

Titre : Impact de la variabilité génétique dans la région Long Terminal Repeat et le gène de l'intégrase sur la réplication du VIH-2

Résumé: Le VIH-2 est souvent considéré comme un modèle d'infection rétrovirale atténuée, du fait de sa faible réplication virale, des faibles taux de transmission et de la progression plus lente vers le stade SIDA des patients infectés. Les mécanismes causaux de cette moindre physiopathologie sont encore mal connus. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la diversité du VIH-2, notamment dans deux régions génomiques : l'intégrase et la région Long Terminal Repeat (LTR).

Nous avons tout d'abord amélioré la technique classique d'isolement de souches virales afin de disposer de davantage de souches de VIH-2, en purifiant les échantillons de patients avec des billes anti-CD44. Ensuite, nous avons utilisé ces souches pour étudier la sensibilité aux inhibiteurs de transfert de brin de l'intégrase, ou INSTI. Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence un nouveau mécanisme de résistance aux INSTI chez le VIH-2, l'insertion de 5 acides aminés après le codon 231 du gène de l'intégrase. Cette insertion est responsable d'une résistance importante au raltegravir (RAL), à l'elvitegravir (EVG), au cabotegravir (CAB), ainsi qu'une résistance modérée au dolutegravir (DTG). La sensibilité au bictegravir (BIC) était conservée pour certains isolats porteurs de cette insertion. Une insertion de deux acides aminés a aussi été observée transitoirement chez un patient. Nous avons confirmé ces observations phénotypiques en construisant des virus porteurs de ces insertions par mutagenèse dirigée. L'insertion, qu'elle soit de 2 ou de 5 acides aminés, n'était pas responsable d'une perte de capacité répliquative, à l'exception du mutant avec l'insertion GIRGK. En revanche, la structure prédite de l'intégrase est fortement modifiée, avec notamment la perte d'un des deux feuillets bêta composant le tonneau bêta du domaine C-terminal. La sensibilité phénotypique des mutants a été déterminée, pour les insertions de 5 acides aminés, les résultats étaient similaires à ceux obtenus avec les isolats cliniques. Nous avons aussi pu déterminer la sensibilité du mutant avec l'insertion GK, qui était sensible au BIC et au DTG, mais déjà pleinement résistant à RAL et au CAB. Dans la dernière partie de notre travail, nous avons étudié la variabilité dans la région LTR des provirus de 66 patients naïfs d'antirétroviraux, inclus dans la cohorte ANRS CO5 VIH-2. La variabilité génétique était plus importante dans les séquences du groupe B, du fait notamment de nombreuses insertions et délétions dans la sous-région « régulatrice » comprenant l'ensemble des sites de fixation de facteurs de transcription cellulaire. Ces virus du groupe B présentaient une délétion de quelques nucléotides dans la région contenant les sites de fixation PuB1 et pets, causant une perte de ce dernier site de fixation. De plus, 4 provirus du groupe B présentaient une délétion du premier site de fixation du facteur de transcription ubiquitaire Sp1. Cette variabilité entraînait des conséquences sur l'activité transcriptionnelle de ces LTR. Les LTR du groupe A et du groupe B présentaient la même activité transcriptionnelle basale mais, dans les cellules Jurkat, après activation cellulaire, l'activité transcriptionnelle des LTR du groupe B et d'un LTR de groupe A dans lequel la zone contenant la délétion de pets a été insérée était 10 fois plus faible que celle du LTR de groupe A. La délétion du premier site de fixation de Sp1 diminuait l'activité transcriptionnelle basale dans les cellules Jurkat et la réponse à la transactivation par la protéine virale Tat dans les cellules HEK293T. De plus, nous avons observé que les patients infectés par les virus du groupe B présentaient des réservoirs viraux de plus petite taille.

Au cours de ce travail, nous avons identifié un nouveau mécanisme de résistance aux INSTI, semblant modifier la structure de la protéine et dont l'impact sur l'activité enzymatique de l'intégrase reste à déterminer. Nous avons également mis en évidence pour la première fois des différences dans les activités transcriptionnelles entre les deux groupes épidémiques du VIH-2, après activation cellulaire, et observé des différences dans la taille du réservoir viral des patients selon le groupe de leur virus.

Mots clefs :