

Mécanismes immunologiques impliqués dans la persistance des réservoirs du VIH

Immunological mechanisms involved in the persistence of HIV reservoirs

Armando Espinosa Ortiz^{1*}

Alessandro Modica^{1*}

Rémi Fromentin^{2*}

Nicolas Chomont^{1,2}

¹ Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada

² Centre de Recherche du CHUM, Montréal, Canada

Article accepté le 16 janvier 2022

Résumé. Les thérapies antirétrovirales (TAR) permettent de contrôler la réplication virale et ont considérablement amélioré la qualité et l'espérance de vie des personnes vivant avec le VIH (PVVIH). Toutefois, près de 40 ans après la découverte du virus, il n'existe toujours pas de traitement curatif permettant d'éliminer le VIH de l'organisme : Même après des années de TAR efficace, le virus persiste dans des cellules, principalement des lymphocytes T CD4 mémoires, qui constituent une source pérenne de virus infectieux et qui nécessitent de poursuivre les traitements à vie. Les recherches sur les réservoirs du VIH menées au cours des 25 dernières années ont permis de mieux comprendre comment certaines cellules infectées persistent pendant des décennies sans être éliminées, ni par les TAR, ni par les réponses immunitaires. Le VIH « se cache » dans des cellules à durée de vie très longue, qui ont la capacité de proliférer par différents mécanismes et qui expriment préférentiellement certains récepteurs leur permettant de demeurer invisibles au système immunitaire. Une meilleure compréhension de ces mécanismes de persistance est un prérequis nécessaire à la mise au point de stratégies thérapeutiques visant à éradiquer le VIH.

Mots clés : VIH, réservoir, lymphocytes T mémoires, prolifération, points de contrôle immunitaire

Abstract. Antiretroviral therapy (ART) controls viral replication and has dramatically improved the quality and life expectancy of people living with HIV (PLHIV). However, almost 40 years after the discovery of HIV, there is still no cure; even after years of effective ART, the virus persists in cells, primarily memory CD4 T cells. These cells are a perennial source of infectious viruses, which necessitate that people living with HIV continue ART for life. Research on HIV reservoirs over the past 25 years has provided insight into how some infected cells persist for decades without being cleared by ART nor by immune responses. HIV “hides” in cells with extended lifespans, which have the capacity to proliferate through diverse mechanisms and which preferentially express several receptors that allow them to remain invisible to the immune system. A better understanding of these mechanisms of persistence is a necessary prerequisite for the development of therapeutic strategies aimed at eradicating HIV.

Key words: HIV, reservoir, memory T lymphocytes, proliferation, immune checkpoints

Correspondance : N. Chomont
<nicolas.chomont@umontreal.ca>

* Ces trois auteurs ont contribué de manière équivalente à cette publication.

Les réservoirs du VIH : l'obstacle à l'éradication

La découverte et l'implantation des TAR à travers le monde au cours des 25 dernières années a considérablement amélioré le pronostic de l'infection par le VIH : à l'heure actuelle, l'espérance de vie des personnes vivant avec le VIH (PVVIH) diagnostiqués précocement et ayant accès aux antirétroviraux est comparable à celle des personnes non infectées par le virus [1]. Ce succès scientifique ne doit toutefois pas masquer plusieurs limites des TAR qui doivent être prises à vie : au-delà des comorbidités plus fréquentes chez les PVVIH [2, 3], même lorsque leur charge virale demeure indétectable, et des effets secondaires à long terme et des interactions médicamenteuses possibles des antirétroviraux chez une population vieillissante [4], la stigmatisation et la criminalisation des PVVIH dans plusieurs régions du monde nécessite la mise au point d'un traitement curatif, à l'instar de celui découvert pour le traitement de l'hépatite C. Cet objectif de guérison (ou de rémission à long terme) est motivé par les cas inspirants de Timothy Ray Brown [5] et de Adam Castillejo [6] (les patients de Berlin et de Londres, respectivement) chez qui le virus a pu être éliminé, et qui constituent la preuve de concept que l'éradication d'une infection par un rétrovirus est possible. Ce succès doit toutefois être nuancé par le caractère exceptionnel de greffes de cellules souches provenant de donneurs histocompatibles portant une mutation à l'état homozygote dans le gène codant le corécepteur principal du VIH. À cet égard, les individus *post treatment controllers*, qui ont la capacité de contrôler naturellement la réplication virale suite à l'initiation d'un traitement précoce, représentent un modèle de contrôle à long terme qui semble davantage accessible [7, 8].

Chez l'immense majorité des PVVIH, le maintien en continu de la pression thérapeutique exercée par la TAR est nécessaire au contrôle de la réplication du VIH à long terme : lorsque le traitement est interrompu, la réplication du VIH reprend et le virus se dissémine à nouveau dans le sang et les tissus en quelques semaines [9, 10]. Ce « rebond viral » a pour origine un faible nombre de cellules infectées qui persiste au cours des TAR et qui constitue une source stable et probablement intarissable de virus infectieux [11-13]. Le VIH persiste au sein de ces réservoirs sous la forme d'ADN viral intégré au sein du génome humain (ou provirus). Bien que les macrophages, les astrocytes et possiblement d'autres cellules de la lignée myéloïde puissent contenir des génomes viraux chez certaines PVVIH [14], l'immense majorité des provirus persistent dans les lymphocytes T CD4 au cours des TAR [15, 16]. Ces génomes viraux sont généralement peu transcrits et sont qualifiés de « latents » puisqu'ils ne produisent

pas de particule virale infectieuse spontanément [17, 18]. Cet état de latence est réversible suite à une activation de la cellule « réservoir » qui produit alors des virions infectieux. Une partie de la recherche visant à éradiquer le VIH a pour objectif d'éliminer ces cellules réservoirs afin de détruire la source du rebond viral. Cette stratégie nécessite d'identifier ces cellules afin de les cibler spécifiquement pour les éliminer. La tâche est ardue puisqu'en moyenne, seulement un lymphocyte T CD4 par million contient un provirus qui peut être réactivé pour produire de nouvelles particules virales infectieuses [18, 19].

Si l'existence de ces réservoirs viraux est connue depuis les années 90 [11-13], les mécanismes qui sous-tendent leur persistance à long terme sont longtemps demeurés mystérieux. Ceux-ci sont intimement liés à la nature des cellules qui abritent les génomes viraux archivés. Ainsi, l'identification des types de cellules dans lesquelles le VIH persiste au cours des TAR a fait l'objet de nombreuses études qui ont utilisé différentes méthodes de classification des lymphocytes T CD4 [20-24]. Dans le cadre de cette revue, nous nous limiterons à la classification des réservoirs cellulaires mémoires.

Sous-populations de lymphocytes T CD4 servant de réservoirs pour le VIH

Dès la découverte de l'existence des réservoirs du VIH, il est apparu que la majorité des provirus étaient détectés dans des lymphocytes T CD4 présentant un phénotype mémoire, c'est-à-dire dans des cellules qui ont préalablement été activées par un antigène [25]. Suite à l'activation d'un lymphocyte T naïf par un complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) associé à un peptide, celui-ci prolifère rapidement en acquérant des fonctions effectrices nécessaires à l'élimination de l'antigène. Lorsque l'antigène disparaît, la majorité de ces cellules meurent (phase de contraction) et un faible nombre de cellules mémoires persiste. Cette population de lymphocytes T CD4 mémoires est constituée de plusieurs sous-populations présentant des différences fonctionnelles importantes et qui diffèrent dans leur capacité à persister au cours de la vie [26, 27] (*figure 1*). Ainsi, les études visant à identifier les cellules réservoirs ont rapidement évolué dans leur niveau de sophistication au gré des découvertes réalisées en immunologie fondamentale. À ce jour, les lymphocytes T CD4 mémoires sont généralement classés en trois sous-populations (cellules mémoires souches, centrales et effectrices). Bien que ces trois sous-populations soient généralement considérées comme les réservoirs majoritaires pour le VIH, les lymphocytes T CD4 naïfs pourraient également jouer un rôle dans la persistance virale.

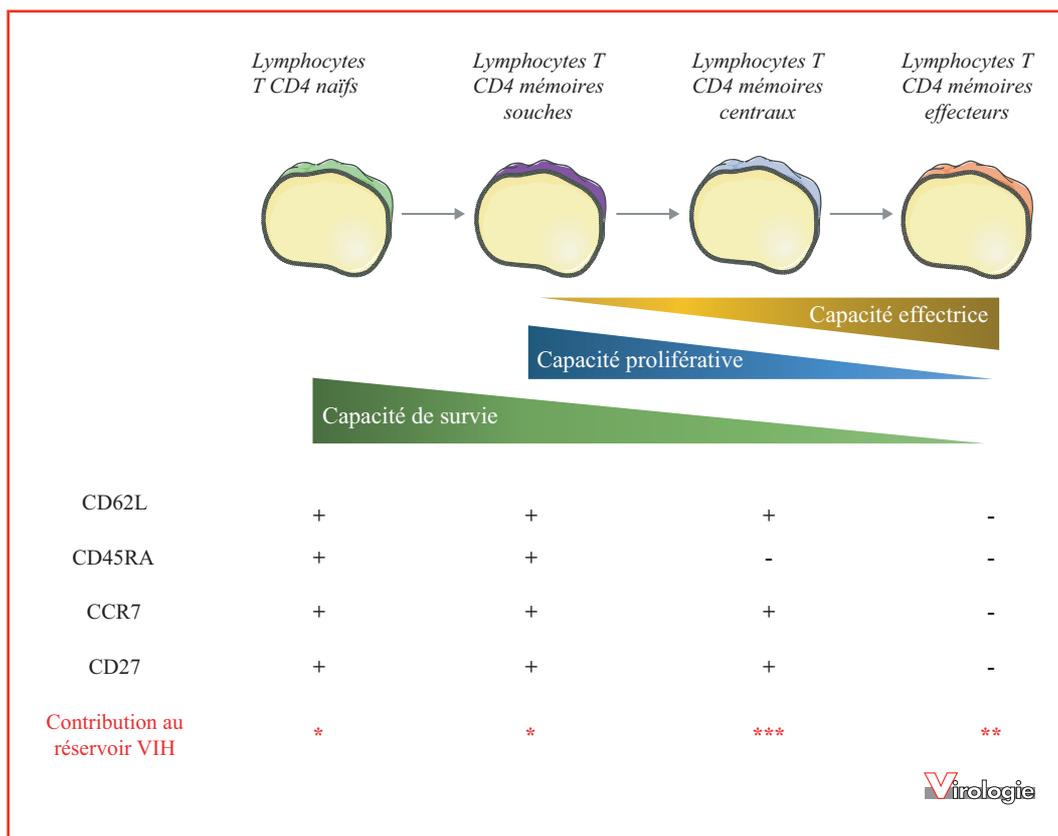


Figure 1. Sous-populations de lymphocytes T CD4 mémoires contribuant à la persistance du VIH au cours des TAR. Tout au long de leur processus de différenciation, les lymphocytes T CD4 mémoires perdent leur capacité à survivre et à proliférer mais acquièrent des fonctions effectrices plus efficaces. Les combinaisons de marqueurs cellulaires classiquement utilisés pour identifier chaque sous-type ainsi que les contributions des sous-populations à la taille du réservoir global (estimée par mesure de l'ADN viral) sont indiquées.

Lymphocytes T CD4 naïfs

Les lymphocytes T CD4 naïfs sont des cellules n'ayant pas encore rencontré leur antigène. Les cellules naïves sont dans un état dit « de repos » car elles présentent une activité métabolique modérée en l'absence de stimulation antigénique. La persistance du VIH dans les lymphocytes T CD4 naïfs au cours des TAR demeure controversée [20, 28-34] car les faibles niveaux d'ADN viral détecté dans cette population ont longtemps été attribués à une contamination par des cellules mémoires, aucune méthode de tri ne permettant d'obtenir des populations cellulaires absolument pures. De plus, le métabolisme ralenti des cellules naïves et la forte expression de facteurs de restriction entravant la transcription inverse et l'intégration du génome viral limitent la possibilité que ces cellules puissent s'infecter efficacement et donc servir de réservoir pour le VIH [28, 35-37]. Les cellules naïves peuvent être identifiées et triées en utilisant une combinaison de marqueurs cellulaires en particulier CD45RA (ou isoforme

RA du récepteur CD45, une tyrosine phosphatase jouant un rôle dans l'activation des lymphocytes T), CD62L (ou L-sélectine, une molécule d'adhésion cellulaire) et CCR7 (ou C-C chemokine receptor type 7, un récepteur de chimiokine). Bien que la quantité d'ADN proviral mesurée dans les lymphocytes T CD4 naïfs soit 10 fois inférieure à celle mesurée dans les cellules mémoires [20, 28, 34, 38], des données récentes indiquent que les cellules naïves pourraient constituer un réservoir qualitativement important : en dépit d'un processus d'intégration peu efficace, les cellules naïves abriteraient une grande proportion de provirus génétiquement intacts (et donc théoriquement capables de réplication) comparativement à certains sous-types de cellules mémoires [31, 32]. Des études approfondies des génomes viraux ont révélé que les souches virales retrouvées dans les cellules naïves possèdent principalement un tropisme pour le corécepteur d'entrée CXCR4 (*C-X-C chemokine receptor type 4*) [33], qui est fortement exprimé à la surface des lymphocytes T naïfs. Toutefois, des

provirus codants des enveloppes utilisant CCR5 (*C-C chemokine receptor type 5*) peuvent également être détectés dans les lymphocytes T naïfs [31].

Les cellules T CD4 naïves présentent plusieurs caractéristiques qui pourraient rendre ce réservoir cellulaire particulièrement difficile à éliminer [32]. En premier lieu, ces cellules expriment faiblement les protéines virales après infection, ce qui les rend particulièrement résistantes aux lymphocytes T cytotoxiques et donc empêchent leur élimination. De plus, elles possèdent une longue demi-vie (de un à huit ans) ce qui leur permet de persister durablement [34, 39]. Davantage d'études seront nécessaires pour déterminer la contribution des cellules naïves à la persistance du VIH après un traitement prolongé et pour définir leur rôle potentiel comme source de rebond viral lors de l'interruption des TAR.

Lymphocytes T CD4 mémoires souches

Les cellules T CD4 mémoires souches (ou *stem cell-like memory*, Tscm) correspondent au stade de différenciation le plus précoce des cellules mémoires [27, 40]. Elles expriment à la fois des marqueurs caractéristiques des lymphocytes T naïfs (CCR7, CD45RA, CD62L, CD27, CD28 et CD127) et mémoires (CD95, CD122, CXCR3 (*C-X-C chemokine receptor type 3*) et LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen 1*)) [41]. Elles sont qualifiées de cellules souches car elles peuvent se différencier en différents sous-types mémoire (mémoires centrales ou mémoires effectrices) et sont dotées d'une capacité d'autorenouvellement [27, 40]. Avec une demi-vie d'environ 10 ans [42] et une capacité à proliférer de façon homéostatique et en réponse à une stimulation antigénique, ces cellules présentent des caractéristiques favorables à la persistance du VIH. Bien que les Tscm expriment moins fortement le corécepteur CCR5 comparativement aux cellules mémoires plus différenciées, elles sont malgré tout susceptibles à l'infection par le VIH [43]. La réplication virale est même facilitée par une expression restreinte et/ou modulable des facteurs de restriction du VIH tel que TRIM5 α (*Tripartite motif-containing protein 5*), APO-BEC3G (*apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G*) et SAMHD1 (*SAM domain and HD domain-containing protein 1*) [23, 44]. La présence de VIH persistant dans des cellules Tscm a été décrite dans plusieurs études [23, 24]. Si les cellules Tscm ne représentent qu'une faible proportion des cellules infectées au cours des TAR, elles sont cependant un réservoir stable et durable. Leur capacité à s'auto-renouveler en fait une source infinie de cellules infectées qui sont à la fois capables de réplication virale et de maintenir une infection latente. Pour limiter la persistance du réservoir viral dans les Tscm, plusieurs approches thérapeutiques ont été envisagées, dont

l'interférence avec la voie de signalisation Wnt/ β -caténine qui semble nécessaire à leur maintien à long terme [45, 46].

Lymphocytes T CD4 mémoires centraux

Les lymphocytes T CD4 mémoires centraux (ou *T central memory*, Tcm) sont des cellules essentiellement localisées dans les tissus lymphoïdes secondaires. Suite à une stimulation antigénique, les Tcm prolifèrent, produisent de l'IL-2 (interleukine 2) et se différencient en cellules possédant des fonctions effectrices ou en cellules effectrices mémoires [26, 47]. À l'instar des Tscm, elles sont capables d'autorenouvellement suite à une stimulation antigénique. Les Tcm expriment CD45RO (ou isoforme RO du récepteur CD45), CD27 ainsi que CCR7 et CD62L, deux marqueurs également exprimés par les cellules naïves et qui permettent aux Tcm de pénétrer dans les organes lymphoïdes secondaires grâce à l'extravasation cellulaire à travers les veinules à endothélium épais. Par leur fréquence, les Tcm constituent le plus grand sous-type mémoire et sont caractérisées par un programme pro-survie et une longue demi-vie [34, 48]. Les Tcm ont un rôle très important dans la persistance du VIH, puisqu'elles contiennent la majorité des génomes viraux chez les PVVIH recevant une TAR [20, 49]. Grâce à leur capacité à proliférer de façon homéostatique en réponse à l'IL-7 sans réactiver le provirus de sa latence, les Tcm infectés peuvent contribuer à l'accroissement du réservoir en l'absence de nouvelle infection [50]. Ainsi, la latence du VIH s'établit et se maintient dans les cellules Tcm grâce à leur capacité de survie et au fait que la réactivation des génomes viraux latents y est relativement inefficace [51, 52]. Les Tcm constituent donc un réservoir important par sa taille mais également par ses capacités à persister pendant des années sans être perturbé par certains stimuli immunologiques.

Lymphocytes T CD4 mémoires effecteurs

Les lymphocytes T mémoires effecteurs (ou *T effector memory*, Tem) correspondent à un stade plus avancé de différenciation des cellules mémoires et peuvent être générés après l'activation de toutes les sous-populations décrites ci-dessus (naïves, Tscm et Tcm). Ainsi, les Tcm peuvent se différencier en Tem après un contact antigénique, et ce changement phénotypique se caractérise par la perte d'expression de CCR7 et CD27, ce qui leur permet de migrer vers les zones inflammatoires des tissus pour exercer des fonctions effectrices immédiates [47]. Contrairement aux Tcm, les Tem sont caractérisés par un programme pro-apoptotique, produisent de l'IFN- γ (interféron gamma) et possèdent un pouvoir d'autorenouvellement limité [48]. Bien que leur demi-vie soit inférieure à celles des autres cellules mémoires, les Tem jouent toutefois un rôle très important dans la persistance du VIH. Elles expriment fortement

CCR5, ce qui les rend hautement susceptibles à l'infection par le VIH, particulièrement lors de la phase aiguë de la maladie [53]. Si leur contribution relative à l'ensemble des cellules infectées est globalement moindre que celles des Tcm [20], les Tem sont toutefois le sous-type de cellules dans lesquelles les expansions clonales sont les plus fréquemment trouvées [54], puisque les Tscm et les Tcm acquièrent un phénotype Tem après de nombreux cycles de prolifération. Ainsi, il n'est pas étonnant de retrouver de grands clones de cellules infectées au sein des Tem chez les PVVIH sous TAR. Des études récentes indiquent que les génomes viraux intacts et inductibles sont majoritairement retrouvés dans les Tem [54, 55], suggérant un rôle important de ces cellules comme source de virus lors d'un rebond viral. D'un point de vue thérapeutique, les provirus intégrés dans le génome des Tem sont plus sensibles aux agents d'inversion de latence (*Latency Reversing Agent*, LRA), ce qui pourrait permettre de les éliminer plus efficacement dans des stratégies de réactivation et élimination (*shock and kill*) [51, 56, 57].

La persistance du VIH dans les lymphocytes T CD4 mémoires est donc liée à leur capacité à persister pendant des années, voire des décennies. Cette persistance est assurée par la survie intrinsèque de certaines sous-populations (notamment Tscm et Tcm), mais également par leur capacité à proliférer que ce soit de façon homéostatique ou suite à une stimulation par un antigène.

Prolifération des lymphocytes T CD4 et persistance du VIH

La population de lymphocytes T mémoires est constituée de clones (c'est-à-dire de cellules partageant le même récepteur de cellule T ou TCR (*T-cell receptor*)) de tailles variables, spécifiques pour des antigènes rencontrés précédemment. La persistance de ces clones est assurée en partie par leur prolifération à bas bruit (homéostatique), mais également par leurs expansions transitoires lorsque l'antigène réapparaît (lors d'un épisode de réactivation d'un virus herpès, par exemple). La capacité du VIH à persister sous la forme d'un génome intégré et latent dans les lymphocytes T CD4 mémoires soulève plusieurs questions, notamment sur l'impact de la prolifération sur ce réservoir ainsi que sur la spécificité antigénique des lymphocytes le constituant.

Le rôle de la prolifération cellulaire dans la persistance du réservoir du VIH n'a été l'objet que de rares études dans les 15 premières années suivant l'avènement des TAR [20, 58]. C'est en 2014 que la mise en évidence de sites d'intégration identiques dans différentes cellules, et donc très probablement dupliqués lors de la mitose des lymphocytes T CD4, a permis de démontrer formellement que le réservoir du

VIH est en partie constitué de cellules T ayant proliféré [59, 60]. D'autres équipes utilisant le séquençage des provirus complets ou celui du TCR dans les cellules infectées ont confirmé ces résultats [54, 61-66]. Il est maintenant établi qu'au moins 70 % des cellules constituant le réservoir du VIH circulant sont présentes en multiples copies, ce chiffre étant probablement sous-estimé en raison de la profondeur limitée des techniques de séquençage. Les mécanismes responsables de cette prolifération sont multiples (*figure 2*).

Prolifération liée à la localisation génomique des provirus intégrés

L'analyse détaillée des sites d'intégration suggère que l'expansion clonale pourrait être liée à une intégration préférentielle des provirus dans certains gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire tels que BACH2 (*broad complex-tramtrack-bric a brac and Cap'n'collar homology 2*), STAT5 (*Signal transducer and activator of transcription 5*) ou MKL2 (*MKL/myocardin-like protein 2*) [59, 67]. Ainsi, la présence du provirus dans ces gènes pourrait inactiver leur transcription ou entraîner la production de protéine chimère à la fonctionnalité altérée [68]. D'autre part, l'intégration des génomes viraux au sein de gènes impliqués dans les cancers est fréquente [60], suggérant que l'intégration du provirus dans certains oncogènes pourrait induire une prolifération non contrôlée de clones infectés, bien que l'importance de ce mécanisme demeure controversée [69]. En effet, contrairement aux rétrovirus oncogènes, notamment HTLV (*Human T-lymphotropic virus*), le VIH n'est pas connu pour induire des cancers par de tels mécanismes. Ainsi, si l'intégration des provirus dans certaines régions spécifiques peut faciliter la prolifération de certaines cellules infectées ou leur conférer un avantage sélectif, il est peu probable que ce mécanisme puisse conduire à l'expansion incontrôlée d'un clone infecté. Si cette prolifération est induite par le provirus (mécanisme intrinsèque), d'autres mécanismes de division cellulaires sont induits par l'environnement de la cellule T infectée (mécanismes extrinsèques).

Prolifération homéostatique

Le compartiment des lymphocytes T mémoires est maintenu au cours du temps par une prolifération à bas bruit, dite homéostatique. Ce mécanisme indispensable à la persistance des lymphocytes T matures est largement régulé par l'IL-7, une cytokine clé également impliquée dans le développement des lymphocytes T. La déplétion des lymphocytes T CD4 induite par l'infection par le VIH s'accompagne d'une augmentation des niveaux plasmatiques d'IL-7 qui contribuent à leur prolifération accrue

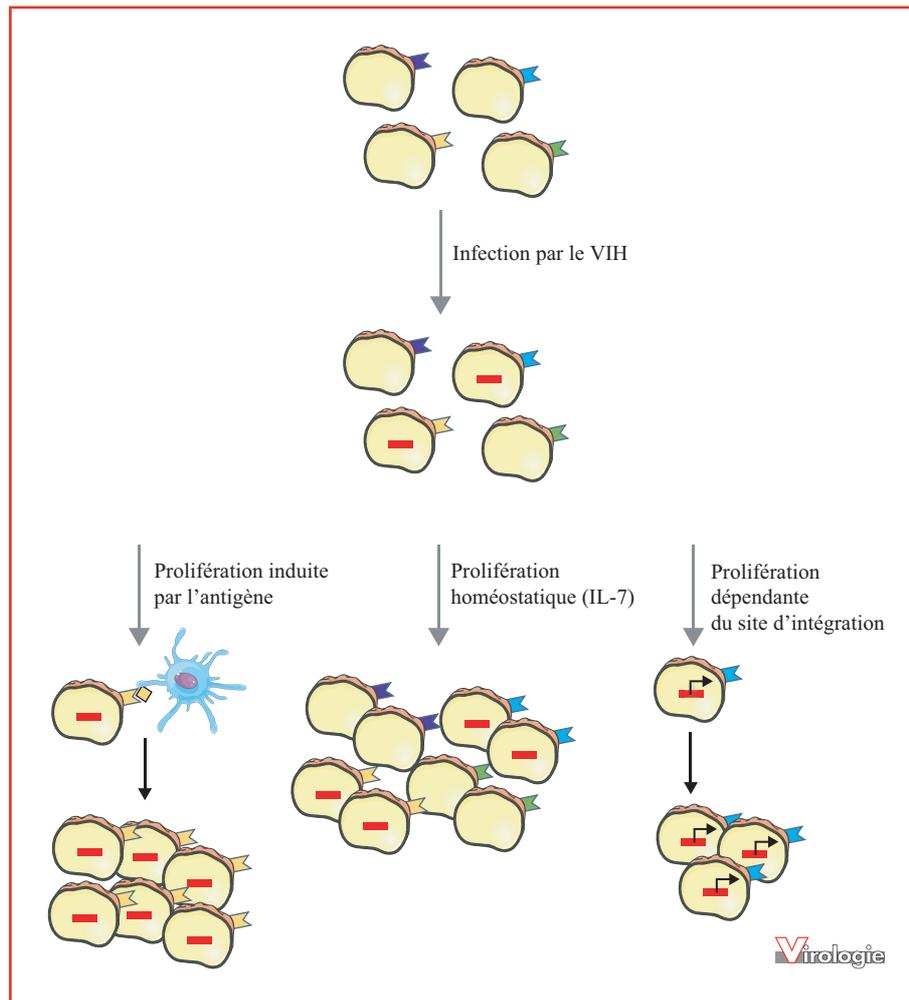


Figure 2. Types de prolifération contribuant à la persistance du VIH au cours des TAR. Les lymphocytes T CD4 infectés prolifèrent par différents mécanismes. Lors de la présentation d'un antigène par une cellule présentatrice, le lymphocyte T infecté se divise rapidement et génère de nombreuses cellules identiques (*à gauche*). La prolifération homéostatique, en revanche, induit la prolifération à bas bruit de tous les lymphocytes T CD4 et permet le maintien du compartiment mémoire (*au centre*), incluant les cellules infectées. L'intégration du provirus au sein de certains gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire peut également induire la prolifération des cellules infectées (*à droite*).

[70]. Ainsi, des études cliniques visant à normaliser le nombre absolu de lymphocytes T CD4 en induisant leur prolifération homéostatique par l'IL-7 ont été conduites : l'administration d'IL-7 à des PVVIH sous TAR a entraîné une augmentation marquée du nombre de cellules portant un provirus intégré [50, 71, 72]. De façon intéressante, les niveaux plasmatiques d'IL-7 sont corrélés au niveau de prolifération des lymphocytes T CD4 et au maintien du réservoir viral [20]. D'autre part, des expériences *in vitro* ont montré que les cellules infectées prolifèrent en réponse à l'IL-7, sans que cette prolifération n'entraîne de réactivation du provirus ou une différenciation cellulaire [73]. Il est donc maintenant

bien établi que l'IL-7, moteur de la prolifération homéostatique, contribue à la persistance et à l'expansion des réservoirs du VIH.

Prolifération dépendante de l'antigène

Un autre mécanisme induisant la prolifération des lymphocytes T CD4 consiste en l'activation de ces cellules suite à la reconnaissance par leur TCR d'un antigène présenté par une molécule du CMH II. Contrairement à la prolifération homéostatique, la prolifération induite par l'antigène conduit à une expansion massive du clone activé afin de générer un grand nombre de cellules effectrices contribuant

à l'élimination de l'antigène. La nature des antigènes reconnus par les lymphocytes T CD4 portant le réservoir du VIH a fait l'objet de nombreuses études au cours des 20 dernières années. Les premiers travaux sur la spécificité antigénique des lymphocytes T CD4 mémoires infectés ont révélé que le réservoir viral est constitué en partie de cellules spécifiques pour le VIH [74, 75]. Le maintien préférentiel de ces cellules pourrait s'expliquer par la présence de leur antigène à bas bruit en raison de la production continue de protéines du VIH, même sous TAR efficace [76]. D'autre part, plusieurs études suggèrent que le VIH persiste préférentiellement dans des cellules spécifiques à des antigènes dits « communs », c'est-à-dire à la fois répandus dans la population générale, fréquemment rencontrés, mais également persistants. Par exemple, plusieurs études [77-80], mais pas toutes [81], ont permis d'établir un lien entre la vaccination contre le virus de la grippe et une augmentation de la taille ou de l'activité transcriptionnelle du réservoir du VIH. De manière similaire, la persistance de génomes du VIH dans des cellules spécifiques du cytomégalovirus (CMV) a été démontrée à l'aide de différentes approches incluant le séquençage de génomes viraux quasi-complets [66, 82, 83]. Toutefois, l'ensemble de ces études se sont limitées à l'analyse d'un nombre restreint de spécificités antigéniques puisqu'elles reposent sur la stimulation des cellules du sang périphérique de PVVIH par un nombre limité d'antigènes connus. Malheureusement, l'immensité du nombre de TCR uniques (au moins 108 chez les jeunes adultes, [84]) rend impossible la conduite d'études exhaustives. Une méthode alternative pour identifier les spécificités antigéniques des cellules réservoirs est le séquençage en cellule unique du TCR des cellules infectées [64]. Cette approche permet de soumettre les séquences de TCR retrouvées dans les cellules infectées à un algorithme de prédiction des spécificités antigéniques [85] et a permis de confirmer que certaines cellules infectées sont spécifiques de pathogènes connus tel que CMV ou le virus influenza [64]. Toutefois, cette approche est limitée par la disponibilité de séquences bien identifiées et validées fonctionnellement dans les banques de données existantes. D'ailleurs, la spécificité antigénique de la grande majorité des TCR demeure inconnue. D'autre part, d'autres antigènes qui ont été jusqu'à présent peu explorés, pourraient jouer un rôle important dans la persistance des réservoirs du VIH. Par exemple, une proportion non négligeable des lymphocytes T CD4 circulants est spécifique de bactéries commensales [86] et la contribution de ces cellules à la persistance du VIH demeure à ce jour inconnue.

Si le rôle de la prolifération cellulaire dans le maintien des réservoirs du VIH ne fait plus de doute, la façon dont les provirus présents dans ces cellules échappent à la reconnaissance par le système immunitaire au cours de ces divisions cellulaires demeure mystérieuse. La stimulation par le TCR

est connue comme étant l'une des voies les plus efficaces pour réactiver le provirus de sa latence. Ainsi, il est probable que tout ou partie des provirus intégrés dans un clone T CD4 mémoire stimulé par son antigène devraient naturellement produire des protéines virales qui en feraient la cible des réponses adaptatives, menant à une sélection négative des provirus produisant des virus compétents pour la réplication. Des études supplémentaires seront nécessaires pour tester cette hypothèse et pour identifier les facteurs viraux et cellulaires éventuels qui pourraient permettre au VIH de résister à ces pressions immunitaires. Bien que ce champ de recherche en soit encore à ses balbutiements, certaines molécules préférentiellement exprimées par les cellules réservoirs, en particulier les points de contrôle immunitaire, pourraient contribuer à cet échappement.

Points de contrôle immunitaire

La quête pour l'identification de marqueurs spécifiques des cellules constituant le réservoir du VIH a conduit à la découverte de plusieurs molécules de surface préférentiellement exprimées par les cellules infectées chez les PVVIH sous TAR [87, 88]. Parmi celles-ci, les points de contrôle immunitaire comme PD-1 (*programmed cell death protein 1*) sont retrouvés plus fréquemment sur les cellules T CD4 et CD8 des personnes vivant avec le VIH par rapport aux populations contrôles [89, 90]. Ces protéines exprimées de façon transitoire après l'activation des cellules T voient leurs expressions maintenues à des niveaux élevés au cours des infections chroniques [91]. Ces points de contrôle immunitaire, aussi appelés régulateurs négatifs, sont définis par leur capacité à diminuer l'activation des cellules qui les expriment [92]. Leurs expressions prolongées induisent une forte réduction des capacités effectrices des lymphocytes T, qui sont alors dites épuisées [93]. On retrouve notamment dans cette classe de molécules inhibitrices les protéines PD-1, CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*), LAG-3 (*lymphocyte activation gene-3*), TIGIT (*T cell immunoglobulin and ITIM domain*) et Tim-3 (*T cell immunoglobulin-3*).

Dès 2009, PD-1 a été identifié comme préférentiellement exprimé par les cellules infectées par le VIH [20]. Depuis, plusieurs autres points de contrôle immunitaire (LAG-3 et TIGIT) ont été identifiés comme des marqueurs de cellules infectées dans le sang et les tissus chez les personnes sous TAR [55, 94-96]. De manière intéressante, la co-expression de ces molécules permet d'enrichir de manière encore plus importante en cellules infectées, ce qui suggère une plus grande capacité de ces cellules à persister [94]. Les points de contrôle immunitaire sont fréquemment trouvés à la surface des cellules activées ou épuisées, et sont exprimés par certains types de lymphocytes T CD4 comme les

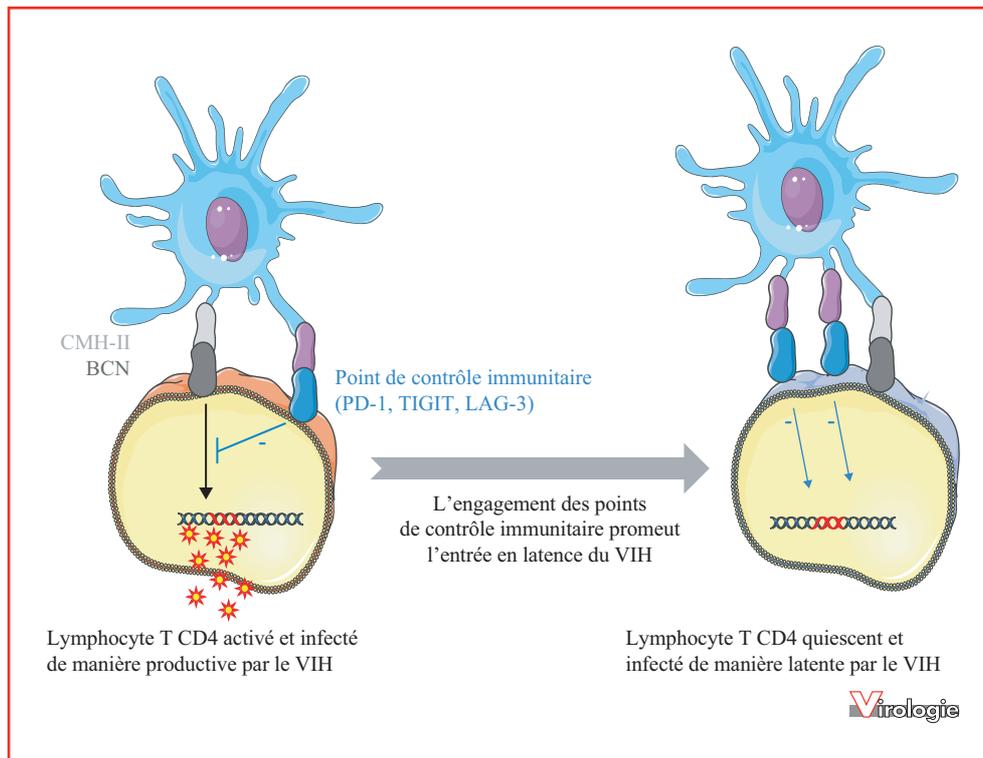


Figure 3. Rôle des points de contrôle immunitaire dans l'établissement de la latence du VIH. Lors de la présentation de l'antigène par une cellule présentatrice à un lymphocyte T CD4, l'engagement des points de contrôle immunitaire exprimés à la surface des cellules infectées de manière productive promeut la latence du VIH en réduisant la transcription virale.

cellules T folliculaires (Tfh) qui expriment fortement PD-1 et TIGIT [97, 98]. Le rôle de ces deux récepteurs dans l'établissement et la persistance du VIH dans les lymphocytes Tfh, un réservoir viral majeur dans les ganglions lymphatiques des personnes sous TAR [96], reste toutefois à déterminer. La molécule CTLA-4, fréquemment exprimée par les cellules T régulatrices (Treg) [99, 100], pourrait également contribuer à la persistance du VIH au sein du compartiment Treg, dont la contribution au réservoir viral demeure toutefois controversée [101-104].

Ces observations *in vivo* ont par la suite été complétées par des études *in vitro* afin de comprendre les mécanismes par lesquels les points de contrôle immunitaire pourraient contribuer à l'établissement et à la persistance des réservoirs du VIH. Dans un modèle d'infection *in vitro*, l'inhibition de l'interaction entre PD-1 et son ligand PD-L1 réduit l'établissement d'une forme latente du VIH [105]. Dans un modèle *ex vivo* utilisant des cellules de PVVIH, nous avons corroboré ces résultats et démontré que l'engagement de PD-1 par son ligand PD-L1 réduit la transcription du VIH ce qui promeut l'établissement de réservoirs latents du VIH [106]. Comme évoqué précédemment, l'expression des points de contrôle immunitaire sur les cellules infectées pourrait constituer un avantage sélectif pour les cellules

réservoirs durant la TAR et ainsi favoriser leur persistance [94] (figure 3).

Une perspective thérapeutique prometteuse découle de ces observations : si les points de contrôle immunitaire favorisent la persistance du VIH, leur blocage pourrait faciliter l'élimination des réservoirs viraux en induisant la réactivation des provirus latents (figure 4). Nous avons ainsi démontré que l'exposition de cellules infectées de manière latente isolées de PVVIH sous TAR à un anticorps bloquant PD-1 permet d'augmenter l'effet anti-latence de molécules telles que les agonistes de PKC (protéine kinase C) [106]. De plus la combinaison de ces inhibiteurs de points de contrôle semble permettre l'induction de la transcription du VIH en l'absence d'autre stimulation [107].

À la vue de l'ensemble des données *in vitro* et *ex vivo* présentées jusqu'ici et inspirées par leurs succès dans le traitement des cancers [108], la communauté scientifique a envisagé l'utilisation d'anticorps monoclonaux bloquant les points de contrôle immunitaire comme stratégie curative pour le VIH (tableau 1). Ces molécules pourraient agir à deux niveaux, tous deux bénéfiques, dans une stratégie de guérison : Le blocage de points de contrôle immunitaire pourrait d'une part réactiver le virus comme indiqué précédemment, mais également revigorer la réponse cytotoxique

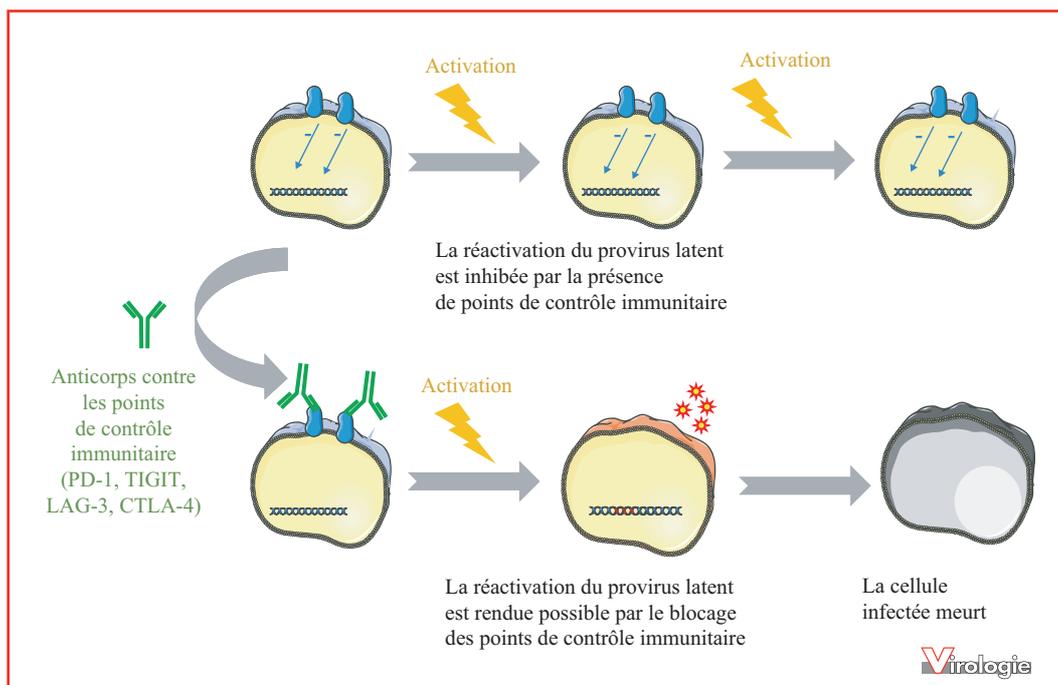


Figure 4. Rôle des points de contrôle immunitaire dans le maintien de la latence du VIH. En haut : Les points de contrôle immunitaire exprimés à la surface des cellules infectées empêchent la réactivation des provirus au cours des stimulations successives. En bas : L'administration d'anticorps bloquant les points de contrôle immunitaire favorise la réactivation des provirus et possiblement leur élimination.

Tableau 1 Essais cliniques en cours utilisant le blocage des points de contrôle immunitaire pour réduire les réservoirs du VIH.

Description de l'essai clinique	Numéro de l'essai clinique	Phase	Date estimée de fin d'étude	Résultats intermédiaires
Durvalumab (anti-PD-L1, IgG1) dans les tumeurs solides	NCT03094286	Phase II	Avril 2022	[120]
Budigalimab (anti-PD-1, IgG1)	NCT04223804	Phase Ib	Avril 2022	
Budigalimab (anti-PD-1, IgG1)	NCT04799353	Phase I	Décembre 2021	
Nivolumab (anti-PD-1, IgG4) + ipilimumab (anti-CTLA-4, IgG1) chez les personnes avec des tumeurs solides avancées associées au VIH	NCT02408861	Phase I	Juillet 2022	[117]
Pembrolizumab (anti-PD-1, IgG4) chez les personnes avec VIH et cancer (rechute, réfractaire ou disséminé)	NCT02595866	Phase I	Juillet 2021	[115]
Pembrolizumab (anti-PD-1, IgG4) dose unique	NCT03239899	Phase I	Décembre 2024	

Source : treatmentactiongroup.org

des lymphocytes T CD8 spécifiques du VIH [109]. Il est à noter que plusieurs anti-PD-1 sont actuellement évalués dans ces essais cliniques (pembrolizumab, nivolumab, budigalimab) et bien qu'ils présentent des différences dans leurs isotopes et probablement dans les épitopes qu'ils reconnaissent, leurs capacités relatives à cibler les réservoirs du VIH et à améliorer les réponses cellulaires antivirales

demeurent inconnues. Les premières études rétrospectives analysant l'impact de l'administration d'anticorps bloquant PD-1 et/ou CTLA-4 pour traiter les tumeurs de personnes vivant avec le VIH ont démontré des effets variables de ces molécules sur les réservoirs du VIH [106, 110-114]. L'impact sur la taille du réservoir mesurée par la fréquence des cellules portant de l'ADN du VIH ainsi que l'effet

sur la production virale (transcrits associé aux cellules ou particules virales dans le plasma) varient grandement en fonction des participants. Aucun prédicteur ou même biomarqueur associé à une réponse virologique aux anti-PD-1 ou anti-CTLA-4 n'a été identifié à ce jour. Plus récemment, une étude clinique spécifiquement mise en place pour analyser l'impact du blocage de PD-1 sur la persistance du VIH a permis de démontrer le caractère sécuritaire de cette approche chez les PVVIH ayant développé un cancer [115], ainsi qu'une modeste perturbation des réservoirs viraux [116]. Dans une autre étude, l'administration combinée d'un anti-CTLA-4 et d'un anti-PD-1 a entraîné une réduction marquée du réservoir inductible et compétent pour la réplication chez deux participants [117]. Bien que les succès soient pour le moment limités, ces stratégies utilisant des anticorps bloquant les points de contrôle immunitaire semblent prometteuses. De plus amples recherches seront toutefois nécessaires pour identifier les critères prédictifs de la réponse au traitement ainsi que les modalités d'administration qui pourraient être différentes de celles utilisées pour le traitement des cancers (fréquence, dose), afin de réduire la toxicité associée à ces approches.

Conclusion et perspectives

Il ne fait aujourd'hui plus aucun doute que les antirétroviraux, aussi puissants soient-ils, ne seront pas suffisants pour éradiquer le VIH de l'organisme. L'élimination complète de rares lymphocytes T mémoires portant un provirus intégré et capables d'autorenouvellement représente un défi scientifique immense. Celui-ci semblait inatteignable jusqu'à l'avènement de rares cas de guérison et de rémission à long terme [5, 6, 8, 118]. Il s'agit non pas d'attaquer le virus mais bien les cellules qui le portent, une tâche difficile en raison de la rareté des cellules réservoirs et de leur similarité avec les cellules non infectées. Quel sera le prix immunologique à payer pour éliminer les réservoirs du VIH ? Une éradication complète et quasiment instantanée du virus, à l'instar de ce qui a été accompli chez les patients de Berlin et de Londres par une greffe de moelle osseuse semble peu envisageable en raison des effets secondaires causés par une mesure aussi drastique. Des approches plus ciblées (inducteur de l'apoptose spécifique à certaines sous-populations, inhibition de la prolifération et de l'autorenouvellement de sous-types cellulaires enrichis en VIH, ciblage des réservoirs préférentiels en utilisant des anticorps contre les points de contrôle immunitaire), et surtout une combinaison de ces approches pourrait, au moins transitoirement, réduire la taille des réservoirs du VIH et permettre leur contrôle naturel. Si cet objectif, qui diffère de l'éradication complète, semble manquer d'ambition, il apparaît bien plus réaliste. La perspective d'une persistance

à vie d'un réservoir « contrôlé immunologiquement » par un système immunitaire renforcé (immunothérapie, vaccin thérapeutique) est toutefois peu attrayante pour les PVVIH puisqu'elle implique une surveillance immunitaire continue et donc un suivi clinique permanent. Elle est peut-être cependant une étape nécessaire à une élimination complète des réservoirs du VIH, comme récemment observé chez un cas de « contrôleur élite exceptionnel » [119]. Chez cette personne, les réservoirs du VIH semblent avoir été graduellement et naturellement éliminés par une réponse immunitaire particulièrement efficace. Ainsi, une pression immunitaire continue sur les réservoirs pourrait mener à leur élimination en quelques années. Cette nouvelle avenue de recherche, qui propose « une éradication au long cours », pourrait radicalement modifier les approches mises en œuvre pour éliminer le VIH de l'organisme.

Remerciements. Nous remercions les organismes de financement qui nous permettent de poursuivre nos travaux de recherche : les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC, projets 364408, et 451304), les National Institutes of Health (NIH) ainsi que le réseau SIDA et maladies infectieuses du Fonds de recherche du Québec Santé (FRQS). Nous remercions également the Delaney AIDS Research Enterprise (DARE) to Find a Cure (projet UM1AI126611) et the Canadian HIV Cure Enterprise (CanCURE) des IRSC (subvention d'équipe HB2-164064). NC est chercheur-boursier du FRQS.

L'accès libre de cette revue est financé par le réseau SIDA & Maladies infectieuses du Fonds de recherche du Québec en santé.

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

Références

- Marcus JL, Leyden WA, Alexeeff SE, *et al.* Comparison of overall and comorbidity-free life expectancy between insured adults with and without HIV infection, 2000-2016. *JAMA Netw Open* 2020 ; 3(6) : e207954.
- Gallant J, Hsue PY, Shreay S, Meyer N. Comorbidities among US patients with prevalent HIV infection – a trend analysis. *J Infect Dis* 2017 ; 216(12) : 1525-33.
- Pourcher V, Gourmelen J, Bureau I, Bouee S. Comorbidities in people living with HIV : An epidemiologic and economic analysis using a claims database in France. *PLoS One* 2020 ; 15(12) : e0243529.
- Stader F, Courlet P, Decosterd LA, Battegay M, Marzolini C. Physiologically-based pharmacokinetic modeling combined with Swiss HIV cohort study data supports no dose adjustment of bictegravir in elderly individuals living with HIV. *Clin Pharmacol Ther* 2021 ; 109(4) : 1025-9.
- 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.
- 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.

7. Hocqueloux L, Saez-Cirion A, Rouzioux C. Immunovirologic control 24 months after interruption of antiretroviral therapy initiated close to HIV seroconversion. *JAMA Intern Med* 2013; 173(6): 475-6.
8. Saez-Cirion A, Bacchus C, Hocqueloux L, et al. Post-treatment HIV-1 controllers with a long-term virological remission after the interruption of early initiated antiretroviral therapy ANRS VISCONTI study. *PLoS Pathog* 2013; 9(3): e1003211.
9. Chun TW, Davey Jr. RT, Engel D, Lane HC, Fauci AS. Re-emergence of HIV after stopping therapy. *Nature* 1999; 401(6756): 874-5.
10. Davey Jr. RT, Bhat N, Yoder C, et al. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(26): 15109-14.
11. Wong JK, Hezareh M, Gunthard HF, et al. Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science* 1997; 278(5341): 1291-5.
12. 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.
13. Chun TW, Stuyver L, Mizell SB, et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(24): 13193-7.
14. Wong ME, Jaworowski A, Hearps AC. The HIV reservoir in monocytes and macrophages. *Front Immunol* 2019; 10: 1435.
15. Massanella M, Bakeman W, Sithinamsuwan P, et al. Infrequent HIV infection of circulating monocytes during antiretroviral therapy. *J Virol* 2019; 94(1): e01174-1219.
16. Cattin A, Wiche Salinas TR, Gosselin A, et al. HIV-1 is rarely detected in blood and colon myeloid cells during viral-suppressive antiretroviral therapy. *AIDS* 2019; 33(8): 1293-306.
17. Hermankova M, Siliciano JD, Zhou Y, et al. Analysis of human immunodeficiency virus type 1 gene expression in latently infected resting CD4⁺ T lymphocytes *in vivo*. *J Virol* 2003; 77(13): 7383-92.
18. Chun TW, Carruth L, Finzi D, et al. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 1997; 387(6629): 183-8.
19. Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T cells. *Nat Med* 2003; 9(6): 727-8.
20. 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.
21. Gosselin A, Wiche Salinas TR, Planas D, et al. HIV persists in CCR6+CD4⁺ T cells from colon and blood during antiretroviral therapy. *AIDS* 2017; 31(1): 35-48.
22. Lee GQ, Orlova-Fink N, Einkauf K, et al. Clonal expansion of genome-intact HIV-1 in functionally polarized Th1 CD4⁺ T cells. *J Clin Invest* 2017; 127(7): 2689-96.
23. Buzon MJ, Sun H, Li C, Shaw A, et al. HIV-1 persistence in CD4⁺ T cells with stem cell-like properties. *Nat Med* 2014; 20(2): 139-42.
24. Jaafoura S, de Goer de Herve MG, Hernandez-Vargas EA, et al. Progressive contraction of the latent HIV reservoir around a core of less-differentiated CD4⁺ memory T cells. *Nat Commun* 2014; 5: 5407.
25. Chun TW, Finzi D, Margolick J, Chadwick K, Schwartz D, Siliciano RF. *In vivo* fate of HIV-1-infected T cells: quantitative analysis of the transition to stable latency. *Nat Med* 1995; 1(12): 1284-90.
26. Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401(6754): 708-12.
27. Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med* 2011; 17(10): 1290-7.
28. Ostrowski MA, Chun TW, Justement SJ, et al. Both memory and CD45RA+/CD62L+ naive CD4(+) T cells are infected in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *J Virol* 1999; 73(8): 6430-5.
29. Lambotte O, Demoustier A, de Goer MG, et al. Persistence of replication-competent HIV in both memory and naive CD4 T cell subsets in patients on prolonged and effective HAART. *AIDS* 2002; 16(16): 2151-7.
30. Wightman F, Solomon A, Khoury G, et al. Both CD31(+) and CD31(-) naive CD4(+) T cells are persistent HIV type 1-infected reservoirs in individuals receiving antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2010; 202(11): 1738-48.
31. Venanzi Rullo E, Cannon L, Pinzone MR, Ceccarelli M, Nunari G, O'Doherty U. Genetic evidence that naive T cells can contribute significantly to the human immunodeficiency virus intact reservoir: time to re-evaluate their role. *Clin Infect Dis* 2019; 69(12): 2236-7.
32. Zerbato JM, McMahon DK, Sobolewski MD, Mellors JW, Sluis-Cremer N. Naive CD4⁺ T cells harbor a large inducible reservoir of latent, replication-competent human immunodeficiency virus type 1. *Clin Infect Dis* 2019; 69(11): 1919-25.
33. Roche M, Tumpach C, Symons J, et al. CXCR4-using HIV strains predominate in naive and central memory CD4(+) T cells in people living with HIV on antiretroviral therapy: implications for how latency is established and maintained. *J Virol* 2020; 94(6): e01736-1819.
34. Bacchus-Souffan C, Fitch M, Symons J, et al. Relationship between CD4 T cell turnover, cellular differentiation and HIV persistence during ART. *PLoS Pathog* 2021; 17(1): e1009214.
35. Zack JA, Arrigo SJ, Weitsman SR, Go AS, Haislip A, Chen IS. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 1990; 61(2): 213-22.
36. Hani L, Chaillon A, Nere ML, Ruffin N, Alameddine J, Salmona M, et al. Proliferative memory SAMHD1low CD4⁺ T cells harbour high levels of HIV-1 with compartmentalized viral populations. *PLoS Pathog* 2019; 15(6): e1007868.
37. 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* 2019; 29(3): 611-626.e5.
38. Buzon MJ, Martin-Gayo E, Pereyra F, et al. Long-term antiretroviral treatment initiated at primary HIV-1 infection affects the size, composition, and decay kinetics of the reservoir of HIV-1-infected CD4 T cells. *J Virol* 2014; 88(17): 10056-65.
39. De Boer RJ, Perelson AS. Quantifying T lymphocyte turnover. *J Theor Biol* 2013; 327: 45-87.
40. Lugli E, Dominguez MH, Gattinoni L, et al. Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory. *J Clin Invest* 2013; 123(2): 594-9.
41. Gao S, Liang X, Wang H, et al. Stem cell-like memory T cells: a perspective from the dark side. *Cell Immunol* 2021; 361: 104273.
42. Costa Del Amo P, Lahoz-Beneytez J, Boelen L, et al. Human TSCM cell dynamics *in vivo* are compatible with long-lived immunological memory and stemness. *PLoS Biol* 2018; 16(6): e2005523.

43. Flynn JK, Paukovics G, Cashin K, *et al.* Quantifying susceptibility of CD4+ stem memory T-cells to infection by laboratory adapted and clinical HIV-1 strains. *Viruses* 2014; 6(2): 709-26.
44. Tabler CO, Lucera MB, Haqqani AA, *et al.* CD4+ memory stem cells are infected by HIV-1 in a manner regulated in part by SAMHD1 expression. *J Virol* 2014; 88(9): 4976-86.
45. Gattinoni L, Zhong XS, Palmer DC, *et al.* Wnt signaling arrests effector T cell differentiation and generates CD8+ memory stem cells. *Nat Med* 2009; 15(7): 808-13.
46. Chahroudi A, Silvestri G, Lichterfeld M. T memory stem cells and HIV: a long-term relationship. *Curr HIV/AIDS Rep* 2015; 12(1): 33-40.
47. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 745-63.
48. Riou C, Yassine-Diab B, Van grevenynghe J, *et al.* Convergence of TCR and cytokine signaling leads to FOXO3a phosphorylation and drives the survival of CD4+ central memory T cells. *J Exp Med* 2007; 204(1): 79-91.
49. Soriano-Sarabia N, Bateson RE, Dahl NP, *et al.* Quantitation of replication-competent HIV-1 in populations of resting CD4+ T cells. *J Virol* 2014; 88(24): 14070-7.
50. Vandergeeten C, Fromentin R, Da Fonseca S, *et al.* Interleukin-7 promotes HIV persistence during antiretroviral therapy. *Blood* 2013; 121(21): 4321-9.
51. Pardons M, Fromentin R, Pagliuzza A, Routy JP, Chomont N. Latency-reversing agents induce differential responses in distinct memory CD4 T cell subsets in individuals on antiretroviral therapy. *Cell Rep* 2019; 29(9): 2783-2795.e5.
52. Kulpa DA, Talla A, Brehm JH, Ribeiro SP, Yuan S, Bebin-Blackwell AG, *et al.* Differentiation into an effector memory phenotype potentiates HIV-1 latency reversal in CD4(+) T cells. *J Virol* 2019; 93(24): e00969-1019.
53. Leyre L, Kroon E, Vandergeeten C, *et al.* Abundant HIV-infected cells in blood and tissues are rapidly cleared upon ART initiation during acute HIV infection. *Sci Transl Med* 2020; 12(533): eaav3491.
54. Hiener B, Horsburgh BA, Eden JS, Barton K, Schlub TE, Lee E, *et al.* Identification of genetically intact HIV-1 proviruses in specific CD4(+) T cells from effectively treated participants. *Cell Rep* 2017; 21(3): 813-22.
55. Pardons M, Baxter AE, Massanella M, *et al.* Single-cell characterization and quantification of translation-competent viral reservoirs in treated and untreated HIV infection. *PLoS Pathog* 2019; 15(2): e1007619.
56. Grau-Exposito J, Luque-Ballesteros L, Navarro J, *et al.* Latency reversal agents affect differently the latent reservoir present in distinct CD4+ T subpopulations. *PLoS Pathog* 2019; 15(8): e1007991.
57. Baxter AE, Niessl J, Fromentin R, *et al.* Single-cell characterization of viral translation-competent reservoirs in HIV-infected individuals. *Cell Host Microbe* 2016; 20(3): 368-80.
58. Kim H, Perelson AS. Viral and latent reservoir persistence in HIV-1-infected patients on therapy. *PLoS Comput Biol* 2006; 2(10): e135.
59. Maldarelli F, Wu X, Su L, *et al.* HIV latency. Specific HIV integration sites are linked to clonal expansion and persistence of infected cells. *Science* 2014; 345(6193): 179-83.
60. Wagner TA, McLaughlin S, Garg K, *et al.* HIV latency. Proliferation of cells with HIV integrated into cancer genes contributes to persistent infection. *Science* 2014; 345(6196): 570-3.
61. Simonetti FR, Sobolewski MD, Fyne E, *et al.* Clonally expanded CD4+ T cells can produce infectious HIV-1 *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(7): 1883-8.
62. Reeves DB, Duke ER, Wagner TA, Palmer SE, Spivak AM, Schiffer JT. A majority of HIV persistence during antiretroviral therapy is due to infected cell proliferation. *Nat Commun* 2018; 9(1): 4811.
63. Bui JK, Sobolewski MD, Keele BF, *et al.* Proviruses with identical sequences comprise a large fraction of the replication-competent HIV reservoir. *PLoS Pathog* 2017; 13(3): e1006283.
64. Gantner P, Pagliuzza A, Pardons M, *et al.* Single-cell TCR sequencing reveals phenotypically diverse clonally expanded cells harboring inducible HIV proviruses during ART. *Nat Commun* 2020; 11(1): 4089.
65. Cole B, Lambrechts L, Gantner P, *et al.* In-depth single-cell analysis of translation-competent HIV-1 reservoirs identifies cellular sources of plasma viremia. *Nat Commun* 2021; 12(1): 3727.
66. Mendoza P, Jackson JR, Oliveira TY, *et al.* Antigen-responsive CD4+ T cell clones contribute to the HIV-1 latent reservoir. *J Exp Med* 2020; 217(7): e20200051.
67. Cesana D, Santoni de Sio FR, Rudilosso L, *et al.* HIV-1-mediated insertional activation of STAT5B and BACH2 trigger viral reservoir in T regulatory cells. *Nat Commun* 2017; 8(1): 498.
68. Liu R, Yeh YJ, Varabyou A, *et al.* Single-cell transcriptional landscapes reveal HIV-1-driven aberrant host gene transcription as a potential therapeutic target. *Sci Transl Med* 2020; 12(543): eaaz0802.
69. Coffin JM, Bale MJ, Wells D, *et al.* Integration in oncogenes plays only a minor role in determining the *in vivo* distribution of HIV integration sites before or during suppressive antiretroviral therapy. *PLoS Pathog* 2021; 17(4): e1009141.
70. Napolitano LA, Grant RM, Deeks SG, *et al.* Increased production of IL-7 accompanies HIV-1-mediated T-cell depletion: implications for T-cell homeostasis. *Nat Med* 2001; 7(1): 73-9.
71. Logerot S, Rancez M, Charmeteau-de Muylder B, *et al.* HIV reservoir dynamics in HAART-treated poor immunological responder patients under IL-7 therapy. *AIDS* 2018; 32(6): 715-20.
72. Katlama C, Lambert-Niclot S, Assoumou L, *et al.* Treatment intensification followed by interleukin-7 reactivates HIV without reducing total HIV DNA: a randomized trial. *AIDS* 2016; 30(2): 221-30.
73. Bosque A, Famiglietti M, Weyrich AS, Goulston C, Planelles V. Homeostatic proliferation fails to efficiently reactivate HIV-1 latently infected central memory CD4+ T cells. *PLoS Pathog* 2011; 7(10): e1002288.
74. Demoustier A, Gubler B, Lambotte O, *et al.* In patients on prolonged HAART, a significant pool of HIV infected CD4 T cells are HIV-specific. *AIDS* 2002; 16(13): 1749-54.
75. Douek DC, Brenchley JM, Betts MR, *et al.* HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* 2002; 417(6884): 95-8.
76. Wu G, Zuck P, Goh SL, *et al.* Gag p24 is a marker of HIV expression in tissues and correlates with immune response. *J Infect Dis* 2021; 224(9): 1593-8.
77. Christensen-Quick A, Chaillon A, Yek C, *et al.* Influenza vaccination can broadly activate the HIV reservoir during antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2018; 79(3): e104-7.
78. Gunthard HF, Wong JK, Spina CA, *et al.* Effect of influenza vaccination on viral replication and immune response in persons infected with human immunodeficiency virus receiving potent antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2000; 181(2): 522-31.
79. Jones RB, Kovacs C, Chun TW, Ostrowski MA. Short communication: HIV type 1 accumulates in influenza-specific T cells in subjects receiving seasonal vaccination in the context of effective antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; 28(12): 1687-92.

80. Yek C, Gianella S, Plana M, *et al.* Standard vaccines increase HIV-1 transcription during antiretroviral therapy. *AIDS* 2016; 30(15): 2289-98.
81. Wagner TA, Huang HC, Salyer CE, *et al.* H1N1 influenza vaccination in HIV-infected women on effective antiretroviral treatment did not induce measurable antigen-driven proliferation of the HIV-1 proviral reservoir. *AIDS Res Ther* 2017; 14(1): 7.
82. Henrich TJ, Hobbs KS, Hanhauser E, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 persistence following systemic chemotherapy for malignancy. *J Infect Dis* 2017; 216(2): 254-62.
83. Hey-Nguyen WJ, Bailey M, Xu Y, *et al.* HIV-1 DNA is maintained in antigen-specific CD4+ T cell subsets in patients on long-term antiretroviral therapy regardless of recurrent antigen exposure. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2019; 35(1): 112-20.
84. Qi Q, Liu Y, Cheng Y, *et al.* Diversity and clonal selection in the human T-cell repertoire. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(36): 13139-44.
85. Tickotsky N, Sagiv T, Prilusky J, Shifrut E, Friedman N. McPAS-TCR: a manually curated catalogue of pathology-associated T cell receptor sequences. *Bioinformatics* 2017; 33(18): 2924-9.
86. Hegazy AN, West NR, Stubbington MJT, *et al.* Circulating and tissue-resident CD4(+) T cells with reactivity to intestinal microbiota are abundant in healthy individuals and function is altered during inflammation. *Gastroenterology* 2017; 153(5): 1320-1337.e16.
87. Fromentin R, Chomont N. HIV persistence in subsets of CD4+ T cells: 50 shades of reservoirs. *Semin Immunol* 2020; 51: 101438.
88. Dufour C, Gantner P, Fromentin R, Chomont N. The multifaceted nature of HIV latency. *J Clin Invest* 2021; 131(11): e151380.
89. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, *et al.* PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006; 443(7109): 350-4.
90. Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, *et al.* Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med* 2006; 12(10): 1198-202.
91. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(8): 486-99.
92. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, *et al.* Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000; 192(7): 1027-34.
93. McLane LM, Abdel-Hakeem MS, Wherry EJ. CD8 T cell exhaustion during chronic viral infection and cancer. *Annu Rev Immunol* 2019; 37: 457-95.
94. 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.
95. 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.
96. Banga R, Procopio FA, Noto A, *et al.* PD-1(+) and follicular helper T cells are responsible for persistent HIV-1 transcription in treated aviremic individuals. *Nat Med* 2016; 22(7): 754-61.
97. Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 621-63.
98. Locci M, Havenar-Daughton C, Landais E, *et al.* Human circulating PD-1+CXCR3-CXCR5+ memory Tfh cells are highly functional and correlate with broadly neutralizing HIV antibody responses. *Immunity* 2013; 39(4): 758-69.
99. Read S, Malmstrom V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+) CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000; 192(2): 295-302.
100. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, *et al.* CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 322(5899): 271-5.
101. Dunay GA, Solomatina A, Kummer S, *et al.* Assessment of the HIV-1 reservoir in CD4+ regulatory T cells by a Droplet Digital PCR based approach. *Virus Res* 2017; 240: 107-11.
102. Jiao YM, Liu CE, Luo LJ, *et al.* CD4+CD25+CD127 regulatory cells play multiple roles in maintaining HIV-1 p24 production in patients on long-term treatment: HIV-1 p24-producing cells and suppression of anti-HIV immunity. *Int J Infect Dis* 2015; 37: 42-9.
103. Tran TA, de Goer de Herve MG, Hendel-Chavez H, *et al.* Resting regulatory CD4 T cells: a site of HIV persistence in patients on long-term effective antiretroviral therapy. *PLoS One* 2008; 3(10): e3305.
104. McGary CS, Deleage C, Harper J, *et al.* CTLA-4(+)PD-1(-) memory CD4(+) T cells critically contribute to viral persistence in antiretroviral therapy-suppressed, SIV-infected RHESUS Macaques. *Immunity* 2017; 47(4): 776-788.e5.
105. Evans VA, van der Sluis RM, Solomon A, *et al.* Programmed cell death-1 contributes to the establishment and maintenance of HIV-1 latency. *AIDS* 2018; 32(11): 1491-7.
106. 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.
107. Van der Sluis RM, Kumar NA, Pascoe RD, *et al.* Combination immune checkpoint blockade to reverse HIV latency. *J Immunol* 2020; 204(5): 1242-54.
108. Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun* 2020; 11(1): 3801.
109. Abbar B, Baron M, Katlama C, *et al.* Immune checkpoint inhibitors in people living with HIV: what about anti-HIV effects? *AIDS* 2020; 34(2): 167-75.
110. Guihot A, Marcellin 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.
111. Lau JSY, McMahon JH, Gubser C, *et al.* The impact of immune checkpoint therapy on the latent reservoir in HIV-infected individuals with cancer on antiretroviral therapy. *AIDS* 2021; 35(10): 1631-6.
112. Lurain K, Ramaswami R, Yarchoan R, Uldrick TS. Anti-PD-1 and Anti-PD-L1 monoclonal antibodies in people living with HIV and cancer. *Curr HIV/AIDS Rep* 2020; 17(5): 547-56.
113. Scully EP, Rutishauser RL, Simoneau CR, *et al.* Inconsistent HIV reservoir dynamics and immune responses following anti-PD-1 therapy in cancer patients with HIV infection. *Ann Oncol* 2018; 29(10): 2141-2.
114. Scully E, Alter G. NK cells in HIV disease. *Curr HIV/AIDS Rep* 2016; 13(2): 85-94.
115. Uldrick TS, Goncalves PH, Abdul-Hay M, *et al.* Assessment of the safety of pembrolizumab in patients With HIV and advanced cancer-A phase 1 study. *JAMA Oncol* 2019; 5(9): 1332-9.
116. Uldrick TS, Adams SV, Fromentin R, Roche M, Fling SP, Gonçalves PH, *et al.* Pembrolizumab induces HIV latency reversal in people living with HIV and cancer on antiretroviral therapy. *Sci Transl Med* 2022; 14(629) : eab13836. doi: 10.1126/scitranslmed.ab13836. Epub 2022 Jan 26

117. Rasmussen TA, Rajdev L, Rhodes A, *et al.* Impact of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 on the HIV reservoir in people living with HIV with cancer on antiretroviral therapy: the AIDS malignancy consortium-095 study. *Clin Infect Dis* 2021 ; 73(7) : e1973-81.

118. Hocqueloux L, Prazuck T, Avettand-Fenoel V, *et al.* Long-term immunovirologic control following antiretroviral therapy interruption in patients treated at the time of primary HIV-1 infection. *AIDS* 2010 ; 24(10) : 1598-601.

119. Jiang C, Lian X, Gao C, *et al.* Distinct viral reservoirs in individuals with spontaneous control of HIV-1. *Nature* 2020 ; 585(7824) : 261-7.

120. Gonzalez-Cao M, Moran T, Dalmau J, *et al.* Assessment of the feasibility and safety of durvalumab for treatment of solid tumors in patients With HIV-1 infection: the phase 2 DURVAST study. *JAMA Oncol* 2020 ; 6(7) : 1063-7.