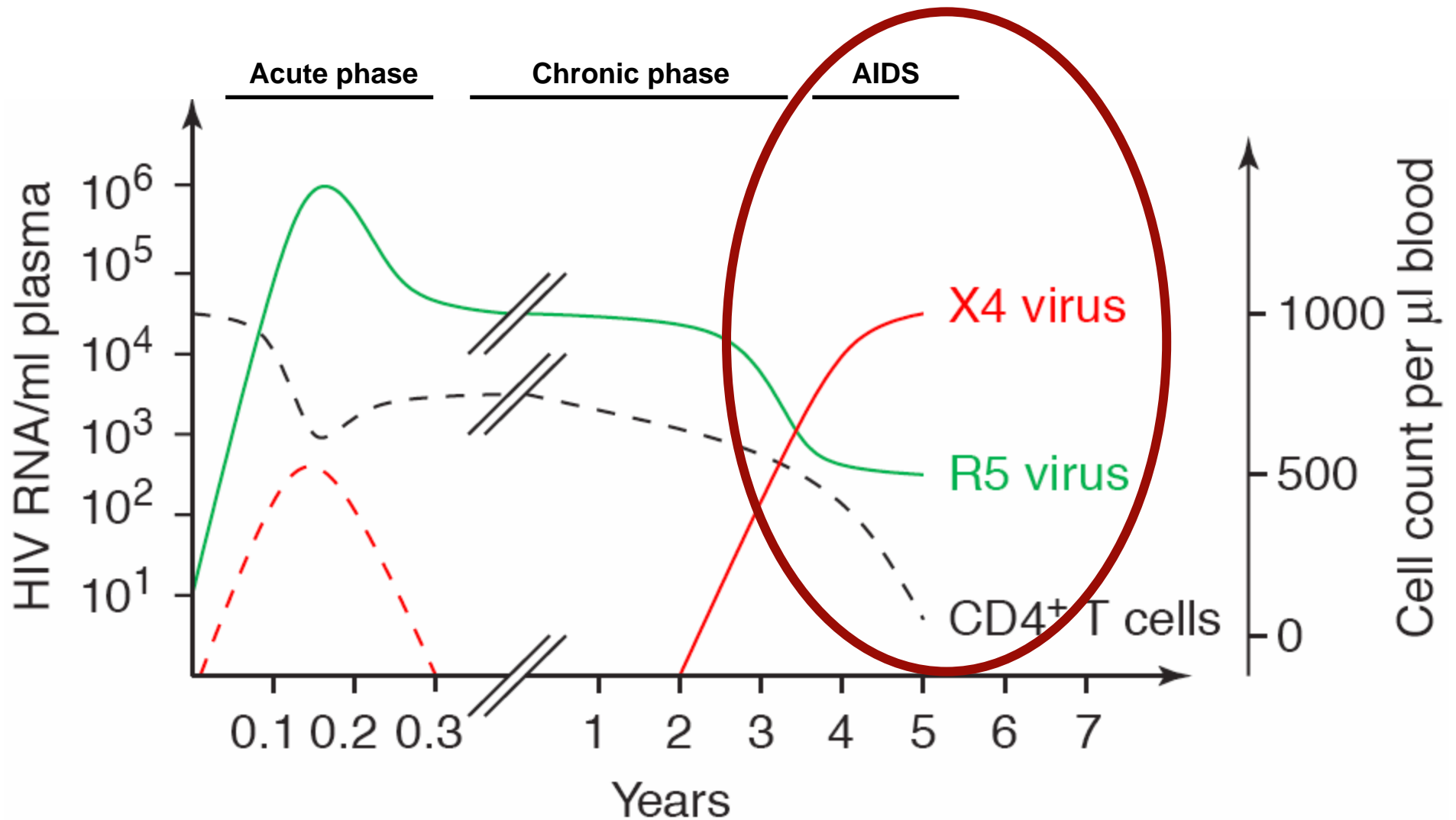


- Total CD4 T cell counts: Massive CD4 T cell depletion occurs rapidly in acute infection

Protection of macaques from vaginal SHIV challenge by an orally delivered CCR5 inhibitor

Ronald S Veazey^{1,4}, Martin S Springer^{2,4}, Preston A Marx¹, Jason Dufour¹, Per Johan Klasse³ & John P Moore³

Evolution du tropisme viral au cours de l'infection à VIH



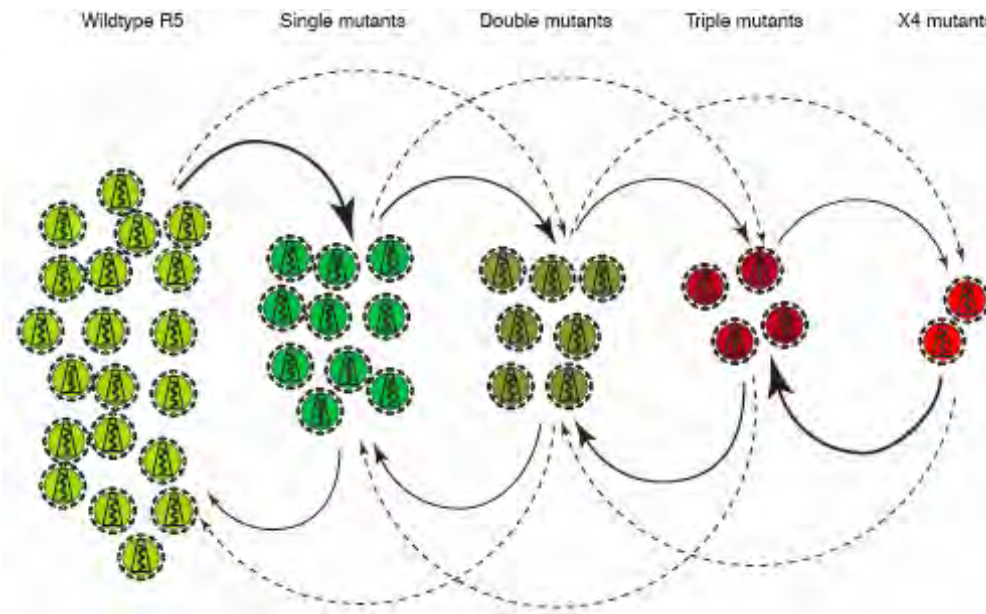
Mécanismes du switch R5→X4?

- **accumulation progressive de mutations dans *env* ?**
- **contrôle préférentiel des virus X4 par la réponse immunitaire?**
- **tropisme préférentiel des virus X4 pour les thymocytes et les lymphocytes T-CD4⁺ naïfs?**

Mécanismes du switch R5→X4?

Accumulation progressive de mutations dans *env* ?

- quelques mutations suffisent pour induire un switch R5 → X4 (région V3 *env*)
- l'émergence de virus X4 devrait donc être rapide ...ce qui n'est pas le cas



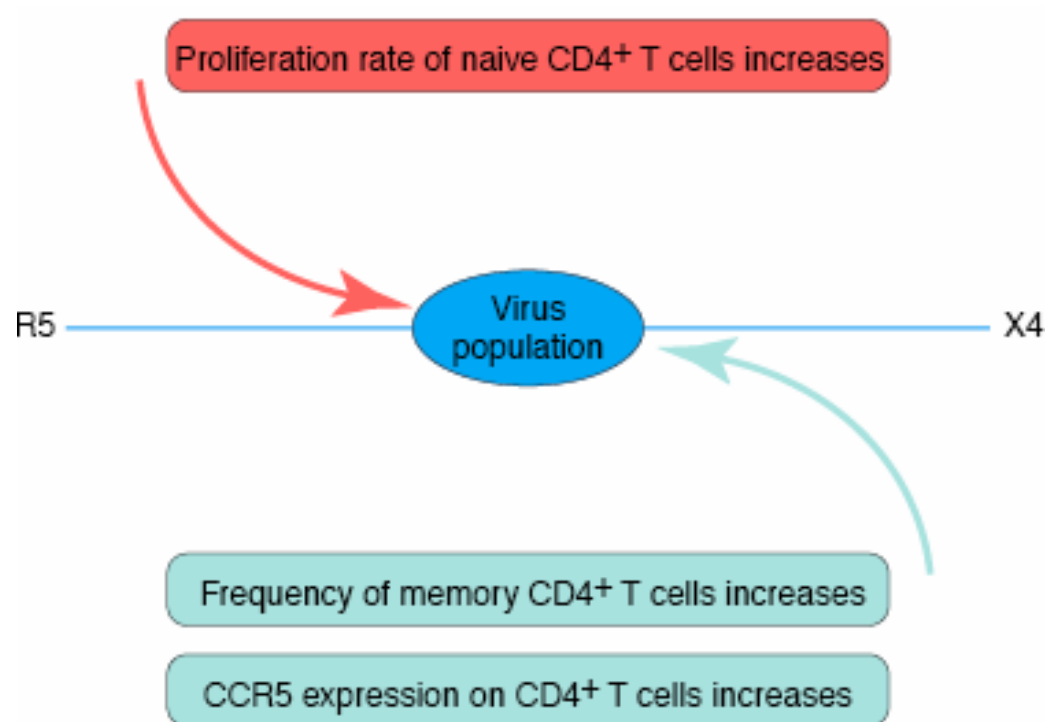
Capacité répliquative diminuée des virus intermédiaires?

Mécanismes du switch R5→X4?

- accumulation progressive de mutations dans *env* ?
- contrôle préférentiel des virus X4 par la réponse immunitaire?
- **tropisme préférentiel des virus X4 pour les thymocytes et les lymphocytes T-CD4⁺ naïfs?**

Mécanismes du switch R5→X4?

Tropisme préférentiel pour les lymphocytes T-CD4⁺ naifs?



**Evolution du tropisme viral sous traitement
antirétroviral: sélection des virus X4**

Emergence de variants X4 sous traitement antirétroviral suppressif

BASIC SCIENCE

R5 to X4 Switch of the Predominant HIV-1 Population in Cellular Reservoirs During Effective Highly Active Antiretroviral Therapy

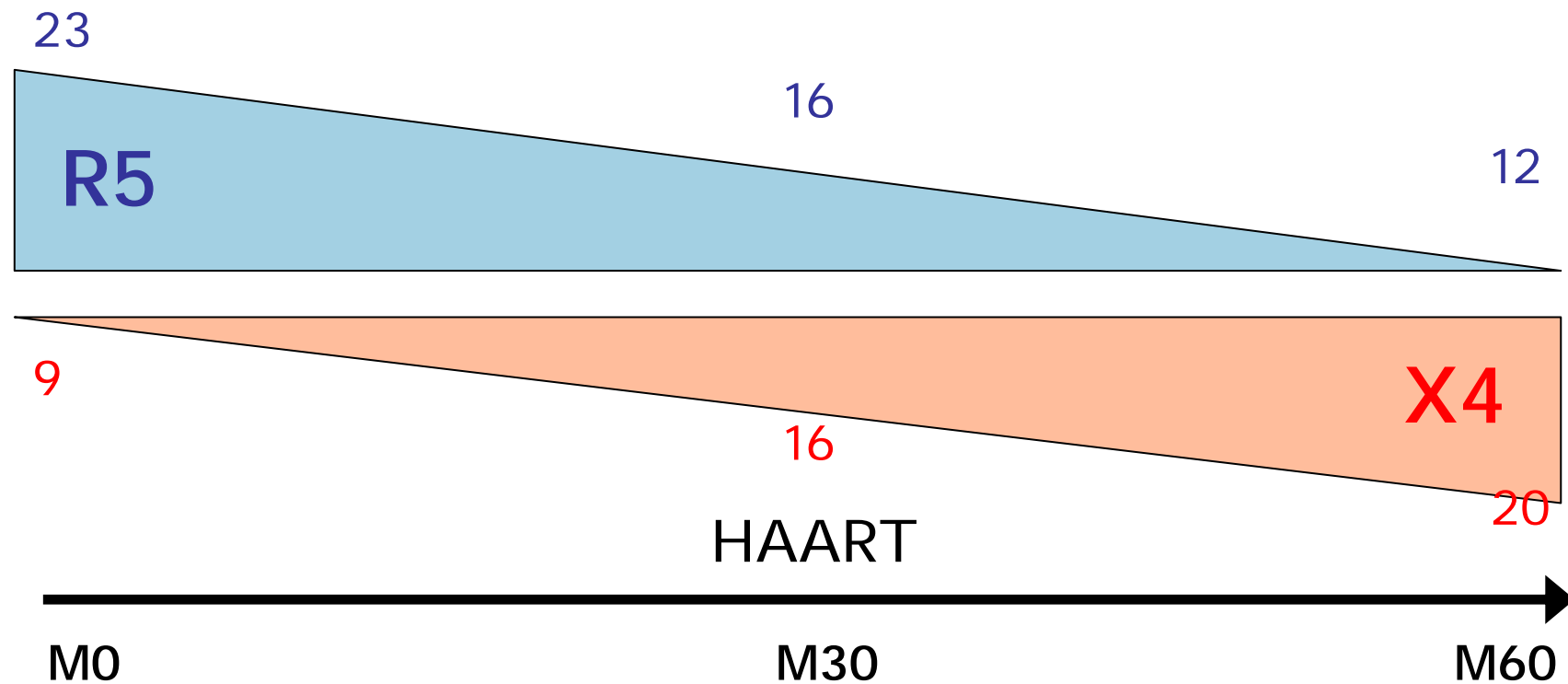
Pierre Delobel,† Karine Sandres-Sauné, PhD,* Michelle Cazabat,* Christophe Pasquier, MD, PhD,* Bruno Marchou, MD,† Patrice Massip, MD,† and Jacques Izopet, PhD**

J Acquir Immune Defic Syndr 2005;38:382–392

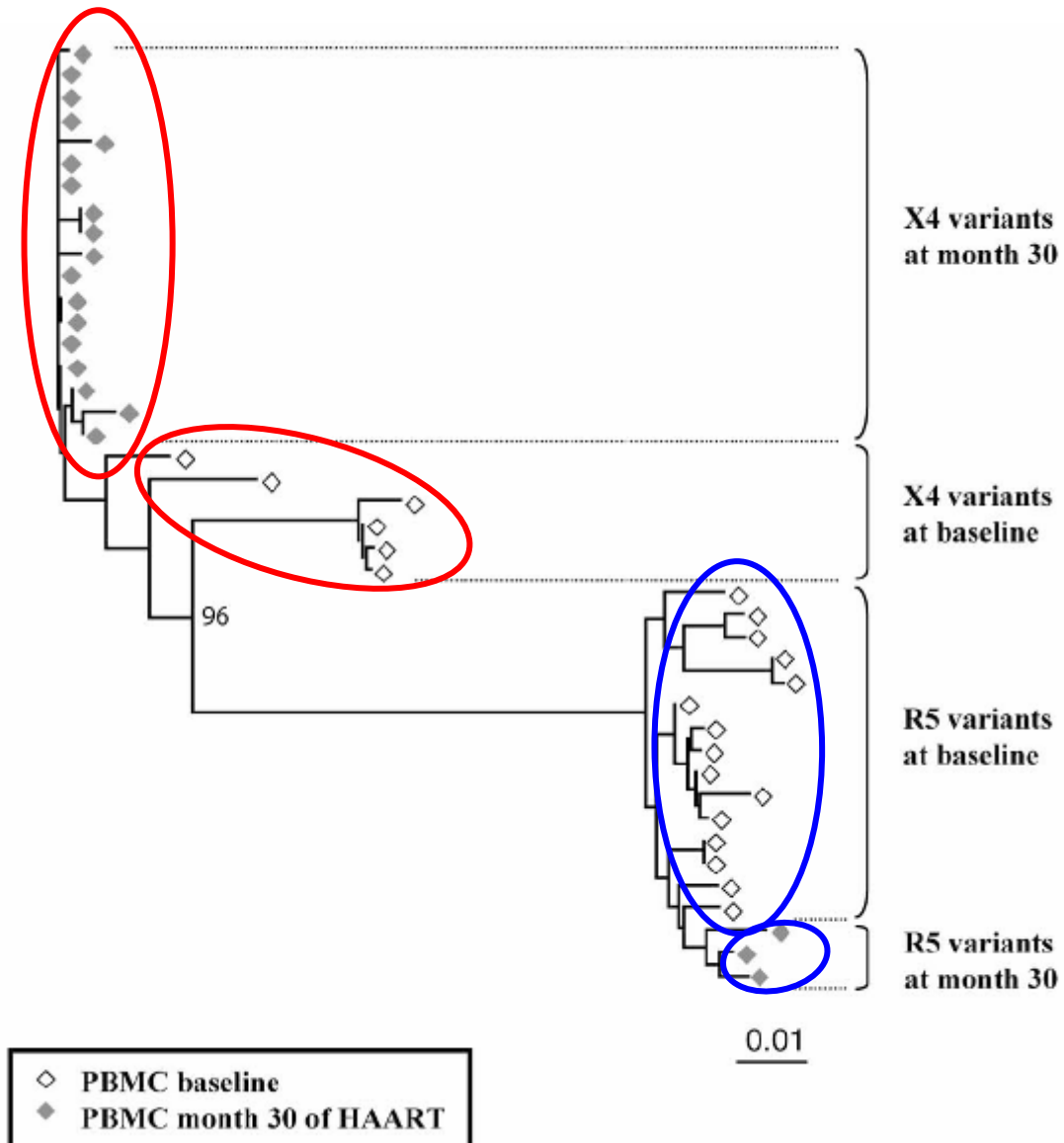
Emergence de variants X4 sous HAART

⇒ Etude longitudinale chez 32 patients avec une charge virale indétectable

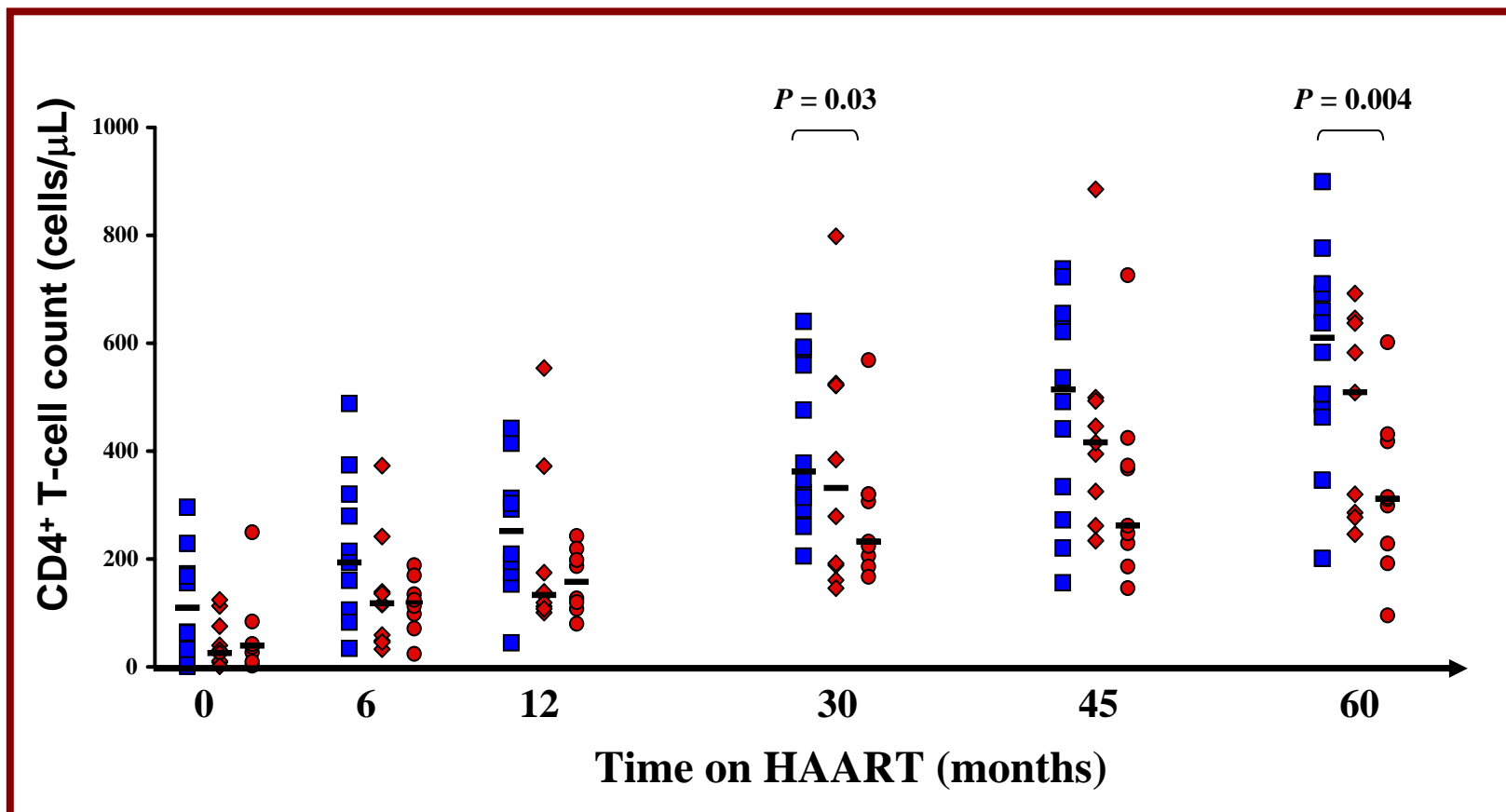
Génotypage V3 env dans les PBMC



Emergence de variants X4 sous HAART



Impact sur la restauration des T-CD4⁺ ?



Etude ANRS EP32 «THYM'X4»

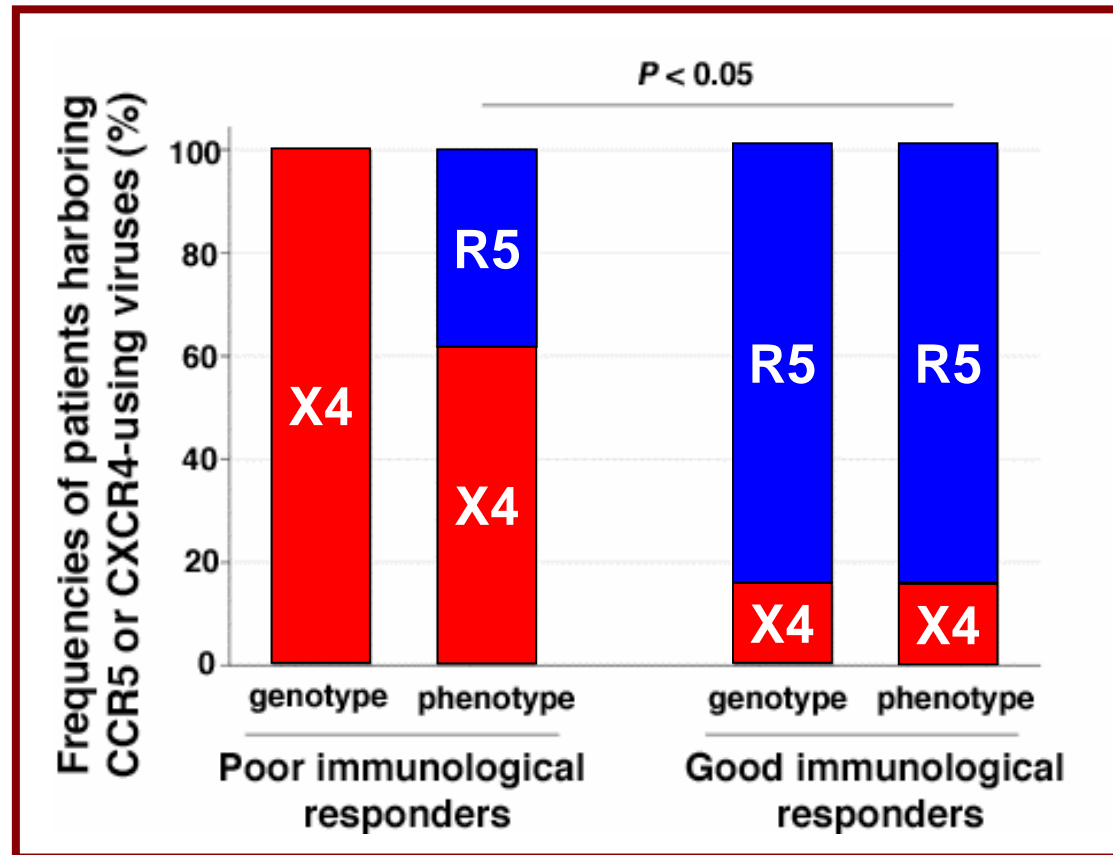
- 5 à 15% des patients en succès virologique ont des CD4 <200/mm³
- Défaut de régénération ou destruction périphérique excessive?

Rôle des virus X4? Hypothèse d'une atteinte thymique?

⇒ 15 patients en succès immuno-virologique

⇒ 15 patients avec une discordance immuno-virologique

Fréquence élevée de virus X4 chez les mauvais répondeurs immunologiques



**Impact des virus X4 sur l'homéostasie lymphocytaire T sous HAART:
*hyperactivation persistante et apoptose***

Emergence de variants X4 sous
traitement antirétroviral **non** suppressif

**CXCR4-tropic Viruses Are Common
among Antiretroviral-treated
Patients with Detectable Viremia and
Associated with Lower Treatment-
mediated CD4 Gains**

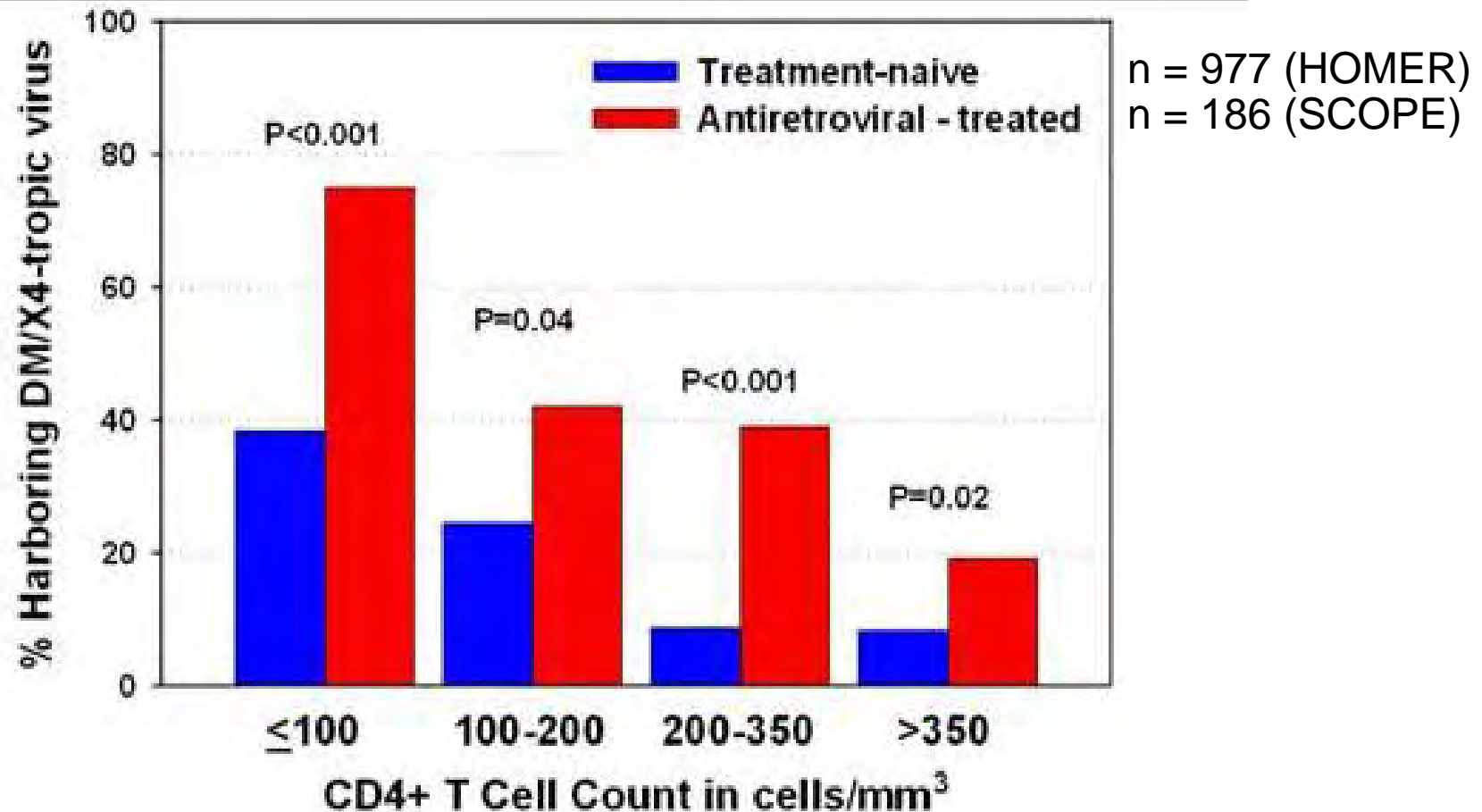
Peter Hunt, MD

UCSF Positive Health Program
San Francisco General Hospital

13th CROI 2006 abstract #43

Emergence de variants X4 sous traitement antirétroviral **non** suppressif

Prevalence of DM/X4 tropism by treatment status and CD4 count



Impact des virus X4 sur la restauration des T-CD4⁺

DM/X4 Tropism is Independently Associated with Reduced Treatment-mediated CD4 Gains Multivariable Analysis (N=186)

Characteristic	Adjusted Change in Δ CD4 count (cells/mm ³) (95% CI)	P Value
DM / X4-tropism	-78 (-126 to -30)	0.002
Plasma HIV RNA level per log ₁₀ increase	-61 (-88 to -34)	<0.001

Sélection de variants X4 sous traitement anti-CCR5

JOURNAL OF VIROLOGY, May 2006, p. 4909–4920
0022-538X/06/\$08.00+0 doi:10.1128/JVI.80.10.4909–4920.2006
Copyright © 2006, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 80, No. 10

Emergence of CXCR4-Using Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Variants in a Minority of HIV-1-Infected Patients following Treatment with the CCR5 Antagonist Maraviroc Is from a Pretreatment CXCR4-Using Virus Reservoir

Mike Westby,^{1*} Marilyn Lewis,¹ Jeannette Whitcomb,² Mike Youle,³ Anton L. Pozniak,⁴
Ian T. James,¹ Tim M. Jenkins,¹ Manos Perros,¹ and Elna van der Ryst¹

Perspectives thérapeutiques

➤ **Place des anti-CCR5 en prophylaxie post-exposition?**

➤ **Place des anti-CCR5 au cours de la primo-infection?**

➤ **Place des anti-CCR5 au cours de la phase chronique??**