

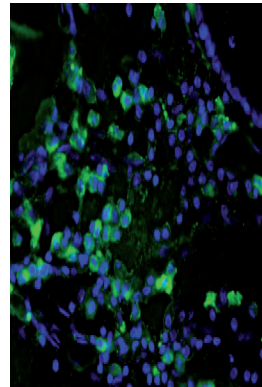
► Les intégrines forment une grande famille de molécules impliquées dans de nombreux processus biologiques. Elles orchestrent les mécanismes d'adhésion entre cellules et matrice extracellulaire, dès le développement embryonnaire et pendant toute la vie adulte. Ces molécules hétérodimériques participent à beaucoup de fonctions biologiques comme la migration, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire. Elles sont également impliquées dans différentes pathologies humaines dont les maladies thrombotiques, l'inflammation, les cancers, la fibrose et les infections. Leur exposition à la surface cellulaire en fait des cibles thérapeutiques séduisantes, et, de fait, plusieurs molécules ciblant les intégrines ont prouvé leur efficacité en thérapeutique humaine. Dans cette revue, nous nous focaliserons sur l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ , particulièrement intéressante par son implication dans différentes pathologies touchant les muqueuses, comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et, plus récemment, l'infection par le virus VIH. ◀

### Rôle de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ dans le homing lymphocytaire

Le système muqueux intestinal est le composant majeur du MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*). Il regroupe plus de 40 % des lymphocytes totaux de l'organisme, ce qui en fait une des cibles majeures du virus VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine). Le GALT (*gut-associated lymphoid tissue*) est un système lymphoïde formé de sites inducteurs (les plaques de Peyer et les ganglions lymphatiques mésentériques) et de sites effecteurs (la *lamina propria* et les lymphocytes intraépithéliaux). Les leucocytes circulants traversent la barrière endothéliale pour rejoindre le tissu sous-jacent grâce à de nombreuses molécules d'adhésion, dont les intégrines. Ces dernières interviennent surtout dans les

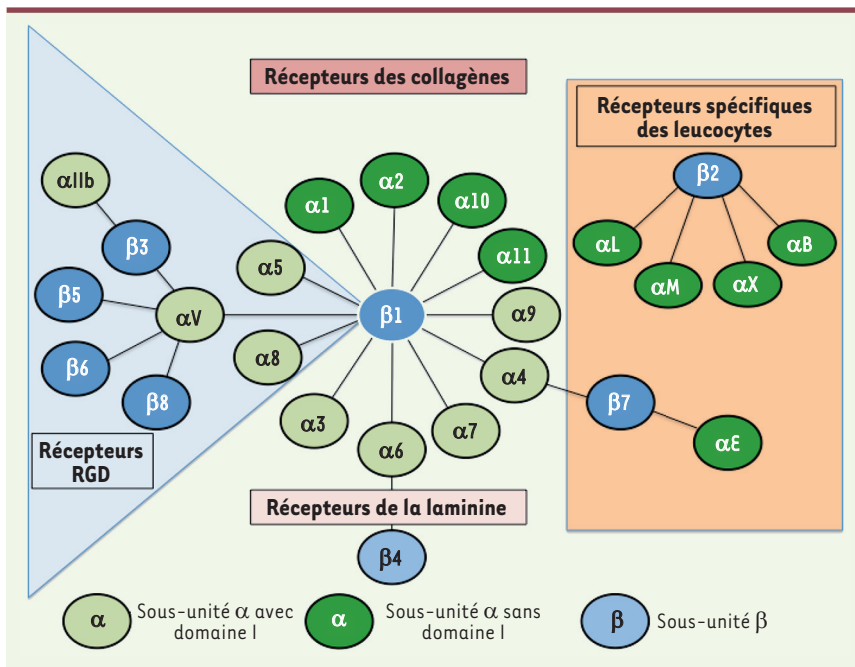
## Rôle et ciblage de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ dans la physiopathologie des MICI et de l'infection par le VIH

Alexandre Girard, Nicolas Rochereau, Xavier Roblin, Christian Genin, Stéphane Paul



Groupe immunité des muqueuses et agents pathogènes – GIMAP EA 3064, CIC 1408, Université de Saint-Étienne, Université de Lyon, Faculté de médecine Jacques Lisfranc, 15, rue Ambroise Paré, 42023 Saint-Étienne Cedex 2, France.  
[alexandre.girard10@gmail.com](mailto:alexandre.girard10@gmail.com)

étapes tardives, une fois les cellules ralenties par l'interaction entre la sélectine leucocytaire et ses ligands PNA $d$  (*peripheral node addressin*). Cependant, certaines intégrines, dont  $\alpha 4\beta 7$  et  $\alpha 4\beta 1$ , interviennent également dans les premières étapes de l'adhésion des lymphocytes à la barrière endothéliale. Par la suite, les réactions entre les différents couples chimiokines/récepteurs (CCR7 [*C-C chemokine receptor type 7*]/CCL21 [*chemokine (C-C motif) ligand 21*] et CCL19, CCR9/CCL25, CCL20/CCR6, CCR10/CCL21) déclenchent une activation rapide des intégrines. Les leucocytes adhèrent alors à la paroi endothéliale, s'étalent, puis la traversent. Plusieurs intégrines participent à ce processus, en particulier  $\alpha 4\beta 1$  (VLA-4, *very late antigen-4*),  $\alpha 4\beta 7$  (LAPM-1, *lymphocyte Peyer's patch HEV adhesion molecules 1*),  $\alpha L\beta 2$  (LFA-1, *lymphocyte function-associated antigen-1*) et  $\alpha M\beta 2$  (MAC-1, *macrophage-1 antigen*) (Figure 1) [1]. Dans le GALT, le *homing* (ou adressage en français, indiquant la migration des cellules vers une localisation particulière) et la rétention des lymphocytes sont sous la dépendance des intégrines de type  $\beta 7$  ( $\alpha 4\beta 7$  et  $\alpha E\beta 7$ ) et du couple CCL25/CCR9.  $\alpha 4\beta 7$  intervient dans 2 étapes indispensables : l'interaction entre  $\alpha 4\beta 7$  et MadCAM-1 (*mucosal addressin cell adhesion molecule-1*) assure le « roulement » lymphocytaire le long de la paroi, mais aussi – selon la conformation de l'intégrine – son adhésion ferme, et donc l'arrêt du lymphocyte. MadCAM-1 est préférentiellement exprimée par les *high endothelial venules* (HEV) des plaques de Peyer et des nodules lymphoïdes mésentériques, mais aussi par les veinules post-capillaires de la *lamina propria* du petit et du gros intestin, et des glandes mammaires [2] (Tableau 1).



**Figure 1. La superfamille des intégrines.**

Les intégrines sont subdivisées selon leurs sous-unités  $\beta$ . Certaines sous-unités  $\alpha$  peuvent s'associer avec plusieurs sous-unités  $\beta$ . Chez l'homme, 24 hétérodimères ont été identifiés. Ils sont classés en 4 familles selon le type de ligand qui se fixe à l'intégrine : les récepteurs de la séquence RGD (Arg-Gly-Asp), les récepteurs de la laminine, les récepteurs des collagènes et les récepteurs spécifiques des leucocytes [2, 3] (adapté de [2]).

Les lymphocytes  $CD4^+$  Th17 semblent jouer un rôle majeur au niveau des muqueuses. De nombreux phénomènes inflammatoires et auto-immuns s'accompagnent de perturbations de ces cellules. Ainsi, il existe un déséquilibre du *ratio* entre les lymphocytes Th17

et les lymphocytes Treg (lymphocytes T régulateurs). Les lymphocytes  $CD4^+$  Treg maintiennent la tolérance immunitaire en sécrétant de l'IL-10, du TGF  $\beta$  (*transforming growth factor*) ou de l'IL-35. Les lymphocytes Th17 et les lymphocytes Treg proviennent d'un même précurseur et leur différenciation respective est contrôlée par des facteurs de transcription, respectivement ROR $\gamma$  (*retinoid-related orphan receptor  $\gamma$* ) et FoxP3 (*Forkhead box P3*), dont l'expression est inversement corrélée. Lors des MICI, le rapport Th17/Treg s'accroît, provoquant une amplification des voies de signalisation conduisant à une réponse pro-inflammatoire. Ce recrutement lymphocytaire pathologique dans l'intestin est caractéristique des MICI. Il joue un rôle central dans l'émergence et la progression de la maladie. Afin d'interférer avec ce processus et de séquestrer les lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires pour éviter leur migration vers les sites d'inflammation, des anticorps monoclonaux (Acm) ciblant les interactions entre  $\alpha4\beta7$  et MAdCAM-1 ont été développés pour le traitement des MICI [8, 9].

### Implication de l'intégrine $\alpha4\beta7$ dans les MICI

Chez les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), l'altération de la perméabilité et de l'activation des cellules endothéliales explique l'influx de cellules immunitaires présentes dans le tractus intestinal [3]. Plusieurs molécules contrôlant la migration cellulaire,  $\alpha4\beta1$  et VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), le couple CCR9/CCL25,  $\alpha4\beta7$  et MAdCAM-1, sont perturbées, entraînant un recrutement rapide et une rétention inappropriée de leucocytes. Ainsi, dans la maladie de Crohn, les veinules exprimant MAdCAM-1 sont plus abondantes dans la muqueuse inflammée, et l'expression de la protéine est augmentée au niveau de la muqueuse du côlon [2]. Étonnamment, lors des périodes d'activité de la maladie, l'expression de MAdCAM-1 est détectée dans des sites extra-intestinaux comme les amygdales, les yeux, la peau et le foie, induisant un influx de cellules immunitaires vers ces sites [4]. VCAM-1, dont les récepteurs sont les intégrines  $\alpha4\beta1$  et  $\alpha4\beta7$ , est plus fortement exprimée lors d'épisodes inflammatoires. Cependant, la contribution du couple  $\alpha4\beta7$ /VCAM-1 au recrutement lymphocytaire semble n'intervenir que lors d'une inflammation. Le rôle des chimiokines et de leurs récepteurs est très important. Ainsi, la liaison de CCL25 à CCR9 provoque des changements conformationnels de l'intégrine  $\alpha4\beta7$ , et le blocage de cette interaction réduit l'iléite chronique chez la souris [5].

### Blocage de l'intégrine $\alpha4\beta7$ par des anticorps monoclonaux dans les MICI

Au niveau des muqueuses, les lymphocytes  $CD4^+$  Th17 sont très abondants. Cette sous-population lymphocytaire sécrète principalement de l'IL(interleukine)-17, mais aussi de l'IL-22 et de l'IL-29 [6]. L'IL-17 stimule la production de peptides antimicrobiens et participe au maintien de l'intégrité de la barrière intestinale [7].

### Anticorps anti- $\alpha4$

Le natalizumab (Tysabri), une IgG4 monoclonale (Acm) recombinante humanisée dirigée contre  $\alpha4$ , est le premier Acm ciblant une intégrine utilisé en thérapeutique ; il a été développé et approuvé pour le traitement de la sclérose en plaques [45]. Il se fixe sur le domaine  $\alpha4$  et, ainsi, empêche la liaison entre  $\alpha4\beta7$  et MAdCAM-1 ou entre  $\alpha4\beta1$  et VCAM-1. Les premiers essais chez l'animal ont apporté une preuve directe



Compartiments	Roulement	Chimiokines et récepteurs	Adhésion : intégrines et ligands
GALT	$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1 L-sélectine-MAdCAM-1 ou PSGL-1	CCR6-CCL20 CCR7-CCL21/19 CXCR5-CXCL13 CXCR1-CX3CL1	$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1 VAP-1 $\alpha L\beta 2$ -ICAM-1
Lamina propria	$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1 $\epsilon$ -sélectine P-sélectine + PSGL-1	CCR2-CCL2/7/8 CCR5-CCL3/4/5/8 CCR6-CCL20 CCR9-CCL25 CCR10-CCL28 CXCR1-CXCL5/6/8 CXCR2-CXCL1/2/5/6 CXCR3-CXCL9/10/11 CXCR6-CXCL9/10/11 CXCR6-CXCL16 CX3CR1-CX3CL1 CCR9-CCL25	$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1 VAP-1 $\alpha 4\beta 1$ -VCAM-1 $\alpha L\beta 2$ -ICAM-1
Compartiment intraépithélial		CCR10-CCL28	$\alpha E\beta 7$ - $\epsilon$ Cadhérine-1
Côlon	$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM-1 $\epsilon$ -sélectine P-sélectine + PSGL-1 L-sélectine + PNAd	CCR3-CCL11 (UC) CCR5-CCL3/7/5/8 CCR6-CCL20 CCR10-CCL28 CXCR1-CXCL5/6/8 CXCR2-CXCL1/2/5/6 CXCR3-CXCL9/10/11 CX3CR1-CX3CL1	VAP-1 $\alpha 4\beta 1$ -VCAM-1 $\alpha L\beta 2$ -ICAM-1 $\alpha L\beta 2$ -ICAM-1

**Tableau 1. Les molécules d'adhésion impliquées dans le recrutement lymphocytaire intestinal selon les différentes sections de l'intestin.** MAdCAM-1 : mucosal cell adhesion molecule-1 ; VAP : vascular adhesion protein-1 ; PSGL-1 : P-selectin glycoprotein ligand-1 ; ICAM : intracellular adhesion molecule-1 ; VCAM-1 : vascular cell adhesion molecule-1 ; PNAd : peripheral node addressin.

de l'effet anti-adhérence du natalizumab dans l'encéphalomyélite auto-immune. Dans ces conditions, les leucocytes ne peuvent plus traverser la barrière hémato-encéphalique [10]. Les essais précliniques réalisés dans un modèle expérimental de tamarins présentant une MICI montrent l'effet anti-inflammatoire de ces Acm, avec l'observation d'une diminution des lymphocytes et des neutrophiles exprimant  $\alpha 4\beta 7$  [11]. Chez l'homme, dans des essais randomisés, 40 % des patients atteints d'une maladie de Crohn modérée à sévère répondent au natalizumab et sont en rémission, contre seulement 8 % des patients du groupe placebo [12]. Des effets indésirables très sévères peuvent cependant survenir dans de rares cas, comme une leucoencéphalopathie multifocale progressive (LEMP)<sup>1</sup> due à une réactivation neurologique du virus humain JC, membre de la famille des *Polyomaviridae*<sup>2</sup>.

D'autres essais randomisés en double aveugle réalisés chez des patients atteints de maladie de Crohn ont montré le bénéfice de ce traitement pour l'amélioration de l'index d'activité de la maladie [8, 13, 14]. Malgré son efficacité, le natalizumab n'a jamais reçu en Europe d'autorisation de mise sur le marché pour la maladie de Crohn en raison du risque de LEMP (risque 1/1000) [15]. Ces mêmes risques concernent un autre médicament administré par voie orale (l'AJM300), antagoniste de la sous-unité  $\alpha 4$  de l'intégrine, efficace chez les patients présentant une maladie de Crohn active [16].

#### Anticorps ciblant spécifiquement l'intégrine $\alpha 4\beta 7$

En restreignant son action à la migration leucocytaire intestinale, un ciblage spécifique de la sous-unité  $\beta 7$  ou de l'hétérodimère  $\alpha 4\beta 7$  pourrait améliorer la spécificité de l'Acm et diminuer théoriquement le risque de LEMP. Plusieurs Acm spécifiques de la sous-unité  $\beta 7$

<sup>1</sup> La LEMP est une infection subaiguë démyélinisante du système nerveux central.

<sup>2</sup> Le virus JC est un polyomavirus présent sous forme latente dans l'organisme de près de 80 % des adultes sains.

ou de  $\alpha 4\beta 7$ , administrés par voie intraveineuse ou sous-cutanée, ont ainsi été développés.

- Le védolizumab (MLN-02, Takeda), approuvé par la FDA (*food and drug administration*) est un Acm IgG1 humanisé dirigé spécifiquement contre l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ . MAdCAM-1 étant fortement exprimée au niveau intestinal, le védolizumab présente un certain avantage sur le natalizumab [9]. Dans l'essai initial pilote de phase II, réalisé chez 181 patients atteints de rectocolite hémorragique, les taux de rémission chez les sujets traités avec védolizumab sont significativement supérieurs à ceux du groupe de patients ayant reçu le placebo [8]. Cependant, certains patients traités par le védolizumab développent des anticorps anti-anticorps après huit semaines de traitement. Le taux de rémission chez ces patients n'est pas différent de celui du groupe placebo (12 %). Cela contraste avec le taux élevé de rémission (42 %) des patients traités par védolizumab qui ne développent pas d'anticorps contre cet Acm. Cette réponse immunologique intense chez une proportion importante de patients, associée à une efficacité thérapeutique réduite, a été mise sur le compte de la voie d'administration intraveineuse. Une autre étude de phase II, réalisée sur 185 patients, a montré une réponse significativement différente entre les groupes traités et placebo. Comme dans l'étude précédente, des anticorps anti-anticorps humains sont retrouvés chez les patients ayant reçu des doses de védolizumab de 0,5 mg/kg.

- Une nouvelle molécule, appelée AMG 181 (Amgen), est actuellement en test dans deux essais de phase I. Cet anticorps, une IgG2 spécifique de l'hétérodimère  $\alpha 4\beta 7$ , bloque la fixation de MAdCAM-1. La première étude a évalué l'innocuité d'une injection sous-cutanée de plusieurs doses d'AMG 181 chez des patients sains ou atteints de rectocolite hémorragique active. La seconde a examiné quatre doses d'AMG 181 chez des sujets sains ou atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique active. L'innocuité du produit a été établie. Des études de phase II ont commencé chez des sujets atteints de ces deux maladies<sup>3</sup>. Une autre étude a été réalisée chez le singe pour déterminer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique d'AMG 181. Ce produit reste un des meilleurs espoirs de traitement des MICI grâce à son potentiel pharmacologique, sa faible immunogénicité, sa spécificité intestinale, et son innocuité.

- L'étralizumab (rhuMAb-anti- $\beta 7$ , développé par Genentech/Roche) est un Acm IgG1 humanisé ciblant l'intégrine  $\beta 7$ . Il est dérivé d'un Ac de rat dirigé contre la molécule de la souris, nommé FIB 504, qui reconnaît l'intégrine humaine. Il inhibe la fixation de MAdCAM-1 sur  $\alpha 4\beta 7$ , mais aussi celle de la cadhérine sur  $\alpha E\beta 7$ . Cet Acm empêche donc, outre la migration lymphocytaire dans l'intestin, la rétention des lymphocytes intraépithéliaux exprimant l'intégrine  $\alpha E\beta 7$ . Plus de 95 % des lymphocytes T intra-épithéliaux expriment l'intégrine  $\alpha E\beta 7$ . Le ligand de  $\alpha E\beta 7$ , la E-cadhérine, est surexprimé dans le côlon des patients atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique. Des études précliniques ont montré l'aptitude de ces anticorps anti- $\alpha E\beta 7$  à retarder et diminuer la persistance de l'inflammation dans des modèles de colite chez la souris *IL-2<sup>-/-</sup>*. Cette diminution a été

associée à une réduction du nombre des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> de la *lamina propria* exprimant  $\alpha E\beta 7$ . Par ailleurs, l'administration chez le singe a montré une augmentation du taux de lymphocyte  $\beta 7^+$  circulants, sans effet sur les lymphocytes  $\beta 7^-$  périphériques. Cet Acm anti- $\beta 7$  semblerait donc bloquer sélectivement la migration lymphocytaire vers l'intestin, sans altérer la migration vers les autres tissus [17]. L'innocuité et la pharmacologie de l'étralizumab ont été évaluées chez 48 patients présentant une maladie de Crohn modérée à sévère, dans un essai randomisé en double aveugle de phase I. Une amélioration clinique de la maladie a été observée chez les patients traités [18]. Dans des études de phase 2, les patients présentant une rectocolite hémorragique modérée à sévère ont été traités, soit par trois doses de 100 mg/mois d'étralizumab, soit par une dose de charge de 420 mg, suivie de 3 injections de 300 mg/mois. Une rémission est survenue chez 20,5 % des patients, après 10 semaines pour le groupe traité avec 100 mg/mois d'étralizumab ; cette proportion est de 10,3 % pour le groupe ayant reçu une dose de charge puis 3 injections, et de 0 % pour le groupe placebo [19]. Cet anticorps semble être bien toléré et les études de phase III sont en cours (NCT02171429).

#### Molécules ciblant d'autres médiateurs de la migration cellulaire

Parmi ces nouvelles molécules dont certaines sont en cours de tests dans des essais cliniques, nous citerons deux Acm, dirigés contre ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) et MAdCAM-1, et un inhibiteur du récepteur CCR9. Alicaforsen (un anticorps spécifique de ICAM-1) est inefficace dans le traitement de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique. Dans un essai réalisé chez des patients atteints de maladie de Crohn active, modérée à sévère (essai PROTECT-1), l'inhibiteur du récepteur CCR9 (CCX282-B) semble avoir une efficacité clinique par rapport au placebo. PF-00547659 (développé par les laboratoires Pfizer) est un Acm IgG2 dirigé contre MAdCAM-1. Un essai multicentrique randomisé réalisé en double aveugle chez 80 patients atteints de rectocolite hémorragique active, modérée à sévère, montre des taux de réponse (évalués par endoscopie) après 4 et 12 semaines de 50 % et 42 % respectivement dans le groupe traité contre 26 % et 29 % dans le groupe placebo. Ces différences ne sont pas significatives [20]. L'innocuité du produit est actuellement évaluée dans deux essais<sup>4</sup>.

<sup>3</sup> Essais cliniques NCT01696396 (rectocolite) ou NCT01696396 (Crohn). Voir [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)

<sup>4</sup> Essais cliniques en cours dans la maladie de Crohn (NCT01276509) et la rectocolite hémorragique (NCT01620255).

## Implication de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ dans la physiopathologie du virus VIH

### Les lymphocytes T mémoires $CD4^+ \alpha 4\beta 7^+$ sont les cibles préférentielles du VIH

#### L'intégrine $\alpha 4\beta 7$ est importante pour l'infection de la muqueuse cervicale

Lors d'un rapport sexuel, la contamination par le virus de l'immuno-déficience humaine (VIH) requiert que les particules virales – libres ou associées à des cellules infectées – traversent l'épithélium muqueux. Le virus doit ensuite être véhiculé vers les nodules lymphoïdes au niveau des sites inducteurs de l'intestin [21]. Des résultats récents montrent que le VIH-1 est capable de cibler les lymphocytes T  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^+$  de la muqueuse vaginale et d'utiliser la capacité de migration de ces cellules vers les nodules lymphoïdes mésentériques et les plaques de Peyer de l'intestin. [22]. Plusieurs arguments confirment ce rôle probable des lymphocytes T exprimant  $\alpha 4\beta 7^+$  : chez le macaque, deux à quatre jours après l'infection, la quantité d'ADN *gag*<sup>5</sup> du virus de l'immuno-déficience simienne (VIS, équivalent du VIH humain chez le singe) est 5 fois plus importante dans les lymphocytes T  $CD4^+$  exprimant  $\alpha 4\beta 7$  que dans ceux qui ne l'expriment pas [23] ; on retrouve un risque accru de transmission du VIH en cas d'association avec des infections sexuellement transmissibles (comme *Chlamydia trachomatis*) qui sont associées à une augmentation des lymphocytes mémoires  $\alpha 4\beta 7^+$  [24] ; on observe des proportions élevées de lymphocytes T  $\alpha 4\beta 7^+$  (en majorité  $\alpha 4\beta 7^{\text{int}}$ ) au niveau de la muqueuse cervicale (> 25 % des LT) [25], et de lymphocytes T  $CD4^+$  activés exprimant les 2 corécepteurs du VIH (CXCR4 et CCR5) ; une sensibilité accrue des lymphocytes T  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  humains et simiens à une infection productive *in vivo*, comparée à celle des lymphocytes exprimant peu ou pas l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  est également observée [26-28]. De toute évidence, la composition du système immunitaire avant contamination influence le déroulement de l'infection, puisque chez le macaque, un fort taux de  $CD4^+$  mémoires  $\alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  dans le rectum confère une susceptibilité accrue à l'infection et à des taux de charge virale aiguë élevés.

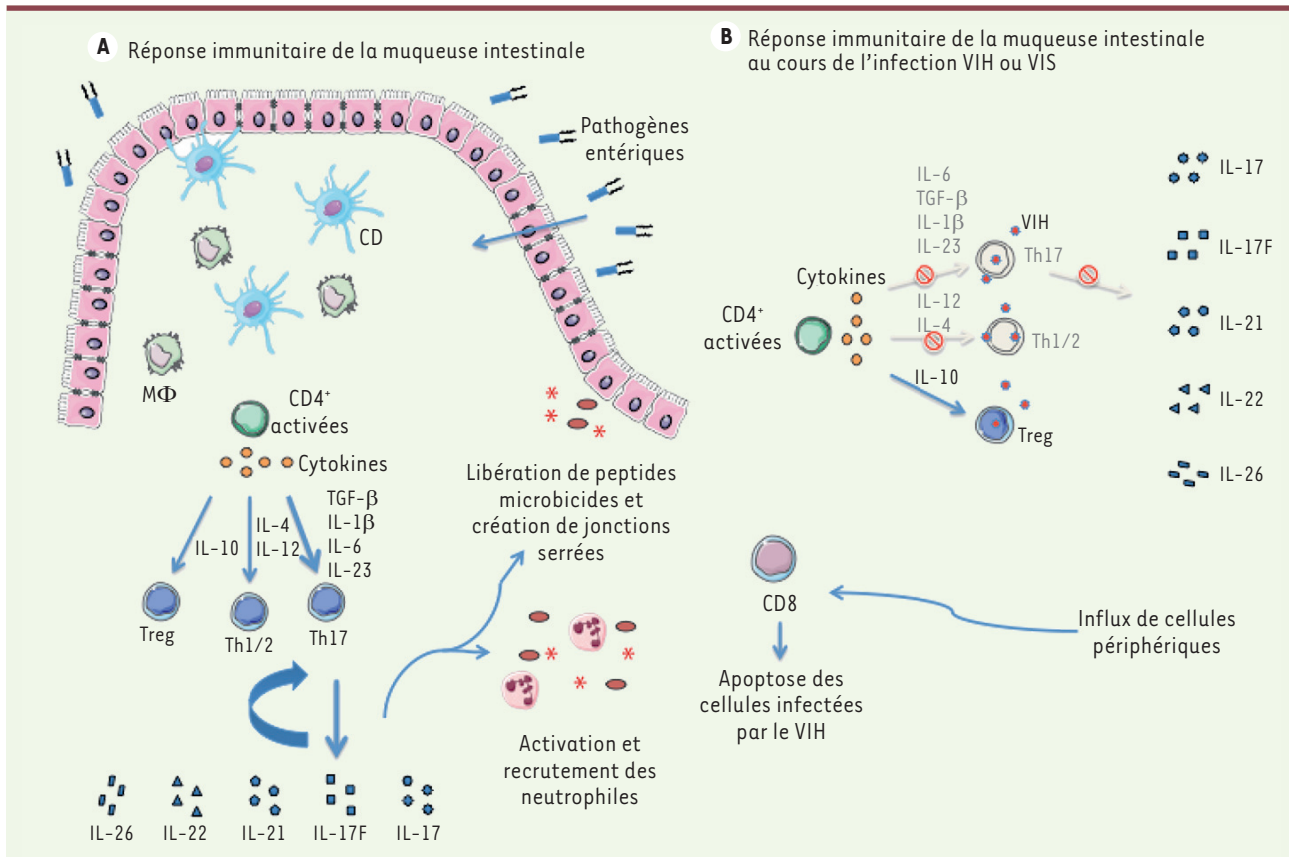
#### $\alpha 4\beta 7$ est importante pour la migration des lymphocytes $CD4^+$ Th17 vers l'intestin

Comme c'est le cas pour les lymphocytes  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^+$ , la proportion de  $CD4^+$  Th17 est plus importante au niveau du col de l'utérus qu'en périphérie (7 % vs 1,25 %). Ces cellules coexpriment les récepteurs CCR5 et  $\alpha 4\beta 7$ . Apparemment, la déplétion des lymphocytes  $CD4^+$  Th17 avant l'infection entraînerait une réduction du *ratio* Th17/Treg et des taux de charge virale plus importants à 6 mois [29]. Les lymphocytes  $CD4^+$  Th17 de la muqueuse vaginale expriment deux récepteurs de recrutement lymphocytaire intestinal, CCR6 et l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ . Les lymphocytes  $CD4^+$  CCR6<sup>+</sup>  $\beta 7^+$  semblent plus sensibles à l'infection que les cellules  $CD4^+$  CCR6<sup>-</sup>  $\beta 7^+$ , conférant à ces cellules le pouvoir de disséminer le virus dans le GALT via l'axe CCL20/CCR6 et l'interaction  $\alpha 4\beta 7$ /MadCAM-1.

#### Déplétion des populations lymphocytaires au cours de l'infection par le VIH-1

L'infection par le VIH-1 est associée à une déplétion rapide et irréversible des lymphocytes T  $CD4$  du tissu lymphoïde intestinal. Ceci entraîne des séquelles, comme l'inflammation intestinale ou des problèmes de malabsorption apparente, observées lors d'infections chroniques. Le taux de déplétion des lymphocytes T  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  dans le sang reflète celui de l'intestin. Ceci suggère que l'expression d' $\alpha 4\beta 7$  sur les lymphocytes  $CD4$  périphériques pourrait être utilisée comme marqueur afin d'évaluer le compartiment intestinal, en particulier lors d'une reconstitution lymphocytaire intestinale sous traitement. L'inoculation du SIV chez des macaques entraîne une déplétion intestinale persistante des lymphocytes T  $CD4^+$  et des lymphocytes T  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  due à une réplication virale toujours active, partiellement corrigée par le traitement. Chez certains patients positifs pour le VIH, une perturbation de l'axe CCR9-CCL25 peut exister et participer à la non-reconstitution immunitaire [30]. Les cellules  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  synthétisent les cytokines IFN $\gamma$  (interféron) et IL-17 dans un rapport proche de 2, alors qu'il est supérieur à 10 pour les  $CD4^+ \alpha 4\beta 7^-$ . La perte des lymphocytes T  $CD4^+$  Th17 et l'augmentation des lymphocytes Treg intestinaux sont associées à une activation immune intense et une translocation microbienne, indiquant une perte d'intégrité de la barrière intestinale, et à un pronostic défavorable de l'infection (Figure 2). Toutefois, chez les singes *sooty mangabeys* et les *african green monkeys*, hôtes naturels du VIS, les lymphocytes Th17 intestinaux semblent être préservés, suggérant un mécanisme dans lequel le tractus gastro-intestinal est protégé malgré la perte des lymphocytes  $CD4$  [31]. La reconstitution efficace de la barrière intestinale chez les patients infectés par le VIH et traités, est donc essentielle pour réduire l'inflammation chronique. Dans l'infection par le VIS ou le VIH, le rôle des lymphocytes T régulateurs est controversé. S'ils semblent protéger l'organisme des effets délétères de l'activation immunitaire [32], leur accroissement conduit à une progression plus rapide de la pathologie [33]. Au cours des étapes de l'infection par le VIS, les lymphocytes T  $CD8^+ \alpha 4\beta 7^{\text{fort}}$  sont conservés dans l'intestin comme dans les autres tissus. La préservation de la population de lymphocytes  $CD8^+$  est probablement due, en partie, à l'existence d'une compensation du recrutement *via*  $\alpha 4\beta 7$ . La présence de lymphocytes  $CD8^+ \alpha 4\beta 7^+$  effecteurs, anti-VIH, à proximité des lymphocytes  $CD4^+$ , permet d'avoir un contrôle de la réplication virale *in vivo*. Dans certaines structures intestinales, notamment les plaques

<sup>5</sup> Le gène *gag* code les protéines de la capsid et du *core* (p13, p18, p24) du virus VIH.



**Figure 2. Les réponses cellulaires T contre les bactéries pathogènes dans le GALT avec et sans infection par le VIH/VIS.** A. Les pathogènes entériques infectant la muqueuse intestinale induisent une activation des cellules T naïves qui se différencient préférentiellement en lymphocytes T CD4<sup>+</sup> Th17. L'activation et le recrutement des neutrophiles sont sous la dépendance de la production de cytokines par les cellules Th17. Ils induisent la libération de peptides microbicides et favorisent la création de jonctions serrées favorisant la clairance des pathogènes en limitant la dissémination bactérienne. B. La déplétion sévère des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> de la muqueuse intestinale pendant l'infection par le VIH ou le VIS est majoritairement de profil Th1 et Th17. Ceci altère la réponse immunitaire vis-à-vis des bactéries pathogènes. En revanche, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> deviennent fortement activés et induisent l'apoptose des cellules infectées. CD : cellule dendritique ; MΦ : macrophage ; VIS : virus de l'immunodéficience simienne ; TGF-β : *transforming growth factor β* ; Treg : cellules T régulatrices (adaptée de Dandekar [8]).

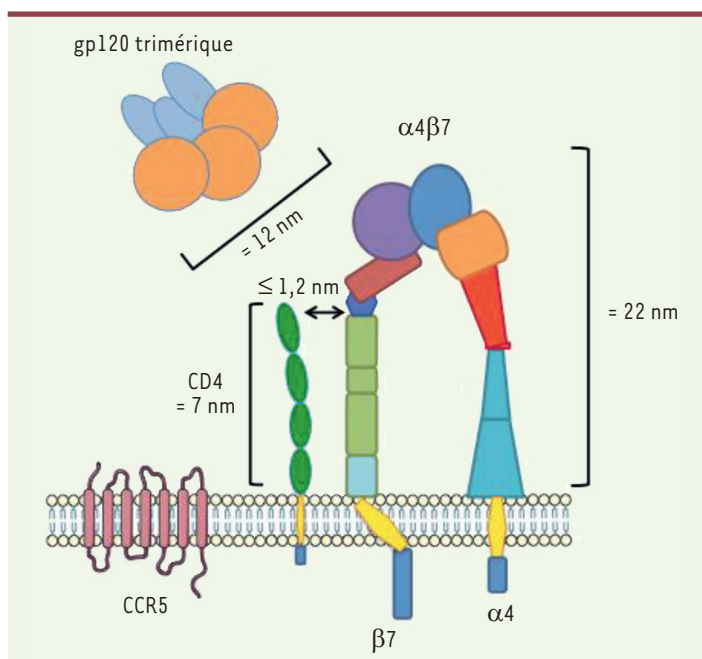
de Peyer, le recrutement des lymphocytes repose majoritairement sur l'axe CCL20/CCR6, contrairement à d'autres sites comme la *lamina propria*, où le recrutement relève de l'interaction avec  $\alpha 4\beta 7$ /MadCAM-1. Les lymphocytes CD8<sup>+</sup>  $\alpha 4\beta 7$ <sup>+</sup> expriment trop faiblement CCR6 pour pouvoir être recrutés en grand nombre dans les plaques de Peyer. Ainsi, les lymphocytes CD4<sup>+</sup> CCR6<sup>+</sup> échappent au contrôle antiviral des lymphocytes CD8<sup>+</sup>  $\alpha 4\beta 7$ <sup>+</sup> et génèrent un foyer de répllication virale active. L'ensemble de ces données démontrent un rôle important de la modulation de l'expression de cette intégrine ou de la redistribution de cette sous-population lors de l'infection [27].

### Interaction $\alpha 4\beta 7$ -gp120 au niveau moléculaire

Le VIH-1 interagit avec l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  via la gp120<sup>6</sup>, provoquant notamment une rapide activation de LFA-1 [34]. Il est important de souligner que la dissémination du virus de cellule à cellule est

beaucoup plus efficace que l'infection d'une cellule par le virion lui-même. L'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  est présente à la surface des lymphocytes au sein d'un complexe formé avec la molécule CD4, récepteur du virus, qui capture les virions (Figure 3). À la différence des récepteurs d'entrée du VIH-1 (CD4 et CCR5), l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  ne semble pas indispensable à la répllication virale *in vitro* [35]. L'interaction gp120/ $\alpha 4\beta 7$ , conservée pour les 4 sous-types majeurs du virus VIH-1, joue probablement un rôle crucial durant les phases précoces de l'infection [34]. Au niveau du virus, le site de reconnaissance se situe dans la boucle V2 de la gp120, dans la séquence peptidique Leu-Asp-Val située en positions 182-184 (séquence HXB2). Elle est structurellement semblable à celle des ligands naturels de l'intégrine [36]. L'alignement de séquence de 976 glycoprotéines gp120

<sup>6</sup> La gp120 est la glycoprotéine de l'enveloppe du VIH.



**Figure 3.** Représentation schématique du complexe  $\alpha 4\beta 7$ /CD4 et de la gp120 trimérique (adaptée de [42]).

montre une conservation, dans 98 % des cas, de l'acide aspartique en position 183, suggérant que cette interaction fournit un avantage sélectif au virus [34]. À la différence de celle du VIH-1, l'enveloppe du VIS de *sooty mangabey*<sup>7</sup> contient le tripeptide Asp-Leu-Val, mais ceci ne perturbe pas la fixation à  $\alpha 4\beta 7$ . Ainsi, le tripeptide Leu-Asp-Val, localisé dans la boucle V2 de la gp120 proche de l'apex des spicules trimériques, est placé à une position idéale pour un engagement initial avec l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  [37]. Au cours de l'infection, certains motifs de glycosylation apparaissent sur la gp120 qui masquent les épitopes reconnus par les anticorps neutralisants produits par l'hôte. Cette maturation semble également réduire l'affinité de la gp120 pour l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ .

### Signatures génétique et phénotypique du virus « transmitted/founder » et intégrine $\alpha 4\beta 7$

Lors de la transmission muqueuse du virus VIH-1, une seule population virale est sélectionnée parmi les quasi-espèces présentes dans l'inoculum infectant [36]. Une seconde sélection apparaît lors de l'étape de dissémination vers le GALT pour un seul variant nommé virus *transmitted/founder* (T/F), à partir duquel dériveront d'autres virus génétiquement différents. L'affinité préférentielle de l'enveloppe virale du virus T/F pour l' $\alpha 4\beta 7$  pourrait être l'une des caractéristiques majeures expliquant la sélection de cette souche. Peu d'enveloppes issues des souches A et C se fixent fortement à l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$ , et l'affinité de plusieurs d'entre elles diminue au cours du temps [36].

### Blocage de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ : une stratégie thérapeutique encourageante dans l'infection VIH

La capacité de bloquer la liaison de la gp120 à l' $\alpha 4\beta 7$  de certains Acm de souris dirigés contre une partie de l'hétérodimère a été évaluée en utilisant des lymphocytes CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> activés par l'acide rétinoïque (qui induit une augmentation d'expression d' $\alpha 4\beta 7$ ) et des lignées cellulaires exprimant fortement l'intégrine. Les Acm de souris HP2/1, L25 et 2B4, spécifiques de la chaîne  $\alpha 4$  humaine, inhibent la fixation de la gp120 à l'intégrine [34]. Certains entraînent un retard de la réplication virale comme en attestent des taux de p24<sup>8</sup> plus faibles 6 jours après l'infection [26]. Les épitopes contre lesquels sont dirigés ces Acm sont très proches des sites reconnus par MAd-CAM-1. L'Acm Act-1, spécifique de  $\alpha 4\beta 7$ , inhibe également la fixation de la gp120 aux cellules. Ces Acm neutralisent l'infection de cellules dendritiques et de lymphocytes CD4<sup>+</sup> exprimant  $\alpha 4\beta 7$  isolés d'explants de muqueuse vaginale, exposés au virus libre ou opsonisé par le complément [38]. Chez le macaque Rhésus, l'administration d'un Acm anti- $\alpha 4\beta 7$  juste avant ou 28 jours après une infection par le VIS, réduit considérablement la virémie et la quantité d'ADN proviral intégré dans le GALT [39]. Dans un modèle d'infection aiguë du macaque rhésus, l'injection par voie intraveineuse d'un anticorps anti- $\alpha 4\beta 7$  a permis de réduire significativement les charges virales plasmatique et intestinale tissulaire [40]. Ce traitement semble augmenter la quantité de lymphocytes CD4<sup>+</sup> naifs et mémoires dans le sang, en particulier les cellules exprimant CCR5 (*C-C chemokine receptor type 5*) [39]. Cette stratégie d'utilisation d'agents qui bloquent spécifiquement et efficacement le complexe  $\alpha 4\beta 7$  apparaît ainsi très prometteuse. Il faut néanmoins mentionner l'inefficacité d'un anticorps bloquant l'intégrine  $\alpha 4$  (Natalizumab), déjà utilisé en clinique dans le traitement de la maladie de Crohn et de la sclérose en plaques [45] (voir ci-dessus), qui a été testé pour bloquer l'infection *in vitro* de lymphocytes CD4<sup>+</sup>  $\alpha 4\beta 7$ <sup>fort</sup> par différentes souches de VIH-1 [40]. La spécificité de cet anticorps pour les lymphocytes semble cependant faible dans ces travaux. Des différences ont été observées dans l'efficacité des Acm selon que les enveloppes virales proviennent de sous-types C, T/F ou de virus chroniques. Dans des systèmes expérimentaux utilisant des pseudovirus exprimant certains gènes d'enveloppe, les anticorps anti- $\alpha 4\beta 7$  (comme Act-1) et anti- $\alpha 4$  (comme 2B4) n'inhibent ni l'infection, ni la réplication du virus, dans des lymphocytes CD4<sup>+</sup> traités par l'acide rétinoïque, bien que chaque construction de T/F et de virus chronique possède le motif tripeptidique Leu-Asp-Val et de faibles nombres

<sup>7</sup> Le VIH-2 présente une forte homologie avec le VIS infectant le singe *sooty mangabey*.

<sup>8</sup> La p24 est une protéine de l'enveloppe du VIH utilisée en diagnostic. C'est un marqueur de la réplication virale.

de PNG (*potential N-glycosylation* [PNG] sites) dans les régions V1/V2 de la gp120, qui sont toutes les deux nécessaires à la bonne fixation de cette dernière à  $\alpha 4\beta 7$ . L'explication viendrait de la capacité qu'ont les Acm (Act-1 et 2B4) à induire la formation d'agrégats cellulaires qui favorisent la production virale et la dissémination du virus de cellule à cellule [41].

## Conclusions

Une des stratégies thérapeutiques utilisée à ce jour pour réduire l'inflammation intestinale observée dans les MICI consiste à réduire le trafic immunitaire au niveau du GALT. Plusieurs antagonistes de l'intégrine  $\alpha 4\beta 7$  sont utilisés dans le traitement de la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique. Dans le contexte de l'infection par le VIH, ces antagonistes peuvent également bloquer l'interaction entre la protéine d'enveloppe virale gp120 et l' $\alpha 4\beta 7$ . Ceci permet d'envisager d'utiliser ces molécules dans une approche soit prophylactique, soit curative chez des patients infectés par ce virus [7]. ♦

## SUMMARY

### Targeting and role of $\alpha 4\beta 7$ integrin in the pathophysiology of IBD and HIV infection

Integrins are a large family of heterodimeric cell adhesion molecules that are key regulators in multiple biological functions. They orchestrate cell-cell and cell-extracellular matrix (ECM) adhesive interactions from embryonic development to mature tissue function, and are thus involved in cell migration, proliferation, differentiation, and survival. As such, they are also involved in human diseases, such as thrombotic diseases, inflammation, cancer, fibrosis and infectious diseases. Integrins are exciting pharmacological targets because they are exposed on the cell surface. Indeed, several compounds have been developed that block integrins function, and five have been approved as therapeutic drugs for use in clinic. This review will detail the role of  $\alpha 4\beta 7$ , an integrin of particular relevance for mucosal diseases such as IBD (inflammatory bowel disease) and also, as reported more recently, HIV infection. ♦

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## REMERCIEMENTS

A. Girard a été financé par une allocation de recherche doctorale de la région Rhône-Alpes (France). Les travaux ont été soutenus par des bourses de recherche provenant de la région Rhône-Alpes, l'Agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales (ANRS), et Sidaction.

## RÉFÉRENCES

- Butcher EC, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996 ; 272 : 60-6.
- Briskin M, Winsor-Hines D, Shyjan A, et al. Human mucosal addressin cell adhesion molecule-1 is preferentially expressed in intestinal tract and associated lymphoid tissue. *Am J Pathol* 1997 ; 151 : 97-110.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002 ; 420 : 846-52.
- Adams DH, Eksteen B. Aberrant homing of mucosal T cells and extra-intestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2006 ; 6 : 244-51.
- Rivera-Nieves J, Olson T, Bamias G, et al. L-selectin, alpha 4 beta 1, and alpha 4 beta 7 integrins participate in CD4<sup>+</sup> T cell recruitment to chronically inflamed small intestine. *J Immunol* 2005 ; 174 : 2343-52.
- Leung-Theung-Long S, Guerdier S. Les cellules Th17, une nouvelle population de cellules T CD4 effectrices pro-inflammatoires. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 972-6.
- Dandekar S, George MD, Baumler AJ. Th17 cells, HIV and the gut mucosal barrier. *Curr Opin HIV AIDS* 2010 ; 5 : 173-8.
- Feagan BG, Greenberg GR, Wild G, et al. Treatment of ulcerative colitis with a humanized antibody to the alpha4beta7 integrin. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 2499-507.
- Soler D, Chapman T, Yang LL, et al. The binding specificity and selective antagonism of vedolizumab, an anti-alpha4beta7 integrin therapeutic antibody in development for inflammatory bowel diseases. *J Pharmacol Exp Ther* 2009 ; 330 : 864-75.
- Yednock TA, Cannon C, Fritz LC, et al. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against alpha 4 beta 1 integrin. *Nature* 1992 ; 356 : 63-6.
- Hesterberg PE, Winsor-Hines D, Briskin MJ, et al. Rapid resolution of chronic colitis in the cotton-top tamarin with an antibody to a gut-homing integrin alpha 4 beta 7. *Gastroenterology* 1996 ; 111 : 1373-80.
- Ghosh S, Goldin E, Gordon FH, et al. Natalizumab for active Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 24-32.
- Targan SR, Feagan BG, Fedorak RN, et al. Natalizumab for the treatment of active Crohn's disease: results of the ENCORE Trial. *Gastroenterology* 2007 ; 132 : 1672-83.
- Sandborn WJ, Colombel JF, Enns R, et al. Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2005 ; 353 : 1912-25.
- Louapre C, Maillart E, Papeix C, Lubetzki C. Nouveautés thérapeutiques et stratégies émergentes dans la sclérose en plaques. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 1105-10.
- Takazoe M, Watanabe M, Kawaguchi T, et al. S1066 oral alpha-4 integrin inhibitor (AJM300) in patients with active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2009 ; 136 : A-181.
- Stefanich EG, Danilenko DM, Wang H, et al. A humanized monoclonal antibody targeting the beta7 integrin selectively blocks intestinal homing of T lymphocytes. *Br J Pharmacol* 2011 ; 162 : 1855-70.
- Rutgeerts PJ, Fedorak RN, Hommes DW, et al. A randomised phase I study of etrolizumab (rhuMAB beta7) in moderate to severe ulcerative colitis. *Gut* 2013 ; 62 : 1122-30.
- Vermeire S, O'Byrne S, Keir M, et al. Etrolizumab as induction therapy for ulcerative colitis: a randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2014 ; 384 : 309-18.
- Vermeire S, Ghosh S, Panes J, et al. The mucosal addressin cell adhesion molecule antibody PF-00547,659 in ulcerative colitis: a randomised study. *Gut* 2011 ; 60 : 1068-75.
- Haase AT. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. *Nature* 2010 ; 464 : 217-23.
- Haase AT. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu Rev Med* 2011 ; 62 : 127-39.
- Kader M, Wang X, Piatak M, et al. Alpha4\*beta7(hi)CD4<sup>+</sup> memory T cells harbor most Th-17 cells and are preferentially infected during acute SIV infection. *Mucosal Immunol* 2009 ; 2 : 439-49.
- Kelly KA, Wiley D, Wiesmeier E, et al. The combination of the gastrointestinal integrin (alpha4beta7) and selectin ligand enhances T-cell migration to the reproductive tract during infection with Chlamydia trachomatis. *Am J Reprod Immunol* 2009 ; 61 : 446-52.
- Farstad IN, Halstensen TS, Lien B, et al. Distribution of beta 7 integrins in human intestinal mucosa and organized gut-associated lymphoid tissue. *Immunology* 1996 ; 89 : 227-37.
- Cicala C, Martinelli E, McNally JP, et al. The integrin alpha4beta7 forms a complex with cell-surface CD4 and defines a T-cell subset that is highly susceptible to infection by HIV-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 20877-82.
- Reeves RK, Evans TI, Gillis J, Johnson RP. Simian immunodeficiency virus infection induces expansion of alpha4beta7<sup>+</sup> and cytotoxic CD56<sup>+</sup> NK cells. *J Virol* 2010 ; 84 : 8959-63.
- Wang X, Xu H, Gill AF, et al. Monitoring alpha4beta7 integrin expression on circulating CD4<sup>+</sup> T cells as a surrogate marker for tracking intestinal CD4<sup>+</sup> T-cell loss in SIV infection. *Mucosal Immunol* 2009 ; 2 : 518-26.

