

« Rajeunissement » des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH chez les personnes infectées et sous traitement antirétroviral de longue durée

Eoghann White, Victor Appay

Université de Bordeaux, CNRS UMR 5164,
Inserm ERL 1303, ImmunoConcEpT,
Bordeaux, France.

victor.appay@immuconcept.org

Le traitement antirétroviral a révolutionné la prise en charge des personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) en inhibant la réplication virale et en empêchant le développement du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Cependant, en dépit de son efficacité, le traitement ne parvient pas à éliminer le virus, qui persiste dans l'organisme sous forme latente. L'existence même de ce réservoir de virus constitue un obstacle majeur à la guérison des individus infectés, ce qui représente le grand défi de la recherche contre le VIH. Cet objectif ambitieux nécessitera soit la suppression complète du réservoir, soit sa réduction suffisante pour pouvoir vivre avec le VIH sans traitement antirétroviral. Les lymphocytes T CD8⁺, qui jouent un rôle crucial dans le contrôle de l'infection par le VIH, seront essentiels pour atteindre cet objectif. Certaines approches thérapeutiques, comme la stratégie « *shock and kill* »¹, visent à éradiquer le réservoir latent en exploitant la capacité de ces lymphocytes à cibler et détruire spécifiquement les cellules infectées. Cependant, au cours de l'infection par le VIH, en l'ab-

sence de traitement antirétroviral, les fonctions effectrices des lymphocytes T CD8⁺ se détériorent, avec notamment une réduction de leur capacité de prolifération et de leur potentiel cytotoxique, ce qui limite leur capacité à contrôler l'infection. Même l'introduction du traitement antirétroviral en phase d'infection chronique ne permet pas de normaliser leurs fonctions effectrices : la capacité de prolifération ainsi que la production de cytokines et molécules lytiques après stimulation par des antigènes de VIH restent en effet sous-optimales [1]. Pour comprendre dans quelle mesure il serait possible d'améliorer la fonctionnalité des lymphocytes T CD8⁺ dans ce contexte, il importait d'évaluer leur potentiel à contrôler l'infection à long terme, après plusieurs années de traitement antirétroviral. Cela importait d'autant plus que l'espérance de vie des personnes vivant avec le VIH sous traitement est aujourd'hui proche de celle de la population générale, et que le vieillissement s'accompagne physiologiquement d'une perte progressive des fonctions immunitaires (immunosénescence).

Nous avons étudié les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du virus VIH-1 chez onze individus de la cohorte IMMUNOCO (mise en place à l'hôpital de la Salpêtrière à Paris), constituée de personnes vivant avec le VIH, traitées par antirétroviraux, avec un suivi médical de l'infection durant plus de 25 ans [2].

L'objectif était de déterminer le potentiel de ces lymphocytes à contrôler la réplication virale. Les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 ont ainsi été caractérisés par cytométrie en flux pour évaluer leurs niveaux d'activation, de différenciation et de sénescence. La technique de *single cell RNA sequencing* (scRNAseq) a également été utilisée sur les échantillons de quatre individus pour évaluer les propriétés et la composition clonotypique (par séquençage des ARN messagers codant les chaînes α et β du récepteur des lymphocytes T) de la réponse lymphocytaire T CD8⁺ spécifique du VIH-1 [2].

Étonnamment, au lieu de marqueurs de sénescence et d'épuisement, les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 de ces individus, après de nombreuses années de traitement antirétroviral, présentaient des caractéristiques associées à la différenciation précoce et à la capacité d'une cellule d'assurer son propre renouvellement (*i.e.* « caractère souche », ou « *stemness* » en anglais) [2]. Ces lymphocytes étaient en effet caractérisés par une expression réduite des marqueurs CD38 et CD57 ainsi qu'une expression accrue de CD28, indicateurs d'un profil moins activé, moins sénéscent et moins différencié. Ce profil est similaire à celui des lymphocytes T CD8⁺ de personnes infectées par le virus VIH-2, connu pour sa capacité à induire des réponses robustes de ces lymphocytes en cas d'infection. Rappelons que CD28 est

¹ La stratégie « *shock and kill* » repose sur deux étapes successives. Dans la phase « *shock* », des « agents de réversion de la latence » (*latency-reversing agents*) interrompent la latence des provirus intégrés, ce qui induit la production de protéines virales et de virions par les cellules du réservoir. Dans la phase « *kill* », les cellules du réservoir réactivées sont éliminées, soit directement par les effets cytopathiques du virus, soit par des mécanismes cytotoxiques faisant intervenir les lymphocytes T CD8⁺ et les cellules NK (*Natural killer*).



un récepteur de costimulation majeur des lymphocytes T, requis pour leur activation optimale après reconnaissance de l'antigène ainsi que pour leur prolifération et leur survie [3], et que sa perte constitue un marqueur du vieillissement des lymphocytes T CD8⁺ [4, 5]. À l'échelle transcriptomique, les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du virus de ces individus traités depuis longtemps avaient un profil d'expression génique associé à des marqueurs de différenciation précoce (*IL7R*, *GZMK*, *SELL*, *CCR7*) [2]. Ces lymphocytes exprimaient également *TCF7*, qui code le facteur de transcription TCF-1 impliqué dans la différenciation et la persistance des lymphocytes T CD8⁺ à mémoire, et dont l'expression est associée à la « *stemness* » et considérée comme essentielle pour l'efficacité des réponses anti-virales ou anti-tumorales des lymphocytes T CD8⁺ [6]. Ces lymphocytes avaient également une bonne capacité à proliférer et à produire des molécules cytolytiques après stimulation *in vitro* par des peptides viraux. Un tel profil phénotypique et transcriptomique des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1, associé à de bonnes fonctions effectrices, était donc évocateur d'un « rajeunissement » de ces lymphocytes (Figure 1).

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer un tel « rajeunissement ». Nous avons d'abord supposé que l'apparition de mutations du VIH-1 pourrait induire de nouvelles réponses des lymphocytes T CD8⁺ (Figure 2A). Les génomes du VIH-1 des quatre individus de la cohorte IMMUNOCO, pour lesquels le séquençage des transcrits lymphocytaires avait été réalisé, ont été séquencés à partir de l'ADN extrait de prélèvements sanguins recueillis au cours des 25 années de suivi. Cependant, cette analyse n'a pas révélé de modifications évidentes des régions épitopiques reconnues par ces lymphocytes [2]. Nous avons ensuite supposé que les caractéristiques de ces lymphocytes constatées après plusieurs années de traitement antirétroviral pourraient résulter d'une dédifférenciation de cel-

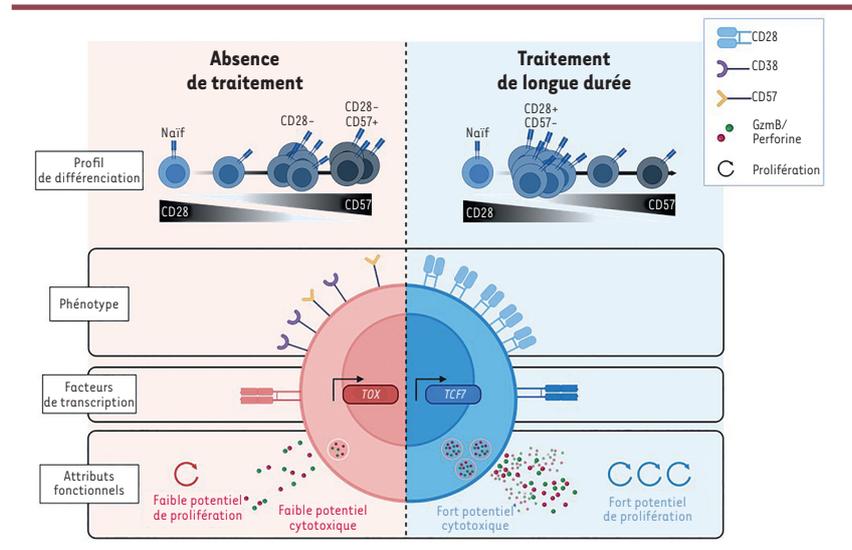


Figure 1. Évolution phénotypique, transcriptomique et fonctionnelle des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 après un traitement antirétroviral de longue durée. En l'absence de traitement, les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 présentent un profil phénotypique associé à l'activation et à la différenciation tardive, marqué par une forte expression de CD38 et CD57 et une faible expression de CD28. Ce profil est associé au facteur de transcription TOX, et s'accompagne de fonctions effectrices sous-optimales. En revanche, après de nombreuses années de traitement antirétroviral, les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 présentent un profil de différenciation précoce, caractérisé par une forte expression du récepteur co-stimulateur CD28 et du facteur de transcription TCF-1, couramment associé au « caractère souche » (*stemness*) des lymphocytes T CD8⁺. Ces modifications phénotypiques et transcriptomiques sont également associées à une meilleure capacité à exercer des fonctions effectrices.

lules épuisées et très différenciées en cellules présentant des caractéristiques de « *stemness* » (Figure 2B). Cependant, plusieurs arguments s'opposent à la validité de cette hypothèse. Premièrement, conformément au modèle de différenciation linéaire des lymphocytes, les cellules très différenciées tendent à mourir par apoptose et ne se dédifférencient pas pour produire des réponses mémoire fonctionnelles [7]. Deuxièmement, l'épuisement des lymphocytes T CD8⁺ constaté dans les infections chroniques, comme l'est l'infection par le VIH-1, est marqué par des modifications épigénétiques irréversibles, qui persistent même après le retrait de l'antigène [8]. En d'autres termes, passé un certain stade, l'épuisement des lymphocytes T CD8⁺ devient irréversible.

D'où notre dernière hypothèse : les caractéristiques de « *stemness* » des lymphocytes T CD8⁺ constatées après

un traitement antirétroviral prolongé seraient associées à l'expansion de nouveaux lymphocytes de même spécificité antigénique (Figure 2C). Malgré le nombre limité d'individus et de cellules étudiées, la caractérisation simultanée du récepteur des lymphocytes T et du transcriptome de ces cellules a permis de valider cette hypothèse. Les résultats indiquent que le profil de rajeunissement constaté résulte de l'apparition et de l'expansion de nouveaux clones, marquée par un profil de différenciation précoce, avec une expression accrue de CD28 et TCF-1 [2]. Il est probable que les clones les plus anciens, présents dans les premières années du suivi médical des individus de cette cohorte et présentant un profil différencié et épuisé, aient graduellement disparu pour être remplacés par ces nouveaux clones aux meilleurs attributs fonctionnels. C'est un processus de succession clonale, dans

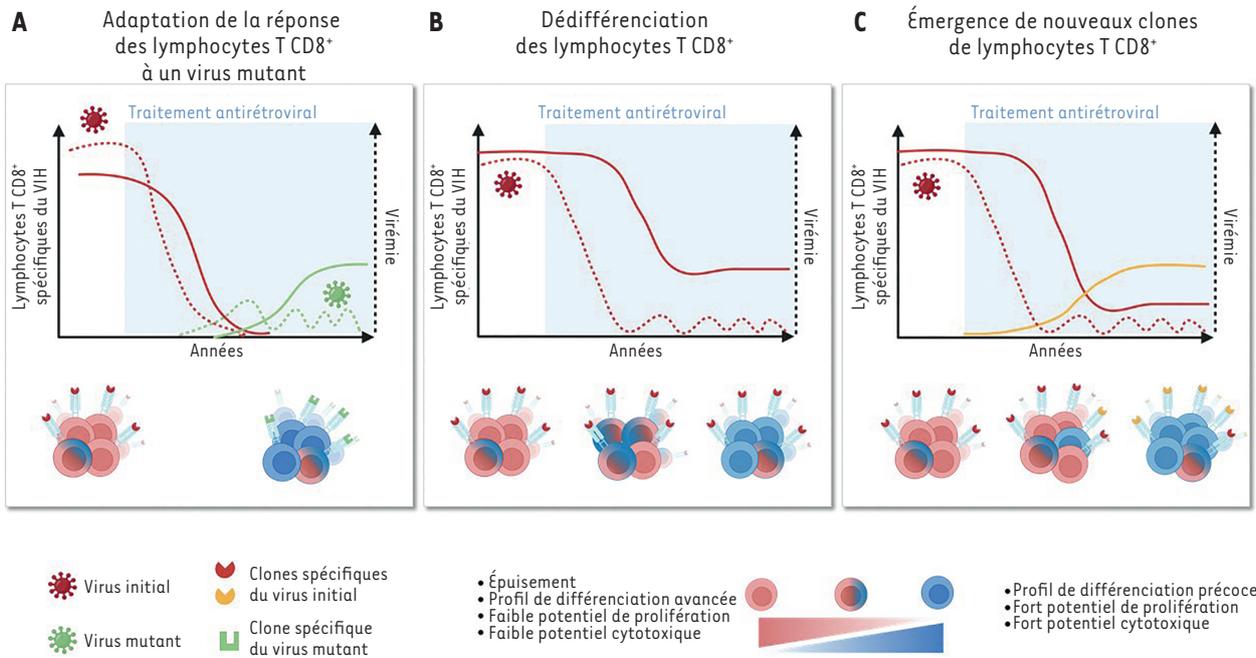


Figure 2. Trois hypothèses pour expliquer le rajeunissement apparent des lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du VIH-1 après un traitement antirétroviral prolongé. **A. Adaptation de la réponse des lymphocytes T CD8⁺ à un virus mutant.** Le variant initial du VIH-1 (trait pointillé rouge) est remplacé par un nouveau variant (trait pointillé vert) consécutif à l'apparition d'une mutation au site antigénique. Les lymphocytes T CD8⁺ reconnaissant le variant initial (trait plein rouge) disparaissent progressivement, et sont remplacés par de nouveaux lymphocytes (trait plein vert) reconnaissant le nouveau variant et présentant un profil de différenciation précoce et de meilleures fonctions effectrices. **B. Dédifférenciation des lymphocytes T CD8⁺.** La population virale reste stable au cours de l'infection chronique (trait pointillé rouge). Les lymphocytes T CD8⁺ qui reconnaissent le variant initial sont maintenus. Ces lymphocytes se dédifférencient pour acquérir un profil de « stemness » ainsi que de meilleures fonctions effectrices. **C. Émergence de nouveaux clones de lymphocytes T CD8⁺.** La population virale reste stable au cours de l'infection chronique (trait pointillé rouge). En revanche, les lymphocytes T CD8⁺ présents au début de l'infection, qui présentent des caractéristiques associées à l'épuisement (trait plein rouge), disparaissent progressivement, et sont remplacés par des nouveaux clones (trait plein jaune) présentant des caractéristiques associées à la « stemness ».

lequel le traitement antirétroviral à long terme joue vraisemblablement un rôle clé. Ce traitement ne bloque pas complètement la réplication virale, car la pénétration des molécules antirétrovirales n'est pas optimale dans certains tissus lymphoïdes [9]. Cela conduit à un environnement avec une charge antigénique très faible, mais qui, dans un contexte de reconstitution efficace du système immunitaire grâce au traitement antirétroviral, peut être favorable à l'induction de nouvelles réponses des lymphocytes T CD8⁺ et à la formation d'une réponse mémoire fonctionnelle, présentant des propriétés liées à la « stemness ».

La capacité des personnes vivant avec le VIH et sous traitement antirétroviral depuis de nombreuses années à induire

de nouvelles réponses lymphocytaires est un constat encourageant. Les connaissances actuelles indiquent en effet une diminution significative des ressources immunitaires des individus infectés du fait d'une sollicitation chronique du système immunitaire et de son épuisement progressif. L'altération de l'architecture du thymus et la contraction des compartiments de cellules lymphocytaires naïves et de progéniteurs hématopoïétiques (CD34⁺) sont autant de facteurs qui limitent la capacité des personnes vivant avec le VIH à induire de nouvelles réponses immunitaires [10-12]. De plus, le vieillissement immunitaire lié à l'âge s'ajoute aux effets de l'infection, réduisant encore cette capacité. L'expansion de nouveaux clones de lymphocytes T

dirigés contre le virus, à un moment donné de l'infection chronique, témoigne de la forte capacité de résilience du système immunitaire, même chez des individus âgés, après plusieurs décennies d'infection par le VIH.

Il convient toutefois de mentionner certaines limites de cette étude. Tout d'abord, le faible nombre d'individus étudiés implique de confirmer si le profil lymphocytaire que nous avons mis en évidence est représentatif d'une majorité de personnes vivant avec le VIH, ou s'il concerne principalement un petit nombre d'individus ayant réussi à maintenir des ressources immunitaires suffisantes pour induire de nouvelles réponses malgré la durée de l'infection. Ensuite, ce constat de nouveaux

clones de lymphocytes T CD8⁺ avec des caractéristiques évocatrices de « *stemness* » après plusieurs décennies d'infection traitée, bien qu'encourageant, ne constitue pas en soi la solution pour éradiquer le réservoir, ou même pour une guérison fonctionnelle, c'est-à-dire la possibilité d'interrompre le traitement antirétroviral, car plusieurs limitations subsistent. La fréquence des nouveaux clones de lymphocytes est faible, ce qui signifie qu'en cas d'interruption du traitement antirétroviral, ces nouveaux clones auront probablement un impact limité sur le contrôle de la réplication virale. De plus, ces nouveaux clones se trouveraient alors dans le même environnement qui a poussé les anciens clones vers la différenciation terminale et l'épuisement, et subiraient donc vraisemblablement le même sort en l'absence de reprise du traitement. Néanmoins, l'existence même de ces nouveaux clones offre une opportunité

pour une stratégie intégrative plus large de « *shock and kill* », utilisant le potentiel de ces cellules afin de les étendre et d'amplifier leurs fonctions effectrices pour cibler le réservoir de virus, et ainsi, à terme, permettre la guérison fonctionnelle des individus infectés. ♦

Rejuvenation of CD8⁺ T cell responses in long-term treated people with HIV

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Migueles SA, Weeks KA, Nou E, et al. Defective human immunodeficiency virus-specific CD8⁺ T-cell polyfunctionality, proliferation, and cytotoxicity are not restored by antiretroviral therapy. *J Virol* 2009 ; 83 : 11876-89.
- White E, Papagno L, Samri A, et al. Clonal succession after prolonged antiretroviral therapy rejuvenates CD8⁺ T cell responses against HIV-1. *Nat Immunol* 2024 ; 25 : 1555-64.
- Weng N-P, Akbar AN, Goronzy J. CD28⁺ T cells : their role in the age-associated decline of immune function. *Trends Immunol* 2009 ; 30 : 306-12.
- Effros RB, Allsopp R, Chiu CP, et al. Shortened telomeres in the expanded CD28-CD8⁺ cell subset in HIV disease implicate replicative senescence in HIV pathogenesis. *AIDS Lond Engl* 1996 ; 10 : F17-22.
- Vallejo AN, Bryl E, Klarskov K, et al. Molecular basis for the loss of CD28 expression in senescent T cells. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 46940-9.
- Zehn D, Thimme R, Lugli E, et al. 'Stem-like' precursors are the fount to sustain persistent CD8⁺ T cell responses. *Nat Immunol* 2022 ; 23 : 836-47.
- Henning AN, Roychoudhuri R, Restifo NP. Epigenetic control of CD8⁺ T cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2018 ; 18 : 340-56.
- Youngblood B, Noto A, Porichis F, et al. Cutting edge : Prolonged exposure to HIV reinforces a poised epigenetic program for PD-1 expression in virus-specific CD8 T cells. *J Immunol Baltim Md 1950* 2013 ; 191 : 540-4.
- Fletcher CV, Staskus K, Wietgreffe SW, et al. Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; 111 : 2307-12.
- Appay V, Kelleher AD. Immune activation and immune aging in HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS* 2016 ; 11 : 242-9.
- Babu H, Ambikan AT, Gabriel EE, et al. Systemic inflammation and the increased risk of inflamm-aging and age-associated diseases in people living with HIV on long term suppressive antiretroviral therapy. *Front Immunol* 2019 ; 10 : 1965.
- Lagathu C, Cossarizza A, Béréziat V, et al. Basic science and pathogenesis of ageing with HIV : potential mechanisms and biomarkers. *AIDS Lond Engl* 2017 ; 31 (suppl 2) : S105-9.