



Les mécanismes d'échappement viraux

Jean-Gérard Guillet

J.G. Guillet : Inserm U. 445, Hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

► L'objectif de tout micro-organisme pathogène est de se multiplier et de se propager. Pour cela, il doit échapper aux différents mécanismes de défense mis en place par l'individu infecté. Pour se multiplier chez son hôte, un agent pathogène dispose de plusieurs stratégies : il peut l'envahir, déjouer ses mécanismes de défense innée, puis s'échapper vers une seconde victime avant que les mécanismes de l'immunité adaptative soient enclenchés. Certains virus vont utiliser des approches beaucoup plus sophistiquées : leur existence, leur multiplication, leur capacité à se développer, sont le résultat d'interactions complexes avec le système immunitaire spécifique de l'hôte, et vont se traduire par une infection chronique. L'étude de cet équilibre subtil permet de comprendre la pathogénie virale, elle est également indispensable à l'élaboration de différentes stratégies thérapeutiques ayant pour but de protéger l'individu. ◀

La symptomatologie liée à une infection virale résulte de l'action intrinsèque du virus sur l'organisme, mais elle dépend également de la réponse de l'individu face à cette agression. La plupart des agents infectieux ont évolué en parallèle avec leur hôte et son système immunitaire. Grâce à cette évolution, les virus ont pu développer des stratégies leur permettant d'enclencher l'infection de leurs cibles cellulaires, et d'éviter les défenses de l'organisme [1]. L'objectif de tout micro-organisme pathogène étant de se multiplier et de se propager, il doit échapper aux mécanismes de défense de l'individu infecté (*figure 1*) [2]. La forte spécificité des stratégies impliquées est bénéfique pour l'agent pathogène, puisqu'elle n'empêche pas la lutte contre d'autres agents infectieux pouvant éventuellement être en compétition. Au cours des longues années de cette évolution parallèle, le système immunitaire d'un hôte donné et les micro-organismes pathogènes ont développé des interactions complexes. L'individu hôte utilise des mécanismes sophistiqués d'immunité protectrice; de leur côté, au cours de l'évolution, les agents pathogènes ont développé un grand nombre de moyens pour contrecarrer ces mécanismes. Lors de la primo-infection, un virus dispose de plusieurs stratégies pour se multiplier: il peut envahir son

hôte, déjouer ses mécanismes de défense innée, puis s'échapper vers une autre victime avant que les mécanismes de l'immunité adaptative aient pu être mis en place [3]. Dans ce cas, l'agent pathogène n'interfère pas avec la réponse immunitaire spécifique. De tels organismes sont à l'origine d'infections aiguës: ce sont essentiellement les virus de la famille des influenza, ainsi que d'autres comme le VSV (*vesicular stomatitis virus*). Une autre série de virus a développé une approche beaucoup plus sophistiquée et forme des interactions complexes avec le système immunitaire adaptatif de l'hôte, qui conduisent à une infection chronique. Lorsqu'un hôte rencontre un agent pathogène pour la première fois, la mise en place d'une réponse immunitaire efficace à médiation humorale (par production d'anticorps) nécessite plus d'une semaine. Quant aux réponses à médiation cellulaire (dues aux lymphocytes CD4 et CD8), elles ne sont mises en œuvre que plusieurs jours après l'infection par le virus.

Les phases précoces de l'infection : l'immunité non-spécifique ou innée

Lors d'une infection virale, outre les barrières physiques qui peuvent limiter ou empêcher cette infection, de nombreux mécanismes non-spéci-

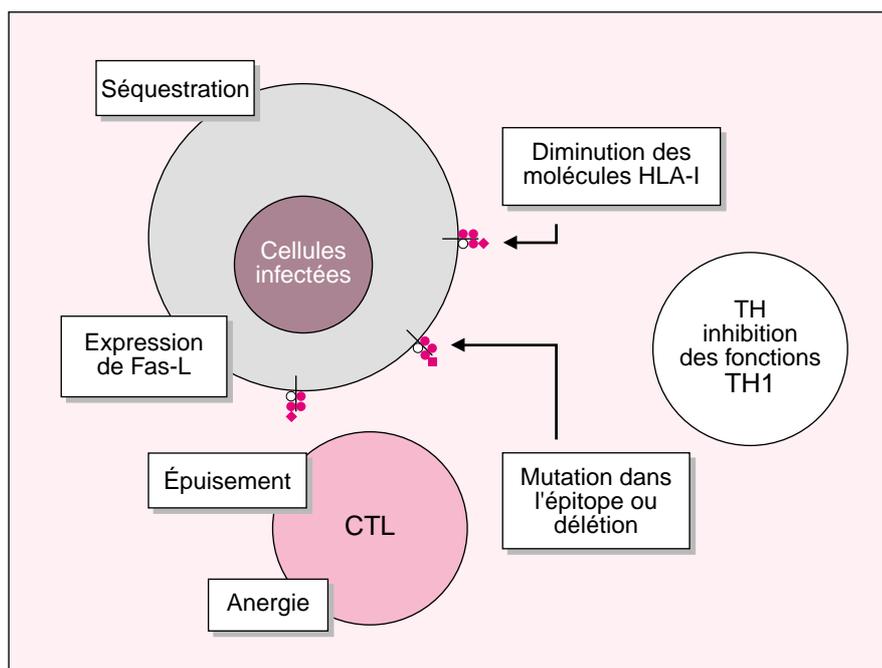


Figure 1. **Mécanismes d'évasion utilisés par les virus.** Lors de l'infection des cellules cibles, les virus vont retenir les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (séquestration) à l'intérieur de la cellule ou provoquer la sur-expression de la molécule Fas-L (voir texte), limitant ainsi la reconnaissance par les CTL. D'autres mécanismes vont provoquer des défauts dans l'activation des cellules T effectrices (anergie, mutation de l'épitope spécifique, voir texte).

riques interviennent rapidement. Cette action de première ligne est souvent sous-estimée dans l'étude de l'immunité protectrice. Dans le cas d'infections bactériennes, elle va même jouer un rôle essentiel, à la limite de la reconnaissance spécifique. Ainsi, certains peptides bactériens ont un pouvoir attractif sur les neutrophiles, qui peuvent constituer des cellules permissives pour leur multiplication. Un deuxième exemple concerne la présence, dans l'ADN des micro-organismes, de motifs (CpG) non méthylés, qui constitue un signal permettant à l'hôte d'évaluer l'intrusion d'un agent pathogène. L'hôte infecté peut alors mettre en place une défense appropriée par la production de médiateurs solubles (IL6, TNF α , IFN γ) qui vont activer l'immunité innée. L'intérêt de ces mécanismes est leur rapidité d'action (quelques minutes). Quant aux facteurs chimio-attractants, il ne leur faut que quelques heures pour permettre aux neutrophiles d'arriver sur le site de l'invasion par le pathogène. Enfin, les interférons peu-

vent être produits en moins de 24 heures. Malheureusement, ces mécanismes de défense innée présentent plusieurs défauts, leur inconvénient principal étant qu'ils peuvent se retourner contre l'hôte infecté. C'est ainsi que les enzymes du complément lysent aussi bien les micro-organismes pathogènes que les cellules de l'hôte et déclenchent une série de mécanismes immunopathologiques. Pour éviter cet inconvénient majeur, ces enzymes sont très rapidement dégradées par les protéases sériques. Un grand nombre de virus ont développé des approches qui interfèrent avec le système du complément, en produisant des molécules qui bloquent différentes étapes de son activation. Ainsi, le virus de la vaccine est capable d'inhiber la voie classique en se liant à l'un de ces intermédiaires essentiels (C4b), et le virus de l'*Herpes simplex* (VHS) inhibe aussi bien la voie alterne que la voie classique, en produisant une molécule capable d'interagir avec le C3b [4].

Les adénovirus ont développé un

mécanisme original pour inhiber les réponses antivirales relayées par les interférons. Ceux-ci induisent la phosphorylation d'un facteur d'initiation de la synthèse protéique, eIF-2, qui empêche la synthèse des protéines virales et cellulaires. Le mécanisme d'inhibition virale consiste à induire la synthèse d'un ARN de 159 nucléotides (ARN-VA), capable de s'associer à la kinase qui phosphoryle normalement eIF-2 et de bloquer son action. La cellule devient alors permissive pour la synthèse des protéines virales et la multiplication du virus. Une autre protéine de l'adénovirus, E1A, bloque la transcription des gènes antiviraux induits par les interférons de type 1 ou par l'IFN γ [5].

Il est surprenant de noter que certains virus, comme celui de la vaccine, interfèrent avec le système immunitaire d'une façon aussi active, alors qu'ils ne survivent que transitoirement dans leur hôte, puisque leur objectif est de se multiplier très rapidement pour infecter ensuite un autre individu. Les mécanismes développés par ces virus concernent essentiellement l'inhibition de l'inflammation et les réponses innées qui sont induites très rapidement au cours des premières phases de l'infection. C'est ainsi qu'un grand nombre de virus produisent des molécules capables d'interférer avec des cytokines inflammatoires, telles que l'IL-1 et le TNF. Les Poxvirus produisent des *serpine like proteins* capables d'inhiber l'enzyme permettant le clivage du précurseur de l'IL-1 β . Lors de l'infection, ce précurseur est donc produit en quantité plus importante, au détriment de l'IL1 β fonctionnelle, ce qui conduit à l'inhibition des mécanismes de l'inflammation. D'une manière similaire, le virus de la vaccine code pour une glycoprotéine soluble homologue au récepteur de l'IL-1, et capable d'entrer en compétition avec lui pour la liaison avec cette cytokine. Certains Poxvirus produisent une protéine capable d'interagir avec le TNF et de bloquer sa liaison avec son récepteur spécifique. *In vivo*, des formes mutantes du virus de la vaccine, dans lesquelles ce gène est délété, provoquent la mort des animaux infectés beaucoup plus rapidement que les virus sauvages. De même, les modèles de souris chez

lesquelles des gènes codant pour des facteurs solubles, normalement produits pendant ces étapes précoces de l'infection, ont été invalidés, montrent que l'absence de ces facteurs (TNF-R, TGFβ) a des conséquences dramatiques sur la pathogénie virale. D'autres virus vont jusqu'à utiliser les cytokines de l'hôte produites pendant les stades précoces de l'infection pour favoriser l'expression des protéines virales nécessaires au démarrage du cycle viral. Par exemple, l'expression de plusieurs des protéines de l'adénovirus (E3) est augmentée au cours de la réponse inflammatoire. En s'attaquant aux médiateurs de l'inflammation, ces virus vont limiter les effets immunosuppresseurs qui permettraient à d'autres micro-organismes de se développer.

Immunité spécifique ou adaptative: les virus tentent d'échapper à la réponse immunitaire à médiation cellulaire

Au cours d'un grand nombre d'infections virales, le système immunitaire parvient à contrôler le virus mais ne permet pas l'éradication de l'infection, qui devient chronique. Ce contrôle fait le plus souvent intervenir l'expansion de la réponse immunitaire à médiation cellulaire (notamment les lymphocytes T cytotoxiques ou CTL). Ceux-ci ont la capacité de lyser les cellules infectées avant la production de leur descendance virale ou d'inhiber directement la multiplication virale. Des études récentes ont ainsi montré que la réplication du VIH et le taux de virémie sont contrôlés par les cellules T CD8⁺ dirigées spécifiquement contre le virus. De nombreux travaux antérieurs ont décrit des réponses de type CTL chez des personnes infectées par le VIH. Plusieurs épitopes spécifiques ont été identifiés, et leur restriction par les molécules HLA a pu être démontrée. Enfin, les cibles de ces réponses CTL ont été identifiées: il s'agit de protéines dites « de structure » et « de régulation ». Cependant, le rôle précis de ces cellules dans les mécanismes anti-viraux (lyse des cellules cibles avant la production de virions,

et inhibition de la multiplication du virus) ou, à l'inverse, dans les manifestations immunopathologiques résultant de leur activation est toujours très discuté. La contribution de cette réponse immunitaire à médiation cellulaire dans le contrôle de l'infection VIH n'a été que récemment mise en lumière. La relation entre la présence des CTL spécifiques du virus et le contrôle de la virémie a pu être documentée grâce à l'utilisation de méthodes plus quantitatives (utilisation de molécules HLA de classe I solubles: tétramères, ELISPOT). Ogg *et al.* [6] ont mis en évidence une corrélation inverse entre l'intensité de la réponse CTL et la charge virale chez des patients. Dans notre laboratoire, nous avons montré que la poly-spécificité de la réponse CTL (c'est-à-dire la capacité de reconnaître plusieurs épitopes viraux) est un facteur de bon pronostic pour l'évolution de la maladie [7, 8]. C'est certainement dans le modèle macaque (virus de l'immunodéficience simienne) que le rôle des CTL dans le contrôle de l'infection a été démontré avec la plus grande clarté: après déplétion des cellules CD8⁺ *in vivo*, la charge

virale augmente de façon dramatique chez les animaux chroniquement infectés. De même, au cours des phases aiguës de l'infection, l'élimination de ces cellules CD8⁺ conduit au maintien d'une virémie élevée, alors que celle-ci est normalement transitoire après la primo-infection. Enfin, des travaux récents concernant le virus de l'EBV ont montré que chez des personnes saines et porteuses chroniques, un grand nombre de cellules T CD8⁺ circulantes sont dirigées contre ce virus [9].

Il n'est donc pas étonnant que les virus consacrent une très grande partie de leur génome à éviter la réponse immunitaire à médiation cellulaire de l'hôte. Les mécanismes développés sont particulièrement « imaginatifs ». Comme nous l'avons vu, un grand nombre de protéines virales vont interférer avec les médiateurs solubles ou membranaires de la réponse immunitaire (cytokines, chimiokines et ligand des récepteurs membranaires exprimés sur les cellules effectrices, CD40, Fas ou CD95), inhiber les mécanismes de la présentation antigénique ou interférer avec les fonctions ou l'homéostasie des cellules du système immunitaire

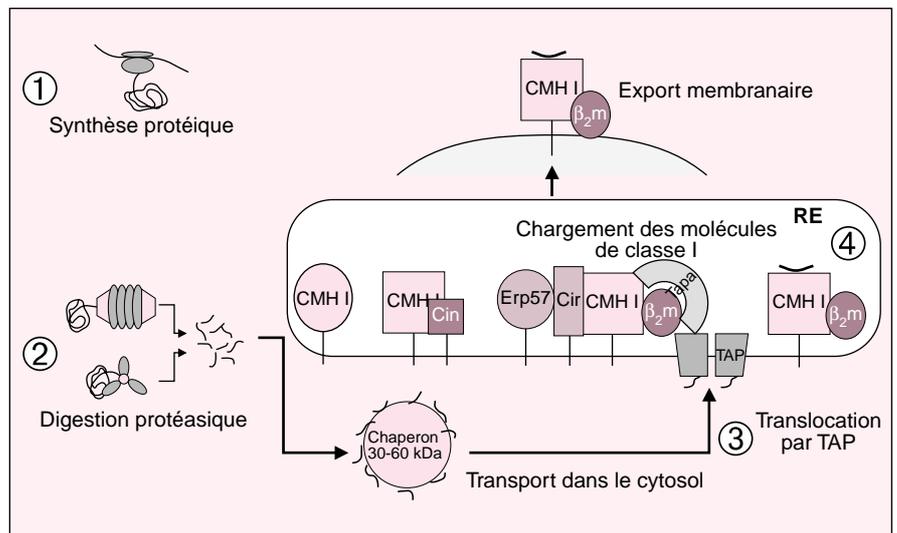


Figure 2. Mécanismes d'échappement: modulation de la présentation classe I-restreinte. La reconnaissance d'un antigène viral particulier par les cellules T nécessite une série d'étapes regroupées sous le terme d'apprêtement antigénique. Après synthèse de la protéine virale, cette dernière sera d'abord coupée (par le protéasome) en fragments antigéniques potentiels. Ceux-ci sont alors transloqués à l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE) par les TAP, permettant aux épitopes T d'aller s'associer aux molécules de classe I (CMH I) avant que ces dernières n'atteignent la membrane cellulaire (β₂m: β₂-macroglobuline).

Rôle des cytokines dans la pathogénie virale

Un très grand nombre de pathogènes ont également pour cibles les cytokines qui contrôlent l'immunité spécifique. Parmi celles-ci, l'interleukine 2 stimule la prolifération des cellules T et orchestre un grand nombre d'événements immunologiques. La production de cette cytokine distingue également [10] deux types de cellules T murines, les lymphocytes TH1 et TH2. Ces cellules ont aussi été mises en évidence chez l'homme [11]. D'autres cytokines, produites par les macrophages, contrôlent la différenciation de cellules précurseurs vers ces différents types cellulaires. L'IL-10 permet une conversion vers les cellules de type TH2, tandis que l'IL-12 favoriserait plutôt l'apparition des cellules TH1. En outre, ces cytokines ont un rôle sur l'isotype des anticorps produits contre les protéines virales. Le cas de l'IL-10 montre que la régulation de la synthèse de cytokines au cours d'une infection virale peut avoir de multiples effets sur la pathogénie virale. Ainsi, chez certains patients infectés par le VIH, des lymphomes non hodgkiniens se développent, et l'IL-10 contribue à cette croissance tumorale par une boucle de régulation autocrine, mais aussi par l'intermédiaire des macrophages infiltrant les tumeurs [12, 13]. Un autre aspect de la pathogénie résulte dans l'activation non spécifique des différents médiateurs de l'immunité qui peuvent, dans certains cas, enclencher une réaction auto-immune même après l'élimination du virus. Ainsi, l'expression locale d'interféron γ module directement ou indirectement la production de molécules impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire, telles que le TNF α ou l'IL-12, les molécules d'adhérence, le système de la présentation antigénique (TAP, protéasome, MHC). Ces diverses interactions vont conduire à l'infiltration tissulaire par des cellules activées et à la reconnaissance des antigènes du soi. Dans la plupart des cas, les manifestations cliniques qui en résultent sont contrôlées, mais chez les individus susceptibles, ces cellules peuvent persister et une pathologie auto-immune peut se développer après l'élimination du virus [14].

Les effets liés à la production de cytokines au cours d'une infection virale peuvent être soit bénéfiques, soit délétères. Ceci doit conduire à une certaine prudence dans le développement de stratégies thérapeutiques fondées sur leur utilisation ou, à l'inverse, sur la neutralisation de leurs effets. L'exemple du rôle des interférons α et/ou β dans la pathogénie du SIDA est de ce point de vue intéressant. Chez les patients infectés par le VIH, la concentration d'interféron α dans le sérum augmente, notamment au stade tardif de la maladie. Cette observation a conduit plusieurs groupes à émettre l'hypothèse selon laquelle cette cytokine aurait un rôle important dans la progression vers le SIDA. Plusieurs auteurs ont dès lors suggéré que l'interféron α était un cofacteur important de la maladie, impliqué notamment dans les mécanismes de suppression des cellules CD4. Ces résultats, provenant de travaux réalisés *in vitro*, ainsi que l'observation selon laquelle la protéine virale Tat pouvait induire l'IFN α , ont été à l'origine d'essais cliniques dont l'objectif était de neutraliser l'interféron α . Cependant, de nombreux travaux sont en contradiction avec ces données. En particulier, selon Vieillard *et al.*, l'interféron β inhibe la réplication du VIH et augmente les fonctions protectrices des cellules T [15]. Des travaux récents du groupe de Belardelli [16] confirment les effets antiviraux bénéfiques de ces cytokines. En effet, chez différents modèles de souris SCID, les interférons de type 1 préviennent de façon très efficace l'infection aiguë par le VIH, en inhibant la réplication du virus. L'ensemble de ces résultats suggère qu'*in vivo*, les interférons de type 1 ne contribuent pas à la déplétion des cellules CD4, mais à l'inverse, s'opposent aux effets délétères de l'infection virale, en agissant directement sur les cellules cibles infectées, et en favorisant une réponse immunitaire de type TH1. Plusieurs essais cliniques sont en cours pour évaluer l'utilisation thérapeutique des interférons, notamment au cours des stades précoces de l'infection (ANRS, Primoféron). Afin de modifier la fonction des médiateurs de l'immunité protectrice en leur faveur, les virus disposent de plusieurs stratégies qui touchent des

cytokines impliquées dans la différenciation des cellules T. Très peu d'organismes pathogènes ciblent directement l'IL-2, et le nombre de cellules TH1 par rapport aux cellules TH2 est généralement modulé par des voies indirectes. Certains virus, comme l'EBV, vont cependant interférer directement avec les cytokines. Le gène *BCRF1*, exprimé pendant la phase lytique du cycle viral, code pour une protéine présentant un certain degré d'homologie avec l'IL-10 humain. Tout comme son homologue humain, l'IL-10 viral inhibe la production d'interféron γ par les lymphocytes et surtout la production d'IL-12 par les macrophages. Cette inhibition entraîne une augmentation de la croissance des cellules B et bloque la maturation des cellules dendritiques. Moins actif que son homologue humain, l'IL-10 viral présente une affinité bien inférieure pour son récepteur cellulaire, mais la quantité d'IL-10 viral produit au cours de l'infection permet de contrebalancer cet aspect négatif. De même, la protéine Tat du VIH a été impliquée dans un grand nombre de mécanismes immunosuppresseurs associés à l'infection. Cette protéine pourrait être impliquée dans le déficit immunitaire lié à l'infection au VIH de différentes façons. Elle pourrait altérer les profils de sécrétion de cytokines des cellules T, provoquer leur anergie ou précipiter leur apoptose, et diminuer la capacité de présentation des cellules dendritiques *via* l'inhibition de la sécrétion d'IL-12. De nombreux laboratoires tentent actuellement de neutraliser les différents effets de Tat par l'induction d'anticorps dirigés contre cette protéine.

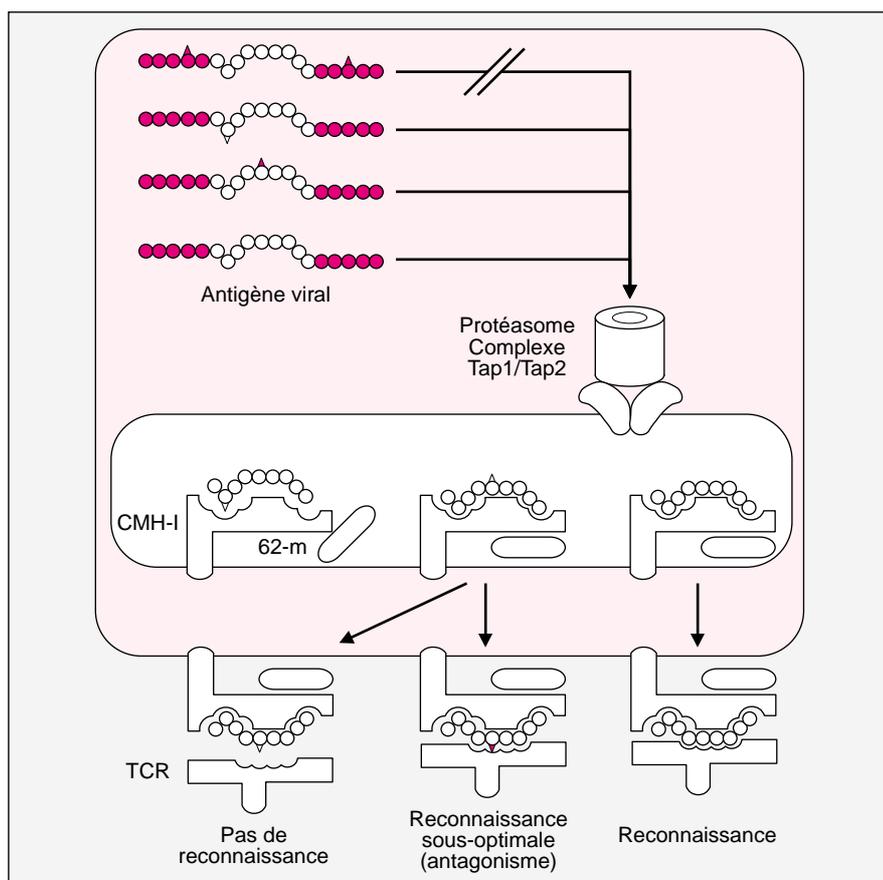
Chez le virus EBV, le gène *BARF1* code pour un récepteur soluble du CSF-1 (*colony-stimulating factor*). La production de ce récepteur soluble va se traduire par l'inhibition de la prolifération des macrophages et surtout de la sécrétion d'interféron α par les monocytes humains. Cette modulation du système immunitaire va ainsi permettre la survie des cellules infectées par l'EBV. L'infection par l'EBV se traduit également par l'expression d'une protéine homologue de la sous-unité p40 de l'IL-12, qui se lie sur la seconde sous-unité, p35, pour former un antagoniste (EB13-p35) de la cytokine [17].

**Mécanismes
d'échappement
des virus vis-à-vis
du système
de présentation
antigénique**

La plupart des virus sont remarquablement adaptés à leur hôte et en particulier à la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Dans la population humaine, la prévalence élevée de virus tels que le virus *Herpes simplex* (VHS) et le cytomégalovirus (CMV) montre que ces derniers ont réussi à établir un équilibre entre le système immunitaire de leur hôte et leurs propres mécanismes d'échappement. Pendant la phase de latence, le VHS persiste dans les cellules neuronales qui expriment peu de molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I et un nombre limité de protéines virales. Après la réactivation du virus, ce dernier se réplique dans des cellules épithéliales exprimant les molécules HLA de classe I, qui s'exposent à la surveillance par les cellules T. Ces virus contiennent plusieurs gènes codant pour des protéines-cibles potentielles des cellules T CD8⁺. Afin de se prémunir contre la reconnaissance par les cellules T ou de la retarder, l'un des gènes du VHS, codant pour la protéine ICP47, interfère avec les mécanismes de présentation antigénique *via* les molécules de classe I. Cette protéine inhibe la translocation des peptides viraux dans le réticulum endoplasmique (RE) en s'associant avec les transporteurs TAP (notamment la sous-unité TAP2). Cette association se fait au niveau du site d'interaction avec les peptides et déstabilise l'hétérodimère TAP1/TAP2 [4]. L'EBV utilise également ce mécanisme, notamment en diminuant l'expression des protéines TAP-1 et TAP-2. Dans le cas du CMV, plusieurs gènes sont impliqués dans les mécanismes d'échappement. L'une des protéines du virus, pp65, inhibe sélectivement la reconnaissance de la protéine majeure, exprimée très précocement, par le système immunitaire. D'autres gènes codant pour plusieurs glycoprotéines (US2, US3, US6, US11) affectent le transport intracellulaire des molécules de classe I de façon indépendante. Ainsi, US2 et US11 interfèrent très rapidement avec les mécanismes d'assemblage du com-

plexe CMH/peptide, après la translocation de la chaîne lourde dans le RE. Sa translocation vers le cytosol est bloquée par ces deux protéines et la chaîne lourde est alors dégradée par le protéasome. Chez certains adénovirus, la protéine E19 forme des complexes stables avec les molécules de classe I dans le RE et bloque le transport de ces dernières vers la surface [18]. L'une des protéines de l'EBV, EBNA-1, inhibe la dégradation protéique par le protéasome. Ce mécanisme est tout à fait remarquable puisqu'il permet à l'une des protéines exprimées pendant la phase de latence d'échapper à l'apprêtement et à la présentation de ses différents épitopes aux cellules T CD8⁺. Dans le cas du virus VIH, la protéine Nef induit la diminution de l'expression des molécules de classe I. Cette régulation négative n'abolit pas totalement la reconnaissance, mais elle se traduit par une diminution importante de la lyse des cellules infectées par les CTL. En effet, la molécule Nef a pour cible essentielle les molécules HLA-A et B, mais pas HLA-C. Or, la fonction des cellules NK est inhibée par la présence de HLA-C [19], et les cellules infectées vont donc échapper à la lyse par les cellules NK. Paradoxalement, l'étude de l'ensemble des stratégies développées par les virus, et la caractérisation précise de leurs interactions avec leurs hôtes, a permis de mieux comprendre les mécanismes fondamentaux de la présentation antigénique. Bien que les cibles moléculaires choisies par les différents virus soient souvent les mêmes, les mécanismes moléculaires précis semblent d'une étonnante diversité.

L'une des caractéristiques du VIH est certainement son taux de mutation extrêmement élevé, qui implique directement les transcriptases inverses et les ARN polymérases. Ce potentiel de mutation très élevé est dû à l'absence de mécanisme post-répliatif permettant la réparation des erreurs des enzymes virales. Il existe donc dans l'organisme une population complexe de virions, ayant des génomes hétérogènes mais très proches sur le plan phylogénétique: ce sont les quasi-espèces virales. Chez les patients asymptomatiques, 10⁹ à 10¹⁰ virions sont produits en moyenne chaque jour, et ce chiffre est bien plus élevé au cours de la primo-infection. L'utili-



perte de reconnaissance spécifique des épitopes viraux par les CTL peut résulter de mutations touchant les résidus impliqués dans la reconnaissance directe par le TCR. Un tel phénomène d'antagonisme ou d'agonisme partiel de la réponse immunitaire spécifique a été décrit dans le cas de l'infection par le VIH par le groupe de McMichael [22]. Cependant, la sélection de mutants d'échappement dans le contexte d'une réponse CTL polyclonale est difficile à imaginer. De même, la grande capacité d'adaptation du système immunitaire, capable de produire de nouvelles réponses spécifiques contre des variants viraux, devrait permettre à ce dernier de faire face à ces mécanismes mutationnels et de contrôler l'infection.

Modulation des fonctions effectrices des cellules T

Production virale intense : disparition des cellules T

Dans certains cas, il est également possible que les CTL ne soient pas fonctionnels dans la lutte antivirale. Ainsi, dans l'étude de l'infection chronique par le LCMV, l'utilisation de modèles animaux a montré que les cellules T CD8⁺ spécifiques de ce virus, bien qu'exprimant tous les marqueurs d'activation, peuvent persister *in vivo* sans pour autant lyser les cellules infectées ni produire d'interféron γ . En outre, si les souris sont dépourvues de cellules CD4⁺, l'absence de lyse cellulaire est nettement plus prononcée, ce qui souligne la collaboration étroite entre ces deux populations cellulaires. Récemment, des expériences de transfert cellulaire ont été réalisées chez des individus infectés par le VIH, et les CTL ainsi transférés ont été localisés dans les organes lymphoïdes. Ce transfert entraîne une diminution du nombre de cellules CD4⁺ infectées, mais celle-ci n'est que transitoire [23]. Il est probable qu'en l'absence de réponse CD4⁺ adéquate, le transfert ne permette pas le maintien de réponses CTL fonctionnelles. Chez les quelques patients pour lesquels la virémie peut être contrôlée en l'absence de traitement anti-viraux, des cellules CD4⁺ fonctionnelles, diri-

Figure 3. Mécanismes d'action de mutations pouvant affecter l'apprêtement, la présentation et la reconnaissance d'épitopes par des CTL. Plusieurs mécanismes moléculaires peuvent affecter la reconnaissance du complexe peptide/HLA classe I par les cellules T (CTL). La modification d'un acide aminé de l'épitope impliqué dans le contact avec la molécule HLA de classe I va se traduire par une perte d'efficacité de la liaison du fragment antigénique. De même, toute modification affectant les résidus impliqués dans la reconnaissance via le TcR va diminuer de façon dramatique l'activation cellulaire. Enfin, d'autres mutations touchant les parties flanquantes de l'épitope vont perturber le découpage de l'antigène par le protéasome. Les cercles ouverts représentent un acide aminé. Les acides aminés des régions flanquantes sont représentés par un cercle plein. Les acides aminés mutés sont représentés par des triangles.

sation de traitements antirétroviraux simples agissant sur une cible virale unique entraîne très fréquemment la sélection de quasi-espèces résistantes. Ces variants résistants portent une mutation ponctuelle qui leur permet d'échapper aux traitements utilisés. Par des mécanismes similaires, la pression de sélection exercée par le système immunitaire provoque l'apparition de mutants pouvant échapper à la réponse immune, qu'elle soit à médiation humorale ou cellulaire. Comme nous l'avons vu précédemment, ces

mécanismes sont liés à la grande capacité de mutation des virus. Ainsi, la capacité de reconnaissance des CTL peut être altérée en raison de la présence de mutations sur l'épitope cible (figure 3) ou d'une perte de reconnaissance par la cellule CD8⁺ [20, 21]. Dans ce cas, des mutations peuvent affecter soit les résidus d'ancrage permettant le contact entre l'épitope et la molécule HLA exprimée sur la cellule cible, soit la formation de l'épitope produit après coupures protéolytiques par le protéasome. Enfin, la

gées spécifiquement contre le virus, et produisant une quantité importante d'IFN γ , ont été mises en évidence [24]. Des résultats récents montrent tout l'intérêt de ces cellules CD4⁺: en effet, Lévy *et al.* ont montré les effets bénéfiques d'une immunothérapie non spécifique en utilisant l'IL-2 en synergie avec les traitements antirétroviraux [25].

Les mécanismes directement impliqués dans la pathogénie virale, et faisant intervenir les effecteurs de l'immunité ont été longtemps l'objet de multiples controverses (26). Ainsi, les cellules CD8⁺ spécifiques de certains antigènes viraux et soumises à de très fortes doses du même virus prolifèrent brièvement et disparaissent ensuite. Le mécanisme de cet épuisement est longtemps resté obscur. Selon certains travaux, l'une des explications serait que le virus infecte les cellules T cytotoxiques, qui deviennent elles-mêmes la cible d'autres cellules cytotoxiques. Cependant, des travaux récents du groupe de Cai *et al.*, suggèrent une hypothèse différente [27]. D'après ces résultats, ce mécanisme « fratricide » entre les cellules T ne nécessite pas l'infection virale des cellules T, mais découle simplement du transfert des complexes peptides/MHC de la surface des cellules présentatrices vers les cellules T. En quelques minutes, à la suite de l'interaction des cellules T avec les cellules présentatrices, ces complexes composés de l'association des épitopes viraux avec les molécules HLA de classe I vont être exprimés par les cellules T, internalisées par endocytose via le récepteur T pour l'antigène, et les cellules T ainsi sensibilisées vont devenir des cibles pour les autres cellules CD8⁺ situées à proximité. Pour que ce phénomène se produise, un très grand nombre de complexes doivent être formés, ce qui expliquerait pourquoi ce phénomène n'apparaît qu'au cours de très fortes productions virales. Ce mécanisme pourrait servir à contrôler négativement la réponse immune, et pourrait également être bénéfique pour l'hôte, en modulant les effets pathologiques dus à une réponse CD8 trop importante.

Ce mécanisme fratricide bénéfique pour l'hôte est également utilisé comme mécanisme d'évasion par

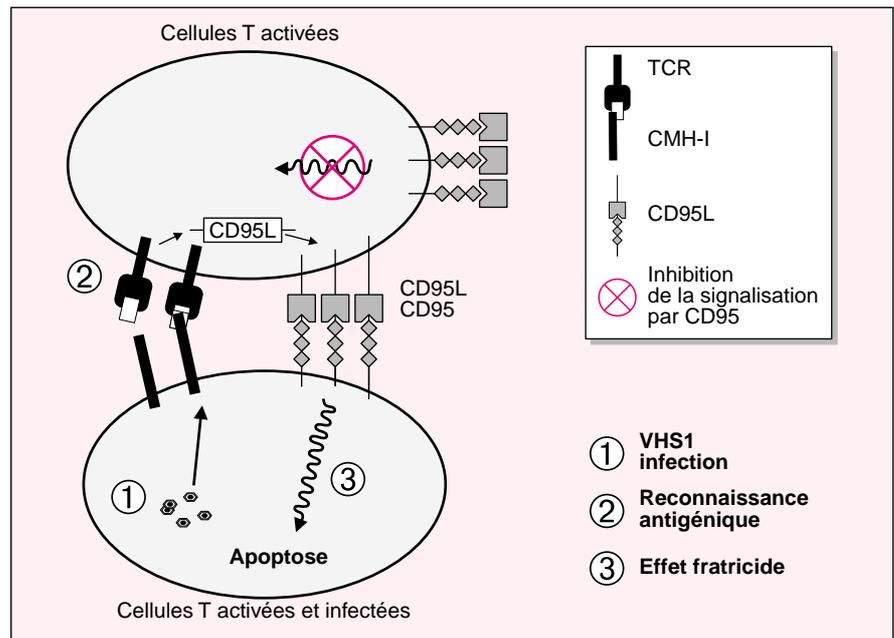


Figure 4. Mécanismes des effets fratricides induits par VHS-1. Lors de l'infection de la cellule T par le HSV-1, cette cellule devient la cible d'une autre cellule T activée, capable de la reconnaître et de la détruire. D'autres mécanismes plus complexes concernant cet effet fratricide sont détaillés et discutés dans le texte (d'après [28]).

certain virus, en permettant la persistance de l'agent pathogène dans l'organisme tout au long de sa vie. En effet, des travaux récents de Raferty *et al.* mettent en évidence cet équilibre remarquable entre l'hôte et le virus. Ce phénomène, bénéfique pour le virus et délétère pour l'hôte, est un équilibre subtil qui permet la survie des espèces et leur évolution parallèle (figure 4) [28]. L'une des caractéristiques du virus de l'herpès est d'établir une infection latente. Alors que dans des fibroblastes humains infectés par ce virus, une régulation négative des molécules HLA de classe I a été observée, les lymphocytes T infectés ne présentent pas de modulation de l'expression de ces molécules. Cette différence va se traduire par un mécanisme « fratricide », les cellules T devenant dès lors capables de présenter à leur surface des épitopes viraux servant de cibles aux cellules T cytotoxiques situées à proximité. La destruction des cellules T spécifiques du virus VHS, plutôt que celle des cellules de l'épithélium infecté, va permettre le maintien du virus dans l'organisme. Or, ces cel-

lules épithéliales sont de loin les sites les plus importants de production virale. Les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en jeu passent par la régulation positive de l'expression du ligand de Fas (CD95L), et donc par l'augmentation de la susceptibilité à la lyse. Les cellules T activées précocement sont, d'une façon générale, résistantes à la mort cellulaire programmée (AICD, *activation induced cell death*). En induisant la formation du complexe de signalisation responsable de la mort cellulaire (DISC, *death inducing signaling complex*) par la modulation négative de protéines anti-apoptotiques telles que FLICE (*Fas-associated death domain like Il-1b converting enzyme*), l'infection des cellules T par le VHS se traduit par une augmentation de la mort par AICD. Bien que le mécanisme précis reste à élucider au niveau moléculaire, plusieurs travaux suggèrent qu'il ne s'agit pas d'un mécanisme spécifique des virus de la famille des herpès. En effet, dans les cellules T infectées par le VIH, l'expression du complexe CD95/CD95L est augmentée, ce qui

entraîne une augmentation de la lyse cellulaire *via* le système Fas. Dans ce cas précis, les travaux récents du groupe de McMichael ont montré le rôle possible de la protéine Nef. Celle-ci interagit avec la chaîne δ du TCR et induit l'expression du ligand de Fas sur les cellules T [22]. L'effet fratricide décrit plus haut peut, dans ce cas, s'accompagner d'une diminution des effets pathogènes pouvant résulter de l'activation des cellules T spécifiques. À l'inverse, la destruction de réponses protectrices contre d'autres virus endogènes va se traduire par l'apparition d'infections opportunistes. D'autres protéines du virus, comme la protéine Tat ou la protéine d'enveloppe gp120, peuvent également augmenter l'expression du ligand de Fas.

L'élimination des CTL par des mécanismes fratricides pourrait représenter un mécanisme général d'évasion, employé par les virus qui infectent les cellules T activées, même si ces virus se répliquent surtout dans des cellules non lymphoïdes. En revanche, les virus dépendant des cellules T pour leur production doivent au contraire prévenir la mort de ces cellules pour produire suffisamment de particules virales. Il s'agit là d'un paradoxe subtil par lequel l'ensemble des mécanismes permet aux deux protagonistes en présence de survivre le plus longtemps possible.

Modulation des lymphocytes T CD8⁺, expression des KIR

Afin de maintenir la persistance virale malgré une réponse immune induite au cours de la primo-infection, le CMV dispose d'une série de stratégies dont l'objectif est la subversion du système immunitaire de l'hôte. Parmi ces stratégies, il existe des mécanismes de régulation négative de l'expression de surface des molécules HLA de classe I. Cette régulation négative dans les cellules infectées empêche leur reconnaissance spécifique et leur lyse par les cellules T, et induit à l'inverse leur reconnaissance par les cellules NK (*natural killer*). Celles-ci expriment des récepteurs inhibiteurs KIR (*killer Ig-like receptors*) qui reconnaissent les molécules HLA. Or, le virus du CMV exprime une protéine, UL18, qui présente 25 % d'homologie avec

ces molécules HLA de classe I. Comme les molécules HLA de classe I de l'hôte, UL18 s'associe avec la $\beta 2$ -microglobuline et se lie aux peptides endogènes de la cellule. UL18 pourrait donc fonctionner comme une molécule HLA, capable de se lier aux récepteurs KIR des cellules NK et de prévenir ainsi la lyse des cellules infectées. Le récepteur KIR interagissant avec UL18 est une glycoprotéine exprimée uniquement par une sous-population de cellules NK, la presque totalité des monocytes, des cellules dendritiques et des cellules B (LIR-1 ou ILT2). À l'appui de ce modèle, les travaux récents du groupe de P. Bjorkman montrent que le récepteur inhibiteur LIR-1 est capable d'interagir avec UL18 avec une affinité mille fois supérieure à celle qui régit son interaction avec les molécules HLA. Des concentrations infimes d'UL18 peuvent ainsi entrer en compétition avec les molécules HLA [29]. L'évolution parallèle du CMV et de son hôte a probablement permis à ce virus d'acquérir un gène codant pour une molécule semblable aux molécules du CMH. Bien qu'UL18 ne présente que 25 % d'homologie avec les molécules du CMH, sa capacité à interagir avec les récepteurs LIR est conservée, voire augmentée.

Ces dernières années, plusieurs types de KIR ont été identifiés, mais ce n'est que récemment que l'on a pu mettre en évidence l'expression de ces molécules sur des cellules CD8⁺ infectées par les virus. Cette expression peut se traduire par des déficits de sécrétion de cytokines impliquées dans le contrôle de l'infection virale ou par l'absence de lyse des cellules cibles exprimant les molécules de classe I. Les conséquences de l'expression des KIR par les cellules CD8⁺ consistent donc en une diminution des capacités protectrices des cellules T. Des travaux récents suggèrent que l'expression des KIR par les cellules T est liée à la reconnaissance par le TCR des complexes HLA-peptides sur la cellule cible [30]. L'expression des KIR par les cellules CD8⁺ *in vivo* pourrait être maintenue par la rencontre continue avec les antigènes viraux et se traduirait par une diminution des mécanismes « d'épuisement » que nous venons de décrire. Les cellules mémoires pour-

raient exprimer ces KIR, et acquérir ainsi un avantage sélectif. En effet, les mécanismes d'épuisement concerneraient essentiellement les cellules naïves activées qui constituent l'essentiel des cellules effectrices [31]. Dans un grand nombre d'infections aiguës, ces cellules sont responsables des phénomènes immunopathologiques. Plusieurs mécanismes permettraient donc à la fois de limiter cet effet fratricide tout en maintenant un pool de cellules mémoires pouvant être réactivées lors d'une infection virale secondaire. Des résultats récents du groupe de R. Ahmed indiquent que l'expression des KIR par les cellules CD8⁺ peut moduler la réponse antivirale *in vivo* dans le cas des modèles murins d'infection par le virus LCMV [32].

Conclusions

Parmi les micro-organismes pathogènes, les virus sont les plus dépendants de leur cellule-hôte pour l'accomplissement de leur cycle et leur persistance. De ce fait, ils sont les plus exposés à la reconnaissance par les effecteurs de la réponse immunitaire, et notamment à médiation cellulaire; la plupart des virus multiplient les approches moléculaires afin d'économiser leur matériel génétique et de poursuivre leur principal objectif qui est de survivre dans l'organisme infecté. En limitant ainsi la pression exercée par le système immunitaire, les virus parviennent à maintenir un équilibre parfait avec leur hôte. Au cours de cette évolution parallèle, une grande partie de leur génome a été utilisé afin de développer des mécanismes d'échappement, qui n'ont pas encore dévoilé tous leurs secrets. Les nouvelles approches d'analyse du génome (puces à ADN) permettent d'évaluer les modifications de l'expression des gènes induites par l'infection d'un agent pathogène. Il est déjà possible d'examiner les interactions entre la cellule hôte et un agent infectieux avec infiniment plus de précision et surtout de quantifier simultanément l'expression de plusieurs dizaines de milliers de gènes. L'une des conséquences de ces approches sera de pouvoir caractériser les mécanismes impliqués dans la pathogénie virale en fonction des phases de l'infection ■

RÉFÉRENCES

1. Marrack P, Kappler J. Subversion of the immune system by pathogens. *Cell* 1994; 73: 323-32.
2. Spriggs MK, Sher A. Immunity to infection. New lessons for immunology at the host-pathogen interface. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 363-4.
3. Revillard JP. Ecologie moléculaire des interactions hôtes-agents infectieux. *Med Sci* 1990; 6: 31-9.
4. IV Virgin HW, Speck SH. Unraveling immunity to-herpesviruses: a new model for understanding the role of immunity in chronic virus infection. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 371-9.
5. Wold WS, Doronin K, Toth K, Kuppawamy M, Lichtenstein DL, Tollefson AE. Immune responses to adenoviruses: viral evasion mechanisms and their implications for the clinic. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 380-6.
6. Ogg G, Jin X, Bonhoeffer S, et al. Quantitation of HIV-specific CTL and plasma load of viral RNA. *Science* 1998; 279: 2103-6.
7. Dalod M, Dupuis M, Deschemin JC, et al. Broad, intense anti-human immunodeficiency virus (HIV) *ex vivo* CD8⁺ responses in HIV type-1-infected patients: comparison with anti-Epstein-Barr virus responses and changes during antiretroviral therapy. *J Virol* 1999; 73: 7108-16.
8. Dalod M, Dupuis M, Deschemin JC, et al. Weak anti-HIV CD8⁺ T-cell effector activity in HIV primary infection. *J Clin Invest* 1999; 104: 1431-9.
9. Kuzushima K, Hoshino Y, Fujii F, et al. Rapid determination of Epstein-Barr virus-

- specific CD8⁺ T-cell frequencies by flow cytometry. *Blood* 1999; 94: 3094-100.
10. Mosmann TR. Lymphocyte subsets cytokines and effector functions. *Ann NY Acad Sci* 1992; 664: 89-92.
11. Romagnani S. Lymphokine production by human T cell in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 227-57.
12. Masood R, Bond M, Scadden P, Kaplan M, Levine AM, Gill PS. Interleukin 10: an autocrine growth factor for human B cell lymphoma and their progenitors. *Blood* 1992; 80: 115.
13. Emilie D, Touitou R, Raphael M, et al. *In vivo* production of interleukine 10 by malignant cells in AIDS lymphomas. *Eur J Immunol* 1992; 22: 2937-41.
14. Horwitz MS, Sarvetnick N. Viruses, host responses, and autoimmunity. *Immunological Reviews* 1999; 169: 241-53.
15. Vieillard V, Cremer I, Lauret E, et al. Interferon b transduction of peripheral blood lymphocytes from HIV-infected donors increases Th-1-type cytokine production and improves the proliferative response to recall antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 11595.
16. Lapenta C, Santini SM, Proietti E, et al. Type I interferon is a powerful inhibitor of *in vivo* HIV-1 infection and preserves human CD4⁺ T cell from virus-induced depletion in SCID mice transplanted with human cells. *Virology* 1999; 263: 78-88.
17. Cohen JL. The biology of Epstein-Barr

RÉFÉRENCES

TIRÉS À PART

J.G. Guillet.

Summary

Viral escaping mechanisms

The symptoms produced during a viral infection result from the intrinsic action of the pathogen and the response of the infected host to this assault. Most viruses use multiple molecular mechanisms to maximize the chance of successfully replicating their genetic material and thereby assuring their survival. Pathogenic microorganisms must also avoid the various defense systems used by the infected host to block their replication. A pathogen may use several strategies for multiplying : this may involve foiling the host's

non-specific defenses and invade another cell before the host's specific immune defenses can react. Certain viruses use a much more sophisticated approach: their existence, multiplication and capacity to develop are all the result of complex interactions with the host's specific immune system, which results in a chronic infection. By limiting the pressure on the immune system, the virus can remain in perfect equilibrium with its host. The study of this subtle equilibrium can reveal the nature of viral pathogenesis, and may be essential for the development of therapeutic vaccine strategies.