

Approches thérapeutiques ciblant les réservoirs VIH

Therapeutic approaches targeting HIV reservoirs

Antoine Cheret^{1,2,3,4}

¹ Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Bicêtre, Service de médecine Interne,

Le Kremlin-Bicêtre, France

² Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

³ Inserm, U1016, Institut Cochin, Paris, France

⁴ CNRS, UMR8104, Paris, France

Résumé. L'établissement d'une infection latente dans des cellules à vie longue constitue le principal obstacle à la guérison du VIH ou à une rémission durable en l'absence de traitement antirétroviral. Les stratégies thérapeutiques les plus développées actuellement dans des essais cliniques ciblant les réservoirs sont basées majoritairement sur le concept du *shock and kill*. Elles comprennent des agents de réversion de la latence (LRA) pour réactiver la transcription du VIH, qui peuvent être associés à des traitements immunomodulateurs. L'objectif est d'éliminer les cellules productrices de virus afin d'induire le contrôle de la réplication du VIH, après interruption du traitement antirétroviral. Les cellules réservoirs VIH et les cellules cancéreuses présentent un certain nombre de points communs. Elles peuvent échapper au système immunitaire et persister en surexprimant des molécules de survie. Cette revue présente une synthèse des approches thérapeutiques en cours d'évaluation, ainsi que les perspectives en lien avec le champ de la cancérologie.

Mots clés : réservoir VIH, *shock and kill*, agents de réversion de la latence, essais cliniques, éradication virale, rémission

Abstract. The establishment of latent infection in long-lived cells is the main obstacle to HIV cure or sustained remission without antiretroviral therapy. The most developed therapeutic strategies, in current clinical trials are mainly based on the concept of "shock and kill". They include latency reversing agents (LRAs) to re-activate HIV transcription that can be associated with immunomodulatory treatments. The objective is to eliminate virus-producing cells or to induce the control of HIV after anti-retroviral therapy cessation. HIV reservoir or cancer cells have a number of mechanisms in common. They can escape the immune system and persist by overexpressing survival molecules. This review presents a synthesis of current therapeutic approaches as well as the therapeutic perspectives related to the field of oncology.

Key words: HIV reservoir, shock and kill, latency reversing agents, clinical trials, viral eradication, remission

Introduction

Les recherches menées au cours de la dernière décennie ont permis de mieux comprendre comment et où le VIH persiste chez les patients recevant un traitement antirétroviral efficace. Les traitements antirétroviraux (ARV) inhibent considérablement la réplication virale mais n'éliminent pas

les cellules infectées par le VIH. Le virus persiste dans les réservoirs cellulaires et anatomiques durant toute la vie des personnes infectées, y compris quand elles sont traitées tôt par ARV [1]. Les traitements ARV doivent donc être pris à vie. Même si leur tolérance et la facilité de prise se sont considérablement améliorées, la question de l'éradication, voire de la rémission, est désormais importante à explorer, d'autant que plusieurs approches sont en développement.

Deux mécanismes principaux contribuent à la persistance du VIH chez des patients recevant un traitement ARV. Premièrement, le VIH peut encore se répliquer à de faibles

Correspondance : A. Cheret
<antoine.cheret@aphp.fr>

doi:10.1684/vir.2019.0736

niveaux dans des réservoirs anatomiques dans lesquels la diffusion des ARV est faible alors que leur niveau d'infection est élevé [2]. Deuxièmement, la création d'un pool de lymphocytes mémoires à vie longue, infectés de manière latente dès le début de l'infection, fournit au virus une niche cellulaire qui assure son maintien pendant des décennies, du fait des bonnes capacités prolifératives lymphocytaires [3]. Plusieurs études ont mis en évidence le fait que la persistance du VIH et l'inflammation résiduelle sont interdépendantes. En effet, l'inflammation observée à bas niveau chez la majorité des patients sous ARV peut contribuer au maintien d'un réservoir stable du VIH en favorisant les deux mécanismes de persistance susmentionnés [4, 5]. De plus, très récemment, il a été mis en évidence que le niveau d'activité métabolique des cellules était un facteur déterminant dans la réplication virale et l'établissement du réservoir viral [6]. Les objectifs envisagés en agissant sur ces différents mécanismes sont soit d'éradiquer l'infection virale en éliminant toutes les cellules infectées, y compris dans les tissus profonds (c'est-à-dire purger le réservoir), soit au contraire induire un blocage complet de la latence. Par ailleurs, la rémission de l'infection, définie par un contrôle de la réplication virale en l'absence d'ARV, est bien observée chez les patients VISCONTI qui ont un niveau de réservoir particulièrement bas. Elle implique sans doute des mécanismes de contrôle immunitaire suggérant la possibilité de combiner plusieurs approches thérapeutiques et immunologiques. Les principaux essais cliniques en cours ou à venir dans le champ de l'éradication du VIH sont présentés dans ce chapitre et résumés dans le *tableau 1*.

Les agents de réversion de la latence virale

Différentes approches thérapeutiques visant à réduire la population de cellules infectées de manière latente sont étudiées dans le cadre d'études pilotes à petite échelle ou d'études *in vitro*. Ces approches ciblent différents mécanismes de contrôle de la latence virale [7, 8]. Plusieurs essais ont montré qu'il était possible d'influer sur la latence du VIH en utilisant des agents de réversion de la latence virale (LRA), chez des patients sous traitement antirétroviral suppressif, pour induire l'élimination des cellules productrices de virus [9]. Ces agents, dont l'efficacité a été démontrée dans plusieurs études dans la lutte contre certains cancers [10], sont utilisés dans une stratégie de *shock and kill*. Cette approche, qui vise à diminuer le nombre de cellules infectées latentes après activation de la transcription du VIH (*shock*) par les LRA, semble être la plus prometteuse. Cela permettrait aux cellules d'être éliminées en partie par mort cellulaire et suite aux effets cytopathiques

indirects du virus et à l'action du système immunitaire de l'hôte (*kill*). Le maintien d'un traitement antirétroviral dans cette stratégie, empêchant l'infection de nouvelles cellules, aurait pour bénéfice de limiter l'activation et l'épuisement immunitaire.

Modulation épigénétique du promoteur

Inhibiteurs d'histone déacétylase

Les premiers agents étudiés, les inhibiteurs d'histone déacétylase (HDACi), peuvent agir au niveau épigénétique en augmentant l'acétylation des histones du promoteur du VIH, afin de faciliter la transcription virale. De nombreux HDACi ont été testés comme le vorinostat, le panabinostat et la romidepsin, selon plusieurs schémas thérapeutiques en dose unique, multiple ou en continu sur de courtes durées. Dans ces études, les HDACi ont permis une augmentation des ARN VIH non épissés associés aux cellules dans les lymphocytes T CD4, y compris quiescents, mais de façon insuffisante pour réduire le nombre de cellules infectées [11-14]. L'une des principales préoccupations concernant les HDACi est leur mauvaise tolérance, du fait d'effets délétères importants, associée à une altération prolongée de l'expression des gènes de l'hôte [11] et à la suppression des réponses lymphocytaires T spécifiques du VIH et des fonctions des *natural killer* (NK) [15, 16]. Entinostat et givinostat, deux HDACi de classe 1, présentent une puissante activité de réversion de la latence du VIH *ex vivo* ; cependant, ces inhibiteurs n'ont pas encore fait l'objet d'essais cliniques [17, 18].

Inhibiteurs d'histones méthyl transférase

Une autre classe de LRA est représentée par les inhibiteurs d'histones méthyl transférase (chaetocin et BIX-01294). Ces agents, comme l'AZA-CdR (*DNA cytosine demethylation agent 5-aza-2-deoxycytidine*), affectent la méthylation des histones pour stimuler la transcription d'une manière s'apparentant aux inhibiteurs de la déacétylase. En effet, sur le plan épigénétique, il est connu que la méthylation de l'ADN et la déacétylation de l'histone coopèrent pour établir et maintenir un environnement de type hétérochromatine. Il a été démontré que la latence du VIH pouvait être révertée *in vitro* et/ou *ex vivo* par ces agents [19-21]. L'équipe du professeur C. van Lint a mis en évidence *in vitro* et *ex vivo* pour la première fois, qu'en plus de l'aspect combinatoire, l'aspect séquentiel de l'administration de romidepsine (HDACi) et de décitabine (5-AZA-CdR, inhibiteur de méthylation) agissait en synergie pour favoriser la transcription virale par réversion de la latence et pourrait être essentiel pour les stratégies de purge visant à réduire la taille du réservoir [22]. L'essai de phase I/II ANRS 171 SYNACTHIV a pour objectif principal d'évaluer la tolérance d'un traitement combiné et séquentiel de ces

Tableau 1 Principaux essais cliniques « HIV CURE » en cours et à venir.

| Identifiant | Titre de l'étude | Statut |
|---|---|------------------------|
| <i>LRA (agents de réversion de la latence)</i> | | |
| NCT03382834 | Selective estrogen receptor modulators to enhance the efficacy of viral reactivation with histone deacetylase inhibitors | Active, not recruiting |
| NCT01193842 | Vorinostat and combination chemotherapy with rituximab in treating patients with HIV-related diffuse large B-cell non-hodgkin lymphoma or other aggressive B-cell lymphomas | Active, not recruiting |
| NCT0321289 | Study to evaluate effects of vorinostat and HXTC on persistent HIV-1 infection in HIV-infected subjects started on ART | Recruiting |
| NCT03041012 | Early administration of romidepsin and 3BNC117 in treatment-naive HIV patients starting ART | Recruiting |
| NCT02850016 | Romidepsin plus 3BNC117 phase 2a study | Recruiting |
| NCT03060447 | Evaluate the safety and efficacy of vesatolimod in antiretroviral treated HIV-1 infected controllers | Active, not recruiting |
| NCT02858401 | Safety and biological activity of vesatolimod in HIV-1 infected, virologically suppressed adults | Active, not recruiting |
| <i>Renforcement de la réponse immunitaire spécifique anti-VIH</i> | | |
| NCT03619278 | Evaluating a combination of immune-based therapies to achieve a remission of HIV infection | Not yet recruiting |
| NCT03619278 | Evaluating the safety and pharmacokinetics of VRC01, VRC01LS, and VRC07-523LS, potent anti-HIV neutralizing monoclonal antibodies, in HIV-1-exposed infants | Recruiting |
| NCT03699241 | A randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose-escalation phase 1 clinical trial to evaluate the safety and immunogenicity of recombinant HIV envelope protein BG505 SOSIP.664 gp140 vaccine, adjuvanted, in healthy, HIV-1 uninfected adults | Not yet recruiting |
| NCT03560258 | HIV-1-Gag conserved-element DNA vaccine as therapeutic vaccination in HIV-infected persons with viral suppression on antiretroviral therapy | Not yet recruiting |
| NCT02291809 | REMUNE HIV/AIDS vaccine phase II pediatric safety & efficacy clinical study | Not yet recruiting |
| NCT03505060 | Evaluating the safety and immunogenicity of the IHV01 protein vaccine primed and co-administered with HIV DNA CON-S env vaccine in healthy, HIV-1-uninfected adults | Not yet recruiting |
| NCT02972450 | An HIV vaccine trial in individuals who started art during primary or chronic infection | Not yet recruiting |
| NCT03618056 | Evaluating HIV-1 neutralization antibody breadth in response to HIV gp120 protein vaccine in HIV-uninfected adults with quiescent systemic lupus erythematosus | Not yet recruiting |
| NCT03570918 | MGD014 in HIV-infected individuals on suppressive antiretroviral therapy | Recruiting |
| NCT02256631 | Evaluating the safety and pharmacokinetics of VRC01, VRC01LS, and VRC07-523LS, potent anti-HIV neutralizing monoclonal antibodies, in HIV-1-exposed infants | Recruiting |
| NCT03618056 | Evaluating HIV-1 neutralization antibody breadth in response to HIV gp120 protein vaccine in HIV-uninfected adults with quiescent systemic lupus erythematosus | Not yet recruiting |
| NCT03240328 | The effect of chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy on the reconstitution of HIV-specific immune function | Recruiting |
| <i>Immunomodulation</i> | | |
| NCT01295515 | Interferon alpha 2b intensification in HIV-positive individuals on antiretroviral therapy | Currently recruiting |
| NCT02471430 | Reducing the residual reservoir of HIV-1 infected cells in patients receiving antiretroviral therapy | Currently recruiting |
| NCT03588715 | Peg-interferon alpha 2b combined with two intravenous broadly HIV-1 neutralizing antibodies 3BNC117 and 10-1074 (BEAT-2) | Currently recruiting |
| NCT02227277 | Reducing proviral HIV DNA with interferon-a | Recruiting |
| NCT03619278 | Evaluating a combination of immune-based therapies to achieve a remission of HIV infection | Not yet recruiting |
| NCT02408861 | Nivolumab and ipilimumab in treating patients with HIV-associated relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma or solid tumors that are metastatic or cannot be removed by surgery | Recruiting |
| NCT02595866 | Pembrolizumab in treating patients with HIV and relapsed, refractory, or disseminated malignant neoplasms | Recruiting |
| NCT03304093 | Immunotherapy by nivolumab for HIV+ patients | Recruiting |
| NCT03354936 | ANRS-CO24 OncoVIHAC (Onco VIH anti checkpoint) | Recruiting |
| NCT03367754 | A single dose of pembrolizumab in HIV-infected people | Recruiting |

Tableau 1 (Suite).

| Identifiant | Titre de l'étude | Statut |
|-------------------------|---|------------------------|
| NCT02191098 | Proof of principle study of pulse dosing of IL-15 to deplete the reservoir in HIV-infected people | Recrutement |
| NCT02990312 | Impact of sirolimus and maraviroc on CCR5 expression and the HIV-1 reservoir in HIV-infected kidney transplant recipients | Recrutement |
| NCT02440789 | Safety and efficacy of sirolimus for HIV reservoir reduction in individuals on suppressive ART | Ongoing |
| NCT02429869 | Impact of everolimus on HIV persistence post kidney or liver transplant | Ongoing |
| NCT02475655 | Evaluating the safety and tolerability of ruxolitinib in antiretroviral-treated HIV-infected adults | Ongoing |
| <i>Thérapie génique</i> | | |
| NCT03020524 | Autologous CD4 T-cells in HIV (C34-CXCR4) | Recrutement |
| NCT02500849 | Safety study of zinc finger nuclease CCR5-modified hematopoietic stem/progenitor cells in HIV patients | Recrutement |
| NCT00295477 | Evaluate the tolerability, therapeutic effects of repeated doses of autologous T cells with VRX496 | Actif, non recrutement |
| NCT01734850 | Safety study of a dual anti-HIV gene transfer construct to treat HIV-1 infection | Ongoing |
| NCT02225665 | Repeat doses of SB-728mR-T after cyclophosphamide conditioning in HIV-infected subjects on HAART | Actif, non recrutement |
| NCT01013415 | CD4-ZETA gene modified T cells with and without exogenous interleukin-2 (IL-2) in HIV patients | Actif, non recrutement |

molécules, et secondairement d'évaluer son impact sur le réservoir viral.

Séquestration des facteurs de transcription cellulaire

Une autre classe d'intérêt thérapeutique est celle des agents ciblant la libération de facteurs cellulaires séquestrés dans le cytoplasme et qui sont essentiels à l'initiation ou à la propagation de la transcription virale. Ils comprennent les agonistes de la protéine kinase C (*e.g.* prostratine, bryostatine) qui activent la voie NF- κ B et vont déclencher l'initiation de la transcription virale mais ils se révèlent toxiques en contrepartie. Par ailleurs, les études cliniques chez l'homme n'ont pas mis en évidence d'effet sur le réservoir à faible dose [23, 24]. De façon intéressante, le maraviroc, utilisé dans les combinaisons antirétrovirales, par son interaction avec le récepteur CCR5, active la voie NF- κ B et favorise la transcription virale dans les cellules lymphocytaires T quiescentes, le classant comme un potentiel LRA [25]. Cependant, les études cliniques l'utilisant aux posologies recommandées pour son effet antiviral n'ont jamais montré de diminution plus importante du réservoir, même en pentathérapie [26].

Le disulfiram utilisé à haute dose (2 g/jour) en stimulant la libération du facteur d'élongation b de la transcription (P-TEFb) *via* l'activation de la voie AKT va aboutir à une augmentation des transcrits cellulaires avec une augmentation de l'ARN VIH plasmatique, mais sans effet sur le nombre de cellules infectées comme

les HDACi [27]. Un essai récent combinant le disulfiram et le vorinostat (inhibiteur d'histone déacétylase) (NCT198559) a été suspendu en raison des effets indésirables rapportés et aucun essai n'est programmé avec le disulfiram [9].

Autres molécules

Une autre classe d'agents, les agonistes des Toll-like récepteurs (TLR), a été étudiée chez les primates non humains puis chez l'homme. Ils induisent la transcription virale *via* l'activation de la voie NF- κ B, NFAT ou AP-1. De plus, ils augmentent aussi les réponses immunes T spécifiques anti-VIH, comme rapporté dans un récent essai clinique avec un agoniste de TLR9 chez 15 patients virologiquement contrôlés (MGN1703). Dans cet essai, les lymphocytes T CD8⁺ et les cellules NK ont considérablement augmenté au cours du traitement, avec une inhibition de la réplication virale *ex vivo*, suggérant ainsi une réponse immunitaire renforcée contre le virus. Les charges virales plasmatiques chez six des 15 participants ont également augmenté de 20 à > 1500 copies/mL, suggérant potentiellement une réactivation du réservoir latent [9, 28]. Deux essais sont en cours chez l'homme avec le vesatolimod, un agoniste de TLR7, chez des patients virologiquement contrôlés (NCT03060447, NCT02858401) [9].

L'administration des LRA à elle seule permet donc d'induire la production virale ; cependant, les premiers essais n'ont pas montré de réduction significative de la taille des réservoirs, ni permis de différer le délai de rebond virologique après interruption du traitement antirétroviral. Les

niveaux de transcrits viraux obtenus après induction de la transcription par les LRA dans les schémas testés ne se sont pas montrés suffisants pour éliminer les cellules infectées quiescentes par les seuls effets cytopathiques viraux [29]. L'expression induite des antigènes du VIH-1 peut favoriser la reconnaissance par le système immunitaire des cellules infectées et leur destruction, avec cependant une activation immunitaire chronique et un épuisement immunitaire consécutif.

La stratégie du *shock and kill*, qui est actuellement la plus étudiée, est assortie de limitations importantes avant qu'une élimination efficace du réservoir ne puisse être réalisée. Les LRA, aux doses actuelles et aux schémas utilisés, ne permettent pas une réactivation de tous les provirus compétents [30] et peuvent altérer les fonctions immunes anti-VIH (T CD8, NK), d'autant plus qu'ils sont utilisés en association [31]. Par ailleurs, on ignore actuellement l'impact de ces molécules sur d'autres cellules infectées de manière latente telles que les astrocytes et les cellules souches. Les macrophages et les cellules dendritiques exprimant le récepteur CD4 sont également des cibles du virus. Ces types cellulaires « myélo-monocytaires » ne sont pas connus pour être la cible de réponses immunitaires T cytolytiques, qui viendraient tuer ces cellules où une réactivation à visée thérapeutique serait induite. De surcroît, les LRA peuvent aussi activer des cellules quiescentes non infectées, lesquelles deviennent susceptibles à l'infection par le VIH dans les compartiments à faible diffusion d'ARV, comme le système nerveux central [32]. Les premiers essais ont montré une efficacité modeste quant à leur capacité à réduire les réservoirs mesurés par la fréquence des cellules infectées circulantes et non tissulaires, sachant que les tissus profonds représentent 98 % de la taille du réservoir. Cependant, certains marqueurs, comme l'ADN-VIH total mesuré dans le sang, sont un bon reflet du réservoir lymphoïde du tube digestif (*gut associated lymphoid tissue* [GALT]) où se concentre 60 % des lymphocytes totaux [33]. De nombreuses difficultés et de multiples inconnues, telles que les voies et schémas d'administration, la puissance des molécules et les doses efficaces, la durée des traitements, et la diffusion dans les tissus lymphoïdes hautement infectés, sont encore à explorer. Toutes ces inconnues expliquent que les premiers résultats aient été peu satisfaisants. Du fait de la forte toxicité de ces substances, la prudence est de mise avec des schémas thérapeutiques courts et une surveillance accrue de la tolérance qui est une limite importante à l'utilisation des LRA. Au total, il est nécessaire de disposer de stratégies utilisant les LRA de manière plus efficace et en combinaison à des interventions immunothérapeutiques puissantes pour renforcer les réponses immunitaires spécifiques du VIH-1, et pour concevoir des stratégies thérapeutiques alternatives pour diminuer, voire éliminer, le réservoir VIH [34].

Interventions immunothérapeutiques

L'objectif de telles interventions est de renforcer le système immunitaire et les réponses immunes spécifiques anti-VIH. Plusieurs approches vaccinales thérapeutiques ont été testées, incluant l'utilisation de virus inactivés, de protéines recombinantes avec des vecteurs de type ADN ou des cellules dendritiques (revue [35]). Certaines de ces approches ont permis d'augmenter les réponses immunitaires, sans pour autant induire un contrôle virologique prolongé après arrêt de traitement et sans avoir un impact sur le réservoir [36, 37]. Plusieurs études ont évalué un traitement combiné de LRA (HDACi : romidepsine) avec un vaccin stimulant les réponses anti-VIH T lymphocytaires, rapportant une diminution du réservoir VIH quantifié par l'ADN-VIH dans les PBMC chez des patients traités pendant six semaines [38] ou un contrôle virologique avec ARN VIH < 2 000 cp/mL pendant sept, 12, 14 ou 22 semaines après une injection de vaccin par semaine pendant trois semaines chez quatre sur 11 patients en arrêt de traitement [39]. Un essai évaluant la combinaison romidepsine + vaccin HIVARNA01.3 (NCT03619278) est en cours de recrutement (*tableau 1*).

De nouvelles stratégies, exploitant l'activité antivirale d'anticorps monoclonaux largement neutralisants, bNAb (*broadly neutralising antibodies*), ont été proposées [40]. Les anticorps monoclonaux peuvent être sélectionnés en fonction de leur capacité à cibler les régions conservées de HIV-1 Env sur les lymphocytes T CD4⁺ infectés par le VIH et permettraient donc de réduire la taille du réservoir VIH [41]. L'utilisation d'anticorps monoclonaux capables de reconnaître et de promouvoir la destruction des cellules infectées est une nouvelle stratégie prometteuse en combinaison avec les traitements ARV [42]. De plus, les anticorps monoclonaux et leurs molécules dérivées pourraient être utilisés en association avec des LRA, pour augmenter les fonctions effectrices immunitaires et faciliter l'élimination des cellules infectées quiescentes lors de la réactivation du provirus [43]. Une étude est en cours chez des nouveau-nés infectés par le VIH ; elle a pour objectif d'évaluer la combinaison d'un traitement antirétroviral associé à l'injection d'anticorps monoclonaux VRCO1 et VRCO1S, à trois et cinq jours de vie (NCT02256631). En outre, une nouvelle génération d'anticorps bispécifiques et trispécifiques a été développée. Ces anticorps présentent une grande puissance dans leur capacité à neutraliser le VIH *in vitro*, avec une meilleure synergie qu'une combinaison utilisant les anticorps monoclonaux dont ils sont issus [44, 45]. Cependant, leur administration par voie intraveineuse, avec une demi-vie relativement courte de quelques semaines, limite pour le moment leur utilisation. De plus, l'immunogénicité de ce type de molécules artificielles avec l'induction d'une réponse immunitaire anti-anticorps bi- ou

trispécifique pourrait hypothéquer son utilisation au long cours.

D'autres anticorps anti-VIH non neutralisants (*chimeric dual affinity retargeting antibodies* [DART]) ont été isolés pour cibler sélectivement les lymphocytes T CD4 infectés par le virus. Les DART ont été conçus avec une spécificité contre les antigènes d'enveloppe du VIH et le CD3, dans le but d'amener des CD8 cytotoxiques à proximité immédiate de cellules infectées exprimant les antigènes d'enveloppe VIH sur leur surface [42]. Un essai clinique de phase 1 est en cours avec un anticorps biclinal DART, MGD014, chez des patients virologiquement contrôlés par un traitement antirétroviral (NCT03570918).

Très récemment ont aussi été développées les *chimeric antigen receptor T cells* (CAR T cells). Les récepteurs d'antigènes chimériques (CAR) comprennent un domaine extracellulaire (un fragment variable monochaine dérivé d'un anticorps monoclonal ou un récepteur ou un ligand de surface cellulaire), un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire (comprenant la chaîne de signalisation CD du CD3). Au cours des dernières années, des études ont été conçues utilisant des cellules T humaines primaires qui expriment le CAR avec un fragment de bNab dans le domaine extracellulaire. Elles lysent efficacement les cellules infectées par le VIH *in vitro* et *ex vivo* [46] et un essai clinique est en cours chez des patients VIH traités (NCT03240328).

Des approches visant l'immunomodulation sont en cours de discussion en particulier avec un agent immunomodulateur, bien étudié il y a quelques années dans l'infection par le VIH qui est l'interféron (IFN) α pour ces propriétés antivirales et antitumorales (pour revue [47]). L'essai ANRS 086 « Primoféron » a montré que l'addition à un traitement antirétroviral de l'IFN pégylé chez des patients traités au moment de la primo-infection induisait une baisse plus significative de l'ADN proviral après un an de traitement [48]. Il a été récemment rapporté sur de petites séries de patients traités pour une hépatite C chronique par IFN α pégylé, une diminution des niveaux d'ADN-VIH total [49] ou intégré [50-52]. D'autres études n'ont pas retrouvé ces résultats et la toxicité importante de l'IFN est un frein à son utilisation sans arguments probants de son efficacité à diminuer le réservoir viral. Plusieurs essais sont en cours ou programmés pour évaluer les effets sur le réservoir de l'IFN α seul (NCT02227277) ou en association avec des LRA (NCT02471430) ou des anticorps neutralisants (NCT03588715).

Agir sur l'inflammation et la réponse immunitaire est un champ majeur d'intervention en cancérologie avec des molécules qui se révèlent aussi d'intérêt pour les stratégies d'éradication du VIH. Ainsi, de nouvelles stratégies de renforcement immunitaire, telles que le traitement d'appoint

avec des inhibiteurs des points de contrôle immunitaire (*immune checkpoint blockers* [ICPI]), pourraient stimuler une réponse immunitaire existante diminuée et faciliter la clairance des réservoirs viraux [53]. Les points de contrôle immunitaires sont des protéines immunomodulatrices qui ciblent les voies de régulation pour réduire l'activité des cellules T [54]. Les lymphocytes T CD4 et T CD8 dans le sang et les tissus lymphoïdes expriment fortement les marqueurs d'*immune checkpoint* tels que la protéine de mort cellulaire programmée 1 (PD-1) et la protéine 4 cytotoxique associée aux lymphocytes T (CTLA4) [55]. Aussi, des anticorps anti-ICPI seraient attractifs pour renforcer les fonctions des lymphocytes T anti-VIH spécifiques et induire une réversion de la latence virale [54, 56]. Chez un patient atteint d'un mélanome métastatique, le traitement par anticorps anti-CTLA4 (ipilimumab) a entraîné une augmentation de l'ARN VIH, associé aux cellules traduisant une réversion de la latence [57]. Un autre cas colligé dans le cadre du groupe de travail national CANCERVIH a mis en évidence une diminution drastique et soutenue du réservoir de VIH parallèlement à une augmentation des cellules T CD8 spécifiques anti-VIH chez un patient VIH traité pour un cancer pulmonaire à petites cellules par anticorps anti-PD-1 ICPI (nivolumab) [58]. Ce résultat encourageant est actuellement en cours d'analyse dans la cohorte française de personnes infectées par le VIH et traités avec des ICPI (ANRS-CO24, cohorte OncoVIHAC). Plusieurs essais cliniques évaluant l'efficacité et la tolérance des anticorps anti-*immune checkpoint* chez des patients VIH sous traitement antirétroviral et présentant des pathologies malignes concomitantes sont en cours (NCT02408861, NCT02595866, NCT03304093, NCT03354936, NCT03367754).

L'inhibition de la migration des lymphocytes T vers les tissus avec des anticorps ciblant l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ (marqueur d'adressage des lymphocytes vers le tractus intestinal) pourrait également s'inclure dans les stratégies thérapeutiques visant à l'éradication du VIH. Les premiers résultats d'une étude, chez des macaques infectés par le SIV, retrouvaient un contrôle virologique post-arrêt de traitement pendant plus de neuf mois après huit perfusions d'anticorps monoclonaux ciblant l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ (une toutes les trois semaines), en combinaison avec des ARV [59]. En revanche, chez des souris humanisées infectées avec une souche de HIV-1SF162, il n'y avait pas de bénéfice de ces anticorps monoclonaux sur le contrôle virologique après arrêt de traitement [60]. Des données récentes dans les modèles simiens présentées à l'IAS en 2018 (non encore publiées) corroborent ces résultats. Des analyses complémentaires sont en cours dans deux essais cliniques chez l'homme (NCT03147859, NCT02788175).

D'autres stratégies visant à améliorer les réponses des cellules T impliquent des agonistes des chimiokines

et la stimulation par IFN- α ainsi qu'une réduction de l'inflammation. Le superagoniste de l'interleukine (IL)-15, ALT-803 (protéine de fusion IL-15N72D + IL-15R α Su/Fc) est une version modifiée de l'IL-15 avec une puissance accrue pour stimuler les cellules NK, les réponses des cellules T et peut induire la transcription du VIH [61]. ALT-803 est étudié dans le cadre d'un essai de phase 1 au cours duquel la taille du réservoir inducible sera estimée par quantification de l'ARN VIH intracellulaire multiépissé (NCT02191098).

Étant donné les liens entre l'inflammation chronique, l'épuisement immunitaire et la maintenance des réservoirs [62], les médicaments modulant l'inflammation sont aussi évalués dans des stratégies de réduction du réservoir VIH. Le sirolimus (rapamycine), un régulateur clé du métabolisme cellulaire [63], inhibiteur de la sérine/thréonine-protéine kinase mTOR, réduit l'activation et la prolifération cellulaire, diminue l'expression de CCR5 [64] et améliore la réponse immune mémoire [65]. Chez un patient greffé rénal, l'utilisation de la rapamycine comme anti-rejet a été associée à une réduction de l'ADN-VIH (ACTG A5337, 2-8) [66]. Des études cliniques en cours examinent l'impact du sirolimus en association ou non avec le maraviroc sur le réservoir VIH de patients traités par ARV (NCT02440789, NCT02990312). Un essai évaluant l'impact sur le réservoir de l'évérolimus, autre inhibiteur de la voie mTOR chez des greffés rénaux, est en cours (NCT02429869). De même, le ruxolitinib, un inhibiteur de la voie JAK/STAT, réduisant la production de cytokines et utilisé dans le traitement de la myélofibrose, a été évalué dans un essai récent chez des patients VIH dont les résultats sont en attente (NCT02475655).

Autres stratégies

De nouvelles approches issues du domaine de la cancérologie, visant à induire la mort de cellules infectées *via* les voies de l'apoptose ou l'inhibition de voies métaboliques nécessaires à leur survie, se développent depuis peu et font l'objet d'études *in vitro* ou *ex vivo* pour la plupart [67]. Les SMAC (*second mitochondria-derived activator of caspases*) sont de petites molécules capables de réactiver des cellules quiescentes en induisant leur mort par apoptose. Utilisées avec le panobinostat (HDACi), un effet synergique a été observé, suggérant un potentiel intéressant de ces nouvelles molécules et associations [68, 69]. De même, une autre classe de substances pro-apoptotiques, les antagonistes de Bcl-2 dont le venetoclax utilisé dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique, induit *in vitro*, en combinaison avec un LRA, une apoptose et une clairance sélective des cellules infectées par le VIH [67].

Un autre angle d'approche est l'utilisation de thérapies géniques, explorées depuis plusieurs années dans l'infection par le VIH, notamment avec la technique des *zinc finger* (en doigt de zinc) ciblant le gène codant pour le récepteur CCR5. En effet, les deux cas de rémission prolongée du VIH chez des patients après une greffe de moelle d'un donneur hétérozygote CCR5 delta 32 pour le patient de Berlin et homozygote pour le patient de Londres mettent en exergue le fait que l'expression du corécepteur CCR5 serait un point crucial dans les stratégies d'éradication du VIH [70, 71]. Aussi, l'interaction spécifique entre la nucléase *zinc finger* et le gène codant pour le corécepteur CCR5 aboutit au clivage du brin d'ADN puis à sa réparation par insertion d'un codon stop qui entraîne l'arrêt de la transcription. Les premiers résultats ont montré une bonne tolérance des traitements et une modification de 13,9 % des gènes dans les lymphocytes T CD4 de 12 patients traités. Six sur 12 patients qui ont eu une interruption du traitement après perfusion de lymphocytes T génétiquement modifiés ont présenté un rebond viral dans les semaines suivantes. Seul un patient qui était hétérozygote pour le gène *CCR5 Δ 32* a maintenu un contrôle virologique pendant six semaines [72]. D'autres stratégies de thérapie génique de cellules souches hématopoïétiques et de lymphocytes T, incluant des modifications du gène codant pour le CCR5 avec la technique *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* (CRISPR/Cas-9) [73] et différents régimes de préparation à la greffe de moelle osseuse, sont aussi testées dans des essais de phase 1 et 2 (NCT03020524, NCT02500849, NCT00295477, NCT01734850, NCT02225665, NCT01013415).

Enfin, contrairement à la stratégie du *shock and kill* qui a pour objectif d'éliminer les cellules infectées, la stratégie de *block and lock* a pour objectif le blocage de l'expression de la latence et le maintien des cellules infectées silencieuses, par la répression au long cours de la transcription virale, en utilisant notamment des inhibiteurs de la protéine Tat [74, 75], de la RNA Pol II (curaxin) [76] ou par le blocage des voies cellulaires de transcription telles que NF- κ B [77]. De telles approches sont actuellement testées dans plusieurs études *in vitro*.

Perspectives et conclusion

Au total, plusieurs axes de recherche, visant ainsi à tester des stratégies ciblant le réservoir VIH, sont actuellement développés au sein de différents modèles avec une approche combinée semblable à ce qui est actuellement utilisé dans le traitement de certains cancers. Les limitations des LRA, du fait de leur toxicité, soulignent la nécessité d'utiliser des combinaisons plus spécifiques, mieux tolérées, en optimi-

sant les doses et les séquences de traitements. De plus, il faudrait sans doute les associer à des interventions immuno-thérapeutiques pour renforcer les réponses immunes anti-VIH spécifiques et non spécifiques. Le développement des ARV sous forme de nanoparticules présentant une meilleure diffusion dans les différents compartiments sera un atout complémentaire dans les stratégies thérapeutiques visant la rémission de l'infection par le VIH [78]. Beaucoup de molécules développées dans le domaine de la cancérologie font l'objet d'études dans le domaine du VIH, notamment des traitements ciblant le métabolisme cellulaire. En effet, la reprogrammation métabolique des cellules tumorales présente des similitudes avec celle observée dans les cellules réservoirs du VIH (lymphocytes T CD4 mémoires) comme rapporté très récemment par Valle-Casuso *et al.* [6] et semble être un des facteurs clés chez les patients *elites controllers* qui présentent une signature métabolomique spécifique [79], ouvrant le champ à de nouvelles perspectives thérapeutiques.

La place des ARV reste cruciale au sein de ces approches thérapeutiques, au regard de leur impact sur le réservoir d'autant plus marqué que le traitement est initié précocement [80]. Un système immunitaire préservé associé à un bas niveau de réservoir sont sans doute des prérequis nécessaires pour que les patients soient dans les meilleures conditions de succès thérapeutiques des futures stratégies de rémission. L'accès à ces nouvelles stratégies thérapeutiques concernera probablement, dans un premier temps, des patients présentant un système immunitaire relativement préservé, associé à un niveau de réservoir bas. De telles conditions peuvent être remplies chez des patients traités par ARV au moment de la primo-infection ou en phase précoce de l'infection chronique, d'autant plus marqué que le traitement a été initié précocement [81, 82]. En complément du traitement antirétroviral, le développement de stratégie de contrôle de la translocation microbienne comme source d'activation immunitaire est un autre axe de recherche pour limiter la taille du réservoir [83].

Même si le chemin sera long et difficile, le panel thérapeutique et les approches combinées ou non laissent à penser que des premières étapes pourraient être franchies. Des traitements plus longs seront sans doute nécessaires. Le déploiement de nouveaux outils pour mesurer les réservoirs, notamment les réservoirs tissulaires profonds, sera nécessaire pour une bonne évaluation de ces différentes interventions thérapeutiques. La prévalence significative du nombre de personnes infectées par le VIH dans le monde (35 millions), combinée au coût des traitements ARV à vie, renvoie à des enjeux médicoéconomiques considérables et la recherche sur les traitements visant les réservoirs constitue un challenge majeur non seulement pour le Nord mais aussi pour les pays du Sud. Cependant, la toxicité de la majorité de ces substances constitue encore une limite

majeure pour leur utilisation, alors que les patients présentent un très bon contrôle virologique au long cours, sans toxicité majeure des ARV et avec une bonne qualité de vie. Cela impose une réflexion éthique approfondie, en relation avec les associations de patients et avec les patients eux-mêmes.

Liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Finzi D, Hermankova M, Pierson T, *et al.* Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* 1997; 278(5341): 1295-300.
2. 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 U S A* 2014; 111(6): 2307-12.
3. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, *et al.* HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med* 2009; 15(8): 893-900 [Clinical Trial Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't].
4. Hatano H, Jain V, Hunt PW, *et al.* Cell-based measures of viral persistence are associated with immune activation and programmed cell death protein 1 (PD-1)-expressing CD4+ T cells. *J Infect Dis* 2013; 208(1): 50-6.
5. Cockerham LR, Siliciano JD, Sinclair E, *et al.* CD4+ and CD8+ T cell activation are associated with HIV DNA in resting CD4+ T cells. *PLoS One* 2014; 9(10): e110731.
6. Valle-Casuso JC, Angin M, Volant S, *et al.* Cellular metabolism is a major determinant of HIV-1 reservoir seeding in CD4(+) T cells and offers an opportunity to tackle infection. *Cell Metab* 2018; 29(3): 611-626.e5.
7. Spivak AM, Planelles V. HIV-1 eradication: early trials (and tribulations). *Trends Mol Med* 2016; 22(1): 10-27.
8. Spivak AM, Planelles V. Novel latency reversal agents for HIV-1 cure. *Annu Rev Med* 2018; 69: 421-36.
9. Delagreverie HM, Delauger C, Lewin SR, Deeks SG, Li JZ. Ongoing clinical trials of human immunodeficiency virus latency-reversing and immunomodulatory agents. *Open Forum Infect Dis* 2016; 3(4): ofw189.
10. Rasheed WK, Johnstone RW, Prince HM. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16(5): 659-78.
11. Elliott JH, Wightman F, Solomon A, *et al.* Activation of HIV transcription with short-course vorinostat in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. *PLoS Pathog* 2014; 10(10): e1004473.
12. Rasmussen TA, Tolstrup M, Brinkmann CR, *et al.* Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent-virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single group, clinical trial. *Lancet HIV* 2014; 1(1): e13-21.
13. Sogaard OS, Graversen ME, Leth S, *et al.* The depsiptide romidepsin reverses HIV-1 latency *in vivo*. *PLoS Pathog* 2015; (9): e1005142.
14. Archin NM, Liberty AL, Kashuba AD, *et al.* Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy. *Nature* 2012; 487(7408): 482-5.
15. Jones RB, O'Connor R, Mueller S, *et al.* Histone deacetylase inhibitors impair the elimination of HIV-infected cells by cytotoxic T-lymphocytes. *PLoS Pathog* 2014; 10(8): e1004287.
16. Pace M, Williams J, Kurioka A, *et al.* Histone deacetylase inhibitors enhance CD4 T cell susceptibility to NK cell killing but reduce NK cell function. *PLoS Pathog* 2016; 12(8): e1005782.
17. Wightman F, Lu HK, Solomon AE, *et al.* Entinostat is a histone deacetylase inhibitor selective for class I histone deacetylases and

- activates HIV production from latently infected primary T cells. *Aids* 2013 ; 27(18) : 2853-62.
18. Banga R, Procopio FA, Cavassini M, Perreau M. *In vitro* reactivation of replication-competent and infectious HIV-1 by histone deacetylase inhibitors. *J Virol* 2016 ; 90(4) : 1858-71.
19. Bouchat S, Gatot JS, Kabeya K, *et al.* Histone methyltransferase inhibitors induce HIV-1 recovery in resting CD4(+) T cells from HIV-1-infected HAART-treated patients. *Aids* 2012 ; 26(12) : 1473-82.
20. Friedman J, Cho WK, Chu CK, *et al.* Epigenetic silencing of HIV-1 by the histone H3 lysine 27 methyltransferase enhancer of Zeste 2. *J Virol* 2011 ; 85(17) : 9078-89.
21. Blazkova J, Trejbalova K, Gondois-Rey F, *et al.* CpG methylation controls reactivation of HIV from latency. *PLoS Pathog* 2009 ; 5(8) : e1000554.
22. Bouchat S, Delacourt N, Kula A, *et al.* Sequential treatment with 5-aza-2'-deoxycytidine and deacetylase inhibitors reactivates HIV-1. *Embo Mol Med* 2016 ; 8(2) : 117-38.
23. Korin YD, Brooks DG, Brown S, Korotzer A, Zack JA. Effects of prostratin on T-cell activation and human immunodeficiency virus latency. *J Virol* 2002 ; 76(16) : 8118-23.
24. Gutierrez C, Serrano-Villar S, Madrid-Elena N, *et al.* Bryostatin-1 for latent virus reactivation in HIV-infected patients on antiretroviral therapy. *Aids* 2016 ; 30(9) : 1385-92.
25. Madrid-Elena N, Garcia-Bermejo ML, Serrano-Villar S, *et al.* Maraviroc is associated with latent HIV-1 reactivation through NF-kappaB activation in resting CD4(+) T cells from HIV-infected individuals on suppressive antiretroviral therapy. *J Virol* 2018 ; 92(9), pii: e01931-17.
26. Cheret A, Nembot G, Melard A, *et al.* Intensive five-drug antiretroviral therapy regimen versus standard triple-drug therapy during primary HIV-1 infection (OPTIPRIM-ANRS 147): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015 ; 15(4) : 387-96.
27. Elliott JH, McMahon JH, Chang CC, *et al.* Short-term administration of disulfiram for reversal of latent HIV infection: a phase 2 dose-escalation study. *Lancet HIV* 2015 ; 2(12) : e520-9.
28. Vibholm L, Schleimann MH, Hojen JF, *et al.* Short-course Toll-like receptor 9 agonist treatment impacts innate immunity and plasma viremia in individuals with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2017 ; 64(12) : 1686-95.
29. Shan L, Deng K, Shroff NS, *et al.* Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after virus reactivation. *Immunity* 2012 ; 36(3) : 491-501 [In Vitro Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't].
30. Ho YC, Shan L, Hosmane NN, *et al.* Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. *Cell* 2013 ; 155(3) : 540-51.
31. Walker-Sperling VE, Pohlmeier CW, Tarwater PM, Blankson JN. The effect of latency reversal agents on primary CD8+ T cells: implications for shock and kill strategies for human immunodeficiency virus eradication. *EBioMedicine* 2016 ; 8 : 217-29.
32. Ellis R, Langford D, Masliah E. HIV and antiretroviral therapy in the brain: neuronal injury and repair. *Nat Rev Neurosci* 2007 ; 8(1) : 33-44.
33. Avettand-Fènoël V, Hocqueloux L, Ghosn J, *et al.* Total HIV-1 DNA, a marker of viral reservoir dynamics with clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2016 ; 29(4) : 859-80.
34. Castro-Gonzalez S, Colomer-Lluch M, Serra-Moreno R. Barriers for HIV cure: the latent reservoir. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2018 ; 34(9) : 739-59.
35. Garcia F, Leon A, Gatell JM, Plana M, Gallart T. Therapeutic vaccines against HIV infection. *Hum Vaccin Immunother* 2012 ; 8(5) : 569-81.
36. Casazza JP, Bowman KA, Adzaku S, *et al.* Therapeutic vaccination expands and improves the function of the HIV-specific memory T-cell repertoire. *J Infect Dis* 2013 ; 207(12) : 1829-40.
37. Andres C, Plana M, Guardo AC, *et al.* HIV-1 reservoir dynamics after vaccination and antiretroviral therapy interruption are associated with dendritic cell vaccine-induced T cell responses. *J Virol* 2015 ; 89(18) : 9189-99.
38. Leth S, Schleimann MH, Nissen SK, *et al.* Combined effect of Vacc-4x, recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor vaccination, and romidepsin on the HIV-1 reservoir (REDUC): a single-arm, phase 1B/2A trial. *Lancet HIV* 2016 ; 3(10) : e463-72.
39. Mothe B, Moltó J, Manzano C, *et al.* Viral control induced by HIV-consv vaccines and romidepsin in early treated individuals. In : *CROI*, 2017 [abstract 119LB, Session O-11; Seattle].
40. Hessel AJ, Jaworski JP, Epton E, *et al.* Early short-term treatment with neutralizing human monoclonal antibodies halts SHIV infection in infant macaques. *Nat Med* 2016 ; 22(4) : 362-8.
41. Lee WS, Parsons MS, Kent SJ, Lichtfuss M. Can HIV-1-specific ADCC assist the clearance of reactivated latently infected cells? *Front Immunol* 2015 ; 6 : 265.
42. Sloan DD, Lam CY, Irrinki A, *et al.* Targeting HIV reservoir in infected CD4 T cells by dual-affinity re-targeting molecules (DARTs) that bind HIV envelope and recruit cytotoxic T cells. *PLoS Pathog* 2015 ; 11(11) : e1005233.
43. Ferrari G, Pollara J, Tomaras GD, Haynes BF. Humoral and innate antiviral immunity as tools to clear persistent HIV infection. *J Infect Dis* 2017 ; 215(Suppl. 3) : S152-9.
44. Huang Y, Yu J, Lanzi A, *et al.* Engineered bispecific antibodies with exquisite HIV-1-neutralizing activity. *Cell* 2016 ; 165(7) : 1621-31.
45. Xu L, Pegu A, Rao E, *et al.* Trispecific broadly neutralizing HIV antibodies mediate potent SHIV protection in macaques. *Science* 2017 ; 358(6359) : 85-90.
46. Hale M, Mesojednik T, Romano Ibarra GS, *et al.* Engineering HIV-resistant, anti-HIV chimeric antigen receptor T cells. *Mol Ther* 2017 ; 25(3) : 570-9.
47. Rivero-Juarez A, Frias M, Rivero A. Current views on interferon therapy for HIV. *Expert Opin Biol Ther* 2016 ; 16(9) : 1135-42.
48. Emilie D, Burgard M, Lascoux-Combe C, *et al.* Early control of HIV replication in primary HIV-1 infection treated with antiretroviral drugs and pegylated IFN alpha: results from the Primoferon A (ANRS 086) Study. *Aids* 2001 ; 15(11) : 1435-7.
49. Hua S, Viganò S, Tse S, *et al.* Pegylated interferon-alpha-induced natural killer cell activation is associated with human immunodeficiency virus-1 DNA decline in antiretroviral therapy-treated HIV-1/hepatitis C virus-coinfected patients. *Clin Infect Dis* 2018 ; 66(12) : 1910-7.
50. Sun H, Buzon MJ, Shaw A, *et al.* Hepatitis C therapy with interferon-alpha and ribavirin reduces CD4 T-cell-associated HIV-1 DNA in HIV-1/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Infect Dis* 2014 ; 209(9) : 1315-20.
51. Mexas AM, Graf EH, Pace MJ, *et al.* Concurrent measures of total and integrated HIV DNA monitor reservoirs and ongoing replication in eradication trials. *Aids* 2012 ; 26(18) : 2295-306.
52. Azzoni L, Foulkes AS, Pappasavvas E, *et al.* Pegylated interferon alfa-2a monotherapy results in suppression of HIV type 1 replication and decreased cell-associated HIV DNA integration. *J Infect Dis* 2013 ; 207(2) : 213-22.
53. Chew GM, Fujita T, Webb GM, *et al.* TIGIT marks exhausted T cells, correlates with disease progression, and serves as a target for immune restoration in HIV and SIV infection. *PLoS Pathog* 2016 ; 12(1) : e1005349.
54. Wykes MN, Lewin SR. Immune checkpoint blockade in infectious diseases. *Nat Rev Immunol* 2018 ; 18(2) : 91-104.
55. Fromentin R, Bakeman W, Lawani MB, *et al.* CD4+ T cells expressing PD-1, TIGIT and LAG-3 contribute to HIV persistence during ART. *PLoS Pathog* 2016 ; 12(7) : e1005761.
56. Fromentin R, DaFonseca S, Costiniuk CT, *et al.* PD-1 blockade potentiates HIV latency reversal *ex vivo* in CD4(+) T cells from ART-suppressed individuals. *Nat Commun* 2019 ; 10(1) : 814.

57. Wightman F, Solomon A, Kumar SS, *et al.* Effect of ipilimumab on the HIV reservoir in an HIV-infected individual with metastatic melanoma. *Aids* 2015 ; 29(4) : 504-6.
58. Guihot A, Marcelin AG, Massiani MA, *et al.* Drastic decrease of the HIV reservoir in a patient treated with nivolumab for lung cancer. *Ann Oncol* 2018 ; 29(2) : 517-8.
59. Byraredy SN, Arthos J, Cicala C, *et al.* Sustained virologic control in SIV+ macaques after antiretroviral and alpha4beta7 antibody therapy. *Science* 2016 ; 354(6309) : 197-202.
60. Ling L, Wu T, To KKW, *et al.* Vedolizumab-mediated integrin alpha4beta7 blockade does not control HIV-1SF162 rebound after cART interruption in humanized mice. *Aids* 2019 ; 14. doi: 10.1097/QAD.0000000000002149. [AOP].
61. Jones RB, Mueller S, O'Connor R, *et al.* A subset of latency-reversing agents expose HIV-infected resting CD4+ T-cells to recognition by cytotoxic T-lymphocytes. *PLoS Pathog* 2016 ; 12(4) : e1005545.
62. Khoury G, Fromentin R, Solomon A, *et al.* Human immunodeficiency virus persistence and T-cell activation in blood, rectal, and lymph node tissue in human immunodeficiency virus-infected individuals receiving suppressive antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2017 ; 215(6) : 911-9.
63. Waickman AT, Powell JD. mTOR, metabolism, and the regulation of T-cell differentiation and function. *Immunol Rev* 2012 ; 249(1) : 43-58.
64. Heredia A, Amoroso A, Davis C, *et al.* Rapamycin causes down-regulation of CCR5 and accumulation of anti-HIV beta-chemokines: an approach to suppress R5 strains of HIV-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 ; 100(18) : 10411-6.
65. Gammon JM, Gosselin EA, Tostanoski LH, *et al.* Low-dose controlled release of mTOR inhibitors maintains T cell plasticity and promotes central memory T cells. *J Control Release* 2017 ; 263 : 151-61.
66. Stock PG, Barin B, Hatano H, *et al.* Reduction of HIV persistence following transplantation in HIV-infected kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2014 ; 14(5) : 1136-41.
67. Kim Y, Anderson JL, Lewin SR. Getting the "kill" into "shock and kill": strategies to eliminate latent HIV. *Cell Host Microbe* 2018 ; 23(1) : 14-26.
68. Thorlund K, Horwitz MS, Fife BT, Lester R, Cameron DW. Landscape review of current HIV 'kick and kill' cure research – some kicking, not enough killing. *BMC Infect Dis* 2017 ; 17(1) : 595.
69. Pache L, Dutra MS, Spivak AM, *et al.* BIRC2/cIAP1 is a negative regulator of HIV-1 transcription and can be targeted by Smac mimetics to promote reversal of viral latency. *Cell Host Microbe* 2015 ; 18(3) : 345-53.
70. Hutter G, Nowak D, Mossner M, *et al.* Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009 ; 360(7) : 692-8.
71. Gupta RK, Abdul-Jawad S, McCoy LE, *et al.* HIV-1 remission following CCR5Delta32/Delta32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature* 2019 ; 568(7751) : 244-8.
72. Tebas P, Stein D, Tang WW, *et al.* Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med* 2014 ; 370(10) : 901-10.
73. Wang G, Zhao N, Berkhout B, Das AT. CRISPR-Cas based antiviral strategies against HIV-1. *Virus Res* 2018 ; 244 : 321-32.
74. Hayashi T, Jean M, Huang H, Simpson S, Santoso NG, Zhu J. Screening of an FDA-approved compound library identifies levosimendan as a novel anti-HIV-1 agent that inhibits viral transcription. *Antiviral Res* 2017 ; 146 : 76-85.
75. Mousseau G, Clementz MA, Bakeman WN, *et al.* An analog of the natural steroidal alkaloid cortistatin A potently suppresses Tat-dependent HIV transcription. *Cell Host Microbe* 2012 ; 12(1) : 97-108.
76. Jean MJ, Hayashi T, Huang H, *et al.* Curaxin CBL0100 blocks HIV-1 replication and reactivation through inhibition of viral transcriptional elongation. *Front Microbiol* 2017 ; 8 : 2007.
77. Kim H, Choi MS, Inn KS, Kim BJ. Inhibition of HIV-1 reactivation by a telomerase-derived peptide in a HSP90-dependent manner. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 28896.
78. Shao J, Kraft JC, Li B, *et al.* Nanodrug formulations to enhance HIV drug exposure in lymphoid tissues and cells: clinical significance and potential impact on treatment and eradication of HIV/AIDS. *Nanomed* 2016 ; 11(5) : 545-64.
79. Tarancon-Diez L, Rodriguez-Gallego E, Rull A, *et al.* Immunometabolism is a key factor for the persistent spontaneous elite control of HIV-1 infection. *EBioMedicine* 2019 ; 42 : 86-96.
80. Hocqueloux L, Avettand-Fènoël V, Jacquot S, *et al.* Long-term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection is key to achieving both low HIV reservoirs and normal T cell counts. *J Antimicrob Chemother* 2013 ; 68(5) : 1169-78.
81. Laanani M, Ghosn J, Essay A, *et al.* Impact of the earliness of antiretroviral therapy initiation during primary HIV-1 infection on the decay of cell-associated HIV-DNA. *Clin Infect Dis* 2015 ; 60(11) : 1715-21.
82. Luo L, Wang N, Yue Y, *et al.* The effects of antiretroviral therapy initiation time on HIV reservoir size in Chinese chronically HIV infected patients: a prospective, multi-site cohort study. *BMC Infect Dis* 2019 ; 19(1) : 257.
83. Ramendra R, Isnard S, Mehraj V, *et al.* Circulating LPS and (1→3)-beta-D-glucan: a folie a deux contributing to HIV-associated immune activation. *Front Immunol* 2019 ; 10 : 465.