

Contribution des cellules tueuses naturelles chez les sujets contrôleurs d'élite du VIH

Contribution of Natural Killer cells to HIV control in Elite Controllers

Sanket Kant^{1,2,3}
 Franck P. Dupuy^{1,3}
 Zahra Kiani^{1,2,3}
 Cécile L. Tremblay^{4,5}
 Nicole F. Bernard^{1,2,3,6}

¹ Institut de recherche du Centre universitaire en santé McGill, Montréal, QC, Canada

² Division de Médecine expérimentale, Université McGill, Montréal, QC, Canada

³ Programme en Maladies infectieuses et immunité en santé mondiale, Institut de recherche du Centre universitaire en santé McGill, Montréal, QC, Canada

⁴ Centre de Recherche du centre hospitalier de l'université de Montréal, Montréal, QC, Canada

⁵ Département de Microbiologie infectiologie et immunologie, université de Montréal, Montréal, QC, Canada

⁶ Division d'Immunologie clinique, Centre universitaire en santé McGill, Montréal, QC, Canada

Article accepté le 02 février 2022

Introduction

Les cellules tueuses naturelles (NK pour *natural killer*) font partie du système immunitaire inné et possèdent des propriétés antivirales et antitumorales essentielles [1]. Elles

Correspondance : N.F. Bernard
 <nicole.bernard@mcgill.ca>

Résumé. En l'absence de traitement antirétroviral, l'infection par le VIH progresse normalement vers le syndrome d'immunodéficience acquise. Une minorité de sujets infectés par le VIH sont toutefois capables de contrôler la réplication virale en l'absence de traitement. Ces patients appelés sujets contrôleurs d'élite (EC pour *elite controllers*) représentent un exemple de guérison fonctionnelle de l'infection par le VIH. Certains EC sont infectés par des virus défectifs, alors que d'autres ont des provirus intégrés dans des zones non transcrites de la chromatine. Cependant, la plupart des EC se distinguent des sujets non-contrôleurs parce qu'ils développent de fortes réponses T CD4 et CD8 spécifiques au VIH. Les cellules tueuses naturelles (NK pour *Natural Killer*) sont des cellules du système immunitaire inné qui fonctionnent à l'interface entre l'immunité innée et l'immunité acquise. Les cellules NK sont capables de reconnaître et de répondre à des cellules infectées dès les stades précoces de l'infection. Les cellules NK peuvent être activées de façon indépendante et dépendante des anticorps afin d'exercer des fonctions antivirales et éliminer les cellules infectées. Ce manuscrit discutera du rôle des cellules NK dans le contrôle de l'infection par le VIH.

Mots clés : VIH, sujets contrôleurs d'élite (EC), cellules tueuses naturelles (NK), KIR/HLA, ADCC

Abstract. Untreated HIV infection usually leads to disease progression and development of the acquired immunodeficiency syndrome. A rare subset of people living with HIV control HIV without anti-retroviral therapy. These individuals, known as Elite Controllers (ECs), represent examples of a functional HIV cure. ECs differ from non-controllers in many aspects. Some are infected with defective virus, most have potent CD4 and CD8 virus-specific T cell responses and proviruses in these individuals tend to be inserted into regions with characteristics of deep latency. Natural Killer (NK) cells are innate immune cells that function at the intersection of innate and adaptive immunity. They have the capacity to recognize and respond to HIV-infected cells from the earliest stages in infection. NK cells can be activated through antibody independent and antibody dependent mechanisms to elicit functions that control HIV and kill infected cells. This manuscript will review the role of NK cells in HIV control.

Key words: HIV, Elite Controllers, NK cells, KIR/HLA, ADCC

répondent très précocement à l'infection par le VIH en sécrétant des cytokines et des chimiokines qui vont limiter la propagation du virus et lyser les cellules infectées [1, 2]. La réponse, ou l'absence de réponse, des cellules NK est déterminée par l'intégration d'un ensemble de signaux inhibiteurs et activateurs reçus par les récepteurs NK (NKR pour *natural killer cell receptor*) qui interagissent avec leurs ligands exprimés par les cellules environnantes [3]. Les cellules NK peuvent également être activées par des

mécanismes dépendants des anticorps (AD pour *antibody dependent*). La régulation de leur activité par les anticorps et leur capacité à moduler les réponses immunitaires adaptatives en dialoguant avec les cellules dendritiques illustrent bien la position charnière des cellules NK entre l'immunité innée et adaptative [4]. Les cellules NK ont été impliquées dans les réponses contre plusieurs virus tels que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le cytomégalovirus humain, le virus de l'hépatite B, le virus de l'hépatite C et le virus de la grippe [5-12]. Dans le contexte de l'infection par le VIH, l'importance des cellules NK est mise en évidence par l'émergence de mutations du virus induites par la pression immunitaire imposée par ces cellules [13].

En l'absence de traitement, la progression de l'infection par le VIH varie grandement d'un individu à l'autre. Parmi les individus capables de contrôler l'infection virale, on trouve les contrôleurs d'élite (EC pour *elite controller*) et les contrôleurs viraux (VC pour *viral controller*). Les EC représentent entre 0,2 et 0,5 % des individus vivants avec le VIH (PLWH pour *people living with HIV*). Ils maintiennent leur charge virale en dessous du seuil de détection des tests classiques de quantification du virus sanguin (< 50 copies/millilitre [ml] de plasma) et maintiennent un nombre élevé de cellules T CD4⁺ circulantes en l'absence de traitement [14-19]. Les VC maintiennent une charge virale faible mais détectable (entre 50 et 3000 copies/ml de plasma) en l'absence de traitement [14, 16, 17, 20]. Les EC et les VC appartiennent à un groupe plus large de contrôleurs qui regroupe environ 5 % des PLWH et qui inclut les non-progresseurs à long terme (LTNP pour *long term non-progressor*), capables de maintenir un compte CD4 élevé pendant au moins sept ans en l'absence de traitement [14, 20]. Le terme de LTNP précède l'apparition et la mise à disposition des tests mesurant la charge virale plasmatique. Certains de ces LTNP furent par conséquent re-classifiés comme EC ou VC après détermination de leur charge virale plasmatique [14, 21].

Les EC et les VC forment donc un groupe hétérogène dont la classification est basée sur la charge virale, la présence ou l'absence de rebond viral, le compte CD4 et la durée pendant laquelle ils ont été suivis. Les critères spécifiques utilisés pour définir les EC et les VC diffèrent cependant d'une cohorte à l'autre [14, 22-24]. Dans cette revue, nous utiliserons les termes « EC » et « VC » pour se référer aux PLWH qui adhèrent aux critères définis par Deeks et Walker [14]. Toutefois, comme beaucoup d'études utilisent les termes de progresseurs lents, de LTNP et de contrôleurs pour décrire des individus qui n'adhèrent pas de manière stricte aux critères de Deeks et Walker pour définir les EC et les VC, nous utiliserons le terme générique « contrôleurs » pour désigner ces individus [14] et « non-contrôleurs » pour désigner les individus autres que « EC », « VC » ou « contrôleurs ». Le terme « non-contrôleur » désignera donc les

individus en phase chronique de l'infection, traités ou non par la thérapie antirétrovirale (ART pour *anti-retroviral therapy*). Par ailleurs, il existe une autre catégorie de PLWH traités précocement après la primo-infection, capables de contrôler spontanément leur charge virale après arrêt de leur traitement [25]. Cette catégorie de contrôleurs ne sera pas discutée dans cette revue.

Certains travaux suggèrent que la réplication virale est contrôlée essentiellement chez les individus infectés par un virus défectif [16, 26, 27]. D'autres travaux associent ce contrôle à des réponses immunitaires antivirales plus efficaces [28-30]. En effet, les réponses T CD8⁺ anti-VIH sont davantage polyfonctionnelles chez les contrôleurs que chez les non-contrôleurs. Ces cellules relarguent davantage de CD107a, de perforine et de granzyme B après stimulation si elles proviennent de contrôleurs que de non-contrôleurs [31-33]. Les cellules T CD4⁺ anti-VIH de contrôleurs sécrètent également plus d'interleukine (IL pour *interleukin*)-2 et prolifèrent davantage après stimulation que celles de non-contrôleurs [34-36]. L'analyse des séquences provirales montre que les EC possèdent un nombre plus faible de provirus que les PLWH traités avec succès et qu'il y a proportionnellement davantage de provirus intacts chez ces derniers [37]. L'analyse des sites d'intégration du virus montre également que les provirus s'intègrent davantage dans des régions peu exprimées de la chromatine chez les EC comparativement aux PLWH traités avec succès [37]. Certains EC contrôlent très précocement la réplication virale après infection, possiblement avant même l'émergence d'une réponse immunitaire adaptative [38, 39]. Un contrôle aussi rapide soulève l'hypothèse d'une implication précoce de la réponse immunitaire innée dans le contrôle du VIH chez les EC. Les cellules NK ont le potentiel pour exercer un contrôle rapide de l'infection par le VIH par le biais de mécanismes dépendants et indépendants des anticorps. Dans cette revue, nous détaillerons ce qui a été découvert sur les réponses antivirales spécifiques aux cellules NK et leur rôle dans le contrôle viral.

Les NKR et leurs ligands : génétique, structure et éducation des cellules NK

Les EC et les VC ont une probabilité plus importante que les non-contrôleurs d'être porteurs des allèles *HLA-B*57*, *-B*58* ou *-B*27* [40, 41]. Des études de liaison génétique à l'échelle du génome ont mis en évidence des associations entre certains polymorphismes touchant un seul nucléotide (SNP pour *single nucleotide polymorphism*) dans la région du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC pour *major histocompatibility complex*) de type I (ou antigène des leucocytes humains [HLA pour *human leukocyte*

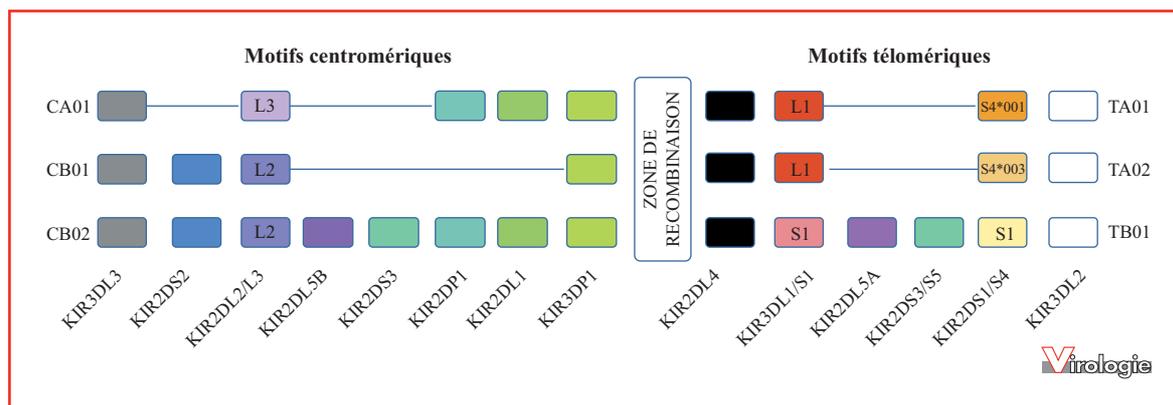


Figure 1. Haplotypes des récepteurs de type immunoglobuline exprimés par les cellules tueuses (KIR). Les gènes *KIR* sont organisés en haplotypes A et B. Les haplotypes A incluent un cadre de quatre gènes présents dans la plupart des haplotypes *KIR* (*KIR3DL3* à la fin du centromère, *KIR3DL2* à la fin du télomère ; *KIR2DL4* et le pseudogène *KIR3DP1* au milieu) auxquels s'ajoutent des gènes codant les KIR inhibiteurs *KIR2DL1*, *KIR2DL3*, *KIR3DL1*, les KIR activateurs *KIR2DS4* et le pseudogène *KIR2DP1*. Les haplotypes B, plus variés, incluent un cadre de gènes avec plusieurs combinaisons possibles de gènes codant les KIR inhibiteurs *KIR2DL2*, *KIR2DL5A/B* et les KIR activateurs *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS5* et *KIR3DS1*. La plupart des régions haplotypiques *KIR* sont composées d'un des trois motifs centromériques et d'un des trois motifs télomériques, qui incluent des combinaisons de gènes KIR génétiquement liés les uns aux autres et habituellement hérités ensemble. La zone de recombinaison au milieu des régions centromériques et télomériques est une zone de recombinaison fréquente entre ces deux régions chromosomiques. La région centromérique est encadrée par les gènes *KIR3DL3* et *KIR3DP1* alors que la région télomérique est encadrée par les gènes *KIR2DL4* et *KIR3DL2*. *KIR2DP1* et *KIR3DP1* sont des pseudogènes.

CA01 = gènes de la région centromérique de l'haplotype KIR A 1 ; CB01 = gènes de la région centromérique de l'haplotype B 1 ; CB02 = gènes de la région centromérique de l'haplotype B 2 ; TA01 = gènes de la région télomérique de l'haplotype A 1 ; TA02 = gènes de la région télomérique de l'haplotype A 2 ; TB01 = gènes de la région télomérique de l'haplotype B 1.

antigen]) sur le chromosome 6 et le contrôle de la charge virale plasmatique [42, 43]. Un SNP présent dans une séquence de rétrovirus endogène associé au *HLA-B*57:01* et un second SNP, situé à 35 kilobases en amont du *HLA-C* sont responsables de près de 15 % de la variation de la charge virale mesurée après stabilisation [42]. Une autre étude de liaison génétique à l'échelle du génome a confirmé ces résultats et identifié d'autres allèles du MHC de type I associés à la protection (*B*27:05*, *B*14/Cw*08:02*, *B*52* et *A*25*) ou à la progression (*B*35* et *Cw*07*) de l'infection par le VIH [43]. Les acides aminés concernés dans ces études sont localisés spécifiquement dans la poche impliquée dans la présentation de peptides aux cellules T CD8⁺ suggérant le rôle important de la réponse CD8⁺ dans le contrôle du virus [31-33, 43]. Toutefois, un nombre important de molécules HLA interagit également avec les récepteurs inhibiteurs de type immunoglobuline présents sur des cellules tueuses (KIR pour *killer immunoglobulin-like receptor*).

Les KIR sont produits à partir d'une quinzaine de gènes polymorphes situés dans la région du complexe des récepteurs leucocytaires sur le chromosome 19q13.4 [44] (figure 1). Les KIR sont exprimés par les cellules NK et certaines sous-populations lymphocytaires [45, 46]. Les ligands des KIR inhibiteurs sont des molécules du MHC

de type I (tableau 1). La liaison des KIR inhibiteurs à leur ligand respectif transmet un signal inhibiteur à la cellule NK qui souvent domine sur les signaux activateurs afin d'assurer la tolérance envers ses propres cellules qui expriment un HLA particulier [3, 47, 48]. Par ailleurs, les cellules NK acquièrent leurs fonctions effectrices par un processus appelé éducation [49-52]. L'éducation se produit au cours du développement des cellules NK, lorsque celles-ci reçoivent un signal inhibiteur provenant des molécules HLA autologues, à travers les KIR inhibiteurs qu'elles expriment. L'éducation prédispose les cellules NK à s'activer pleinement lorsqu'elles vont rencontrer une cellule autologue qui exprime un faible niveau de HLA parce qu'elle est infectée ou maligne. Le niveau d'éducation des cellules NK, autrement dit l'efficacité avec laquelle les cellules NK matures pourront répondre à une cellule environnante ayant un niveau aberrant de HLA, dépend de la variété des interactions KIR inhibiteur-ligand, de leur densité et de l'avidité de ces interactions au cours du processus d'éducation [50, 52, 53]. Les gènes qui codent les KIR et les HLA sont fortement polymorphes et localisés sur différents chromosomes [54]. Les KIR sont exprimés de manière stochastique et redondante à la surface de sous-populations de cellules NK. La variabilité allélique des *HLA* et des *KIR* a pour conséquences que des cellules NK éduquées, non-éduquées ou éduquées à différents degrés peuvent coexister

Tableau 1 Récepteurs de cellules tueuses naturelles et leurs ligands.

Récepteur inhibiteur-ligand		Récepteur activateur-ligand	
Récepteur inhibiteur	Ligand	Récepteur activateur	Ligand
KIR2DL1	HLA-C2 (Lys ⁸⁰)	KIR2DS1	HLA-C2 (Lys ⁸⁰)
KIR2DL2/3	HLA-C1 (Asn ⁸⁰)	KIR2DS2	HLA-C1 associé au peptide viral
	HLA-C2 (Lys ⁸⁰) (variable)		
KIR2DL5A/B	Inconnu	KIR2DS3	Inconnu
KIR2DL3	Inconnu	KIR2DS5	HLA-C2 (variable)
KIR3DL1	Allotypes HLA-A et HLA-B à motifs Bw4	KIR3DS1	HLA-F
KIR3DL2	HLA-A*03 et HLA-A*11	KIR2DS4	Certains HLA-A*03 et HLA-A*11
NKG2A/CD94	Peptide signal du HLA de classe I présenté par HLA-E	KIR2DL4	HLA-G
LIR-1	HLA de classe I	CD16	Région Fc des immunoglobulines G
		NKp30	B7-H6, pp65 du cytomégalo virus humain, sulfate d'héparane
		NKp46	Facteur P du complément, hémagglutinine virale, sulfate d'héparane

in vivo [52, 55, 56]. Les cellules NK KIR⁺ qui n'ont pas été éduquées par un HLA autologue au cours de leur développement répondront de manière sous-optimale à une expression aberrante de ce HLA, à moins qu'elles ne reçoivent un signal d'activation fort [49, 51, 57, 58].

La nomenclature des KIR est basée sur leur structure. Par exemple, KIR3DS1 et KIR3DL1 ont trois domaines extracellulaires de type immunoglobuline (*i.e.* 3D dans le nom du récepteur), et un domaine intracytoplasmique court ou long ([S pour *short*] ou [L pour *long*] dans le nom du récepteur) qui est caractéristique des KIR activateurs ou inhibiteurs, respectivement [59]. Les ligands de KIR3DL1 sont des HLA-A et -B particuliers contenant les motifs HLA-Bw4, définis par des acides aminés particuliers en position 77-83 de la chaîne lourde [60, 61]. En position 80 du HLA-Bw4, on observe soit une isoleucine (*80I) soit une thréonine (*80T), définissant ainsi deux isotopes qui se distinguent par leur densité membranaire et leur affinité pour KIR3DL1 [52, 56, 62]. On trouve également les allotypes HLA-Bw6 qui n'interagissent pas avec KIR3DL1. Par conséquent, les cellules NK KIR3DL1⁺ d'un donneur homozygote *HLA-Bw6* ne sont pas éduquées à travers ce récepteur [49]. Parmi les allotypes de KIR3DL1, on distingue KIR3DL1-null qui n'est pas exprimé à la membrane cellulaire, KIR3DL1-low et KIR3DL1-high qui sont exprimés faiblement et fortement sur la membrane cellulaire,

respectivement [52, 63]. Alors que KIR3DL1-*high* possède une plus forte affinité pour Bw4*80I que pour Bw4*80T, KIR3DL1-low possède une affinité comparable pour ces deux allotypes [52]. Les KIR inhibiteurs KIR2DL1, KIR2DL2 et KIR2DL3 se lient aux allotypes du HLA-C qui se divisent en deux groupes, HLA-C1 et HLA-C2. Les allotypes HLA-C1 ont une asparagine en position 80 et se lient au KIR2DL3. Les allotypes HLA-C2 ont une lysine en position 80 et se lient aux KIR2DL1 et KIR2DS1 [55, 64, 65]. Le KIR2DL2 est un récepteur intermédiaire qui se lie aux allotypes HLA-C1 et à certains allotypes HLA-C2 [55, 64, 66]. Le récepteur NK appartenant au membre A du groupe 2 (NKG2A pour *NK group 2 member A/CD94* pour *cluster of differentiation 94*) et le récepteur leucocytaire 1 de type immunoglobuline (LIR-1 pour *leukocyte immunoglobulin-like receptor 1*) sont d'autres NKR inhibiteurs qui interagissent avec des régions conservées des HLA et qui contribuent également à l'éducation des cellules NK ainsi qu'à leur réactivité à l'état mature [67-70]. L'éducation des cellules NK se produit essentiellement par l'interaction des NKR inhibiteurs (KIR, NKG2A/CD94, LIR-1) avec leurs ligands. Les divers modèles proposés pour expliquer l'éducation des cellules NK s'accordent à dire que l'ensemble des interactions KIR inhibiteurs-HLA qui ont lieu lors de l'éducation va également déterminer si des cellules NK matures sont capables de répondre à un

signal activateur induit par l'interaction des NKR activateurs avec leurs ligands ainsi que le niveau de cette réponse [50, 51, 71]. Les variations alléliques des KIR et des HLA vont influencer l'avidité de leurs interactions en modifiant l'affinité de chaque récepteur pour son ligand et leur densité à la surface des cellules [11, 52, 55].

Rôle de l'association KIR3DL1/HLA dans l'activation indépendante des anticorps des cellules NK et le contrôle du virus

Des études épidémiologiques ont montré qu'être porteur de certaines combinaisons génotypiques telles que *KIR3DL1 + HLA-Bw4* et *KIR3DS1 + HLA-Bw4*80I* avait un impact sur la progression de l'infection vers le syndrome d'immunodéficience acquise (sida), suggérant ainsi l'implication des cellules NK dans la progression naturelle de l'infection par le VIH [10, 11]. En effet, les combinaisons génotypiques *KIR3DL1*004 + Bw4* et *KIR3DL1-high + HLA-Bw4*80I* sont associées à une diminution plus lente du nombre de CD4 < 200/mm³ comparativement à des individus homozygotes pour *HLA-Bw6* [11]. L'allèle protecteur *HLA-B*57:01* est plus fréquent chez les contrôleurs que chez les non-contrôleurs [36, 41]. Les individus qui possèdent deux allèles *KIR3DL1* dont au moins un code pour l'allotype *KIR3DL1-high*, et *HLA-B*57* (un allèle *HLA-Bw4*80I*) sont ceux qui présentent la plus lente progression vers le sida et la plus faible charge virale plasmatique parmi les PLWH [11, 72]. L'allèle *HLA-B*27:05* semble également être protecteur car il est plus fréquent chez les contrôleurs que chez les non-contrôleurs [73, 74]. Les individus qui possèdent deux allèles *KIR3DL1*, dont au moins un code pour l'allotype *KIR3DL1-low*, et *HLA-B*27:05* (un allèle *HLA-Bw4*80I*) voient également leur nombre de CD4 diminuer plus lentement [11].

Lorsqu'on stimule des cellules NK avec des cellules n'exprimant pas de HLA (HLA-null), les cellules NK sont activées uniquement par les signaux activateurs exprimés par ces cellules, en l'absence de signaux inhibiteurs. Dans ce type de scénario, les cellules NK s'activent à hauteur de l'éducation qu'elles ont reçue, révélant ainsi leur plein potentiel fonctionnel. La stimulation de cellules NK par des cellules HLA-null induit davantage la production d'interféron gamma (IFN- γ), de chimiokine ligand 4 à motif C-C (CCL4 pour *chemokine CC motif ligand 4*) et l'externalisation du CD107, un marqueur de dégranulation, si elles proviennent d'individus de génotype *KIR3DL1-high + HLA-B*57* que si elles proviennent d'individus porteurs de combinaisons *KIR3DL1/HLA* différentes [75]. C'est le cas des cellules NK provenant d'individus non-infectés [75]

et infectés par le VIH [76]. Il est toutefois important de noter que, en règle générale, l'infection par le VIH a un impact négatif sur la fonctionnalité des cellules NK, même s'il s'avère que les cellules NK d'individus contrôleurs sont davantage fonctionnelles que les cellules NK d'individus non-contrôleurs [77-81].

Les cellules NK inhibent également mieux la réplication virale dans les cellules CD4⁺ autologues infectées par le VIH lorsqu'elles proviennent d'individus *KIR3DL1-high + HLA-B*57* [82]. Comme illustré en *figure 2*, les cellules CD4⁺ infectées par le VIH expriment moins de HLA à leur surface, ce qui diminue le signal inhibiteur reçu par les KIR et, par conséquent, favorise l'activation des cellules NK [83, 84]. L'inhibition de la réplication virale par les cellules NK activées est, au moins en partie, liée à leur capacité à produire des chimiokines. En effet, le blocage du récepteur aux chimiokines CCL3, CCL4 et CCL5 diminue l'effet inhibiteur des cellules NK sur la réplication virale [82]. Ces chimiokines secrétées par les cellules NK en réponse aux cellules CD4⁺ infectées bloquent l'infection de nouvelles cellules CD4⁺ environnantes en se liant au récepteur 5 des chimiokines à motif C-C (CCR5 pour *C-C chemokine receptor 5*), qui est le récepteur de ces chimiokines mais également le co-récepteur du VIH [85].

Les cellules NK provenant d'individus possédant la combinaison génotypique *KIR3DL1-low + HLA-B*27* répondent davantage à la stimulation par des cellules HLA-null que les cellules NK provenant d'individus qui ont une combinaison génotypique *KIR3DL1 + Bw4* différente et qui ne sont pas homozygotes pour le *HLA-B*57* ou qui sont homozygotes pour *Bw6* [86]. De la même manière, les cellules NK provenant d'individus possédant la combinaison génotypique *KIR3DL1*004 + Bw4* répondent davantage à la stimulation par des cellules HLA-null que les cellules NK provenant d'individus qui ont seulement *Bw4* ou qui sont homozygotes pour *Bw6* [87]. L'allotype *KIR3DL1*004* du *KIR3DL1*-null n'est pas exprimé à la surface cellulaire car il est séquestré dans le cytoplasme [88]. Bien qu'il ne soit pas présent à la surface des cellules, les cellules NK *KIR3DL1*004* semblent tout de même éduquées, ce qui pourrait expliquer leur rôle dans le ralentissement de la perte des cellules CD4 et le fait qu'elles répondent davantage à des cellules HLA-null que des cellules NK d'individus homozygotes pour *Bw6* [89].

En résumé, l'association de *HLA-B*57:01* et de *HLA-B*27:05* avec le contrôle du virus pourrait ne pas être seulement lié à une puissante réponse T restreinte par ces allotypes HLA mais également à leur rôle dans l'éducation des cellules NK qui, en retour, va déterminer la capacité de ces cellules à s'activer en réponse aux cellules CD4 autologues infectées par le VIH et ainsi contrôler la réplication du virus [11, 86].

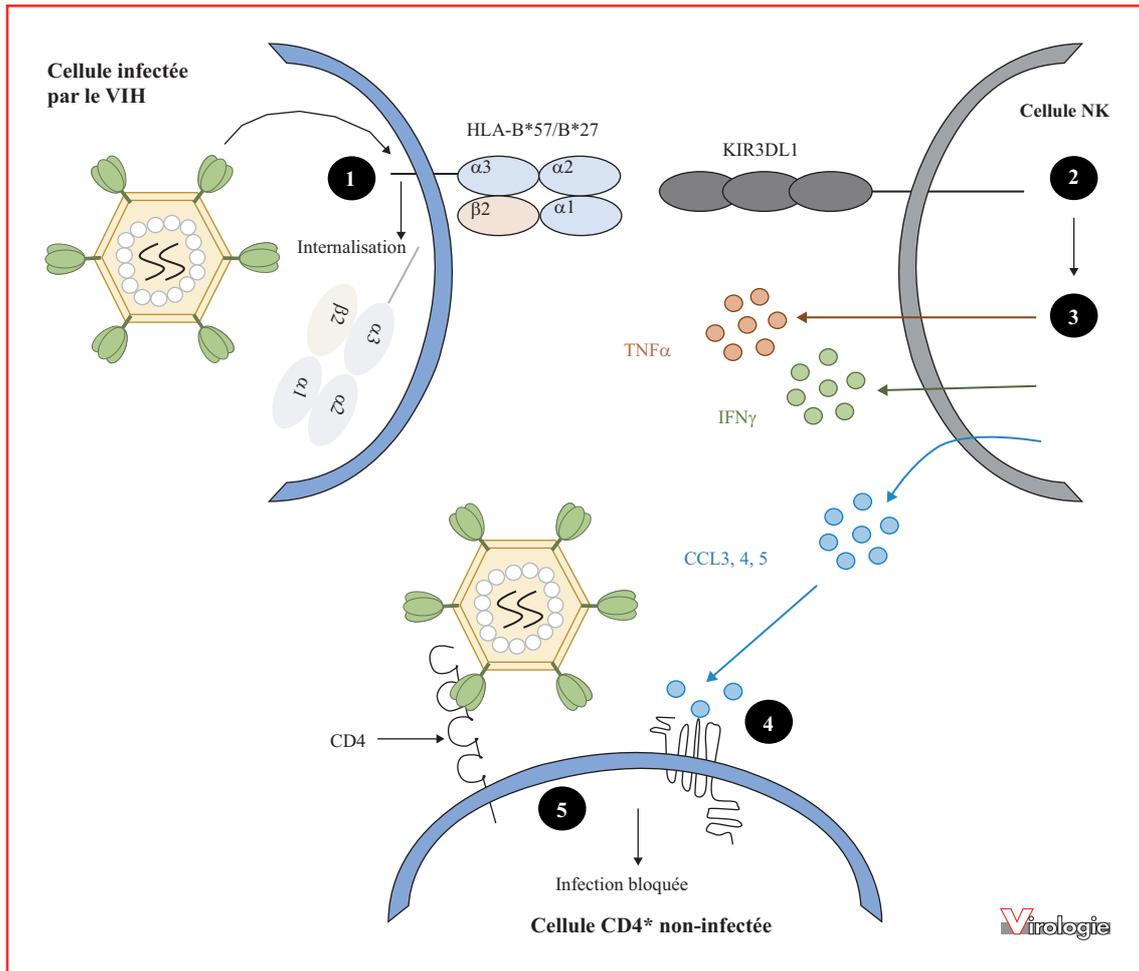


Figure 2. Activités antivirales des cellules NK indépendantes des anticorps. (1) Dans les cellules CD4⁺ infectées par le VIH, la protéine Nef diminue l'expression membranaire des molécules du MHC de classe I (i.e. HLA-B*57/27), les ligands du récepteur inhibiteur de type immunoglobuline KIR3DL1 exprimé par les cellules NK. (2) L'internalisation de HLA-B*57/27 diminue le signal inhibiteur reçu par KIR3DL1, ce qui va altérer l'équilibre des signaux activateurs/inhibiteurs reçus par la cellule NK au profit de son activation. (3) La cellule NK ainsi activée va produire des cytokines inflammatoires comme le TNF-α et l'IFN-γ, et des chimiokines comme le CCL3, CCL4 et CCL5. (4) Le CCL4 (comme le CCL3 et le CCL5) se lie au CCR5, le co-récepteur du VIH. (5) ce qui va bloquer l'infection des cellules CD4⁺ environnantes.

Des cellules CD4 expriment moins de HLA-A, B et C à leur surface lorsqu'elles sont infectées par le VIH, devraient, en théorie, stimuler davantage des cellules NK éduquées que des cellules NK non-éduquées [83, 84, 90]. C'est, en effet, ce que l'on observe en comparant la réponse de cellules NK éduquées par le KIR3DL1 à des cellules NK non-éduquées [90]. La cytométrie de flux s'avère être un outil de choix pour évaluer l'impact de l'éducation des cellules NK à l'échelle cellulaire en permettant d'identifier celles qui n'expriment qu'un seul KIR inhibiteur, comme KIR3DL1. Leur réponse à la stimulation par des cellules CD4 infectées peut ainsi être évaluée en mesurant la fréquence de cellules NK KIR3DL1⁺ capables de sécréter des molécules aux propriétés antivirales comme l'IFN-γ,

le CCL4 et le CD107a. En bref, les niveaux d'expression de KIR3DL1, de ses ligands HLA-B et leur affinité réciproque vont influencer le niveau d'éducation des cellules NK positives pour KIR3DL1 et leur capacité à répondre à des cellules CD4 autologues infectées [52, 90].

L'implication de molécules HLA autres que le HLA-B, et en particulier le HLA-C, dans le contrôle de la réplication virale reste controversé [14, 91]. Certains travaux émettent l'hypothèse que l'influence du HLA-C sur la réplication virale pourrait être seulement due à sa proximité génétique avec certains allotypes protecteurs du HLA-B comme le B*57:01 [92]. D'autres considèrent que son implication dans la progression de l'infection est indépendante de

cette association génétique [93, 94]. Des études de liaison génétique à l'échelle du génome ont mis en évidence des associations entre un SNP rs9264942 (*i.e.* remplacement d'une cytosine par une thymine) localisé à 35 kilobases en amont du locus HLA-C et la diminution de la charge virale plasmatique [42, 43], le ralentissement de la progression vers le sida [95] et l'expression membranaire du HLA-C chez des individus caucasiens [96]. Il semblerait, en réalité, que ces associations soient dues à un autre SNP rs67384697 (*i.e.* remplacement d'une guanine par une délétion nucléotidique en position 263), localisé dans la région 3' non-traduite du HLA-C. Ce SNP affecterait la liaison du microARN miR-148a à ce locus [97]. En effet, une expression faible du HLA-C est observée lorsque le site de liaison au miR-148a est intact (*i.e.* avec une guanine en position 263), alors qu'une expression élevée du HLA-C est observée lorsque la liaison du microARN n'est plus possible (*i.e.* en l'absence de guanine en position 263) [97]. Le lien direct entre le niveau d'expression du HLA-C et le contrôle viral a été mis en évidence par la relation de cause à effet observée entre la fréquence de mutations d'échappements du virus dans des épitopes restreints au HLA-C et la charge virale [98, 99] mais également par la forte corrélation positive observée entre la fréquence de lymphocytes T cytotoxiques (CTL pour *Cytotoxic T Lymphocytes*) induits par des peptides restreints au HLA-C et les niveaux d'expression du HLA-C [99].

Maltani, *et al.*, ont comparé la combinaison de marqueurs génétiques associés au chromosome 6 avec le génotype KIR chez des EC ayant une charge virale indétectable et des LTNP ayant une virémie détectable persistante [100]. Ils ont observé des différences entre les effets des deux SNP du HLA-C décrits plus haut et l'allotype HLA-Bw4*80I dans ces deux groupes, et ont ainsi identifié une nouvelle signature associée spécifiquement aux EC et non aux LTNP. Cette signature inclut des gènes codant plusieurs KIR activateurs de type KIR2DS et des allèles HLA-C2 qui échappent à la diminution d'expression induite par le miR-148a. Cette découverte supporte l'hypothèse d'un rôle important des cellules NK dans le contrôle viral chez les EC faisant intervenir une expression élevée du HLA-C et des récepteurs activateurs KIR2DS.

À l'instar des cellules NK qui expriment uniquement KIR3DL1, la stimulation de cellules NK qui expriment exclusivement KIR2DL1, KIR2DL2 ou KIR2DL3 par des cellules CD4 autologues infectées, induit davantage d'IFN- γ , de CCL4 et de CD107 que la stimulation de cellules NK non-éduquées par ces KIR inhibiteurs [90].

En résumé, l'interaction de cellules NK éduquées avec des cellules CD4 autologues infectées induit une réponse fonctionnelle plus forte qu'avec des cellules NK non éduquées et seront donc plus à même de contrôler le

virus. La fréquence de cellules NK sécrétrices de CCL4 semble être un paramètre particulièrement important pour distinguer le potentiel éducatif de certaines combinaisons de KIR inhibiteurs/HLA [90]. D'autres études incluant davantage de sujets seront possiblement nécessaires pour déterminer si les allèles protecteurs HLA identifiés individuellement par les études épidémiologiques et par les études de liaison génétique, permettent de mieux distinguer les activités antivirales de cellules NK possédant des combinaisons de KIR inhibiteur/allèle HLA spécifiques, comme cela a été observé après stimulation de cellules NK d'individus *KIR3DL1-high + HLA-B*57* et *KIR3DL1-low + HLA-B*27:05* avec des cellules HLA-null [11, 43, 75, 76, 90, 101].

KIR3DS1 dans l'activation des cellules NK indépendante des anticorps et le contrôle du virus

Des études ont montré qu'au cours de l'infection par le VIH, les individus porteurs de la combinaison allélique *KIR3DS1* et *HLA-Bw4*80I* progressaient plus lentement vers le sida et avaient de meilleures capacités à inhiber la réplication virale dans des cellules CD4 autologues infectées que des individus porteurs seulement du récepteur, ou du ligand ou d'aucun des deux [10, 102, 103]. L'interaction directe de KIR3DS1 avec HLA de type Bw4*80I n'a jamais été mise en évidence [104-106]. Une seule étude montre que le KIR3DS1 peut interagir avec HLA-B*57 uniquement en présence de peptides du VIH [107]. KIR3DS1 se lie à la conformation ouverte de HLA-F, un antigène MHC Ib non-classique [104]. Des cellules NK stimulées par des cellules HLA-null 721.221 ou par des cellules CD4 autologues infectées qui expriment HLA-F, produisent davantage d'IFN- γ , de CCL4 et de CD107a que si elles sont stimulées par des cellules HLA-null qui n'expriment pas le HLA-F ou si l'interaction KIR3DS1-HLA-F est bloquée à l'aide d'anticorps anti-HLA-F ou de protéine chimérique KIR3DS1-Fc [104, 108, 109]. Bien que cela n'ait pas été clairement démontré, certaines données préliminaires suggèrent que l'association de KIR3DS1 et HLA-Bw4*80I avec la progression plus lente vers le sida et l'inhibition plus efficace de la réplication virale dans des cellules CD4 autologues infectées pourrait être lié à une activation plus importante des cellules NK par HLA-F. Le facteur de régulation négatif (Nef pour *negative regulatory factor*) du VIH est une protéine accessoire du VIH qui possède de multiples fonctions dont notamment la diminution de l'expression membranaire du HLA-A et -B à la surface des cellules infectées [83, 110]. Ainsi, l'activation de cellules NK par HLA-F couplé à une moindre

inhibition des cellules NK KIR3DL1⁺ par HLA-Bw4*80I, dont l'expression à la surface des cellules infectées est diminuée par Nef, pourrait être associée à des fonctions antivirales plus efficaces des cellules NK KIR3DS1⁺ KIR3DL1⁺.

Les autres NKR impliqués dans le contrôle du virus

Les combinaisons KIR/HLA évoquées ci-dessus éduquent les cellules NK à répondre aux cellules infectées qui présentent des niveaux plus faibles de HLA, et participent ainsi à la genèse des réponses immunitaires potentiellement impliquées dans le contrôle de la charge virale. Toutefois, une des caractéristiques essentielles du VIH est sa capacité à persister à l'état de provirus dans le génome de cellules à durée de vie longue, les cellules réservoirs. L'existence de ces réservoirs VIH représente un obstacle majeur à l'élimination du virus [111]. Le contrôle ou l'élimination de ces réservoirs VIH est une étape primordiale dans les stratégies de guérison de l'infection par le VIH. Les EC se distinguent des PLWH traités avec succès par la taille réduite de leurs réservoirs viraux [112]. La taille du réservoir reflète très probablement l'action des mécanismes immunitaires qui vont limiter la réplication virale. Et même si la nature de ces mécanismes fait toujours l'objet de recherches intensives, certaines sous-populations de cellules NK semblent clairement avoir un impact sur la taille de ces réservoirs.

La spectrométrie de masse a été utilisée pour mesurer l'expression membranaire de vingt-quatre marqueurs à la surface des cellules NK, et a permis de distinguer des sous-populations présentes exclusivement chez les EC et absentes chez les PLWH traités. Parmi les cellules NK CD56^{dim} CD16⁺, une sous-population caractérisée par l'expression des marqueurs CD11b⁺, CD57⁻, CD161⁺, Siglec-7⁺ corrèle avec la taille du réservoir et est significativement plus abondante chez les EC que chez les non-contrôleurs virémiques non-traités [113]. Cette sous-population de cellules NK est partiellement mature, active, cytotoxique, et possède un fort potentiel prolifératif en réponse notamment à l'IL-12 et l'IL-18. Elle possède une capacité supérieure à produire de l'IFN- γ en réponse à l'IL-12/IL-18, et à externaliser le CD107a en réponse à des cellules HLA-null comparativement à des cellules NK CD11b⁻, CD161⁻ ou Siglec-7⁻ CD56^{dim} CD16⁺ [113]. Ces propriétés pourraient être associées au contrôle viral observé chez les EC en l'absence de traitement.

Marras, *et al.*, ont mis en évidence une corrélation inverse entre la taille du réservoir dans les cellules T CD4⁺

circulantes et certaines cellules NK ayant des caractéristiques fonctionnelles particulières [112]. Ces cellules associées au contrôle viral chez les EC et les LTNP avaient pour caractéristique de produire, après stimulation, des niveaux importants d'IFN- γ et de récepteurs activateurs de cytotoxicité naturelle, NKp30 et NKp46, non observés chez les PLWH traités. L'augmentation d'expression de NKp30 et de NKp46 après stimulation corrélait positivement avec leur potentiel cytotoxique. De plus, l'IL-2 semblait induire un programme transcriptionnel différent dans les cellules NK de contrôleurs et celles de non-contrôleurs traités. Les voies de signalisation induites par l'IL-2 dans les cellules NK de contrôleurs incluait les voies de réponses à l'IFN- γ , à l'IL-2/IL-12, au facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α pour *tumor necrosis factor* α), la voie du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B pour *nuclear factor kappa B*), et les voies de signalisation lysosomales et cytolitiques. Contrairement aux cellules NK de non-contrôleurs traités, les cellules NK de contrôleurs diminuent de façon drastique la réplication virale et le niveau d'ADN viral intégré dans des co-cultures avec des cellules CD4 infectées [112]. Ces effets observés *in vitro* avec les cellules NK de contrôleurs suggèrent le rôle potentiellement fondamental des cellules NK dans le contrôle de la taille du réservoir *in vivo* même si elles ne contrôlent pas totalement la réplication virale chez les individus non-contrôleurs non-traités.

Les fonctions des cellules NK dépendantes des anticorps

La plupart des cellules NK CD56^{dim} expriment le récepteur activateur IIIa pour le fragment cristallisable (Fc) des immunoglobulines (Ig) gamma, le Fc γ RIIIa ou CD16, qui s'associe à la région Fc des Ig de type G (IgG), et plus particulièrement aux isotopes IgG1 et IgG3 [114]. La liaison d'un anticorps au CD16 est influencée par son niveau de glycosylation, les anticorps défucosylés étant ceux qui possèdent la plus forte affinité pour le CD16 [115, 116].

La capacité des cellules NK à éliminer des cellules cibles par un mécanisme qui dépend de l'anticorps, appelé cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC pour *antibody dependent cellular cytotoxicity*), peut varier d'un individu à l'autre en raison d'un SNP majeur du CD16 codant deux variants alléliques ayant un impact distinct sur l'activité ADCC de ces cellules [117, 118]. En effet, une valine (V) à la place d'une phénylalanine (F) en position 158, confère au CD16 une meilleure affinité pour les IgG1 et les IgG3 [114]. Les cellules NK des individus porteurs de l'allèle codant une V158 présentent également une activité ADCC accrue [119]. La région Fab des anticorps

est la région qui interagit avec l'antigène présent à la surface des cellules cibles alors que la région Fc est celle qui interagit et active la voie de signalisation du CD16 dans les cellules NK. Les anticorps forment des ponts entre la cellule cible et la cellule NK ce qui va stimuler la sécrétion de cytokines, de chimiokines, et externaliser le CD107a par les cellules NK, permettant ainsi de mesurer ce qu'on appelle l'activation des cellules NK dépendante des anticorps (ADNKA pour *antibody dependent NK activation*). L'ADCC évalue la cytotoxicité qui résulte de l'activité ADNKA suite à ces interactions. Bien que d'autres types de cellules comme les macrophages, les monocytes résidant dans les tissus, les neutrophiles et les éosinophiles soient, dans une moindre mesure, également capables de faire de l'ADCC, les cellules NK sont les plus importantes dans cette activité.

Considérations méthodologiques – anticorps, cellules cibles et essais ADCC/ADNKA

Les essais qui évaluent des fonctions dépendantes des anticorps (AD pour *antibody dependent*) à l'aide de cellules cibles telles que des cellules infectées par le VIH, nécessitent la présence d'anticorps spécifiques de l'enveloppe (Env) du VIH, seule protéine virale exprimée à la surface des cellules infectées et des virions [120]. Tous les PLWH ainsi que tous les individus ayant reçu un vaccin qui inclut des fragments antigéniques de la glycoprotéine gp120 de l'Env, possèdent des anticorps spécifiques dirigés contre l'Env [121-125]. La majorité des essais qui évaluent la capacité des anticorps provenant de PLWH à faire de l'ADCC, utilise des cellules CEM.NKR.CCR5 CD4⁺ recouvertes de glycoprotéine gp120 monomérique recombinante (rgp120) [126-135] ou des cultures de cellules infectées par le VIH [136-139] comme cellules cibles. Certains épitopes de la gp120 sont enfouis dans la structure native trimérique de l'Env exprimée par les cellules infectées, et sont révélés par la liaison de l'Env trimérique relarguée par les cellules infectées avec le CD4 exprimé par les cellules non-infectées environnantes, dites cellules avoisinantes, présentes dans ces cultures ou seule une fraction des cellules sont infectées par le virus. Ces épitopes, appelés épitopes induits par le CD4 (CD4i), sont également exposés par les cellules CEM.NKR.CCR5 CD4⁺ recouvertes de rgp120 monomérique. Dans un cas comme dans l'autre, l'interaction de la gp120 avec le CD4 va bloquer la liaison d'anticorps qui reconnaissent spécifiquement des épitopes présents au niveau du site de liaison au CD4 [140]. Ces épitopes, appelés épitopes CD4bs, sont localisés dans des régions très conservées de l'Env et

sont reconnus par des anticorps qui possèdent un potentiel neutralisant à large spectre parmi les plus importants (*figure 3*). Plus récemment, notre équipe a développé un modèle de cellules CEM.NKR.CCR5 infectées par le VIH puis triées pour en exclure les cellules avoisinantes non-infectées. Ces cellules CEM.NKR.CCR5 infectées et triées expriment l'Env dans sa conformation native trimérique, exposant les épitopes CD4bs mais n'exposant pas les épitopes CD4i, comme c'est le cas de cellules CD4 réellement infectées [139] (*figure 3*). La comparaison de l'ADCC induit à l'aide d'anticorps polyclonaux de PLWH sur des CEM.NKR.CCR5 infectées/triées et des CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 montre que les résultats corrélerent. Il semble toutefois que la quantité d'anticorps qui reconnaît la gp120 présentée sur des CEM.NKR.CCR5 est au moins sept fois plus importante que la quantité d'anticorps qui reconnaît l'Env dans sa conformation native trimérique [139, 141].

Différents essais ont été développés pour mesurer l'activité ADCC. Les plus anciens mesuraient le relargage de ⁵¹Chrome par les cellules cibles lysées. En utilisant cet essai, Lambotte, *et al.*, ont montré que les anticorps d'individus contrôleurs induisaient davantage l'ADCC de cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 que les anticorps d'individus virémiques non-traités, même si leur capacité à lier un ensemble d'antigènes de l'Env était équivalente dans les deux groupes [130]. Un autre essai, encore largement employé à l'heure actuelle, est un essai rapide utilisant la cytométrie de flux pour mesurer l'ADCC, le RFADCC (pour *rapid fluorometric ADCC*) [142]. Cet essai mesure la perte du colorant CFSE (pour *carboxyfluorescein succinimidyl ester*) par les cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 préalablement colorées au CFSE et au colorant lipophile membranaire, le PKH-26 [142]. En réalité, cet essai mesure l'acquisition dépendante d'anticorps de fragments de membranes des cellules cibles PKH26⁺ par les cellules effectrices, correspondant à de la trogocytose cellulaire dépendante d'anticorps (ADCT pour *antibody dependent cellular trogocytosis*), et non l'activité ADCC induite par les cellules NK [143]. Un autre essai plus récent, le GranToxiLux, mesure la fréquence de cellules cibles ayant incorporé du granzyme B relargué par les cellules NK activées [144]. L'activité ADCC peut également être évaluée en mesurant la disparition des cellules cibles p24⁺ infectées par le VIH en cytométrie de flux, ou la diminution de l'activité luciférase émise par des cellules cibles infectées avec un virus codant la luciférase, ou encore, plus directement, en mesurant l'induction de l'apoptose dans les cellules cibles [123, 124, 138, 139, 145-148]. Les essais mesurant l'ADNKA quantifient, quant à eux, la sécrétion d'IFN- γ et l'externalisation du CD107a ; certaines études y ajoutent la production de TNF- α et/ou de CCL4 [80, 149].

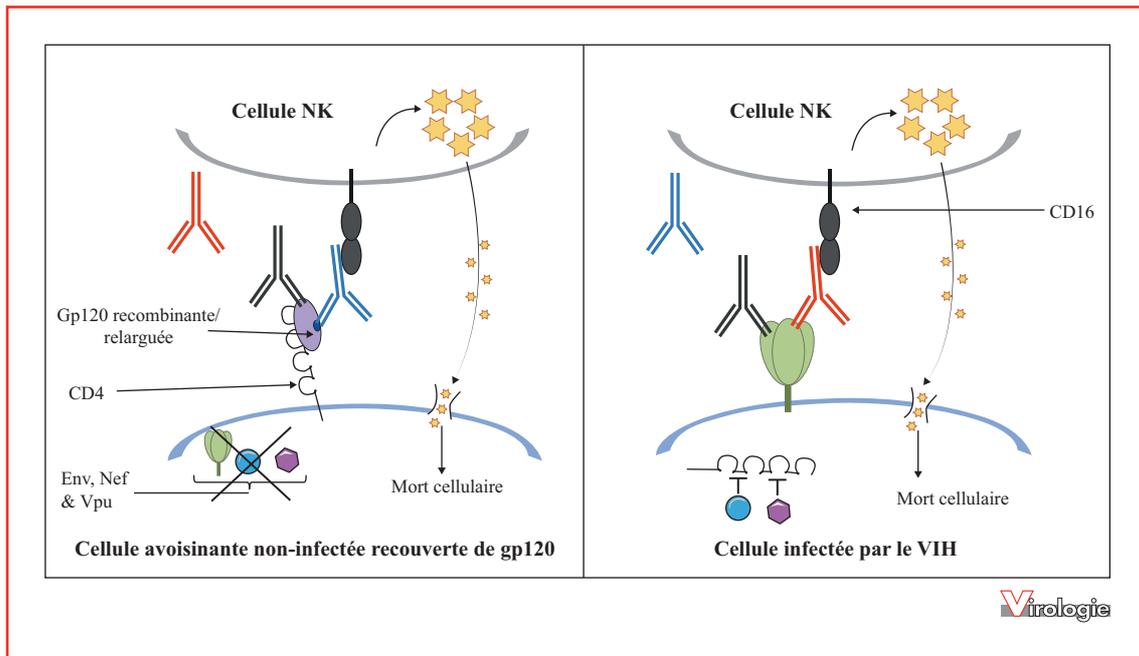


Figure 3. Comparaison des cellules cibles exposant la gp120 monomérique ou l’enveloppe trimérique du VIH utilisées pour l’ADCC. (*Panneau de gauche*) L’interaction gp120-CD4 dévoile des épitopes dits induits par le CD4 (CD4i), normalement cachés à l’intérieur de la conformation trimérique fermée de l’enveloppe exposée à la surface des cellules infectées. Cela se passe lorsque des cellules cibles sont recouvertes de gp120 ou quand des cellules infectées par le VIH libèrent de la gp120 qui va se lier aux cellules CD4⁺ avoisinantes non infectées. La conformation gp120-CD4 est reconnue par des anticorps spécifiques des épitopes CD4i (en bleu), par quelques anticorps neutralisants à large spectre (BnAbs, en noir) et par d’autres (*en rouge*). Les protéines Env (vert), Nef (bleu) et Vpu (magenta) du VIH sont absentes dans les cellules recouvertes de gp120. La région Fc des anticorps qui ont reconnus cette conformation se lie au récepteur activateur, le CD16 (dimère en noir), exprimé sur les cellules NK et stimule la sécrétion de cytokines, de chimiokines et de granules lytiques qui vont tuer la cellule cible par ADCC. (*Panneau de droite*) Les protéines Nef et Vpu du VIH, en diminuant l’expression membranaire du CD4, vont empêcher son interaction avec l’enveloppe qui va rester dans sa conformation fermée trimérique reconnue par différents BnAbs (rouge et noir) mais pas par les anticorps spécifiques des épitopes CD4i. De la même façon, la région Fc des anticorps qui ont reconnu cette conformation va lier le CD16 et stimuler la sécrétion de cytokines, de chimiokines et de granules lytiques qui vont tuer la cellule cible par ADCC.

ADCC et ADNKA dans le contrôle du virus

Madhavi, *et al.*, ont comparé différents essais ADCC et ADNKA avec des échantillons de plasma provenant de 22 contrôleurs et 44 non-contrôleurs virémiques non-traités [131]. Dans cette étude, comparativement aux individus non-contrôleurs, les individus contrôleurs avaient des niveaux plus élevés d’anticorps spécifiques de la gp120 capables de 1) lier le CD16, 2) provoquer la sécrétion d’IFN- γ et/ou l’externalisation du CD107a par des cellules NK dans un essai ADNKA et 3) augmenter l’activité granzyme B dans des cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp140 dans un essai GranToxiLux [131]. Les niveaux plus élevés d’activité ADCC induite par les anticorps de contrôleurs, comparativement aux anticorps de non-contrôleurs, ont été confirmés dans d’autres études utilisant également l’essai GranToxiLux [144, 150].

Ackerman, *et al.*, ont comparé les IgG provenant de plasma d’EC, de VC, de non-contrôleurs virémiques traités et non-traités pour 1) leur capacité à reconnaître des billes recouvertes de rgp120, 2) leur activité ADCC en utilisant un essai RFADCC et 3) leur activité ADNKA en utilisant des cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 [126]. Ils ont ainsi trouvé que la concentration plasmatique d’IgG spécifiques de la gp120 était plus faible chez les EC que chez les VC et les non-contrôleurs virémiques non-traités. Les IgG provenant d’EC présentaient également une activité ADCC et une capacité à induire la production de CCL4 par les cellules NK plus faible que les IgG de VC [126]. Ces résultats fonctionnels n’ont toutefois pas été normalisés par la concentration d’IgG spécifiques de la gp120 présente dans chaque plasma testé.

En comparant les mêmes groupes d’individus dans une autre cohorte Kant, *et al.*, ont évalué les concentrations plasmatiques d’anticorps spécifiques de la gp120 et de l’Env

susceptibles de reconnaître des cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 et des cellules CEM.NKR.CCR5 infectées par le VIH puis triées, respectivement. L'activité ADCC était évaluée en mesurant l'apoptose induite dans ces cellules cibles, ce qui reflète leur lyse [122, 139, 151]. Les concentrations d'anticorps capables de reconnaître les cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 ou les cellules CEM.NKR.CCR5 infectées et triées étaient équivalentes dans le plasma des EC, des VC et des non-contrôleurs virémiques non-traités et plus élevées que dans le plasma des non-contrôleurs traités. Les différences étaient similaires en termes d'activité ADCC [139]. Toutefois, ces différences d'activité n'étaient plus significatives après normalisation des résultats par la concentration plasmatique d'anticorps spécifiques de l'Env. Ceci suggère que les différences observées en termes d'activité ADCC sont essentiellement attribuables à une différence de concentration, dans le plasma, d'anticorps anti-Env capables de reconnaître l'Env du VIH dans sa conformation native trimérique sur les cellules CEM.NKR.CCR5 infectées et triées, et non à un potentiel ADCC distinctif de ses anticorps chez les EC, les VC et les non-contrôleurs non-traités [122, 151]. De façon notable, les EC et les VC qui possédaient un réservoir VIH en dessous du seuil de détection avaient une activité ADCC normalisée significativement supérieure aux individus possédant un réservoir VIH détectable, suggérant ainsi un rôle potentiel de l'activité ADCC dans le contrôle de la taille du réservoir VIH [122]. D'autres études ont montré que la production d'IFN- γ par les cellules NK était associée avec une charge virale plasmatique plus basse [152-155] et à un plus petit réservoir de VIH [112].

Certains travaux plus récents ont élargi la gamme des fonctions AD analysées sur les mêmes échantillons. Ackerman, *et al.*, évaluent notamment la phagocytose cellulaire AD (ADCP), la phagocytose par les neutrophiles AD (ADNP), le dépôt du complément AD (ADCD), et l'ADCT en plus de l'ADNKA et l'ADCC [126]. Dans une autre étude, Kant, *et al.*, évaluent l'ADCP, l'ADCT, l'ADCD en plus de l'ADCC [122]. Peu de différence sont observées pour l'ADCD et la sécrétion de CCL4 entre les EC, les VC et les non-contrôleurs traités et non-traités [126]. Comme pour l'activité ADCC évoquée précédemment, les activités ADCP, ADCT et ADCD sont plus élevées dans les plasmas provenant d'EC, de VC et de non-contrôleurs virémiques non-traités que dans les plasmas de non-contrôleurs traités [122]. De la même manière, certaines différences observées entre des groupes de patients disparaissent après normalisation. C'est le cas pour l'ADCP après normalisation avec la concentration d'anticorps spécifiques de la gp120, et pour l'ADCT et l'ADCD après normalisation avec la concentration d'anticorps spécifiques de l'Env. Une différence importante reste cependant valable : les

concentrations d'anticorps spécifiques de la gp120, de l'Env et les fonctions AD associées sont significativement plus corrélées entre elles chez les EC que chez les autres catégories de patients [122, 126].

Une approche sérologique intégrative permettant d'évaluer les propriétés des anticorps associés au contrôle du VIH doit inclure l'évaluation de la spécificité de ces anticorps face à un ensemble de variants protéiques du VIH, et l'évaluation de la capacité de ces anticorps à recruter des cellules immunitaires innées, ce qui implique de connaître leur concentration, leur classe et isotype, le niveau de glycosylation de leur région Fc, leur capacité à lier les récepteurs Fc gamma et les lectines ainsi que leur fonctionnalité AD [156]. Les anticorps spécifiques du VIH possédant des groupements glycosylés scindés en deux sont en effet plus abondants chez les EC que chez les non-contrôleurs virémiques non-traités. Les anticorps spécifiques de la gp120 possédant ce type de glycosylation interagissent mieux avec le CD16 et ont un potentiel ADCC plus important. Les anticorps spécifiques de la p24 du VIH sont plus abondants chez les EC comparativement aux non-contrôleurs traités. Il en va de même pour les anticorps spécifiques des protéines virales intracellulaires, autre que la capsid, capable de lier les récepteurs Fc gamma [156]. Ces observations viennent confirmer des données précédentes et pourraient également aider à identifier de nouvelles propriétés de l'immunité humorale qui distinguent les EC des non-contrôleurs traités ou non-traités. Une approche sérologique intégrative qui compare les contrôleurs et les non-contrôleurs offrirait la possibilité de générer de nouvelles informations sur les caractéristiques des anticorps qui définissent une immunité fonctionnelle forte et de contribuer à l'identification des mécanismes qui corrélerent avec des fonctions AD efficaces.

Rôle de l'éducation des cellules NK dans l'activité ADCC et ADNKA

Bien que l'ADNKA mesure l'activation des cellules NK et l'ADCC les conséquences de cette activation sur les cellules cibles, à savoir leur élimination, un grand nombre d'études parle d'ADCC alors qu'elles ne mesurent en réalité que l'ADNKA (*figure 4*). On a voulu savoir si l'éducation de cellules NK jouait un rôle dans l'activité ADCC et ADNKA. Pour répondre à cette question, nous avons évalué l'activité ADCC en utilisant l'essai GranToxiLux et, comme cellules cibles, des cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 puis opsonisées avec des anticorps polyclonaux de patients VIH. Des cellules NK, triées par sélection négative sur l'expression d'un seul KIR inhibiteur, ont été utilisées comme cellules effectrices ; ces cellules NK provenaient d'individus exprimant un HLA susceptible ou non de les

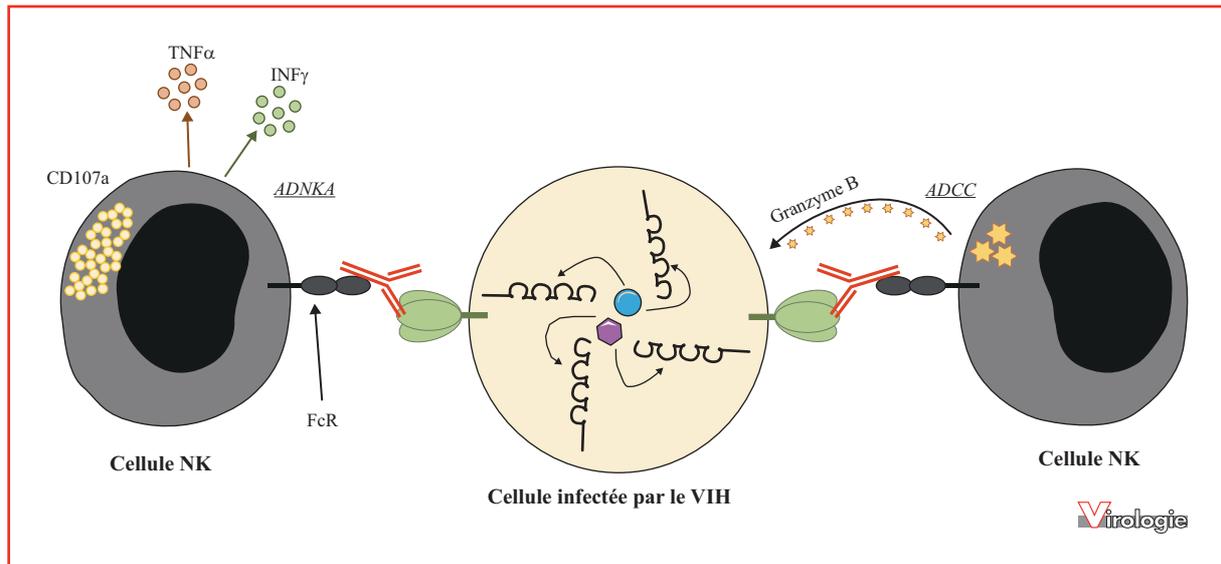


Figure 4. Activités ADNKA et ADCC. La disparition du CD4 de la surface des cellules infectées par Nef et Vpu empêche son interaction avec l'enveloppe du VIH, qui reste dans sa conformation fermée trimérique. Les anticorps qui reconnaissent cette conformation (rouge) se lient par leur région Fc au récepteur activateur, le CD16, exprimé par les cellules NK. L'ADNKA évalue la sécrétion de cytokines inflammatoires comme le TNF- α (rouge), l'IFN- γ (vert) et l'expression du marqueur de dégranulation, le CD107a (jaune) par les cellules NK alors que l'ADCC évalue l'effet cytopathique des granules cytolytiques chargées de perforine et de granzyme B relargués par les cellules NK sur les cellules cibles opsonisées.

avoir éduquées par l'intermédiaire de ce KIR. Aucune différence d'activité ADCC n'a été observée par les cellules NK, qu'elles soient ou non éduquées par cet unique KIR inhibiteur. C'était le cas pour KIR3DL1, KIR2DL1 et KIR2DL2, ce qui suggère que l'éducation ne joue pas de rôle important dans l'activité ADCC [157, 158]. La raison probable est que le signal provenant du CD16 surpasse l'impact de l'éducation sur la réponse des cellules NK. L'activité ADNKA a été mesurée dans le même contexte en évaluant la fréquence de cellules NK positives pour l'IFN- γ , le CCL4 et/ou le CD107a. Contrairement à ce qui est observé pour l'ADCC, les cellules NK éduquées semblent répondre davantage que les cellules NK non-éduquées en ADNKA [157]. L'ensemble de ces résultats met en évidence des différences importantes entre ces deux activités qui sont souvent confondues dans la littérature [159].

Conclusions et directions futures

Bien que les réponses T CD8 spécifiques du VIH semblent jouer un rôle important dans le contrôle du virus, un ensemble de données épidémiologiques, génétiques et fonctionnelles met en évidence l'importance des cellules NK éduquées dans le contrôle du VIH. Certaines sous-populations de cellules NK ont notamment été associées au statut d'EC même si les mécanismes impliqués restent encore à définir.

Par ailleurs, une revue approfondie de la littérature comparant les activités AD chez les contrôleurs (EC, VC) et les non-contrôleurs traités ou non-traités, a révélé que les EC possédaient certaines fonctions AD associées au contrôle du virus et pas seulement une polyfonctionnalité AD mieux coordonnée que dans les autres groupes de patients. Les divergences observées dans la littérature concernant l'existence ou non de différences dans les fonctions AD entre ces groupes de patients peuvent avoir plusieurs origines comme notamment le type d'essai utilisé, ce qu'il mesure et la façon dont les résultats sont analysés. À ce titre, il semble important de pouvoir normaliser les résultats de ces essais avec les concentrations d'anticorps spécifiques de la gp120 et de l'Env présentes dans les échantillons utilisés, ce qui peut être réalisé à l'aide de cellules CEM.NKR.CCR5 recouvertes de rgp120 ou infectées par le VIH puis triées, respectivement. En effet, il s'avère que les concentrations d'anticorps qui reconnaissent la gp120 monomérique et l'Env trimérique varient d'un individu à l'autre. Les EC, VC et les non-contrôleurs virémiques non-traités ont des titres plus élevés de ces anticorps que les non-contrôleurs traités. La présence d'un réservoir VIH dans les cellules CD4⁺ circulantes indétectable chez les EC et les VC qui ont un potentiel ADCC plus important que chez les EC et les VC qui ont un réservoir quantifiable suggère un rôle potentiel de l'ADCC dans le contrôle de la taille du réservoir VIH.

Les cellules NK, en tant que cellules immunitaires innées, ont tout le potentiel pour lutter contre le virus de manière très précoce en exerçant des activités antivirales indépendantes des anticorps bien avant l'émergence de réponses T adaptatives antivirales. Toutefois, ce n'est qu'après l'apparition des anticorps spécifiques de la gp120 et de l'Env que les cellules NK sont en mesure d'exercer des activités ADCC et ADNKA. Il serait intéressant de mieux comprendre si les réponses indépendantes des anticorps contribuent davantage au contrôle viral observé chez les EC que les réponses dépendantes des anticorps. Quoi qu'il en soit, les cellules NK pourraient être impliquées dans le contrôle du virus chez les EC par un ensemble de mécanismes, qu'ils soient dépendants ou indépendants des anticorps.

Une caractéristique intéressante des EC est leur capacité à maintenir des niveaux plasmatiques élevés d'anticorps spécifiques de gp120/Env capables de stimuler des activités ADNKA et ADCC et ce, en l'absence de virémie détectable. L'initiation du traitement antirétroviral chez des individus non-contrôleurs virémiques conduit normalement au déclin des réponses immunitaires spécifiques du VIH et notamment à la diminution des niveaux d'anticorps antiviraux [151]. Le maintien des niveaux d'anticorps chez les EC pourrait en partie être dû à une meilleure survie à long terme des cellules B mémoires spécifiques de gp120/Env chez ces individus [160-162]. C'est une hypothèse qu'il serait intéressant d'approfondir à l'avenir.

Quoi qu'il en soit, de nombreux problèmes sont soulevés par ces études. Les contrôleurs, en particulier les EC, représentent une fraction très faible des PLWH ce qui diminue la possibilité de recruter de grandes cohortes de patients. En outre, il est maintenant évident que le terme d'EC regroupe un ensemble hétérogène d'individus, ce qui représente une entrave supplémentaire à l'étude et au recrutement de cohortes de patients homogènes. Il existe également des divergences, d'une cohorte à l'autre, sur la définition même de contrôleur, selon que l'on parle de charge virale, du nombre de CD4, de durée de suivi des patients, etc. Enfin, la grande variété des essais utilisés pour mesurer les fonctions AD, la variété des cellules cibles employées pour l'ADCC et la confusion entre l'activité ADCC et ADNKA entravent la bonne compréhension et la comparaison des différentes études accomplies. De manière générale, la standardisation de certaines méthodes serait un avantage qui permettrait de tirer des conclusions plus claires au sujet de l'association entre le contrôle viral et les fonctions AD des cellules NK.

Remerciements. 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

1. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989; 47 : 187-376.
2. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999; 17 : 189-220.
3. Long EO, Kim HS, Liu D, Peterson ME, Rajagopalan S. Controlling natural killer cell responses: integration of signals for activation and inhibition. *Annu Rev Immunol* 2013; 31 : 227-58.
4. Munz C, Steinman RM, Fujii S. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *J Exp Med* 2005; 202(2) : 203-7.
5. Oliviero B, Varchetta S, Paudice E, et al. Natural killer cell functional dichotomy in chronic hepatitis B and chronic hepatitis C virus infections. *Gastroenterology* 2009; 137 (3) : 1151-60, 60.e1-7.
6. Guma M, Cabrera C, Erkizia I, et al. Human cytomegalovirus infection is associated with increased proportions of NK cells that express the CD94/NKG2C receptor in aviremic HIV-1-positive patients. *J Infect Dis* 2006; 194(1) : 38-41.
7. Guma M, Angulo A, Vilches C, Gomez-Lozano N, Malats N, Lopez-Botet M. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood* 2004; 104(12) : 3664-71.
8. Ahlenstiel G, Martin MP, Gao X, Carrington M, Rehermann B. Distinct KIR/HLA compound genotypes affect the kinetics of human antiviral natural killer cell responses. *J Clin Invest* 2008; 118(3) : 1017-26.
9. Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, et al. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004; 305(5685) : 872-4.
10. Martin MP, Gao X, Lee JH, et al. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 2002; 31(4) : 429-34.
11. Martin MP, Qi Y, Gao X, et al. Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1. *Nat Genet* 2007; 39(6) : 733-40.
12. Savoy SKA, Boudreau JE. The evolutionary arms race between virus and NK cells: diversity enables population-level virus control. *Viruses* 2019; 11(10) : 959.
13. Alter G, Heckerman D, Schneidewind A, et al. HIV-1 adaptation to NK-cell-mediated immune pressure. *Nature* 2011; 476(7358) : 96-100.
14. Deeks SG, Walker BD. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity* 2007; 27(3) : 406-16.
15. Lambotte O, Boufassa F, Madec Y, et al. HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication. *Clin Infect Dis* 2005; 41(7) : 1053-6.
16. Gonzalo-Gil E, Ikediobi U, Sutton RE. Mechanisms of virologic control and clinical characteristics of HIV+ elite/viremic controllers. *Yale J Biol Med* 2017; 90(2) : 245-59.
17. El-Far M, Kouassi P, Sylla M, et al. Proinflammatory isoforms of IL-32 as novel and robust biomarkers for control failure in HIV-infected slow progressors. *Sci Rep* 2016; 6 : 22902.
18. Okulicz JF, Lambotte O. Epidemiology and clinical characteristics of elite controllers. *Curr Opin HIV AIDS* 2011; 6(3) : 163-8.
19. Blankson JN. Control of HIV-1 replication in elite suppressors. *Discov Med* 2010; 9(46) : 261-6.

20. Okulicz JF, Marconi VC, Landrum ML, *et al.* Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers, and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study. *J Infect Dis* 2009; 200(11): 1714-23.
21. Grabar S, Selinger-Leneman H, Abgrall S, Pialoux G, Weiss L, Costagliola D. Prevalence and comparative characteristics of long-term nonprogressors and HIV controller patients in the French Hospital Database on HIV. *AIDS* 2009; 23(9): 1163-9.
22. Olson AD, Meyer L, Prins M, *et al.* An evaluation of HIV elite controller definitions within a large seroconverter cohort collaboration. *PLoS One* 2014; 9(1): e86719.
23. Gurdasani D, Iles L, Dillon DG, *et al.* A systematic review of definitions of extreme phenotypes of HIV control and progression. *AIDS* 2014; 28(2): 149-62.
24. Chereau F, Madec Y, Sabin C, *et al.* Impact of CD4 and CD8 dynamics and viral rebounds on loss of virological control in HIV controllers. *PLoS One* 2017; 12(4): e0173893.
25. 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.
26. Blankson JN, Bailey JR, Thayil S, *et al.* Isolation and characterization of replication-competent human immunodeficiency virus type 1 from a subset of elite suppressors. *J Virol* 2007; 81(5): 2508-18.
27. Wang B, Dyer WB, Zaunders JJ, *et al.* Comprehensive analyses of a unique HIV-1-infected nonprogressor reveal a complex association of immunobiological mechanisms in the context of replication-incompetent infection. *Virology* 2002; 304(2): 246-64.
28. Pernas M, Casado C, Arcones C, *et al.* Low-replicating viruses and strong anti-viral immune response associated with prolonged disease control in a superinfected HIV-1 LTNP elite controller. *PLoS One* 2012; 7(2): e31928.
29. Edwards BH, Bansal A, Sabbaj S, Bakari J, Mulligan MJ, Goepfert PA. Magnitude of functional CD8+ T-cell responses to the gag protein of human immunodeficiency virus type 1 correlates inversely with viral load in plasma. *J Virol* 2002; 76(5): 2298-305.
30. Berger CT, Frahm N, Price DA, *et al.* High-functional-avidity cytotoxic T lymphocyte responses to HLA-B-restricted Gag-derived epitopes associated with relative HIV control. *J Virol* 2011; 85(18): 9334-45.
31. Betts MR, Nason MC, West SM, *et al.* HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T-cells. *Blood* 2006; 107(12): 4781-9.
32. Almeida JR, Price DA, Papagno L, *et al.* Superior control of HIV-1 replication by CD8+ T cells is reflected by their avidity, polyfunctionality, and clonal turnover. *J Exp Med* 2007; 204(10): 2473-85.
33. Migueles SA, Laborico AC, Shupert WL, *et al.* HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nat Immunol* 2002; 3(11): 1061-8.
34. Emu B, Sinclair E, Hatano H, *et al.* HLA class I-restricted T-cell responses may contribute to the control of human immunodeficiency virus infection, but such responses are not always necessary for long-term virus control. *J Virol* 2008; 82(11): 5398-407.
35. Emu B, Sinclair E, Favre D, *et al.* Phenotypic, functional, and kinetic parameters associated with apparent T-cell control of human immunodeficiency virus replication in individuals with and without antiretroviral treatment. *J Virol* 2005; 79(22): 14169-78.
36. Pereyra F, Addo MM, Kaufmann DE, *et al.* Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy. *J Infect Dis* 2008; 197(4): 563-71.
37. 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.
38. Madec Y, Boufassa F, Porter K, *et al.* Natural history of HIV-control since seroconversion. *AIDS* 2013; 27(15): 2451-60.
39. Goujard C, Chaix ML, Lambotte O, *et al.* Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection: when is "HIV controller" status established? *Clin Infect Dis* 2009; 49(6): 982-6.
40. Pereyra F, Palmer S, Miura T, *et al.* Persistent low-level viremia in HIV-1 elite controllers and relationship to immunologic parameters. *J Infect Dis* 2009; 200(6): 984-90.
41. Migueles SA, Sabbaghian MS, Shupert WL, *et al.* HLA B*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term nonprogressors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(6): 2709-14.
42. Fellay J, Shianna KV, Ge D, *et al.* A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science* 2007; 317(5840): 944-7.
43. Pereyra F, Jia X, McLaren PJ, *et al.* The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science* 2010; 330(6010): 1551-7.
44. Wende H, Colonna M, Ziegler A, Volz A. Organization of the leukocyte receptor cluster (LRC) on human chromosome 19q13.4. *Mamm Genome* 1999; 10(2): 154-60.
45. Trowsdale J, Barten R, Haude A, Stewart CA, Beck S, Wilson MJ. The genomic context of natural killer receptor extended gene families. *Immunol Rev* 2001; 181: 20-38.
46. Middleton D, Gonzelez F. The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology* 2010; 129(1): 8-19.
47. Long EO. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 875-904.
48. Watzl C, Stebbins CC, Long EO. NK cell inhibitory receptors prevent tyrosine phosphorylation of the activation receptor 2B4 (CD244). *J Immunol* 2000; 165(7): 3545-8.
49. Anfossi N, Andre P, Guia S, *et al.* Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I. *Immunity* 2006; 25(2): 331-42.
50. Joncker NT, Fernandez NC, Treiner E, Vivier E, Raulot DH. NK cell responsiveness is tuned commensurate with the number of inhibitory receptors for self-MHC class I: the rheostat model. *J Immunol* 2009; 182(8): 4572-80.
51. Kim S, Poursine-Laurent J, Truscott SM, *et al.* Licensing of natural killer cells by host major histocompatibility complex class I molecules. *Nature* 2005; 436(7051): 709-13.
52. Boudreau JE, Mulrooney TJ, Le Ludeuc JB, Barker E, Hsu KC. KIR3DL1 and HLA-B density and binding calibrate NK education and response to HIV. *J Immunol* 2016; 196(8): 3398-410.
53. Boudreau JE, Hsu KC. Natural killer cell education and the response to infection and cancer therapy: stay tuned. *Trends Immunol* 2018; 39(3): 222-39.
54. Raulot DH, Vance RE, McMahon CW. Regulation of the natural killer cell receptor repertoire. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 291-330.
55. Moesta AK, Norman PJ, Yawata M, Yawata N, Gleimer M, Parham P. Synergistic polymorphism at two positions distal to the ligand-binding site makes KIR2DL2 a stronger receptor for HLA-C than KIR2DL3. *J Immunol* 2008; 180(6): 3969-79.
56. Carr WH, Pando MJ, Parham P. KIR3DL1 polymorphisms that affect NK cell inhibition by HLA-Bw4 ligand. *J Immunol* 2005; 175(8): 5222-9.

57. Yu J, Heller G, Cheung J, Kim S, Yokoyama WM, Hsu KC. Hierarchy of the human natural killer cell response is determined by class and quantity of inhibitory receptors for self-HLA-B and HLA-C ligands. *J Immunol* 2007; 179(9): 5977-89.
58. Fernandez NC, Lozier A, Flament C, et al. Dendritic cells directly trigger NK cell functions: cross-talk relevant in innate anti-tumor immune responses *in vivo*. *Nat Med* 1999; 5(4): 405-11.
59. Carrington M, Norman P. *The KIR Gene Cluster* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2003. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10135/>.
60. Cella M, Longo A, Ferrara GB, Strominger JL, Colonna M. NK3-specific natural killer cells are selectively inhibited by Bw4-positive HLA alleles with isoleucine 80. *J Exp Med* 1994; 180(4): 1235-42.
61. Gumperz JE, Litwin V, Phillips JH, Lanier LL, Parham P. The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *J Exp Med* 1995; 181(3): 1133-44.
62. O'Connor DH, Allen TM, Vogel TU, et al. Acute phase cytotoxic T lymphocyte escape is a hallmark of simian immunodeficiency virus infection. *Nat Med* 2002; 8(5): 493-9.
63. Trundle A, Frebel H, Jones D, Chang C, Trowsdale J. Allelic expression patterns of KIR3DS1 and 3DL1 using the Z27 and DX9 antibodies. *Eur J Immunol* 2007; 37(3): 780-7.
64. Colonna M, Borsellino G, Falco M, Ferrara GB, Strominger JL. HLA-C is the inhibitory ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1- and NK2-specific natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(24): 12000-4.
65. Winter CC, Gumperz JE, Parham P, Long EO, Wagtmann N. Direct binding and functional transfer of NK cell inhibitory receptors reveal novel patterns of HLA-C allotype recognition. *J Immunol* 1998; 161(2): 571-7.
66. Moesta AK, Graef T, Abi-Rached L, Older Aguilar AM, Guethlein LA, Parham P. Humans differ from other hominids in lacking an activating NK cell receptor that recognizes the C1 epitope of MHC class I. *J Immunol* 2010; 185(7): 4233-7.
67. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 1998; 391(6669): 795-9.
68. Lee N, Llano M, Carretero M, et al. HLA-E is a major ligand for the natural killer inhibitory receptor CD94/NKG2A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(9): 5199-204.
69. Yawata M, Yawata N, Draghi M, Partheniou F, Little AM, Parham P. MHC class I-specific inhibitory receptors and their ligands structure diverse human NK-cell repertoires toward a balance of missing self-response. *Blood* 2008; 112(6): 2369-80.
70. Horowitz A, Djaoud Z, Nemat-Gorgani N, et al. Class I HLA haplotypes form two schools that educate NK cells in different ways. *Sci Immunol* 2016; 1(3): eaag1672.
71. Brodin P, Hoglund P. Beyond licensing and disarming: a quantitative view on NK-cell education. *Eur J Immunol* 2008; 38(11): 2934-7.
72. Boulet S, Kleyman M, Kim JY, et al. A combined genotype of KIR3DL1 high expressing alleles and HLA-B*57 is associated with a reduced risk of HIV infection. *AIDS* 2008; 22(12): 1487-91.
73. Kaslow RA, Carrington M, Apple R, et al. Influence of combinations of human major histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Nat Med* 1996; 2(4): 405-11.
74. Trachtenberg E, Korber B, Sollars C, et al. Advantage of rare HLA supertype in HIV disease progression. *Nat Med* 2003; 9(7): 928-35.
75. Boulet S, Song R, Kanya P, et al. HIV protective KIR3DL1 and HLA-B genotypes influence NK cell function following stimulation with HLA-devoid cells. *J Immunol* 2010; 184(4): 2057-64.
76. Kanya P, Boulet S, Tsoukas CM, et al. Receptor-ligand requirements for increased NK cell poly-functional potential in ^{*}h^{*}y+B57 HIV-1 infected Slow progressors. *J Virol* 2011; 85(12): 5949-60.
77. Alter G, Teigen N, Davis BT, et al. Sequential deregulation of NK cell subset distribution and function starting in acute HIV-1 infection. *Blood* 2005; 106(10): 3366-9.
78. Mavilio D, Lombardo G, Benjamin J, et al. Characterization of CD56-/CD16+ natural killer (NK) cells: a highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(8): 2886-91.
79. O'Connor GM, Holmes A, Mulcahy F, Gardiner CM. Natural Killer cells from long-term non-progressor HIV patients are characterized by altered phenotype and function. *Clin Immunol* 2007; 124(3): 277-83.
80. Parsons MS, Wren L, Isitman G, et al. HIV infection abrogates the functional advantage of natural killer cells educated through KIR3DL1/HLA-Bw4 interactions to mediate anti-HIV antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Virol* 2012; 86(8): 4488-95.
81. Vieillard V, Fausther-Bovendo H, Samri A, Debre P. Specific phenotypic and functional features of natural killer cells from HIV-infected long-term nonprogressors and HIV controllers. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 53(5): 564-73.
82. Song R, Lisovsky I, Lebouche B, Routy JP, Bruneau J, Bernard NF. HIV protective KIR3DL1/S1-HLA-B genotypes influence NK cell-mediated inhibition of HIV replication in autologous CD4 targets. *PLoS Pathog* 2014; 10(1): e1003867.
83. Cohen GB, Gandhi RT, Davis DM, et al. The selective downregulation of class I major histocompatibility complex proteins by HIV-1 protects HIV-infected cells from NK cells. *Immunity* 1999; 10(6): 661-71.
84. Apps R, Del Prete GQ, Chatterjee P, et al. HIV-1 Vpu mediates HLA-C downregulation. *Cell Host Microbe* 2016; 19(5): 686-95.
85. Oliva A, Kinter AL, Vaccarezza M, et al. Natural killer cells from human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals are an important source of CC-chemokines and suppress HIV-1 entry and replication *in vitro*. *J Clin Invest* 1998; 102(1): 223-31.
86. Bernard NF, Melendez-Pena C, Kanya P, et al. Natural killer cells from HIV infected slow progressors who carry the protective HLA-B*27 allele and inhibitory KIR3DL1 receptors have elevated poly-functional potential compared to Bw6 homozygotes. In : Aghdassi DA, ed. *HIV infection in the era of highly active antiretroviral treatment and some of its 194 associated*. London (UK): InTech, 2011, p. 1-22.
87. Parsons MS, Boulet S, Song R, et al. Mind the gap: lack of association between KIR3DL1*004/HLA-Bw4-induced natural killer cell function and protection from HIV infection. *J Infect Dis* 2010; 202(Suppl 3): S356-60.
88. Pando MJ, Gardiner CM, Gleimer M, McQueen KL, Parham P. The protein made from a common allele of KIR3DL1 (3DL1*004) is poorly expressed at cell surfaces due to substitution at positions 86 in Ig domain 0 and 182 in Ig domain 1. *J Immunol* 2003; 171(12): 6640-9.
89. Taner SB, Pando MJ, Roberts A, et al. Interactions of NK cell receptor KIR3DL1*004 with chaperones and conformation-specific antibody reveal a functional folded state as well as predominant intracellular retention. *J Immunol* 2011; 186(1): 62-72.
90. Kiani Z, Dupuy FP, Bruneau J, et al. The education of NK cells determines their responsiveness to autologous HIV-infected CD4 T cells. *J Virol* 2019; 93(23): e01185-1219.

- 91.** Corrah TW, Goonetilleke N, Kopycinski J, *et al.* Reappraisal of the relationship between the HIV-1-protective single-nucleotide polymorphism 35 kilobases upstream of the HLA-C gene and surface HLA-C expression. *J Virol* 2011 ; 85(7) : 3367-74.
- 92.** Leslie AJ, Pfafferoth KJ, Chetty P, *et al.* HIV evolution: CTL escape mutation and reversion after transmission. *Nat Med* 2004 ; 10(3) : 282-9.
- 93.** Kulpa DA, Collins KL. The emerging role of HLA-C in HIV-1 infection. *Immunology* 2011 ; 134(2) : 116-22.
- 94.** Zipeto D, Beretta A. HLA-C and HIV-1: friends or foes? *Retrovirology* 2012 ; 9 : 39.
- 95.** Fellay J, Ge D, Shianna KV, *et al.* Common genetic variation and the control of HIV-1 in humans. *PLoS Genet* 2009 ; 5(12) : e1000791.
- 96.** Thomas R, Apps R, Qi Y, *et al.* HLA-C cell surface expression and control of HIV/AIDS correlate with a variant upstream of HLA-C. *Nat Genet* 2009 ; 41(12) : 1290-4.
- 97.** Kulkarni S, Savan R, Qi Y, *et al.* Differential microRNA regulation of HLA-C expression and its association with HIV control. *Nature* 2011 ; 472(7344) : 495-8.
- 98.** Blais ME, Dong T, Rowland-Jones S. HLA-C as a mediator of natural killer and T-cell activation: spectator or key player? *Immunology* 2011 ; 133(1) : 1-7.
- 99.** Apps R, Qi Y, Carlson JM, *et al.* Influence of HLA-C expression level on HIV control. *Science* 2013 ; 340(6128) : 87-91.
- 100.** Malnati MS, Ugolotti E, Monti MC, *et al.* Activating killer immunoglobulin receptors and HLA-C: a successful combination providing HIV-1 control. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 42470.
- 101.** Fellay J, Shianna KV, Ge D, *et al.* A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science* 2007 ; 317(5840) : 944-7.
- 102.** Alter G, Martin MP, Teigen N, *et al.* Differential natural killer cell-mediated inhibition of HIV-1 replication based on distinct KIR/HLA subtypes. *J Exp Med* 2007 ; 204(12) : 3027-36.
- 103.** Qi Y, Martin MP, Gao X, *et al.* KIR/HLA pleiotropism: protection against both HIV and opportunistic infections. *PLoS Pathog* 2006 ; 2(8) : e79.
- 104.** Garcia-Beltran WF, Holzemer A, Martrus G, *et al.* Open conformers of HLA-F are high-affinity ligands of the activating NK-cell receptor KIR3DS1. *Nat Immunol* 2016 ; 17(9) : 1067-74.
- 105.** Gillespie GM, Bashirova A, Dong T, McVicar DW, Rowland-Jones SL, Carrington M. Lack of KIR3DS1 binding to MHC class I Bw4 tetramers in complex with CD8+ T cell epitopes. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007 ; 23(3) : 451-5.
- 106.** Tallon BJ, Bruneau J, Tsoukas CM, *et al.* Time to seroconversion in HIV-exposed subjects carrying protective versus non protective KIR3DS1/L1 and HLA-B genotypes. *PLoS One* 2014 ; 9(10) : e110480.
- 107.** O'Connor GM, Vivian JP, Gostick E, *et al.* Peptide-dependent recognition of HLA-B*57:01 by KIR3DS1. *J Virol* 2015 ; 89(10) : 5213-21.
- 108.** Kiani Z, Dupuy FP, Bruneau J, *et al.* HLA-F on HLA-Null 721.221 cells activates primary NK cells expressing the activating killer Ig-like receptor KIR3DS1. *J Immunol* 2018 ; 201(1) : 113-23.
- 109.** Kiani Z, Bruneau J, Geraghty DE, Bernard NF. HLA-F on autologous HIV-infected cells activates primary NK cells expressing the activating killer immunoglobulin-like receptor KIR3DS1. *J Virol* 2019 ; 93(18) : e00933.
- 110.** Bonaparte MI, Barker E. Killing of human immunodeficiency virus-infected primary T-cell blasts by autologous natural killer cells is dependent on the ability of the virus to alter the expression of major histocompatibility complex class I molecules. *Blood* 2004 ; 104(7) : 2087-94.
- 111.** Maldarelli F. The role of HIV integration in viral persistence: no more whistling past the proviral graveyard. *J Clin Invest* 2016 ; 126(2) : 438-47.
- 112.** Marras F, Casabianca A, Bozzano F, *et al.* Control of the HIV-1 DNA reservoir is associated *in vivo* and *in vitro* with NKp46/NKp30 (CD335/CD337) inducibility and interferon gamma production by transcriptionally unique NK cells. *J Virol* 2017 ; 91(23) : e00647-717.
- 113.** Pohlmeier CW, Gonzalez VD, Irrinki A, *et al.* Identification of NK cell subpopulations that differentiate HIV-infected subject cohorts with diverse levels of virus control. *J Virol* 2019 ; 93(7) : e01790-1818.
- 114.** Bruhns P, Iannascoli B, England P, *et al.* Specificity and affinity of human Fc gamma receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood* 2009 ; 113(16) : 3716-25.
- 115.** Shields RL, Lai J, Keck R, *et al.* Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc gamma RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J Biol Chem* 2002 ; 277(30) : 26733-40.
- 116.** Anand SP, Ding S, Tolbert WD, *et al.* Enhanced ability of plant-derived PGT121 glycovariants to eliminate HIV-1-infected cells. *J Virol* 2021 ; 95(18) : e0079621.
- 117.** Ravetch JV, Perussia B. Alternative membrane forms of Fc gamma RIII(CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med* 1989 ; 170(2) : 481-97.
- 118.** Wu J, Edberg JC, Redecha PB, *et al.* A novel polymorphism of Fc gamma RIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest* 1997 ; 100(5) : 1059-70.
- 119.** Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2003 ; 21(21) : 3940-7.
- 120.** Checkley MA, Luttge BG, Freed EO. HIV-1 envelope glycoprotein biosynthesis, trafficking, and incorporation. *J Mol Biol* 2011 ; 410(4) : 582-608.
- 121.** Alsulami K, Bolastig N, Dupuy FP, *et al.* Influence of NKG2C genotypes on HIV susceptibility and viral load set point. *J Virol* 2021 ; 95(16) : e0041721.
- 122.** Kant S, Zhang N, Barbe A, *et al.* Polyfunctional Fc dependent activity of antibodies to native trimeric envelope in HIV elite controllers. *Front Immunol* 2020 ; 11 : 583820.
- 123.** Richard J, Veillette M, Batrville LA, *et al.* Flow cytometry-based assay to study HIV-1 gp120 specific antibody-dependent cellular cytotoxicity responses. *J Virol Methods* 2014 ; 208 : 107-14.
- 124.** Veillette M, Desormeaux A, Medjahed H, *et al.* Interaction with cellular CD4 exposes HIV-1 envelope epitopes targeted by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *J Virol* 2014 ; 88(5) : 2633-44.
- 125.** Yates NL, Liao HX, Fong Y, *et al.* Vaccine-induced Env V1-V2 IgG3 correlates with lower HIV-1 infection risk and declines soon after vaccination. *Sci Transl Med* 2014 ; 6(228) : 228ra39.
- 126.** Ackerman ME, Mikhailova A, Brown EP, *et al.* Polyfunctional HIV-specific antibody responses are associated with spontaneous HIV control. *PLoS Pathog* 2016 ; 12(1) : e1005315.
- 127.** Gómez-Román VR, Florese RH, Peng B, *et al.* An adenovirus-based HIV subtype B prime/boost vaccine regimen elicits antibodies mediating broad antibody-dependent cellular cytotoxicity against non-subtype B HIV strains. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006 ; 43(3) : 270-7.

- 128.** Guan Y, Sajadi MM, Kamin-Lewis R, *et al.* Discordant memory B cell and circulating anti-Env antibody responses in HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106(10): 3952-7.
- 129.** Milligan C, Richardson BA, John-Stewart G, Nduati R, Overbaugh J. Passively acquired antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) activity in HIV-infected infants is associated with reduced mortality. *Cell Host Microbe* 2015; 17(4): 500-6.
- 130.** Lambotte O, Ferrari G, Moog C, *et al.* Heterogeneous neutralizing antibody and antibody-dependent cell cytotoxicity responses in HIV-1 elite controllers. *AIDS* 2009; 23(8): 897-906.
- 131.** Madhavi V, Wines BD, Amin J, *et al.* HIV-1 Env- and Vpu-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity responses associated with elite control of HIV. *J Virol* 2017; 91(18): e00700-717.
- 132.** Williams KL, Cortez V, Dings AS, *et al.* HIV-specific CD4-induced antibodies mediate broad and potent antibody-dependent cellular cytotoxicity activity and are commonly detected in plasma from HIV-infected humans. *EBioMedicine* 2015; 2(10): 1464-77.
- 133.** Trkola A, Matthews J, Gordon C, Ketas T, Moore JP. A cell line-based neutralization assay for primary human immunodeficiency virus type 1 isolates that use either the CCR5 or the CXCR4 coreceptor. *J Virol* 1999; 73(11): 8966-74.
- 134.** Trkola A, Dragic T, Arthos J, *et al.* CD4-dependent, antibody-sensitive interactions between HIV-1 and its co-receptor CCR-5. *Nature* 1996; 384(6605): 184-7.
- 135.** Howell DN, Andreotti PE, Dawson JR, Cresswell P. Natural killing target antigens as inducers of interferon: studies with an immunoselected, natural killing-resistant human T lymphoblastoid cell line. *J Immunol* 1985; 134(2): 971-6.
- 136.** von Bredow B, Arias JF, Heyer LN, *et al.* Comparison of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity and virus neutralization by HIV-1 Env-specific monoclonal antibodies. *J Virol* 2016; 90(13): 6127-39.
- 137.** Bruel T, Guivel-Benhassine F, Lorin V, *et al.* Lack of ADCC breadth of human nonneutralizing anti-HIV-1 antibodies. *J Virol* 2017; 91(8): e02440-2516.
- 138.** Bruel T, Guivel-Benhassine F, Amraoui S, *et al.* Elimination of HIV-1-infected cells by broadly neutralizing antibodies. *Nat Commun* 2016; 7: 10844.
- 139.** Dupuy FP, Kant S, Barbe A, *et al.* Antibody-dependent cellular cytotoxicity-competent antibodies against HIV-1-infected cells in plasma from HIV-infected subjects. *mBio* 2019; 10(6): e02690-2719.
- 140.** Richard J, Prevost J, Baxter A E, *et al.* Uninfected bystander cells impact the measurement of HIV-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity responses. *mBio* 2018; 9(2): e00358-418.
- 141.** Nagel L, Kant S, Leeks C, *et al.* Evolution of antibodies to native trimeric envelope and their Fc-dependent functions in untreated and treated primary HIV infection. *J Virol* 2021; 95(24): e0162521.
- 142.** Gomez-Roman VR, Florese RH, Patterson LJ, *et al.* A simplified method for the rapid fluorometric assessment of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol Methods* 2006; 308(1-2): 53-67.
- 143.** Kramski M, Schorcht A, Johnston AP, *et al.* Role of monocytes in mediating HIV-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Immunol Methods* 2012; 384(1-2): 51-61.
- 144.** Pollara J, Hart L, Brewer F, *et al.* High-throughput quantitative analysis of HIV-1 and SIV-specific ADCC-mediating antibody responses. *Cytometry A* 2011; 79(8): 603-12.
- 145.** Richard J, Prevost J, von Bredow B, *et al.* BST-2 expression modulates small CD4-mimetic sensitization of HIV-1-infected cells to antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Virol* 2017; 91(11): e00219-317.
- 146.** Edmonds TG, Ding H, Yuan X, *et al.* Replication competent molecular clones of HIV-1 expressing Renilla luciferase facilitate the analysis of antibody inhibition in PBMC. *Virology* 2010; 408(1): 1-13.
- 147.** Alberti MO, Jones JJ, Miglietta R, *et al.* Optimized replicating renilla luciferase reporter HIV-1 utilizing novel internal ribosome entry site elements for native nef expression and function. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2015; 31(12): 1278-96.
- 148.** Huang Y, Ferrari G, Alter G, *et al.* Diversity of antiviral IgG effector activities observed in HIV-infected and vaccinated subjects. *J Immunol* 2016; 197(12): 4603-12.
- 149.** Chung AW, Navis M, Isitman G, *et al.* Activation of NK cells by ADCC antibodies and HIV disease progression. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011; 58(2): 127-31.
- 150.** Lambotte O, Pollara J, Boufassa F, *et al.* High antibody-dependent cellular cytotoxicity responses are correlated with strong CD8 T cell viral suppressive activity but not with B57 status in HIV-1 elite controllers. *PLoS One* 2013; 8(9): e74855.
- 151.** Kant S, Zhang N, Routy JP, *et al.* Quantifying anti-HIV envelope-specific antibodies in plasma from HIV infected individuals. *Viruses* 2019; 11(6): 487.
- 152.** Ahmad R, Sindhu ST, Toma E, *et al.* Evidence for a correlation between antibody-dependent cellular cytotoxicity-mediating anti-HIV-1 antibodies and prognostic predictors of HIV infection. *J Clin Immunol* 2001; 21(3): 227-33.
- 153.** Gondois-Rey F, Cheret A, Granjeaud S, *et al.* NKG2C+ memory-like NK cells contribute to the control of HIV viremia during primary infection: optiprim-ANRS 147. *Clin Transl Immunology* 2017; 6(7): e150.
- 154.** Chen X, Lin M, Qian S, *et al.* The early antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity response is associated with lower viral set point in individuals with primary HIV infection. *Front Immunol* 2018; 9: 2322.
- 155.** Tiemessen CT, Shalekoff S, Meddows-Taylor S, *et al.* Natural killer cells that respond to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) peptides are associated with control of HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2010; 202(9): 1444-53.
- 156.** Alter G, Dowell KG, Brown EP, *et al.* High-resolution definition of humoral immune response correlates of effective immunity against HIV. *Mol Syst Biol* 2018; 14(3): e7881.
- 157.** Lisovsky I, Kant S, Tremblay-McLean A, *et al.* Differential contribution of education through KIR2DL1, KIR2DL3 and KIR3DL1 to antibody-dependent (AD) NK cell activation and ADCC. *J Leukoc Biol* 2019; 105(3): 551-63.
- 158.** Isitman G, Lisovsky I, Tremblay-McLean A, *et al.* Natural killer cell education does not affect the magnitude of granzyme B delivery to target cells by antibody-dependent cellular cytotoxicity. *AIDS* 2015; 29(12): 1433-43.
- 159.** Bernard NF, Kiani Z, Tremblay-McLean A, Kant SA, Leeks CE, Dupuy FP. Natural killer (NK) cell education differentially influences HIV antibody-dependent NK cell activation and antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Front Immunol* 2017; 8: 1033.
- 160.** Moir S, Fauci AS. B cells in HIV infection and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9(4): 235-45.
- 161.** Buckner CM, Kardava L, Zhang X, *et al.* Maintenance of HIV-specific memory B-cell responses in elite controllers despite low viral burdens. *J Infect Dis* 2016; 214(3): 390-8.
- 162.** Bussmann BM, Reiche S, Bieniek B, Krznaric I, Ackermann F, Jassoy C. Loss of HIV-specific memory B-cells as a potential mechanism for the dysfunction of the humoral immune response against HIV. *Virology* 2010; 397(1): 7-13.