

## **IDENTIFICATION D'UN NOUVEL ÉPITOPE VIRAL RESPONSABLE DE LA SYNTHÈSE D'ANTICORPS ANTI-VIH PROTECTEURS CHEZ LES PERSONNES ASYMPTOMATIQUES (\*)**

**P. GALÉA, F. SILVY, E. DORIA, J.-C. CHERMANN** <sup>(1)</sup>

*Alors que la vaccination classique se heurte dans le cas du VIH à la variabilité de l'enveloppe virale, nous avons étudié comme concept vaccinal anti-VIH les composants présents à la surface du virus et qui ne varient pas, à savoir les protéines d'origine cellulaire et plus particulièrement la  $\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2m). A partir de la séquence de la  $\beta$ 2m, nous avons identifié R7V comme un nouvel épitope qui est présent à la surface de tous les isolats VIH indépendamment de leur génotype, phénotype ou tropisme (c.a.d. indépendamment de la variabilité des glycoprotéines d'enveloppe). Cet épitope est immunogène et des anticorps (Ac) spécifiques existent in vivo chez les patients non-progressseurs ou peuvent être induits par immunisation chez les lapins. Ces Ac anti-R7V humains ou de lapin ont une activité neutralisante sur tous les isolats testés quel que soit leur génotype ou tropisme ; la présence de ces Ac chez les patients VIH positif est étroitement associée à la non-progression. Pour l'ensemble de ces raisons, R7V représente un candidat intéressant et prometteur comme base vaccinale anti-VIH.*

---

(\*) *Manuscrit reçu le 22 Décembre 1998*

(1) *INSERM U 322, "Rétrovirus et Maladies Associées", Université de la Méditerranée, Campus de Luminy, BP33, 13009 Marseille  
E.mail : u322@inserm-u322.univ-mrs.fr*

## INTRODUCTION

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est encore de nos jours un problème majeur de santé publique. Bien que les nouvelles thérapies médicamenteuses aient montré une efficacité certaine pour diminuer la charge virale, aucun traitement préventif ou curatif n'est actuellement disponible. Cependant, l'existence d'un groupe de personnes séropositives depuis plus de 10 à 15 ans qui n'évolue pas dans la maladie (patients non progresseurs-NP- ou survivants à long terme) indique que le développement d'une résistance efficace au VIH est possible. La compréhension de ces mécanismes de résistance est d'une importance majeure pour l'élaboration de nouveaux traitements et en particulier pour la réalisation d'un vaccin.

De nombreuses études ont tenté de comprendre les différences existant entre les groupes progresseurs et les groupes résistants au VIH. Des marqueurs biologiques de la progression tels que des taux élevés de  $\beta 2m$  circulante, de néoptérine ou de récepteurs solubles à IL2 ont été décrits [1-3]. Nous avons par ailleurs mis en évidence récemment que les molécules solubles d'adhésion constituaient des marqueurs biologiques pour le suivi de l'infection au VIH [4].

Sur le plan immunologique, nous savons que les patients NP développent une forte réponse immunitaire anti-VIH tant cellulaire qu'humorale [5]. Une forte activité cytolytique de type CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) dirigée contre la protéine *env* du VIH a été décrite chez les patients NP, ayant comme conséquence l'élimination rapide des cellules infectées [6]. Concernant les réponses humorales, la présence d'anticorps neutralisants ayant un large spectre anti-VIH a été décrite chez les patients NP [5-7]. Des immunothérapies passives avec des sérums de NP ont permis de retarder la progression des patients receveurs [8]. Ces données indiquent qu'il existe dans le sérum de certains patients des anticorps qui peuvent jouer un

rôle efficace dans la lutte contre le VIH. Cependant, la spécificité de ces anticorps reste à identifier.

Parmi les protéines virales, la glycoprotéine d'enveloppe gp120 représente la région immunodominante chez les patients contaminés par le VIH ainsi que chez les animaux infectés expérimentalement [9,10]. Bien qu'une très forte activité *anti-env* soit observée, aucune corrélation avec la protection n'a pu être mise en évidence [11,12]. *In vitro*, les anticorps monoclonaux (AcMo) dirigés contre la gp120 sont capables de neutraliser efficacement les souches VIH de laboratoire mais pas les primo-isolats [13]. Cependant, il faut noter que trois anticorps recombinants humains (HuMab) dérivés à partir de patients infectés par un sous-type B et dirigés contre *env* se sont montrés efficaces pour la neutralisation de primo-isolats de différentes clades [14-16]. Malheureusement, la recherche d'anticorps sériques mimant la spécificité des HuMab a été négative, indiquant que les épitopes reconnus par les HuMabs sont peu immunogènes *in vivo* [16-17]. Ces résultats sont cependant encourageants car ils indiquent la possibilité de dériver des HuMab protecteurs directement à partir des cellules de patients, renforçant le fait qu'une défense immunitaire efficace contre le virus existe potentiellement *in vivo*.

Jusqu'à présent la vaccination classique, qui consiste à cibler l'enveloppe d'un virus pour induire un état protecteur, s'est soldée dans le cas du VIH par un échec du fait de la très grande variabilité des protéines d'enveloppe gp120 ou gp160 ; en effet, non seulement le virus VIH est différent d'un individu à l'autre, mais aussi chez un même individu, le virus diffère en fonction du stade suivant la séroconversion, de la maladie et des traitements anti-rétroviraux.

Il faudrait donc, pour une vaccination anti-VIH efficace, cibler une structure qui soit commune à tous les isolats VIH, qui reste constante quel que soit le génotype ou le phénotype des différents isolats viraux et qui soit immunogène chez l'homme.

Notre recherche s'est orientée depuis plusieurs années dans cette voie et nous avons étudié les composants présents à la surface du VIH et qui ne varient pas, à savoir les protéines d'origine cellulaire.

Parmi les protéines présentes à la surface du VIH, il y a les protéines codées par le génome viral mais aussi des protéines d'origine cellulaire parmi

lesquelles les molécules HLA de classe I et II, la  $\beta 2$  microglobuline, des molécules d'adhésion ainsi que les protéines de contrôle du complément [18-20]. Ces protéines codées par la cellule cible sont emportées par le virus lors de son bourgeonnement hors de la cellule ; elles deviennent des constituants intrinsèques de l'enveloppe virale [21]. L'acquisition de ces molécules n'est pas un phénomène aléatoire et ces protéines d'origine cellulaire restent fonctionnelles à la surface du virion [22] : elles favorisent ses interactions avec les cellules cibles et le protègent contre la lyse par le complément. Cependant, si ces protéines d'origine cellulaire peuvent favoriser le pouvoir infectieux du virus, elles peuvent aussi constituer son talon d'Achille.

En effet, des expériences réalisées en 1991 ont montré que l'immunisation de macaques avec des cellules humaines saines pouvaient les protéger contre l'infection ultérieure par une souche VIS (virus de l'immunodéficience des singes) agressive ayant été produite en cellule humaine, protection acquise par les alloanticorps dirigés contre les constituants cellulaires portés par le virus [23,24]. Ces expériences montrent tout l'intérêt d'utiliser les protéines d'origine cellulaire présentes à la surface du virus comme cible potentielle dans une stratégie anti-VIH.

Parmi ces protéines d'origine cellulaire emportées par le virus, nous nous sommes particulièrement intéressés à la  $\beta 2$  microglobuline ( $\beta 2m$ ), et ceci pour trois raisons majeures :

1/ la  $\beta 2m$  est exprimée à la surface de toutes les cellules de l'organisme et à plus forte raison elle sera présente sur les cellules cibles du virus ; elle sera donc emportée par tous les isolats VIH quel que soit leur tropisme ;

2/ la  $\beta 2m$  est une protéine très conservée, évitant ainsi, dans le cadre d'une large protection, les problèmes liés à la variabilité des glycoprotéines d'enveloppe virales ;

3/ enfin, la  $\beta 2m$  acquise par le virus est en majorité non associée à la chaîne lourde HLA Class I et fait partie intégrante de la membrane virale [18] ; ceci suggère que la  $\beta 2m$  associée au virus est présentée différemment de la  $\beta 2m$  cellulaire exposant de nouveaux antigènes susceptibles d'être reconnus par le système immunitaire (*figure 1*).

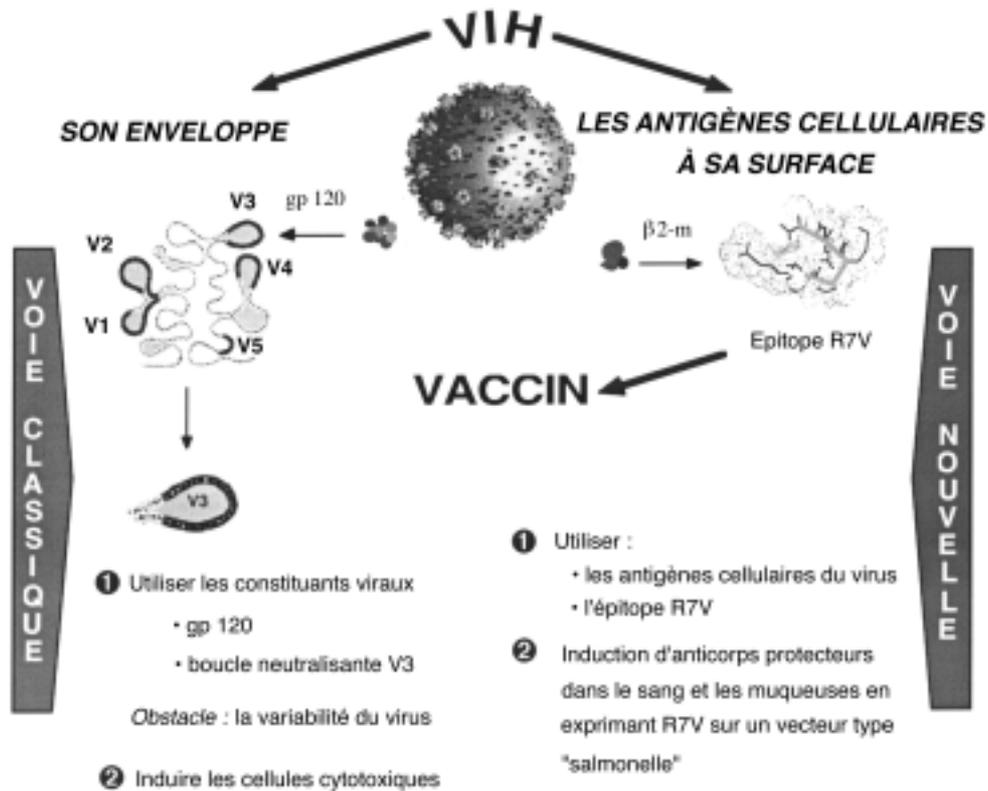


Fig. 1 : Nouvelles voies anti-VIH en immunothérapie

## RÉSULTATS

Les premières études que nous avons menées *in vitro* ont montré que certains AcMo dirigés contre la  $\beta$ 2m interféraient avec le cycle de réplication du VIH dans les lymphocytes du sang périphérique ainsi que dans la lignée T MT4 [25,26]. Ces anticorps anti- $\beta$ 2m étaient capables de précipiter les souches VIH de laboratoire, attestant de la présence de la  $\beta$ 2m à leur surface [18].

Plus récemment, nous avons montré que des primo-isolats de types différents (obtenus à partir de patients ou provenant du panel international [27]) et des souches de laboratoire génétiquement éloignées [LAV (souche B), NDK (souche D) et PAR (macrophage tropique)] pouvaient être neutralisés

après traitement par l'AcMo anti- $\beta$ 2m B1G6 mais pas par l'AcMo contrôle C21.48 dirigé contre un autre épitope de la  $\beta$ 2m [28]. Ces résultats montrent que l'épitope reconnu par B1G6 est présent à la surface de souches virales génotypiquement et phénotypiquement différentes et que cibler cet épitope peut être pertinent pour neutraliser l'infection virale. Par des expériences de levée de neutralisation avec des peptides déduits de la séquence en acides aminés de la  $\beta$ 2m, nous avons identifié un peptide de 7 aa appelé R7V (dont la séquence est RTPKIQV) qui réverse l'action neutralisante des anticorps anti- $\beta$ 2m et qui constitue l'épitope présenté par les différents isolats [28].

A partir des résultats obtenus *in vitro*, nous avons recherché la réalité biologique de l'épitope R7V *in vivo*, à savoir l'identification d'anticorps spécifiquement dirigés contre R7V (Ac R7V) dans le sérum des patients VIH[+] et leur caractérisation fonctionnelle.

***1/ Il existe des Ac R7V chez les patients VIH[+] et leur présence est associée au groupe non-progresseur [29,30].***

En utilisant un test ELISA que nous avons développé au laboratoire, nous avons mis en évidence que 54 % des patients VIH[+] (n = 236) avaient des Ac R7V contre 22 % dans la population contrôle de donneurs de sang (n = 270). La présence d'Ac R7V a été mise en évidence dans tous les groupes ethniques testés à savoir africain, européen, américain (nord et sud) et asiatique.

Lorsque nous nous sommes intéressés à la distribution des Ac R7V en fonction du statut clinique des patients (défini selon la classification 1992 du CDC [31]), nous avons montré que la distribution était non aléatoire et fortement associée au groupe de patients non-progresseurs (NP) : 70 % des patients NP (n = 94) contre 35 % des patients progresseurs (n = 142) ont des Ac R7V.

Ainsi, nos résultats montrent que l'épitope R7V est une réalité biologique *in vivo* :

- Il est reconnu par des anticorps existant chez les patients VIH[+], indiquant qu'il est immunogène chez l'Homme ;
- La présence de ces Ac R7V *in vivo* peut servir de marqueur de non-progression.

Cependant, dans le cadre d'une hypothèse vaccinale, la question importante est de définir si les Ac R7V détectés *in vivo* sont directement impliqués dans la reconnaissance et la neutralisation du VIH.

**2/ Les Ac R7V purifiés immunoprécipitent des souches VIH génétiquement différentes [30,32].**

A partir des sérums de patients NP riches en Ac R7V, nous avons purifié sur colonne d'immunoaffinité les IgG anti-R7V. La capacité des IgG anti-R7V purifiées à reconnaître R7V a été vérifiée par ELISA. Les Ac R7V purifiés ont ensuite été utilisés pour immunoprécipiter les virus.

La précipitation des souches virales a été faite en incubant les virus avec les Ac R7V humains purifiés ou avec en contrôle les IgG totales provenant d'un donneur de sang, la concentration utilisée étant de 10 µg/ml. Les complexes immuns formés sont capturés avec de la protéine A ou par des anticorps anti-Fc d'IgG immobilisés. La présence du virus dans ces immuns complexes est mesurée par dosage de la p24 et par RT-PCR.

La *figure 2* montre que les primo-isolats de clades différents (A à F) et les souches de laboratoire VIH-LAV (souche B) et VIH-NDK (souche D) sont immunoprécipités en corrélation avec la concentration en IgG anti-R7V humaines purifiées mais non avec celle des IgG du contrôle séronégatif [34]. Les Ac R7V précipitent bien du virus mature et entier comme l'atteste la présence conjointe dans les immuns complexes d'ARN viral mesuré par RT-PCR et de p24 dosée par ELISA.

Les Ac R7V purifiés ne reconnaissent pas les cellules humaines comme démontré par cytométrie en flux, excluant toute réaction de type auto-immune.

L'ensemble des résultats obtenus par immunoprécipitation ont montré que :

- l'épitope R7V est un motif commun, présenté à la surface de souches VIH génétiquement divergentes .
- qu'il est accessible à la surface de tous les virus pour des anticorps spécifiques présents *in vivo* chez les patients NP.
- qu'il est spécifiquement exprimé sur le virus et non sur les cellules humaines.

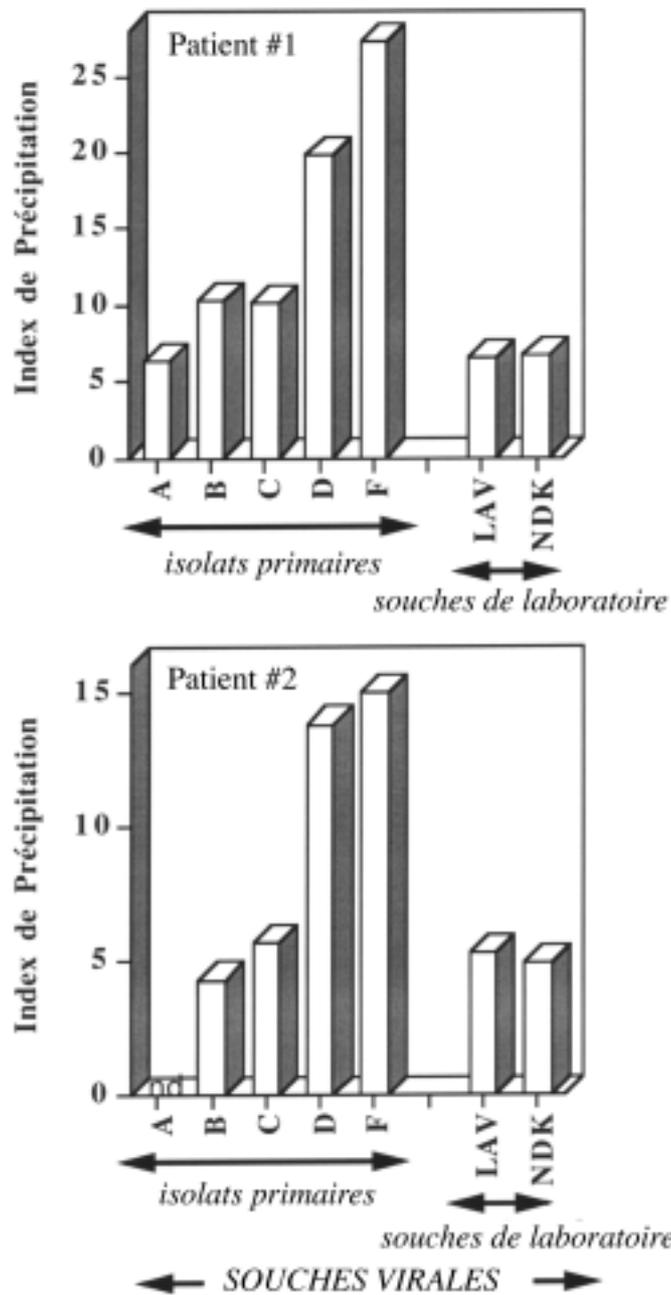


Fig. 2 : Les Ac R7V purifiés humains reconnaissent un motif commun à tous les isolats VIH quel que soit leur génotype

$$\text{Index de précipitation} = \frac{\text{Quantité de p24 précipitée en présence d'Ac R7V humain}}{\text{Quantité de p24 précipitée en présence d'IgG non spécifiques}}$$

### 3/ Les Ac R7V purifiés humains neutralisent des souches virales génétiquement différentes [32].

Les expériences de neutralisation ont été réalisées en préincubant les différentes souches virales (100 TCID<sub>50</sub>) avec 10 µg/ml d'IgG anti-R7V humaines avant d'ajouter le mélange sur des PBL (1 × 10<sup>6</sup>) de personne non infectée. La sortie de virus a été suivie deux fois par semaine par le dosage de la reverse transcriptase dans les surnageants de culture.

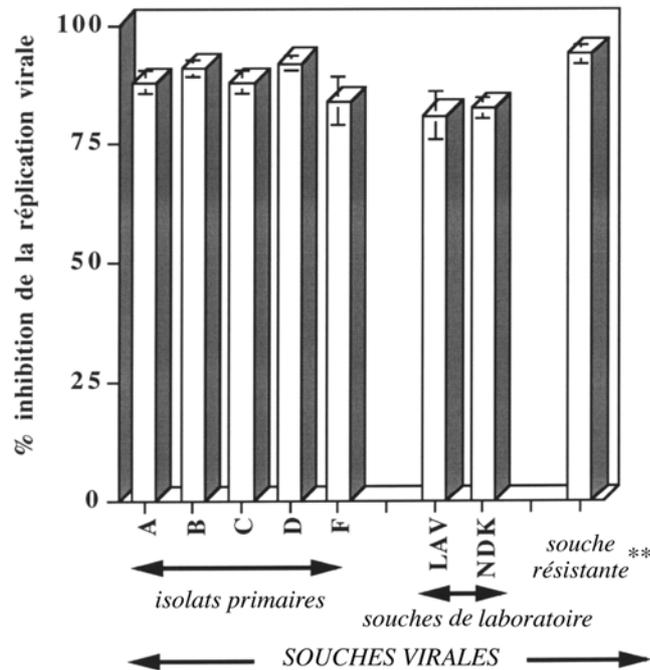


Fig. 3 : Les Ac R7V purifiés humains neutralisent tous les isolats VIH quel que soit leur génotype

La réplication du VIH dans les PBL est suivie par la mesure de l'activité de la transcriptase inverse (cpm / ml). Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen d'inhibition de la réplication calculé au 7<sup>e</sup> jour après l'infection ± s d (n = 4 patients sources d'anticorps).

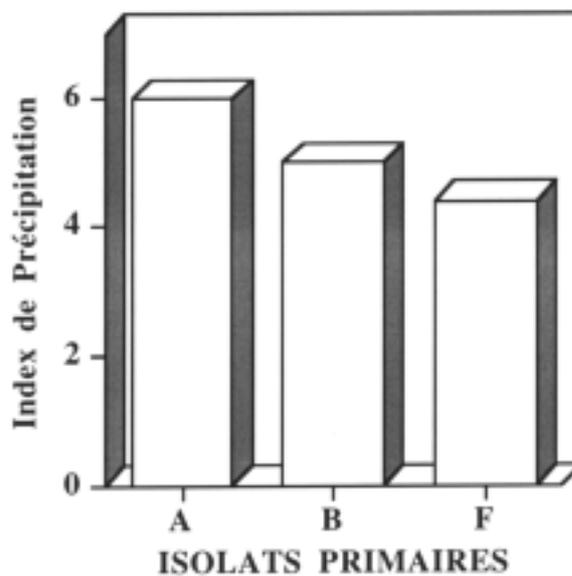
$$\% \text{ inhibition} = \frac{\left( \begin{array}{c} \text{Réplication} \\ \text{en présence des Ac R7V} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{Réplication} \\ \text{en présence d'IgG totales non spécifiques} \end{array} \right)}{\text{Réplication en présence d'IgG totales non spécifiques}} \times 100$$

\*\* : La souche utilisée est HIV1-RTMDR1 résistante à l'AZT, la ddI, la névirapine et autre inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse.

Les IgG anti-R7V purifiées humaines neutralisent les souches de laboratoire LAV et NDK par plus de 80 % d'inhibition (*figure 3*), les primoisolats de sous-types divergents par plus de 80% d'inhibition, et ceci quel que soit le patient source d'Ac R7V. D'autre part, nous avons montré que les anticorps anti-R7V humains neutralisaient également la souche virale résistante aux antiviraux (AZT, ddI, ddC) par plus de 90 % inhibition.

Ces expériences de neutralisation montrent que les anticorps anti-R7V humains bloquent l'infection VIH indépendamment du génotype viral et que le facteur de neutralisation est une immunoglobuline, isolée à partir du sérum de patient NP. D'autre part, la neutralisation des souches virales résistantes aux antiviraux justifie l'utilisation des anticorps anti-R7V dans un essai d'immunothérapie passive chez les patients non répondeurs aux thérapies antivirales combinées.

***4/ R7V est immunogène chez le Lapin et les anticorps générés sont neutralisants***



*Fig. 4 : Les Ac R7V purifiés à partir de sérums de lapins immunisés précipitent des isolats VIH génotypiquement différents.*

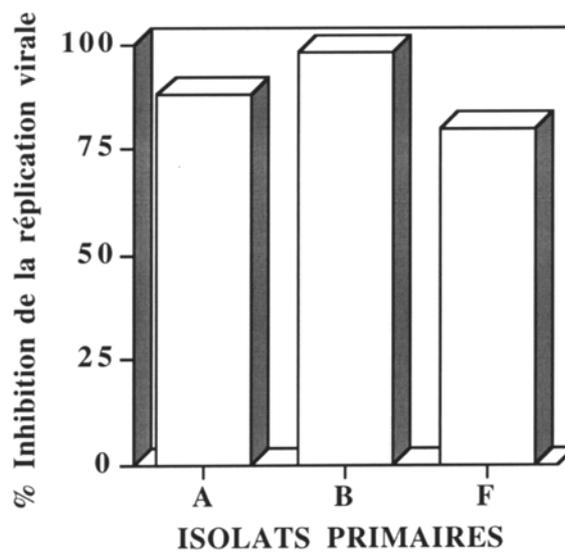
$$\text{Index de Précipitation} = \frac{\text{Quantité de p24 précipitée en présence d'Ac R7V de Lapin}}{\text{Quantité de p24 précipitée en présence d'IgG non spécifiques}}$$

Des lapins *New Zealand* ont été immunisés avec R7V couplé à la KLH, immunisation réalisée par Néosystem (Strasbourg). Le dosage par ELISA des Ac R7V générés par l'immunisation montre des titres sériques supérieurs au 1:128000 indiquant que R7V est bien immunogène *in vivo*.

De façon à tester l'activité fonctionnelle des Ac R7V générés par immunisation des lapins, les Ac R7V de Lapin ont été purifiés sur colonne d'immunoaffinité comme déjà décrit pour l'humain, puis utilisés en test de précipitation et neutralisation virale.

La *figure 4* met en évidence que les Ac R7V purifiés de Lapin à 100 µg/ml précipitent les différentes souches de VIH démontrant que les Ac R7V induits par immunisation reconnaissent les virus indépendamment de leur génotype.

Quand ils sont testés en neutralisation (*figure 5*), les Ac R7V purifiés de Lapin protègent les cellules contre l'infection par les souches divergentes VIH (neutralisation > 75 %) indiquant leur large spectre neutralisant, comme déjà observé avec les Ac R7V purifiés humains.



*Fig. 5 : Les Ac R7V purifiés à partir de sérums de lapins immunisés neutralisent des isolats VIH génotypiquement différents*

La réplication du VIH dans les PBL est suivie par la mesure de l'activité de la transcriptase inverse (cpm/ml). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la réplication calculé au 7<sup>e</sup> jour après l'infection.

Les résultats obtenus chez le Lapin montrent que le peptide R7V est immunogène lorsqu'il est injecté *in vivo* et que les Ac R7V générés par immunisation ont le même potentiel de reconnaissance et de neutralisation que les Ac R7V présent dans le sérum des patients NP infectés par le VIH.

## CONCLUSION

Nous avons identifié R7V comme un nouvel épitope présenté à la surface de tous les isolats VIH génotypiquement et phénotypiquement différents ; cet épitope commun à tous les isolats est immunogène et des anticorps spécifiques existent *in vivo* chez les patients NP ou peuvent être induits par immunisation chez les lapins. Ces Ac ont une activité neutralisante sur tous les isolats testés quel que soit leur génotype et leur tropisme. Enfin, la présence de ces Ac R7V chez les patients VIH positif est étroitement associée à la non-progression.

Pour l'ensemble de ces raisons, R7V représente un candidat prometteur sérieux comme base vaccinale anti-VIH.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Honda (M.), Kitamura (K.), Mizutani (Y.), Oishi (M.), Arai (M.), Okura (T.), Igarahi (K.), Yasukawa (K.), Hirano (T.), Kishimoto (T.), Mitsuyasu (R.), Chermann (J.-C.), Tokunaga (T.) - Quantitative analysis of serum IL-6 and its correlation with increased levels of serum IL-2R in HIV-induced diseases. - *J. Immunol.*, 1990, **145**, 4059-4064.

- 2 - Lifson (A.R.), Hessel (N.A.), Buchbinder (S.P.), O'Malley (P.M.), Barnhart (L.), Segal (M.), Katz (M.H.), Holmberg (S.D.) - Serum  $\beta$ 2-microglobulin and prediction of progression to AIDS in HIV infection. - *Lancet*, 1992, **339**, 1436-1440.
- 3 - Fahey (J.L.), Taylor (J.M.G.), Detels (R.), Hofmann (B.), Melmed (R.), Nishanian (P.), Giorgi (J.V.) - The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type I. - *N. Engl. J. Med.* 1990, **322**, 166-172.
- 4 - Gal ea (P.), Vermot-Desroches (C.), Le Contel (C.), Widjenes (J.), Chermann (J.-C.) - Circulating cell adhesion molecules in HIV-1 infected patients as indicator markers for AIDS progression. - *Res. Immunol.*, 1997, **148**, 109-117.
- 5 - Cao (Y.), Qin (L.), Zhang (L.), Safrit (J.), Ho (D.D.) - Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. - *N. Engl. J. Med.*, 1995, **332**, 201-208.
- 6 - Pantaleo (G.), Menzo (S.), Vaccarezza (M.), Graziosi (C.), Cohen (O.J.), Demarest (J.F.), Montefiori (D.), Orenstein (J.M.), Fox (C.), Schrager (L.K.), Margolick (J.B.), Buchbinder (S.), Giorgi (J.V.), Fauci (A.S.) - Studies in subjects with long-term nonprogressive human immunodeficiency virus infection. - *N. Engl. J. Med.*, 1995, **332**, 209-216.
- 7 - Haynes (B.F.), Pantaleo (G.), Fauci (A.S.) - Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. - *Science*, 1996, **271**, 324-328.
- 8 - Vittecoq (D.), Chevret (S.), Morand-Joubert (L.), Heshmati (F.), Audat (F.), Bary (M.), Dusautoir (T.), Bismuth (A.), Viard (J.-P.), Barr e-Sinoussi (F.), Bach (J.-F.), Lefr ere (J.-J.) - Passive immunotherapy in AIDS : A double-blind randomized study based on transfusions of plasma rich in anti-human immunodeficiency virus 1 antibodies vs. transfusions of seronegative plasma. - *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995, **92**, 1195-1199.
- 9 - Nara (P.L.), Garrity (R.R.), Goudsmit (J.) - Neutralization of HIV-1 : a paradox of humoral proportions. - *FASEB J.*, 1991, **5**, 2437-2455.

- 10 - Moore (J.P.), Nara (P.L.) - The role of the V3 loop of gp120 in HIV infection. - *AIDS*, 1991, **5**, S21-S33.
- 11 - Kostrikis (L.G.), Cao (Y.), Ngai (H.), Moore (J.P.), Ho (D.D.) - Quantitative analysis of serum neutralization of human immunodeficiency virus type 1 from subtypes A, B, C, D, E, F, and I: lack of direct correlation between neutralization serotypes and genetic subtypes and evidence for prevalent serum-dependent infectivity enhancement. - *J. Virol.*, 1996, **70**, 445-458.
- 12 - Mascola (J.R.), Louder (M.K.), Surman (S.R.), Vancott (T.C.), Yu (X.F.), Bradac (J.), Porter (K.R.), Nelson (K.E.), Girard (M.), McNeil (J.G.), McCutchan (F.E.), Birx (D.L.), Burke (D.S.) - Human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibody serotyping using serum pools and an infectivity reduction assay. - *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1993, **12**, 1319-1328.
- 13 - Moore (J.P.), Cao (Y.), Qing (L.), Sattentau (Q.J.), Pyati (J.), Koduri (R.), Robinson (J.), Barbas III (C.F.), Burton (D.R.), Ho (D.D.) - Primary isolates of human immunodeficiency virus type 1 are relatively resistant to neutralization by monoclonal antibodies to gp120, and their neutralization is not predicted by studies with monomeric gp120. - *J. Virol.*, 1995, **69**, 101-109.
- 14 - Burton (D.R.), Pyati (J.), Koduri (R.), Sharp (S.J.), Thornton (G.B.), Parren (P.W.H.I.), Sawyer (L.S.W.), Hendry (R.M.), Dunlop (N.), Nara (P.L.), Lamacchia (M.), Garratty (E.), Stiehm (E.R.), Bryson (Y.J.), Cao (Y.), Moore (J.P.), Ho (D.D.), Barbas III (C.F.) - Efficient neutralization of primary isolates of HIV-1 by a recombinant human monoclonal antibody. - *Science*, 1994, **266**, 1024-1027.
- 15 - D'Souza (M.P.), Milman (G.), Bradac (J.A.), McPhee (D.), Hanson (C.V.), Hendry (R.M.) *et al.* - Neutralization of primary HIV-1 isolates by anti-envelope monoclonal antibodies. - *AIDS*, 1995, **9**, 867-874.
- 16 - Trkola (A.), Purtscher (M.), Muster (T.), Ballaun (C.), Buchacher (A.), Sullivan (N.), Srinivasan (K.), Sodroski (J.), Moore (J.P.), Katinger (H.) - Human monoclonal antibody 2G12 defines a distinctive neutralization epitope on the gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. - *J. Virol.*, 1996, **70**, 1100-1108.

- 17 - Calarota (S.), Jansson (M.), Levi (M.), Broliden (K.), Libonatti (O.), Wigzell (H.), Wahren (B.) - Immunodominant glycoprotein 41 epitope identified by seroreactivity in HIV type 1-infected individuals. - *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1996, **12**, 705-713.
- 18 - Arthur (L.O.), Bess (J.W.), Sowder (R.C.), Benveniste (R.E.), Mann (D.L.), Chermann (J.-C.), Henderson (L.E.). - Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses : implications for pathogenesis and vaccines. - *Science*, 1992, **258**, 1935-1938 .
- 19 - Schols (D.), Pauwels (R.), Desmyter (J.), De Clercq (E.) - Presence of class II histocompatibility DR proteins on the envelope of human immunodeficiency virus demonstrated by FACS analysis. - *Virology*, 1992, **189**, 374-376.
- 20 - Capobianchi (M.R.), Fais (S.), Castilletti (C.), Gentile (M.), Ameglio (F.), Dianzani (F.). - A simple and reliable method to detect cell membrane proteins on infectious human immunodeficiency virus type I particles. - *J. Infect. Dis.*, 1994, **169**, 886-889.
- 21 - Meerloo (T.), Sheikh (M.A.), Bloem (A.C.), De Ronde (A.), Schutten (M.), Van Els (C.A.C.), Roholl (P.J.M.), Joling (P.), Goudsmit (J.), Schuurman (H.J.) - Host cell membrane proteins on human immunodeficiency virus type 1 after in vitro infection of H9 cells and blood mononuclear cells. An immuno-electron microscopic study. - *J. Gen. Virol.*, 1993, **74**, 129-135.
- 22 - Hoxie, (J.A.), Fitzharris (T.P.), Youngbar (P.R.), Matthews (D.M.), Rackowski (J.L.), Radka (S.F.) - Nonrandom association of cellular antigens with HTLV-III virions. - *Hum. Immunol.*, 1987, **18**, 39-52.
- 23 - Stott (E.J.) - Anti-cell antibody in macaques. - *Nature*, 1991, **353**, 393.
- 24 - Langlois (A.J.), Weinhold (K.J.), Matthews (T.J.), Greenberg (M.L.), Bolognesi (D.P.) - The ability of certain SIV vaccines to provoke reactions against normal cells. - *Science*, 1992, **255**, 292-293.
- 25 - Corbeau (P.), Devaux (C.A.), Kourilsky (F.), Chermann (J.-C.) - An early postinfection signal mediated by monoclonal anti-beta 2 microglobulin antibody is responsible for delayed production of human immunodeficiency virus type 1 in peripheral blood mononuclear cells. - *J. Virol.*, 1990, **64**, 1459-1464.

26. Devaux, (C.), Boucraut (J.), Poirier (J.), Corbeau (P.), Rey (F.), Benkirane (M.), Perarnau (B.), Kourilsky (F.), Chermann (J.-C.) - Anti- $\beta$ 2-microglobulin monoclonal antibodies mediate a delay in HIV1 cytopathic effect on MT4 cells. - *Res. Immunol.*, 1990, **141**, 357-372.
- 27 - WHO Network for HIV isolation and characterization. - *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1994, **10**, 1327-1343 .
- 28 - Le Contel (C.), Galéa (P.), Silvy (F.), Hirsch (I.), Chermann (J.-C.) - Identification of the  $\beta$ 2m derived epitope responsible for neutralization of HIV isolates. - *Cell. Pharmacol. AIDS Sci.*, 1996, **3**, 68-73.
- 29 - Galéa (P.), Le Contel (C.), Chermann (J.-C.) - Identification of a biological marker of resistance to AIDS progression. - *Cell. Pharmacol AIDS Sci.*, 1996, **3**, 311-316.
- 30 - Galéa (P.), Le Contel (C.), Coutton (C.), Chermann. (J.-C.) - Rationale for a vaccine using cell-derived epitope presented by HIV isolates. - *Vaccine*, 1999, **17**, 1699-1704.
- 31 - Center for Disease Control and Prevention. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. - *MMWR.*, 1992, (**RR-17**), 1-19.
- 32 - Galéa (P.), Le Contel (C.), Chermann (J.-C.) - A novel epitope R7V common to all HIV-1 isolates is recognized by neutralizing IgG found in HIV-infected patients and immunized rabbits. - *Vaccine*, 1999, **17**, 1454-1460.

\*

\* \*

## ABSTRACT

### **Identification of a new viral epitope responsible for protective anti-HIV antibodies synthesis in asymptomatic patients**

In order to avoid problems caused by variability of HIV envelope glycoproteins in the development of an HIV vaccine, we focused our attention on the conserved components present on HIV such as proteins of cellular origin and particularly on the  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2m). From the  $\beta$ 2m sequence, we identified R7V peptide as a new viral epitope presented at the surface of all HIV isolates independently of their genotype, phenotype or tropism. This new epitope is immunogenic *in vivo* : specific antibodies could be detected in non-progressor HIV-infected patients as well as in R7V-immunised rabbits. Immuno-purified anti-R7V antibodies from human or rabbit sera immunoprecipitate and neutralise all HIV isolates independently of their genotype. The presence of anti-R7V antibodies in humans is highly correlated with the non-progression to AIDS. For all these reasons, R7V epitope represents a good candidate for a vaccine against HIV.

**Key-words** : AIDS, HIV-neutralising antibody, Vaccine.

---