

Apport des modèles animaux dans la recherche sur le VIH

Contribution of animal models to HIV research

Nicolas Huot¹
Philippe Rascle^{1,2}
Michaela Müller-Trutwin¹

¹ Institut Pasteur,
Unité VIH, inflammation,
Institut Pasteur,
28 rue du Docteur Roux,
75015, Paris, France
<mmuller@pasteur.fr>

² Université Paris Diderot,
École doctorale
Bio Sorbonne Paris Cité
Paris, France

Résumé. Encore aujourd'hui, en dépit des trithérapies, l'épidémie du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) représente un problème de santé publique majeur. Dans cette optique, la recherche reste essentielle dans la mise au point d'approches curatives et vaccinales. Les modèles animaux contribuent à la mise en place de nouvelles stratégies thérapeutiques et préventives. Nous présentons ici les caractéristiques et avancées des modèles animaux du VIH, qui sont principalement les primates non humains (macaques infectés par SIV ou SHIV et hôtes naturels du SIV), ainsi que les souris humanisées. Nous énumérerons également comment ils ont déjà permis, et permettent encore aujourd'hui, d'élargir nos connaissances sur la physiopathologie de l'infection par le VIH, la distribution tissulaire du virus, le réservoir viral, les réponses immunitaires contre le virus dans les phases très précoces de l'infection et au niveau tissulaire, tout comme dans le développement de vaccins candidats (RhCMV, anticorps à large spectre. . .) et essais cliniques en vue d'une guérison. Les avantages et limites des différents modèles animaux seront décrits. Tout en continuant la recherche sur des méthodes de remplacement, raffinement ou réduction du modèle animal, une bonne connaissance des spécificités de chaque modèle animal permet une utilisation adéquate par rapport aux questions scientifiques posées.

Mots clés : VIH, SIV, primates, pathogénèse, vaccins, rémission, souris humanisées

Abstract. Even today, despite triple therapy, the epidemic of the human immunodeficiency virus (HIV) is a major public health problem. In this perspective, continuous research is essential for the development of curative and vaccinal approaches. Animal models contribute to the implementation of new therapeutic and preventive strategies. We present here the characteristics of major animal models of HIV, which are non-human primates (SIV or SHIV-infected macaques and natural hosts of SIV), as well as different humanized mouse models and their advances. We will also list how they have already allowed, and still allow today, to broaden our knowledge on the physiopathology of HIV infection, tissue distribution of the virus, viral reservoirs, immunological responses against the virus in the very early infection stages and at the tissue level, but also in the development of vaccine candidates (RhCMV, broad-spectrum antibodies, etc. . .) and clinical trials for a cure. The advantages and limitations of the different animal models will be described. While continuing research on alternative methods, refinement or reduction of the animal model, a good knowledge of the specificities of each animal model allows an adequate use in relation to the scientific questions addressed.

Key words: HIV, SIV, primates, pathogenesis, vaccines, remission, cure, humanized mice

Correspondance : M. Müller-Trutwin
<mmuller@pasteur.fr>

Introduction

Trente-six ans après sa découverte, l'épidémie du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) continue à poser un problème de santé publique. Par conséquent, réduire le nombre de nouvelles infections *via* la mise au point de nouveaux outils et stratégies de prévention reste une priorité. L'introduction de la combinaison d'antirétroviraux efficace (cARV) a été un élément clé pour allonger l'espérance de vie des personnes séropositives et transformer une maladie jadis mortelle en une infection chronique. Le traitement cARV devrait au-delà contribuer à diminuer le nombre de nouvelles infections [1]. Toutefois, l'action de cette thérapie cARV ne permet pas d'éradiquer le réservoir viral faisant de celui-ci un obstacle majeur à la guérison du VIH [2]. L'étude de nouvelles approches thérapeutiques et préventives des infections humaines par le VIH passe, entre autres, par le développement de modèles animaux permettant aux études pharmacologiques et pré-cliniques d'évaluer la pertinence de la stratégie choisie. Après plus de 30 ans d'intenses investigations, nous manquons encore de connaissances nécessaires au développement d'un vaccin contre le VIH sûr et efficace. La lente évolution clinique de l'infection par le VIH, la complexité des interactions entre le virus et son hôte, le nombre considérable de dysfonctionnements immunitaires engendrés directement ou indirectement par la réplication virale, l'établissement de réservoirs viraux dans les tissus, ainsi que l'atteinte du système nerveux central rendent impossible toute approche exclusivement *in vitro*. La mise en place d'outils pour l'étude des réponses immunitaires et du génome chez les primates non humains (PNH), le développement de meilleurs modèles murins humanisés [3] ainsi que de nouveaux virus recombinants ont augmenté la pertinence des modèles disponibles [4]. Il est cependant essentiel d'en définir les avantages et limites dans le cadre du développement de vaccins et de nouvelles stratégies curatives du VIH, mais également de continuer les efforts de diminution du nombre d'animaux et de méthodes de remplacement.

L'apport des primates non humains dans la recherche sur le VIH

La mise en place de modèles animaux ayant pour but de mieux comprendre la maladie a été une des difficultés rencontrées après la découverte du VIH. Cette difficulté tient au fait que le VIH-1 possède un tropisme strictement limité aux humains et aux chimpanzés. C'est pourquoi les premiers modèles animaux utilisés pour lutter contre le VIH furent les chimpanzés, modèles qui aujourd'hui ont été abandonnés pour des raisons éthiques évidentes [5].

Le premier lentivirus simien fut isolé en 1985 chez des macaques détenus en captivité et nommé SIVmac (*Simian Immunodeficiency Virus* [SIV]) [6]. Ces singes présentaient des symptômes cliniques identiques au syndrome d'immunodéficience acquise (sida) chez l'homme. Cependant, l'infection par le SIV n'existe pas chez les macaques sauvages, ni chez d'autres singes asiatiques dans leur habitat naturel. Seuls les primates d'Afrique sont porteurs du lentivirus à l'état sauvage. La première espèce de primate d'Afrique identifiée comme porteur naturel de ce lentivirus fut le mangabey enfumé (« *sooty mangabey* » en anglais). Cette espèce est porteuse du virus SIV_{sm} [7]. Par la suite, il a été montré que l'infection SIV chez les macaques résultait de transmissions expérimentales de tissus provenant de mangabeys enfumés infectés par le SIV_{sm} et maintenus en captivité dans les mêmes centres de primatologie.

Les similitudes frappantes, qui existent entre le sida induit chez l'homme infecté par le VIH-1 et la maladie induite par le SIVmac chez les macaques, ont fait de ces derniers un modèle très important pour l'étude de la pathogénie de ces virus. Les études chez les primates PNH ont contribué à définir et mieux caractériser les principaux paradigmes de la pathogénèse de l'infection par le VIH. Les modèles PNH sont utilisés pour tester divers traitements et sont essentiels dans la recherche d'un vaccin contre le VIH [8].

Modélisation de l'infection par le VIH chez le modèle macaque

Les PNH présentent certains avantages dans l'étude de l'infection au VIH, car ils permettent de contrôler le moment, la dose et la voie d'inoculation du virus. Ces modèles permettent l'étude des premières heures de l'infection, ainsi que de prélever des échantillons de tissus qui, pour des raisons éthiques et logistiques, sont difficiles à prélever chez l'homme (par exemples, les muqueuses vaginale et rectale, les ganglions lymphatiques, la rate, les poumons, le foie ou le cerveau...) [9].

Les macaques peuvent être infectés par voie vaginale ou rectale pour modéliser la transmission sexuelle du VIH-1, par inoculation orale pour modéliser la transmission du lait maternel de la mère à l'enfant et par inoculation intraveineuse. De plus, les macaques infectés et traités avec les antirétroviraux permettent de modéliser l'infection par le VIH-1 chez des patients sous trithérapie [10].

Une des questions posées lorsque l'on utilise un modèle animal pour des études de vaccins candidats, consiste à déterminer si la dose et le mode d'administration de l'agent pathogène inoculé correspond à une réalité biologique. Les premières études menées chez les PNH utilisaient des doses suffisamment élevées de virus injectées par voie

intraveineuse pour obtenir un taux d'infection égale ou supérieur à 100 %. Cependant, la pertinence de ce choix a été questionnée dans le cadre d'études sur l'efficacité de candidats vaccins ou de microbicides étant donné la quantité de virus généralement plus faible présente lors d'une infection par le VIH pendant un rapport sexuel. De plus, l'injection de virus par voie intraveineuse ne permet pas d'étudier les premières étapes de la dissémination du virus au sein des muqueuses génitales [11, 12]. Afin de répondre à ces questions, des modèles d'exposition répétée à faible dose de virus par voie mucoale ont été développés [13-16]. Ces expériences ont des conséquences importantes sur le coût et la gestion des protocoles expérimentaux. En effet, ce type d'expérimentation nécessite la production d'une plus grande quantité de stock viral. Surtout, en raison de la faible fréquence d'infection, cela oblige à augmenter le nombre d'animaux de l'étude. En dépit de cela, les infections par voie mucoale à forte dose ont été d'un apport considérable dans la compréhension de la physiopathologie des premiers jours de l'infection et ont contribué à comprendre comment le virus pénètre et se dissémine au travers des muqueuses.

Diversité des modèles de pathogénèse

L'infection du macaque par le SIV entraîne une infection persistante dans laquelle la progression vers le sida se produit généralement de manière similaire à celle chez les individus infectés par le VIH [17]. Parmi l'ensemble des PNH, trois espèces sont principalement utilisées dans la recherche sur le VIH. Il s'agit du macaque rhesus (*Macaca mulatta*), du cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*) et du macaque à queue de cochon (*Macaca nemestrina*). Chacune de ces espèces montre des susceptibilités distinctes au sida et qui varient selon le SIV (figure 1).

Les macaques rhesus (RM) d'origine indienne sont souvent infectés soit par l'isolat SIVmac251, soit par le clone moléculaire dérivé du SIVmac251, le SIVmac239. Ces deux virus reproduisent la physiopathologie de l'infection VIH-1, ce qui comprend une charge virale plasmatique souvent élevée, une déplétion immédiate et durable des cellules T CD4⁺ au sein des muqueuses, ainsi qu'une activation chronique du système immunitaire [18, 19]. Les RM d'origine chinoise infectés par le SIVmac239/251 représentent un autre modèle d'intérêt pour la recherche sur le VIH. Comparativement aux RM indiens, les RM chinois infectés par le SIVmac239 ont une charge virale plasmatique moins élevée et une dynamique des marqueurs immunologiques plus proche de celle observée chez l'homme [20]. En revanche, le macaque à queue de cochon infecté par le SIV représente un modèle de progression rapide, pour lequel la progression vers l'état sida se fait souvent en trois mois. Dans ce modèle, la plupart des animaux développent une inflammation intes-

tinale importante et des maladies du système nerveux central [21]. Le modèle de neuro-sida chez le macaque a beaucoup été utilisé pour étudier par exemple le rôle des macrophages dans l'inflammation et le réservoir viral au niveau du cerveau [21, 22]. Enfin, les macaques cynomolgus infectés par le SIVmac présentent des niveaux de virémie et de progression variables selon la dose virale et la voie d'infection. Ils ont été utilisés notamment pour étudier des mécanismes de contrôle de la réplication virale [23-26].

Apport des modèles PNH pour la compréhension de la physiopathologie de l'infection par le VIH

De manière tout à fait remarquable, ces animaux peuvent reproduire, une fois infectés, tous les profils d'évolution distincte de l'infection observés chez l'homme. Ainsi, certains animaux peuvent progresser rapidement (quelques mois) vers un état sida, alors que la majorité développera un état sida après une période d'infection chronique s'étalant sur plusieurs mois/années, et enfin une minorité d'entre eux contrôleront l'infection spontanément, mimant les contrôleurs du VIH (« *elite controllers* » ou « *HIV controllers* » en anglais) [27]. Ces différences sur le devenir de l'infection sont dépendantes d'une combinaison de facteurs entre le virus et son hôte, tels que l'espèce de singe étudié (les macaques rhesus progressant généralement plus vite que les macaques cynomolgus), la souche virale inoculée (le clone SIVmac239 étant plus virulent que l'isolat SIVmac251), ainsi que le fond génétique des animaux infectés. En effet, comme chez l'homme, où certains haplotypes, tels que HLA (*human leukocyte antigen*)-B*27/57 sont protecteurs, la charge virale peut varier selon des facteurs génétiques chez les PNH, notamment les complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH)-I et TRIM5 α [28-30]. Le choix du modèle d'études dépendra donc grandement de la question qui sera posée. Cependant, et en partie à cause du coût élevé et de la logistique considérable nécessaire, seul un nombre limité d'études a été réalisé pour clairement comparer la physiopathologie de l'infection par les lentivirus de primates dans différentes espèces de macaques. De plus, la variabilité des paramètres utilisés entre les laboratoires, rend parfois difficile la comparaison des résultats obtenus dans les différents modèles.

En plus de ces différents modèles de macaque, la recherche fait également recours à des PNH d'origine africaine comme le singe vert d'Afrique (AGMs) (genre *Chlorocebus*), le mangabey enfumé (SM) (*Cercocebus atys*) et le mandrill (*Mandrillus sphinx*) [31]. Ces trois espèces simiennes sont nommées les porteurs naturels de virus SIV.

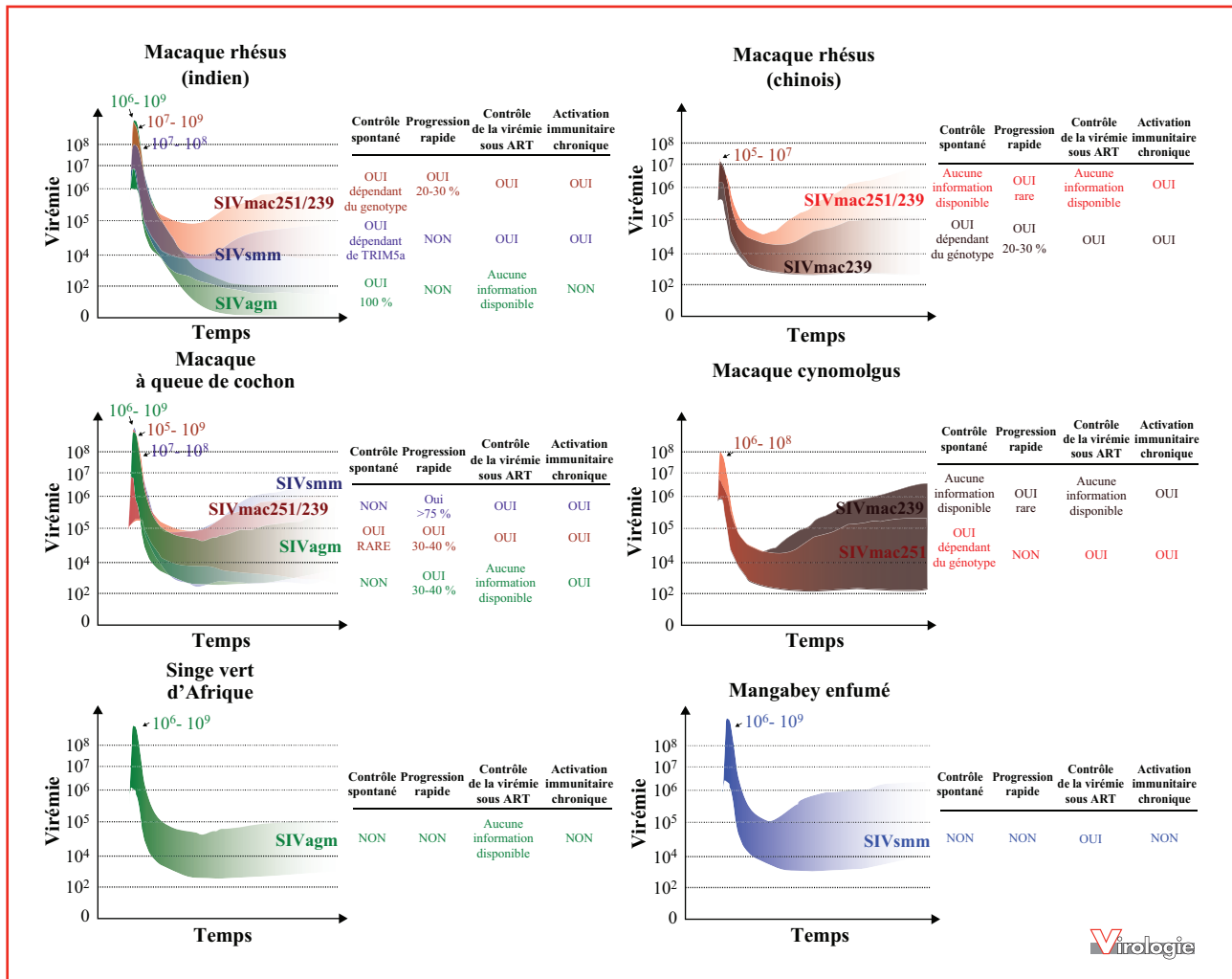


Figure 1. Principaux modèles d'infection par le SIV chez les primates non humains utilisés dans la recherche sur le VIH. Représentation non exhaustive des différents modèles de primate non humain utilisés le plus fréquemment dans la recherche sur le VIH. Les espèces simiennes sont indiquées. Les courbes de couleurs représentent la variation de la charge virale plasmatique pour un virus donné en fonction du temps. Les principales caractéristiques de chaque modèle sont indiquées dans les tableaux adjacents au graphique. Les études qui ont été réalisées avec le SIVmac239/251 chez le macaque rhésus chinois et macaque cynomolgus sont moins fréquentes que celles chez les singes macaques rhésus indiens. Or la charge virale mesurée peut grandement varier selon plusieurs paramètres comme l'espèce et le fond génétique de l'hôte, son âge, la souche virale, les techniques du laboratoire pour ne citer qu'eux.

Ces hôtes naturels du SIV ne développent généralement pas de sida, contrairement aux macaques, et cela malgré une charge virale plasmatique très élevée. Il est à noter que l'infection de SIVsm chez le macaque ou l'infection de certains isolats SIVagm chez le macaque à queue de cochon aboutit à un sida (figure 1).

Les hôtes naturels ont été utilisés pour définir des corrélats de protection et servent à comprendre quels mécanismes sont impliqués pour éviter la progression vers l'état sida. Des études comparatives entre les infections SIV pathogènes chez les macaques et les infections SIV non pathogènes chez l'hôte naturel ont montré que le niveau

de virémie n'est pas le facteur déterminant de la progression vers la maladie. Elles ont été essentielles à mieux appréhender le rôle clé de l'inflammation chronique dans la progression vers la maladie [32]. L'étude des modèles d'infection non pathogène a participé aux changements du paradigme de la pathogenèse du VIH, une charge virale élevée n'étant plus le déterminant unique de la progression vers le sida. Ces travaux ont contribué à attirer l'attention sur l'inflammation résiduelle qui persiste même chez des individus avirémiques et à mieux appréhender l'importance de contrôler l'infection dès les phases précoces de l'infection [33]. L'inflammation est résolue rapidement et efficace-

ment chez l'hôte naturel. Les mécanismes à l'origine de ce contrôle efficace de l'inflammation ne sont pas encore totalement élucidés [32].

Les PNH ont grandement participé à notre compréhension d'autres éléments de la physiopathologie de l'infection par le VIH. À titre d'exemple, l'infection de macaques permet l'étude des mécanismes mis en jeu dans la destruction de l'intégrité de la barrière intestinale et des réseaux des cellules dendritiques folliculaires aux niveaux des follicules dans les organes lymphoïdes secondaires [34-36]. Ces études ont ainsi dévoilé le rôle joué par les cellules T régulatrices et le TGF- β dans les étapes conduisant à la fibrose au sein des ganglions lymphatiques de macaques chroniquement infectés [37-39]. Ces dommages ne sont que partiellement réversibles après la mise sous traitement cARV [40]. Contrairement aux modèles macaques, les hôtes naturels ne montrent pas de dommages tissulaires en phase chronique de l'infection. L'étude de l'hôte naturel pourrait donc dans le futur apporter des connaissances sur les mécanismes de protection de ces tissus en dépit de l'infection [32].

Les modèles de PNH pour l'étude du réservoir viral

L'introduction de protocoles permettant de traiter les macaques infectés par SIVmac par cART a profondément impliqué le modèle PNH dans l'étude du réservoir viral [41]. Un des obstacles majeurs rencontré pour établir une guérison totale de l'infection par le VIH tient au fait que le virus se dissémine rapidement après la primo-infection et établit des réservoirs viraux persistants dans de nombreux tissus [42, 43]. Les travaux chez le macaque ont permis de démontrer que l'ensemencement du réservoir est un événement extrêmement rapide qui se produit avant que la virémie plasmatique ne soit détectable [41, 44, 45].

Après avoir atteint les organes lymphoïdes secondaires, véhiculé entre autres par les cellules dendritiques, le virus s'y réplique massivement où il finit par gagner les centres germinatifs [46]. Dans les centres germinatifs, le virus infecte les cellules T auxiliaires folliculaires (TFH) [47]. L'utilisation des modèles PNH a contribué à mettre en évidence que les cellules TFH infectées constituent un des réservoirs cellulaires majeurs chez des sujets ayant une virémie indétectable [48, 49]. En effet, il a été montré que les animaux contrôleurs du SIVmac ont une répllication virale qui persiste à bas bruit dans les cellules TFH des centres germinatifs [50]. Cette persistance du virus est principalement attribuée à l'incapacité des cellules T CD8⁺ cytotoxiques à migrer dans les centres germinatifs pour éliminer le virus, ce qui fait de ce compartiment un sanctuaire pour le SIV/VIH [51]. Cette même observation a ensuite été réalisée chez

l'homme et chez des animaux traités par des antirétroviraux. Dans ce contexte, il est important de garder en mémoire que la diffusion des antirétroviraux dans ces tissus est peu efficace [52]. Le modèle primate joue un rôle important pour étudier la biodisponibilité tissulaire des drogues dirigées contre le VIH/SIV [53].

L'étude des organes lymphoïdes secondaires chez l'hôte naturel a mis en évidence une répllication virale élevée lors du pic de virémie, mais qui est ensuite fortement contrôlée jusqu'à devenir indétectable chez certains animaux [54]. L'infection par le SIV est par ailleurs généralement absente au sein des TFH de l'AGM et faible chez le SM. Ainsi, l'hôte naturel semble tolérer la virémie élevée dans le sang et les muqueuses, mais a développé des mécanismes de protection des organes lymphoïdes secondaires. Cette distribution tissulaire pourrait expliquer en partie le ratio plus faible d'infection de cellules T auxiliaires mémoires, et un ratio plus élevée de cellules T auxiliaires effectrices chez l'hôte naturel comparativement au modèle pathogène [55-57].

Vers une stratégie curative de l'infection par le VIH-1 : l'apport des modèles de PNH

Le traitement par trithérapie seul n'est pas suffisant pour éliminer le VIH de l'organisme. Il est nécessaire d'intensifier la recherche vers de nouvelles stratégies ayant pour but une élimination du réservoir viral. Cependant, de telles études ne peuvent pas toujours être menées chez l'homme. Les modèles animaux contribuent à l'étude de la réponse immunitaire au niveau des tissus. Grâce à des approches de déplétion *in vivo* de certains types de cellules immunes, il est par exemple possible de comprendre, si ceux-ci sont susceptibles d'affecter la répllication virale. Ce type d'approche a formellement démontré le rôle des cellules T CD8⁺ dans le contrôle de la répllication virale chez le macaque ainsi que le rôle des cellules *natural killer* (NK) dans le contrôle de la répllication virale au sein des ganglions lymphatiques chez des hôtes naturels. Il a ainsi été montré que les singes verts d'Afrique infectés par le SIVagm, les cellules NK sont capables de pénétrer à l'intérieur des centres germinatifs en augmentant l'expression à leur surface du récepteur CXCR5 et de supprimer la répllication virale au sein des cellules CD4⁺ TFH [55]. Ceci questionne le rôle sous-estimé des cellules NK dans la régulation des réservoirs viraux et ouvre la piste à de nouvelles stratégies thérapeutiques et vaccinales ciblant ces cellules.

Un autre aspect intéressant des VIH et SIV est qu'ils partagent les mêmes mécanismes aboutissant à la persistance virale. Le génome du VIH/SIV s'intègre dans le génome de la cellule cible [58, 59], avec selon certaines études des sites d'intégration préférentiels communs entre les deux

virus [60]. La réponse interféron est capable de favoriser la persistance de l'ADN viral dans les cellules infectées simiennes et humaines en jouant sur les mécanismes épigénétiques (désacétylation des histones) [61]. L'entrée en latence du virus peut se faire sans co-stimulation du *T-cell receptor* (TCR) [62]. La distribution des cellules contenant du génome viral intégré au sein des différents tissus (sang, organes lymphoïdes secondaires, intestin. . .) a été rapporté être similaire entre l'homme et les PNH [63-65]. Ainsi, ces observations suggèrent que la dynamique du réservoir viral est identique à ce que l'on retrouve chez l'homme. Des différences existeront néanmoins toujours entre l'infection SIV chez le singe et l'infection VIH chez l'homme. Notamment, chez les PNH, la durée du traitement est généralement de plusieurs années plus courte que chez l'homme, ce qui peut influencer les données observées. En absence d'autres modèles aussi puissants, le modèle singe reste toutefois un outil important pour étudier des stratégies curatives contre le VIH.

De nombreuses approches curatives sont actuellement en cours d'étude. Ces modèles permettent par exemple d'évaluer la biosécurité et l'efficacité d'agents révertants de la latence virale. Il a ainsi été montré que l'administration d'un inhibiteur d'histone désacétylase (HDAC), chez des macaques infectés et placés sous trithérapie, ne permet pas de mettre en évidence une augmentation significative de la réactivation virale [66]. De plus, le mode d'action de ce type de molécules semble affecter négativement les réponses des lymphocytes T CD8⁺ contre le virus et plus particulièrement leurs capacités à produire de l'interféron- γ [66]. Plus récemment, l'administration de l'auranofine, qui est un complexe d'or organique utilisé comme traitement contre la polyarthrite rhumatoïde, a mis en avant une réduction significative du réservoir viral chez des macaques rhésus infectés sous trithérapie, et un délai accru du rebond viral après cessation de tout traitement [67]. Ces animaux permettent aussi d'étudier l'action de ces molécules dans différents contextes. L'administration d'agents révertants de la latence peut être réalisée par exemple chez des animaux contrôleurs naturels ou sous traitement antirétroviraux et à l'inverse chez des animaux où la réplication virale n'est pas contrôlée. Réaliser de telles études en absence de cARV chez l'homme ne serait éthiquement pas possible. Beaucoup d'autres approches sont en cours d'étude en utilisant différentes stratégies, y compris des vaccins candidats, ciblant soit les réservoirs viraux, les cellules immunes ou de facteurs cellulaires [37, 68-71].

Globalement, l'utilisation de modèles animaux est pour l'instant, en absence d'autres modèles physiopathologiques meilleurs, indispensable pour aborder certaines questions dans le domaine des mécanismes d'établissement des réservoirs viraux tissulaires et de leur régulation.

Vers une stratégie vaccinale de l'infection par le VIH : l'apport des modèles de PNH

Malgré d'intensives recherches, un vaccin contre le VIH n'existe toujours pas. Afin de contrôler au mieux l'épidémie, la mise au point d'un vaccin contre le VIH reste une des priorités majeures dans le domaine [72]. Dans ce contexte, les modèles PNH sont d'une utilité incontestable. Tout en sachant qu'il n'est pas toujours possible de transposer les données obtenues chez le singe à l'homme, ceux-ci permettent de tester des stratégies qui pourraient s'avérer risquées si elles étaient testées chez l'homme [73]. De plus, les PNH sont indispensables pour évaluer la dissémination du virus et les réponses immunitaires dans les tissus. Les modèles primates ont contribué à mieux comprendre les mécanismes d'échappement du virus aux cellules T CD8 cytotoxiques [74, 75]. C'est dans le modèle macaque que la preuve du concept que d'administration d'anticorps neutralisants à large spectre (bNAbs) confère une protection contre l'infection a été obtenue. Ceci a été réalisé avec des SIV chimériques exprimant la glycoprotéine d'enveloppe (Env) du VIH-1 (SHIV) [76]. Les anticorps neutralisants à large spectre se sont révélés difficiles à obtenir par immunisation. Afin de permettre leur induction, des vecteurs du virus adéno-associé recombinant (AAVs) ont été développés pour permettre la délivrance directe de gènes d'immunoglobuline de spécificité prédéterminée. Dans ce contexte, il a pu être montré chez des macaques rhésus qu'une seule inoculation intramusculaire d'AAV exprimant un bNAb spécifique pour l'enveloppe du virus, était suffisante pour obtenir des anticorps neutralisants circulants et permettant une protection des animaux contre une inoculation du virus par voie intraveineuse [77]. D'autres approches sont en cours et consistent par exemple dans des immunisations répétitives avec des antigènes évolutifs.

Des stratégies vaccinales visant à induire les réponses T CD8⁺ anti-VIH sont également sous étude. À titre d'exemple, des études réalisées à l'aide de vecteurs vaccinaux à base de virus herpès recombinants ont montré des résultats intéressants. Ainsi, l'immunisation de macaques rhésus avec des vecteurs de cytomégalovirus de rhésus (RhCMV) exprimant des antigènes du SIV permet l'éradication du SIV chez environ 50 % des animaux immunisés [78]. Des lymphocytes T mémoires effecteurs spécifiques du SIV sont retrouvés abondamment aux sites connus de réplication du SIV et l'induction de ces cellules T CD8⁺ effectrices semble pérenne. Ce modèle de protection se distingue par différents aspects, comme l'absence d'anticorps spécifiques à l'enveloppe virale (malgré l'inclusion d'un vecteur exprimant Env) et des réponses T CD8⁺ HLA-E dépendantes.

En conclusion, le PNH est un modèle d'étude important pour la compréhension de la physiopathologie du VIH et les études curatives et vaccinales. L'étude des macaques a apporté une meilleure connaissance sur les interactions virus-hôte très précoces, la dissémination virale, les réservoirs viraux ou encore les réponses immunes tissulaires [79]. De plus, les modèles macaques peuvent être utiles pour l'étude des traitements antirétroviraux, comme dans le cas de suivis pharmacocinétiques au niveau tissulaire. Ils ont contribué au développement de ce que l'on connaît aujourd'hui sous le nom de la prophylaxie préexposition [80]. Dans le futur, ils pourront peut-être aider à développer un vaccin efficace et à expliquer les mécanismes présents chez les rares personnes qui ont contrôlé la charge virale après l'arrêt du traitement antirétroviral. En outre, tout comme les macaques, les hôtes naturels du SIV ont apporté de nouvelles connaissances. Ce modèle a souvent poussé les dogmes et l'idée de ce que pouvait être le contrôle de l'infection chez un individu, promulguant ainsi de nouveaux concepts qui pourront éventuellement être traduits un jour par des immunothérapies pouvant contribuer à une rémission durable du VIH.

Vue d'ensemble des modèles murins utilisés dans la recherche sur le VIH

Les cellules murines sont résistantes à l'infection par le VIH. Des souris humanisées ont alors été développées pour étudier l'infection par le VIH, afin de remplacer en partie le modèle PNH dans un modèle animal plus petit. La notion de souris humanisée se rapporte à toute modification génétique d'une souche murine permettant l'expression de gènes humains. Cette notion englobe une vaste étendue de modifications génétiques allant du simple ajout de transgènes jusqu'à l'implantation de cellules souches dans des souris immunodéprimées facilitant ainsi la reconstitution d'un système immunitaire humanisé. Ce chapitre va décrire les principaux modèles murins ainsi que les découvertes récentes dans le domaine de la recherche sur le VIH réalisées grâce à leurs utilisations.

Le début des modèles murins humanisés

Afin de limiter le rejet des cellules humaines transplantées par le système immunitaire de la souris receveuse, des souris immunodéficientes ont dû être utilisées. Ainsi, des souches murines arborant diverses mutations conduisant

à une diminution, voire une abrogation de leur système immunitaire ont été sélectionnées. C'est en 1966 que la première souche murine ne possédant pas de cellules T CD4⁺ et CD8⁺ matures fut décrite. Cette absence de maturation est le résultat d'une mutation dans le gène *Foxn1mu* qui conduit à une absence de maturation des cellules T dans le thymus. Cette mutation entraîne aussi une diminution de la pilosité, ce qui a conduit à baptiser cette souche de souris, les souris *nude* athymiques.

En 1983, les souris CB17-SCID (*severe combined immunodeficiency*) ont été obtenues [81]. Elles se caractérisent par une mutation autosomale récessive du gène *prkdc* (*protein kinase DNA activated catalytic polypeptide*). Celui-ci code une protéine jouant un rôle dans les mécanismes de réparation de l'ADN, et dont l'action est indispensable aux recombinaisons V(D)J nécessaires aux réarrangements des récepteurs des cellules T et B.

Afin d'accentuer l'immunodéficiences des souches murines, des souris ont été mutées pour les gènes *RAG1* et *RAG2* (*RAG1*^{-/-} et *RAG2*^{-/-}) (tableau 1). Les gènes *RAG1* et *RAG2* codent des protéines indispensables au réarrangement des TCR et B-cell receptor (BCR) présents sur les cellules T et B respectivement. En les bloquant, la réponse immunitaire spécifique dans ces souris est perdue [82]. Ainsi, grâce à une plus faible activité résiduelle du système immunitaire, ces souches murines ont historiquement beaucoup été utilisées pour mener des études de transplantation de tissus humains et d'infusion de cellules humaines. Cependant, des limites majeures sont très vite apparues. En effet dans ces modèles, la forte activité du système immunitaire innée et notamment celle des cellules NK limite la prise de greffe de cellules humaines provenant de tissus hématopoïétiques fœtaux (foie, thymus) et/ou celle de cellules progénitrices hématopoïétiques (CPH) CD34⁺, empêchant ainsi le développement d'un système immunitaire humanisée complet.

Une avancée majeure fut faite à partir de souris portant une mutation dans la chaîne gamma du récepteur à l'interleukine-2 (*IL2rg* ou *IL2γ_c*), perturbant ainsi l'activité des cytokines IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 et IL-21, qui sont indispensables pour le fonctionnement du système immunitaire, et notamment pour les cellules NK, qui sont complètement absentes chez cette souche murine. Avec l'objectif de perfectionner le blocage du système immunitaire de la souris receveuse, des croisements ont alors été entrepris entre les différentes souches précédemment décrites et la souche murine NOD-SCID. Le croisement entre des souches murines *IL-2γ_c* et des souris NOD-SCID a permis de générer des souris NOD-SCID-*γ_c*^{-/-} appelées souris (NSG), et le croisement entre des souches murines *IL-2γ_c* avec les souris BALB/c-*Rag2*^{-/-} de générer les souris dites BRG.

Tableau 1 Principaux modèles de souris humanisées utilisés dans la recherche sur le VIH-1.

	HIV-SCID-hu	HIV/hu-HSC	HIV/BLT
Méthode d'obtention	Souris SCID transplantée avec du thymus et du foie d'embryon humain	Souris NOD/NSG, irradiée et transplantée avec des cellules souches humaines	Souris NOD/NSG, irradiée et transplantée avec des cellules souches humaines et du thymus / foie d'embryon humain
Délai nécessaire pour leur obtention (à partir de leur naissance)	5-7 mois	2-3 mois	5-7 mois
Cellules du système immunitaire humain reconstituées	Cellules T	Cellules T, cellules B, cellules dendritiques	Cellules T, cellules B, cellules dendritiques, cellules NK, monocytes, macrophages
Distribution des cellules reconstituées	Limité à l'implant thymus et foie	Moelle osseuse, structures lymphoïdes secondaires	Moelle osseuse, organes lymphoïdes secondaires, muqueuses (intestin, appareil reproductif)
Durée de l'infection par le VIH-1	Environ 1 an (dépend du greffon)	6-7 mois	Plus d'un an
Charge virale plasmatique (copies/mL)	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁷	10 ⁴ -10 ⁵

Les modèles de souris humanisées dans la recherche sur le VIH

C'est à partir de ces premières souris mutantes que la première expérience d'infection par le VIH a été menée. Ces modèles étaient limités, car les cellules immunitaires ne murent pas chez ces souris, mais proviennent comme mentionné ci-dessus, de transfusions de cellules humaines isolées à partir du sang, donc sans renouvellement possible. Mener des études sur une longue période de temps est presque impossible à réaliser pour les mêmes raisons.

C'est alors qu'il a été entrepris de générer des souris dans lesquelles une hématopoïèse complète pourrait avoir lieu. C'est à partir des souches NSG et BRG que les processus d'humanisation plus complexes ont principalement été effectués, car celles-ci sont dépourvues de cellules T, B, NK, ne développent pas spontanément de tumeurs et sont génétiquement très stables. Afin d'obtenir des souris avec un système immunitaire complet aux propriétés humaines, il est important de garder en mémoire que la procédure d'humanisation chez ces souris mutantes est difficile. Il existe, à ce jour, quatre approches expérimentales permettant de réaliser cette tâche avec des ajustements de procédure pouvant varier d'une expérience et d'un laboratoire à l'autre et qui ne seront pas détaillées dans cette revue.

À ce jour, trois modèles sont principalement utilisés dans la recherche sur le VIH. Ces modèles sont capables de

générer une réponse adaptative complète ou partielle et permettent la dissémination du virus à partir de différentes voies d'inoculation.

Le premier modèle utilisé est le modèle de souris SCID-thymus/foie humanisées (SCID-hu-thy/liv), dans lesquelles des cellules du thymus et du foie humains sont implantées sous la capsule rénale. Cette implantation permet aux cellules souches du foie (CD34⁺) de générer à travers le thymus des cellules T CD4⁺ et CD8⁺ naïves [83]. Une des limites de ce modèle est le faible niveau de cellules T humaines systémiques. Le second modèle murin humanisé utilisé dans la recherche sur le VIH est le modèle de moelle osseuse/foie/thymus (BLT). Celui-ci a été obtenu par transplantation de cellules progénitrices de l'hématopoïèse CD34⁺ humaines dans des souris NSG préalablement implantées avec du thymus et du foie [84-86]. Ce modèle permet une éducation active des lymphocytes T humains par une thymopoïèse proche de celle observée chez l'homme, ce qui aboutit à des réponses T humaines restreintes par le CMH de classe I. Cependant, bien que le modèle BLT soit une avancée majeure, celui-ci reste coûteux et lourd à développer, principalement en raison des procédures chirurgicales compliquées (co-implantation de fragments de tissus multiples sous la capsule rénale) et un accès au matériel limité (thymus et tissu hépatique humain), limitant son utilisation pour la recherche. Une alternative à ce modèle est la souris *human hematopoietic stem cell* (Hu-HSC) [87]. Celui-ci est obtenu par seule transplantation de cellules souches humaines dans des souris BRG ou

NSG préalablement conditionnées par radiation. Comme pour le modèle BLT, une distribution systémique des cellules B, des cellules T, des monocytes/macrophages, des cellules NK et des cellules dendritiques est observée. Mais contrairement au modèle BLT, la maturation des cellules T se fait dans le thymus murin empêchant ainsi une réponse adaptative dépendante du CMH-I. Dans chacun des modèles BLT ou Hu-HSC, les souris sont capables d'une forte production d'anticorps (IgG) après leur immunisation avec des antigènes T-dépendants *in vivo* [88]. Elles produisent aussi des cytokines pro-inflammatoires en réponse au LPS [89]. De plus, ces souris sont sensibles à l'infection par le VIH et au traitement antirétroviral. Dans le modèle BLT, les cellules T CD4⁺ non activées (CD4⁺ CD27⁺ CCR7⁺) infectées de manière latente sont présentes à des niveaux comparables à ceux présents chez les patients humains soumis à un traitement antirétroviral [86, 90].

Les récentes avancées dans la recherche sur le VIH : apport des modèles murins

Dans ce chapitre, nous allons développer les avancées récentes faites dans la compréhension de la physiopathologie de l'infection par le VIH et comment ces modèles sont utilisés pour développer de nouvelles stratégies antivirales. Il est communément admis que, dans les premiers jours de l'infection, l'établissement du VIH est partiellement conditionné par des facteurs produits par l'hôte. Un de ces facteurs est l'interféron de type I qui, *via* l'induction de chimiokines, permet le recrutement de nouvelles cibles pour le virus [32, 91]. Cependant, l'interféron de type I peut aussi jouer un rôle important pour contenir la dissémination du virus. Des études réalisées chez les primates non humains a montré qu'une neutralisation du récepteur à l'interféron de type I accélère la progression de l'infection vers un état sida [92]. En revanche, la production constante d'interféron observée durant la phase chronique, même chez des personnes sous antirétroviraux, pourrait participer à l'exacerbation et à l'épuisement du système immunitaire facilitant ainsi la persistance du virus. C'est afin de mieux comprendre le rôle joué par l'interféron de type I dans l'infection par le VIH que des études ont été réalisées dans des souris humanisées. Récemment, deux études ont montré que bloquer les récepteurs à l'interféron de type 2 (IFNAR2), ou la voie de signalisation des récepteurs à l'interféron de type α/β (IFNAR1) à l'aide d'anticorps neutralisants chez des souris (BLT, hu-HSC ou NRG) chroniquement infectées par le VIH, permettait de diminuer l'épuisement du système immunitaire (diminution de l'expression de TIM-3 et PD-1 à la surface des cellules T),

ainsi que la réplication virale [93]. De plus, en combinant ce traitement aux antirétroviraux, il a été montré une diminution des réservoirs viraux dans les organes lymphoïdes secondaires, permettant d'augmenter le délai du rebond viral lors de l'arrêt du traitement.

Afin de déterminer quel sous-type d'interféron participe au contrôle de la réplication virale *in vivo*, des souris Rag2^{-/-} γ c^{-/-} CD47^{-/-} -BLT ont été infectées par le VIH [94]. Cette étude montre une forte capacité antivirale du sous-type d'interféron α 14 sur la réplication virale lorsque celui-ci est administré en prophylaxie ou pendant la phase aiguë. Cet effet était plus fort que celui du sous-type d'interféron α 2, qui est le principal interféron utilisé dans les études menées chez l'homme et le singe.

Les souris humanisées permettent aussi l'étude des réservoirs cellulaires du virus. En effet, bien que les cellules T CD4⁺ soient la cible majeure du VIH, il reste à ce jour des zones d'ombres concernant l'apport des macrophages dans la physiopathologie de l'infection. Il est évident que les macrophages sont infectés *in vivo* par le VIH, particulièrement dans le cerveau, cependant leur contribution au réservoir viral chez des patients sous traitement antirétroviraux reste toujours controversée. Cela tient, entre autres, au fait qu'il est difficile *in vivo* de différencier l'ADN viral d'un macrophage infecté de façon latente, de celui d'un macrophage ayant phagocyté une cellule T CD4⁺ infectée de manière latente. C'est pour répondre à cette question que des souris humanisées NOD/SCID-hu-HSC ne pouvant générer de cellules de la lignée lymphocytaire ont été infectées. Ainsi en absence de cellules T, une réplication virale a pu être obtenue chez ses souris dans de multiples organes, démontrant ainsi que les macrophages sont capables, à eux seuls, de supporter une forte réplication virale dans différents tissus [95]. Une autre étude conduite chez des souris NSG-hu-HSC a permis de mettre en évidence que des provirus intégrés pouvaient se trouver dans des monocytes/macrophages (définis par l'expression CD14⁺ CD16⁺). Ces résultats confirment l'hypothèse que les macrophages provenant des tissus participent aussi à la composition du réservoir viral [96].

Les modèles de souris humanisées permettent aussi de mieux étudier et définir de nouvelles stratégies d'éradication des réservoirs viraux [89, 97]. Une des stratégies, qui a été le plus étudiée pour éliminer le réservoir viral, est celle du « *shock and kill* ». Cela consiste à stimuler la réplication du virus latent dans les cellules réservoirs (le « *shock* »). Ainsi, ces cellules réservoirs deviennent sensibles aux antirétroviraux et aux réponses immunitaires, les cellules infectées sont alors détruites par cette action conjuguée (le « *kill* »). Dans ce contexte, une étude menée sur des souris NSG-BLT traitées par antirétroviraux a montré que l'action d'un agent révertant de la latence, le panobinostat, ne permettait pas de diminuer le réservoir viral malgré une

forte capacité de cette molécule à modifier l'acétylation de l'ADN à un niveau systémique [98]. Une seconde étude menée chez ces mêmes souris a montré le rôle joué par la protéine chaperonne HSP90 dans l'établissement de la latence, et comment celle-ci affecte le rebond viral lors de l'arrêt du traitement [99]. Cette étude a pu montrer que la protéine HSP90 joue un rôle clé dans la réactivation du virus en modulant l'activité de certaines protéines comme NF- κ B, STAT5 et NFAT.

Le modèle de souris humanisées est aussi utilisé pour étudier l'impact des bNABs sur le virus. Ainsi, des études ont montré que le transfert passif de bNABs dans des souris NOD *RAG1*^{-/-} *IL2rg*^{null} permettait de réduire la charge virale plasmatique en dessous du seuil de détection [100].

Conclusion

La recherche utilisant des animaux comme modèles d'infection par le VIH a permis d'énormes progrès sur nos connaissances de l'infection par le VIH. Les modèles de souris humanisées infectées par le VIH-1 permettent l'étude du VIH et également d'éviter dans certains cas le modèle PNH tout en offrant un modèle d'infection qui est plus complexe et plus informatif que les infections *in vitro* de cellules ou explants tissulaires, et où les réponses immunitaires sont en partie semblables à l'homme. Néanmoins, ce modèle est difficile à mettre en place. Il n'existe pas d'élevage de ce type de souris, les infections par le VIH à long terme sont rares, la reconstitution des organes lymphoïdes est incomplète et la taille des animaux limite les études tissulaires. L'infection par le *feline immunodeficiency* (FIV) des chats n'a qu'une applicabilité limitée dans la recherche d'une stratégie curative contre le VIH-1, en raison des différences dans la nature du réservoir. Les singes infectés par le SIV offrent un modèle d'infection où la physiologie et la progression de la maladie sont très similaires à celles des humains infectés par le VIH-1. Cependant, leur utilisation est complexe, aussi du point de vue éthique, les « challenges » viraux lors d'études vaccinales ne peuvent être réalisés qu'avec un virus SHIV, le coût de maintenance est plus élevé et l'utilisation du modèle primate nécessite des structures plus grandes.

Toutefois, les modèles animaux, les PNH inclus, offrent un potentiel unique en matière de découvertes qui pourraient contribuer au développement de vaccins et nouveaux traitements contre le VIH, et également apporter des connaissances sur les interactions virus-hôte en général au-delà du VIH. Les récents progrès technologiques dans la recherche, comme en imagerie, devraient accélérer les connaissances tout en diminuant le nombre d'animaux nécessaires dans le futur.

Remerciements. Nous remercions l'Agence nationale de recherche sur le VIH et les hépatites (ANRS), ainsi que le Centre pour modèles de maladies infectieuses et thérapies innovantes (IDMIT) soutenu par l'ANR (10-INSB-04-01).

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet Lond Engl* 2008 ; 372 : 293-9.
2. Shen L, Siliciano RF. Viral reservoirs, residual viremia, and the potential of highly active antiretroviral therapy to eradicate HIV infection. *J Allergy Clin Immunol* 2008 ; 122(1) : 22-8.
3. Walsh NC, Kenney LL, Jangalwe S, *et al.* Humanized mouse models of clinical disease. *Annu Rev Pathol* 2017 ; 12 : 187-215.
4. Policicchio BB, Pandrea I, Apetrei C. Animal models for HIV cure research. *Front Immunol* 2016 ; 7 : 12.
5. Nath BM, Schumann KE, Boyer JD. The chimpanzee and other non-human-primate models in HIV-1 vaccine research. *Trends Microbiol* 2000 ; 8(9) : 426-31.
6. Weiss RA. Special anniversary review: twenty-five years of human immunodeficiency virus research: successes and challenges. *Clin Exp Immunol* 2008 ; 152(2) : 201-10.
7. Silvestri G, Paiardini M, Pandrea I, Lederman MM, Sodora DL. Understanding the benign nature of SIV infection in natural hosts. *J Clin Invest* 2007 ; 117(11) : 3148-54.
8. Hatzioannou T, Evans DT. Animal models for HIV/AIDS research. *Nat Rev Microbiol* 2012 ; 10(12) : 852-67.
9. Gardner MB, Luciw PA. Macaque models of human infectious disease. *ILAR J* 2008 ; 49(2) : 220-55.
10. Del Prete GQ, Lifson JD. Considerations in the development of non-human primate models of combination antiretroviral therapy for studies of AIDS virus suppression, residual virus, and curative strategies. *Curr Opin HIV AIDS* 2013 ; 8(4) : 262-72.
11. Del Prete GQ, Lifson JD, Keele BF, *et al.* Nonhuman primate models for evaluation of HIV-1 preventative vaccine strategies: model parameter considerations and consequences. *Curr Opin HIV AIDS* 2016 ; 11(6) : 546-54.
12. Trivedi P, Horejsh D, Hinds SB, *et al.* Intrarectal transmission of Simian immunodeficiency virus in rhesus macaques: selective amplification and host responses to transient or persistent viremia. *J Virol* 1996 ; 70(10) : 6876-83.
13. Hansen SG, Vieville C, Whizin N, *et al.* Effector-memory T cell responses are associated with protection of rhesus monkeys from mucosal SIV challenge. *Nat Med* 2009 ; 15(3) : 293-9.
14. Demberg T, Robert-Guroff M. Mucosal immunity and protection against HIV/SIV infection: strategies and challenges for vaccine design. *Int Rev Immunol* 2009 ; 28(1) : 20-48.
15. Marthas ML, Miller CJ. Developing a neonatal HIV vaccine: insights from macaque models of pediatric HIV/AIDS. *Curr Opin HIV AIDS* 2007 ; 2(5) : 367-74.
16. Moreau M, Le Tortorec A, Deleage C, *et al.* Impact of short-term HAART initiated during the chronic stage or shortly post-exposure on SIV infection of male genital organs. *PLoS One* 2012 ; 7(5) : e37348.
17. Fauci AS, Desrosiers RC. Pathogenesis of HIV and SIV. In : Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE, eds. *Retroviruses*. Cold Spring Harbor (NY) : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.

18. Haase AT. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu Rev Med* 2011 ; 62 : 127-39.
19. Lackner AA, Veazey RS. Current concepts in AIDS pathogenesis: insights from the SIV/maaque model. *Annu Rev Med* 2007 ; 58 : 461-76.
20. Monceaux V, Viollet L, Petit F, *et al.* CD4+ CCR5+ T-cell dynamics during Simian immunodeficiency virus infection of Chinese rhesus macaques. *J Virol* 2007 ; 81(24) : 13865-75.
21. Zink MC, Suryanarayana K, Mankowski JL, *et al.* High viral load in the cerebrospinal fluid and brain correlates with severity of Simian immunodeficiency virus encephalitis. *J Virol* 1999 ; 73(12) : 10480-8.
22. Chrétien F, Vallat-Decouvelaere AV, Bossuet C, *et al.* Expression of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT-2) and glutamine synthetase (GS) in brain macrophages and microglia of SIVmac251-infected macaques. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2002 ; 28(5) : 410-7.
23. Greene JM, Weiler AM, Reynolds MR, *et al.* Rapid, repeated, low-dose challenges with SIVmac239 infect animals in a condensed challenge window. *Retrovirology* 2014 ; 11(1) : 66.
24. Willer DO, Guan Y, Luscher MA, *et al.* Multi-low-dose mucosal Simian immunodeficiency virus SIVmac239 challenge of cynomolgus macaques immunized with "hyperattenuated" SIV constructs. *J Virol* 2010 ; 84(5) : 2304-17.
25. Bruel T, Hamimi C, Dereuddre-Bosquet N, *et al.* Long-term control of Simian immunodeficiency virus (SIV) in cynomolgus macaques not associated with efficient SIV-specific CD8+ T-cell responses. *J Virol* 2015 ; 89(7) : 3542-56.
26. Böttiger D, Vrang L, Öberg B. Influence of the infectious dose of Simian immunodeficiency virus on the acute infection in cynomolgus monkeys and on the effect of treatment with 3'-fluorothymidine. *Antivir Chem Chemother* 1992 ; 3(5) : 267-71.
27. Loffredo JT, Maxwell J, Qi Y, *et al.* Mamu-B*08-positive macaques control Simian immunodeficiency virus replication. *J Virol* 2007 ; 81(16) : 8827-32.
28. Nakayama EE, Shioda T. TRIM5 α and species tropism of HIV/SIV. *Front Microbiol* 2012 ; 3 : 13.
29. Mee ET, Berry N, Ham C, *et al.* Mhc haplotype H6 is associated with sustained control of SIVmac251 infection in Mauritian cynomolgus macaques. *Immunogenetics* 2009 ; 61(5) : 327-39.
30. Aarnink A, Dereuddre-Bosquet N, Vaslin B, *et al.* Influence of the MHC genotype on the progression of experimental SIV infection in the Mauritian cynomolgus macaque. *Immunogenetics* 2011 ; 63(5) : 267-74. doi: 10.1007/s00251-010-0504-6 [Epub 2011 Jan 14].
31. Sodora DL, Allan JS, Apetrei C, *et al.* Toward an AIDS vaccine: lessons from natural Simian immunodeficiency virus infections of African nonhuman primate hosts. *Nat Med* 2009 ; 15(8) : 861-5.
32. Paiardini M, Müller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev* 2013 ; 254(1) : 78-101.
33. Plaeger SF, Collins BS, Musib R, Deeks SG, Read S, Embry A. Immune activation in the pathogenesis of treated chronic HIV disease: a workshop summary. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012 ; 28(5) : 469-77.
34. Estes JD. Pathobiology of HIV/SIV-associated changes in secondary lymphoid tissues. *Immunol Rev* 2013 ; 254(1) : 65-77.
35. Hong JJ, Silveira ELV, Amancha PK, *et al.* Early initiation of antiretroviral treatment post-SIV infection does not resolve lymphoid tissue activation. *AIDS Lond Engl* 2017 ; 31(13) : 1819-24.
36. Dimopoulos Y, Moysi E, Petrovas C. The lymph node in HIV pathogenesis. *Curr HIV/AIDS Rep* 2017 ; 14(4) : 133-40.
37. Estes JD, Wietgreffe S, Schacker T, *et al.* Simian immunodeficiency virus-induced lymphatic tissue fibrosis is mediated by transforming growth factor β 1-positive regulatory T cells and begins in early infection. *J Infect Dis* 2007 ; 195(4) : 551-61.
38. Lei Huang, Jianning Deng, Wen Xu, *et al.* CD8+ T cells with high TGF- β 1 expression cause lymph node fibrosis following HIV infection. *Mol Med Rep* 2018 ; 18(1) : 77-86.
39. Cumont MC, Monceaux V, Viollet L, *et al.* TGF-beta in intestinal lymphoid organs contributes to the death of armed effector CD8 T cells and is associated with the absence of virus containment in rhesus macaques infected with the Simian immunodeficiency virus. *Cell Death Differ* 2007 ; 14(10) : 1747-58.
40. Sanchez JL, Hunt PW, Reilly CS, *et al.* Lymphoid fibrosis occurs in long-term nonprogressors and persists with antiretroviral therapy but may be reversible with curative interventions. *J Infect Dis* 2015 ; 211(7) : 1068-75.
41. Okoye AA, Hansen SG, Vaidya M, *et al.* Early antiretroviral therapy limits SIV reservoir establishment to delay or prevent post-treatment viral rebound. *Nat Med* 2018 ; 24(9) : 1430.
42. Estes JD, Kityo C, Ssali F, *et al.* Defining total-body AIDS-virus burden with implications for curative strategies. *Nat Med* 2017 ; 23(11) : 1271-6.
43. Damouche A, Lazure T, Avettand-Fènoël V, *et al.* Adipose tissue is a neglected viral reservoir and an inflammatory site during chronic HIV and SIV infection. *PLoS Pathog* 2015 ; 11 : e1005153.
44. Whitney JB, Hill AL, Sanisetty S, *et al.* Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys. *Nature* 2014 ; 512(7512) : 74-7.
45. Bourry O, Mannioui A, Sellier P, *et al.* Effect of a short-term HAART on SIV load in macaque tissues is dependent on time of initiation and antiviral diffusion. *Retrovirology* 2010 ; 7 : 78.
46. Chakrabarti L, Cumont M-C, Montagnier L, Hurtrel B. Kinetics of primary SIV infection in lymph nodes. *J Med Primatol* 1994 ; 23(2-3) : 117-24.
47. Hong JJ, Chang K-T, Villinger F. The dynamics of T and B cells in lymph node during chronic HIV infection: TFH and HIV, unhappy dance partners? *Front Immunol* 2016 ; 7 : 522.
48. Moukambi F, Rodrigues V, Fortier Y, *et al.* CD4 T follicular helper cells and HIV infection: friends or enemies? *Front Immunol* 2017 ; 8 : 135.
49. Xu H, Wang X, Malam M, *et al.* Persistent Simian immunodeficiency virus infection drives differentiation, aberrant accumulation, and latent infection of germinal center follicular T helper cells. *J Virol* 2016 ; 90(3) : 1578-87.
50. Fukazawa Y, Lum R, Okoye AA, *et al.* B cell follicle sanctuary permits persistent productive Simian immunodeficiency virus infection in elite controllers. *Nat Med* 2015 ; 21(2) : 132-9.
51. Bronnimann MP, Skinner PJ, Connick E. The B-cell follicle in HIV infection: barrier to a cure. *Front Immunol* 2018 ; 9 : 20.
52. Rothenberger M, Nganou-Makamdop K, Kityo C, *et al.* Impact of integrase inhibition compared with nonnucleoside inhibition on HIV reservoirs in lymphoid tissues. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2019 ; 81(3) : 355-60.
53. Thompson CG, Rosen EP, Prince HMA, *et al.* Heterogeneous antiretroviral drug distribution and HIV/SHIV detection in the gut of three species. *Sci Transl Med* 2019 ; 11 : 499.
54. Diop OM, Gueye A, Dias-Tavares M, *et al.* High levels of viral replication during primary Simian immunodeficiency virus SIVagm infection are rapidly and strongly controlled in African green monkeys. *J Virol* 2000 ; 74(16) : 7538-47.
55. Huot N, Jacquelin B, Garcia-Tellez T, *et al.* Natural killer cells migrate into and control Simian immunodeficiency virus replication in lymph node follicles in African green monkeys. *Nat Med* 2017 ; 23(11) : 1277-86.
56. Paiardini M, Lichtenfeld M. Follicular T helper cells: hotspots for HIV-1 persistence. *Nat Med* 2016 ; 22(7) : 711-2.
57. Paiardini M, Cervasi B, Reyes-Aviles E, *et al.* Low levels of SIV infection in sooty mangabey central memory CD4⁺ T cells are associated with limited CCR5 expression. *Nat Med* 2011 ; 17(7) : 830-6.
58. Nishimura Y, Sadjadpour R, Mattapallil JJ, *et al.* High frequencies of resting CD4⁺ T cells containing integrated viral DNA are found in rhesus macaques during acute lentivirus infections. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; 106(19) : 8015-20.

59. Shen A, Zinkl MC, Mankowski JL, *et al.* Resting CD4+ T Lymphocytes but not thymocytes provide a latent viral reservoir in a Simian immunodeficiency virus-Macaca nemestrina model of human immunodeficiency virus type 1-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 2003 ; 77(8) : 4938-49.
60. Crise B, Li Y, Yuan C, *et al.* Simian immunodeficiency virus integration preference is similar to that of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 2005 ; 79(19) : 12199-204.
61. Barber SA, Gama L, Dudaronek JM, Voelker T, Tarwater PM, Clements JE. Mechanism for the establishment of transcriptional HIV latency in the brain in a Simian immunodeficiency virus-Macaque model. *J Infect Dis* 2006 ; 193(7) : 963-70.
62. Shen A, Yang HC, Zhou Y, *et al.* Novel pathway for induction of latent virus from resting CD4+ T cells in the Simian immunodeficiency virus/Macaque model of human immunodeficiency virus type 1 Latency. *J Virol* 2007 ; 81(4) : 1660-70.
63. Mannioui A, Bourry O, Sellier P, *et al.* Dynamics of viral replication in blood and lymphoid tissues during SIVmac251 infection of macaques. *Retrovirology* 2009 ; 6 : 106.
64. Sellier P, Mannioui A, Bourry O, *et al.* Antiretroviral treatment start-time during primary SIV(mac) infection in macaques exerts a different impact on early viral replication and dissemination. *PLoS One* 2010 ; 5(5) : e10570.
65. Budde ML, Greene JM, Chin EN, *et al.* Specific CD8+ T cell responses correlate with control of Simian immunodeficiency virus replication in Mauritian cynomolgus macaques. *J Virol* 2012 ; 86(14) : 7596-604.
66. 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.
67. Lewis MG, DaFonseca V, Chomont N, *et al.* Gold drug auranofin restricts the viral reservoir in the monkey AIDS model and induces containment of viral load following ART suspension. *AIDS Lond Engl* 2011 ; 25(11) : 1347-56.
68. Nishimura Y, Gautam R, Chun TW, *et al.* Early antibody therapy can induce long-lasting immunity to SHIV. *Nature* 2017 ; 543(7646) : 559-63.
69. Laforge M, Silvestre R, Rodrigues V, *et al.* The anti-caspase inhibitor Q-VD-OPH prevents AIDS disease progression in SIV-infected rhesus macaques. *J Clin Invest* 2018 ; 128(4) : 1627-40.
70. Del Prete GQ, Alvord WG, Li W, *et al.* TLR7 agonist administration to SIV-infected macaques receiving early-initiated cART does not induce plasma viremia. *JCI Insight* 2019 ; 4(11) : 127717.
71. Micci L, Ryan ES, Fromentin R, *et al.* Interleukin-21 combined with ART reduces inflammation and viral reservoir in SIV-infected macaques. *J Clin Invest* 2015 ; 125(12) : 4497-513.
72. Trovato M, D'Apice L, Prisco A, De Berardinis P. HIV Vaccination : A Roadmap among Advancements and Concerns. *Int J Mol Sci* 2018 ; 19 : E1241.
73. Amara RR, Robinson HL. A new generation of HIV vaccines. *Trends Mol Med* 2002 ; 8(10) : 489-95.
74. Goulder PJR, Watkins DI. HIV and SIV CTL escape: implications for vaccine design. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4(8) : 630-40.
75. Chen ZW, Craiu A, Shen L, *et al.* Simian immunodeficiency virus evades a dominant epitope-specific cytotoxic T lymphocyte response through a mutation resulting in the accelerated dissociation of viral peptide and MHC class I. *J Immunol* 2000 ; 164(12) : 6474-9.
76. Julg B, Sok D, Schmidt SD, *et al.* Protective efficacy of broadly neutralizing antibodies with incomplete neutralization activity against simian-human immunodeficiency virus in rhesus monkeys. *J Virol* 2017 ; 91 : e01187-17.
77. Johnson PR, Schnepf BC, Zhang J, *et al.* Vector-mediated gene transfer engenders long-lived neutralizing activity and protection against SIV infection in monkeys. *Nat Med* 2009 ; 15(8) : 901-6.
78. Hansen SG, Ford JC, Lewis MS, *et al.* Profound early control of highly pathogenic SIV by an effector memory T-cell vaccine. *Nature* 2011 ; 473(7348) : 523-7.
79. Garcia-Tellez T, Huot N, Ploquin MJ, Rasclé P, Jacquelin B, Müller-Trutwin M. Non-human primates in HIV research: achievements, limits and alternatives. *Infect Genet Evol* 2016 ; 46 : 324-32.
80. García-Lerma JG, Cong ME, Mitchell J, *et al.* Intermittent prophylaxis with oral truvada protects macaques from rectal SHIV infection. *Sci Transl Med* 2010 ; 2(14) : 14ra4.
81. Pearson T, Greiner DL, Shultz LD. Humanized SCID mouse models for biomedical research. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008 ; 324 : 25-51.
82. Traggiai E, Chicha L, Mazzucchelli L, *et al.* Development of a human adaptive immune system in cord blood cell-transplanted mice. *Science* 2004 ; 304(5667) : 104-7.
83. Bonyhadi ML, Kaneshima H. The SCID-hu mouse: an *in vivo* model for HIV-1 infection in humans. *Mol Med Today* 1997 ; 3(6) : 246-53.
84. Baenziger S, Tussiwand R, Schlaepfer E, *et al.* Disseminated and sustained HIV infection in CD34+ cord blood cell-transplanted Rag2^{-/-}γc^{-/-} mice. *Proc Natl Acad Sci* 2006 ; 103(43) : 15951-6.
85. Berges BK, Akkina SR, Remling L, Akkina R. Humanized Rag2^{-/-}γc^{-/-} (RAG-hu) mice can sustain long-term chronic HIV-1 infection lasting more than a year. *Virology* 2010 ; 397(1) : 100-3.
86. Karpel ME, Boutwell CL, Allen TM. BLT humanized mice as a small animal model of HIV infection. *Curr Opin Virol* 2015 ; 13 : 75-80.
87. Akkina R. New generation humanized mice for virus research: comparative aspects and future prospects. *Virology* 2013 ; 435(1) : 14-28.
88. Seung E, Tager AM. Humoral immunity in humanized mice: a work in progress. *J Infect Dis* 2013 ; 208(Suppl. 2) : S155-9.
89. Shultz LD, Brehm MA, Garcia JV, Greiner DL. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol* 2012 ; 12(11) : 786-98.
90. Marsden MD, Kovoichich M, Suree N, *et al.* HIV latency in the humanized BLT mouse. *J Virol* 2012 ; 86(1) : 339-47.
91. Borrow P. Innate immunity in acute HIV-1 infection. *Curr Opin HIV AIDS* 2011 ; 6(5) : 353-63.
92. Sandler NG, Bosinger SE, Estes JD, *et al.* Type I interferon responses in rhesus macaques prevent SIV infection and slow disease progression. *Nature* 2014 ; 511(7511) : 601-5.
93. Cheng L, Ma J, Li J, *et al.* Blocking type I interferon signaling enhances T cell recovery and reduces HIV-1 reservoirs. *J Clin Invest* 2017 ; 127(1) : 269-79.
94. Lavender KJ, Gibbert K, Peterson KE, *et al.* Interferon alpha subtype-specific suppression of HIV-1 infection *in vivo*. *J Virol* 2016 ; 90(13) : 6001-13.
95. Honeycutt JB, Wahl A, Baker C, *et al.* Macrophages sustain HIV replication *in vivo* independently of T cells. *J Clin Invest* 2016 ; 126(4) : 1353-66.
96. Arainga M, Su H, Poluektova LY, Gorantla S & Gendelman HE. HIV-1 cellular and tissue replication patterns in infected humanized mice. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 23513.
97. Lavender KJ, Pace C, Sutter K, *et al.* An advanced BLT-humanized mouse model for extended HIV-1 cure studies. *AIDS* 2018 ; 32(1) : 1-10.
98. Tsai P, Wu G, Baker CE, *et al.* *In vivo* analysis of the effect of panobinostat on cell-associated HIV RNA and DNA levels and latent HIV infection. *Retrovirology* 2016 ; 13(1) : 36.
99. Joshi P, Maidji E, Stoddart CA. Inhibition of heat shock protein 90 prevents HIV rebound. *J Biol Chem* 2016 ; 291(19) : 10332-46.
100. Klein F, Halper-Stromberg A, Horwitz JA, *et al.* HIV therapy by a combination of broadly neutralizing antibodies in humanized mice. *Nature* 2012 ; 492 : 7427.