

Résumé

Introduction : L'infection VIH-2 représente un modèle unique d'infection rétrovirale atténuée caractérisée par une progression clinique lente, une faible production virale et un faible taux de transmission. Dans l'infection VIH-1, il a été décrit que des mutations G vers A introduites par l'activité cytidine déaminase des protéines cellulaires APOBEC3F/3G, pouvait mener à la production de virus défectifs et/ou hypermutés. La protéine virale Vif contrecarre l'activité antirétrovirale des protéines APOBEC3F/3G en induisant leur dégradation par le protéasome. L'impact de l'édition d'APOBEC3F/3G dans les séquences VIH-2 *in vivo* reste inconnu. L'objectif de ce travail est d'évaluer la proportion de patients infectés le VIH-2 porteurs de virus défectifs dans le réservoir cellulaire.

Matériels et Méthodes : Le séquençage des régions *vif* et *pol* a été réalisé à partir de l'ADN proviral de 82 patients naïfs d'antirétroviraux et 71 patients traités en échec virologique, inclus dans la cohorte ANRS CO5 VIH-2. Les virus hypermutés ont été identifiés grâce au programme Hypermut 2.0. Les séquences *vif* et *pol* des patients naïfs d'antirétroviraux infectés par le VIH-2 ont été comparées à des séquences *vif* et *pol* de patients naïfs d'antirétroviraux infectés par le VIH-1 de sous-type B, issues de GenBank. La comparaison de la diversité de la protéine Vif du VIH-2 entre les virus défectifs et non défectifs, identifiés chez les patients naïfs d'antirétroviraux, a été réalisée au regard des 13 déterminants majeurs de l'interaction entre Vif du VIH-2 et les protéines APOBEC3 récemment décrits. La quantification de l'ADN VIH-2 total a été réalisée par une méthode de PCR en temps réel. Les comparaisons ont été réalisées en utilisant le test exact de Fisher ou le test de Mann-Whitney.

Résultats : Nous avons identifié 24% et 22% de séquences provirales *vif* défectives chez les patients naïfs d'antirétroviraux et traités, respectivement. Nous avons identifié 8% de séquences provirales *vif* hypermutées chez les patients naïfs d'antirétroviraux et aucune chez les patients traités. Notre étude a rapporté un effet groupe avec un niveau d'édition, médié par APOBEC3F/3G, plus élevé dans les séquences du groupe B par rapport aux séquences du groupe A dans les deux régions analysées et pour les deux populations de patients étudiées. Nous avons montré que plusieurs polymorphismes de la protéine Vif du VIH-2, connus pour être critiques *in vitro* dans l'interaction Vif-APOBEC3, étaient exclusivement détectés dans les provirus défectifs chez les patients naïfs d'antirétroviraux. Nous n'avons pas mis en évidence d'association entre la présence de virus défectifs et les paramètres immuno-virologiques des patients étudiés. Nous avons montré pour la première fois une corrélation positive entre les niveaux d'ADN VIH-2 total et les niveaux de charges virales plasmatiques chez les patients traités. Les niveaux d'ADN VIH-2 total étaient significativement plus élevés chez les patients traités que chez les patients naïfs d'antirétroviraux.

Conclusions : Nous avons montré pour la première fois un niveau élevé d'édition, médié par les protéines cellulaires APOBEC3F/3G, dans les séquences VIH-2. Nous avons également mis en évidence une corrélation entre les niveaux d'ARN plasmatique et d'ADN VIH-2 total chez les patients traités.

Mots clefs : HIV-2, APOBEC3, restriction virale, ADN proviral, *vif*

Abstract

Introduction: HIV-2 infection represents a unique model of attenuated retroviral infection, characterized by a slow disease progression, a low viral production and a low rate of transmission. In HIV-1, it has been described that G to A substitutions, introduced by APOBEC3F/3G cellular proteins through cytidine deaminase activity, could lead to defective viruses and also hypermutated viruses when occurring at excessive levels. The Vif viral protein is able to counteract APOBEC3F/3G antiretroviral activity by inducing its proteasomal degradation. *In vivo*, impact of APOBEC3F/3G editing in HIV-2 remains unknown. The objective of this study was to assess the proportion of HIV-2-infected patients harboring defective viruses in the cellular reservoir.

Patients and Methods: Direct sequencing of *vif* and *pol* regions was performed on proviral DNA of 82 antiretroviral-naïve and 71 treated patients in virological failure included in the ANRS CO5 HIV-2 Cohort. Hypermutated viruses were identified using Hypermut2.0 program. HIV-2 *vif* and *pol* sequences were compared with Genbank HIV-1 subtype B proviral *vif* and *pol* sequences. Comparison of HIV-2 Vif diversity among defective and non-defective viruses, identified in antiretroviral-naïve patients, was performed regarding 13 major determinants of the interaction between HIV-2 Vif and APOBEC3 proteins recently described. HIV-2 total DNA quantification was assessed using real-time PCR assay. Comparisons were performed using Mann-Whitney or Fisher exact tests.

Results: We identified 24% and 22% of defective *vif* proviral sequences issued from antiretroviral-naïve and treated patients, respectively. We identified 8% of hypermutated *vif* proviral sequences issued from antiretroviral-naïve patients but none in treated patients. Our study reported a group effect with a significantly higher level of APOBEC3F/3G editing in group B than in group A sequences in both *vif* and *pol* regions of the two studied population. Compared with HIV-1 sequences, a higher number of defective viruses was observed in HIV-2 sequences issued antiretroviral-naïve patients. We showed that several HIV-2 Vif polymorphisms, known critical *in vitro* for Vif-APOBEC3 interactions and subsequent APOBEC3 degradation, were exclusively detected in defective proviruses from antiretroviral-naïve patients. No difference could be evidenced in these two series between patients harboring defective and non-defective viruses regarding immuno-virological parameters. We showed for the first time a significant positive correlation between HIV-2 total DNA and plasma RNA levels in treated patients. Total HIV-2 DNA levels were significantly higher in treated than in antiretroviral-naïve patients.

Conclusion: We showed for the first time a high level of APOBEC3F/3G editing in HIV-2 sequences and a correlation between HIV-2 total DNA and plasma RNA levels in treated patients.

Key words: HIV-2, APOBEC3, viral restriction, proviral DNA, *vif*