

Nous avons ainsi limité notre étude à une cinquantaine de gènes qui codent des protéines susceptibles d'agir sur le cycle de vie du VIH. Nous avons également examiné 250 segments d'ADN polymorphes qui avaient été identifiés dans les parties des chromosomes situées entre les gènes : les différences indiquaient que les allèles des gènes voisins varient également. Nous voulions identifier quelques gènes polymorphes afin d'en déterminer la fonction cellulaire et le rôle dans l'infection par le VIH.

Enfin, pour identifier des gènes de résistance au VIH, nous avons employé une technique de la génétique des populations humaines : nous avons divisé chaque cohorte en deux groupes, en fonction de caractéristiques de leur santé – par exemple, ceux qui étaient infectés par le VIH par opposition à ceux qui ne l'étaient pas après une exposition répétée ; les patients infectés qui étaient rapidement atteints du SIDA par opposition à ceux qui tombaient malades lentement, voire pas du tout ; ou encore les personnes infectées qui contractaient une maladie opportuniste spécifique du SIDA (notamment une pneumonie à *Pneumocystis carinii* ou un sarcome de Kaposi) et ceux qui n'en contractaient pas.

Après avoir fait ces subdivisions, nous avons comparé la fréquence des allèles retenus ou des segments polymorphes dans les sous-groupes. Nous avons aussi comparé leurs génotypes : chaque individu hérite de deux copies (une copie provenant de la mère et l'autre du père) de tous les gènes parentaux, à l'exception des gènes localisés sur les chromosomes sexuels. La paire d'allèles d'un endroit particulier d'un chromosome détermine le génotype : quand deux allèles d'un gène donné sont identiques, la personne est homozygote ; quand les deux allèles sont différents, la personne est hété-

rozygote. Au cours de nos tests de dépistage, nous avons noté la proportion des personnes de chaque groupe qui étaient homozygotes ou hétérozygotes pour un allèle donné. Des différences dans la fréquence des allèles entre les deux groupes indiqueraient que le gène étudié influe sur le devenir des patients séropositifs.

Pendant des années, nous avons amassé des données, recruté de nouveaux volontaires pour nos groupes, étudié leurs gènes, leurs segments polymorphes, et analysé ces données avec des programmes informatiques plus en plus perfectionnés. Parfois, nous pensions avoir détecté des différences génétiques, mais elles s'évanouissaient presque toujours, après un examen plus minutieux. Simultanément, nous suivions les progrès accomplis en immunologie et dans la compréhension du comportement du VIH dans l'organisme, cherchant toujours de nouvelles pistes génétiques. Enfin, vers la fin de 1995, soit plus de dix ans après avoir commencé notre étude, des lueurs d'espoir commencèrent à briller.

Enfin de bons indices

Quand des biologistes identifièrent les interactions moléculaires du VIH avec les cellules, nous eûmes des renseignements intéressants pour notre recherche des gènes de la résistance au VIH.

Vers le milieu des années 1990, on savait bien que le VIH provoque une déficience immunitaire par épuisement du nombre des globules blancs, nom-

més lymphocytes *T*, qui portent à leur surface la protéine CD₄. Ces lymphocytes *T* orchestrent les réactions immunitaires contre les virus. On savait aussi que le VIH infecte une autre classe de cellules immunitaires présentant des molécules CD₄, les macrophages, et qu'il persiste pendant des années dans ces cellules. Le VIH ne détruit pas les macrophages, mais il s'y terre.

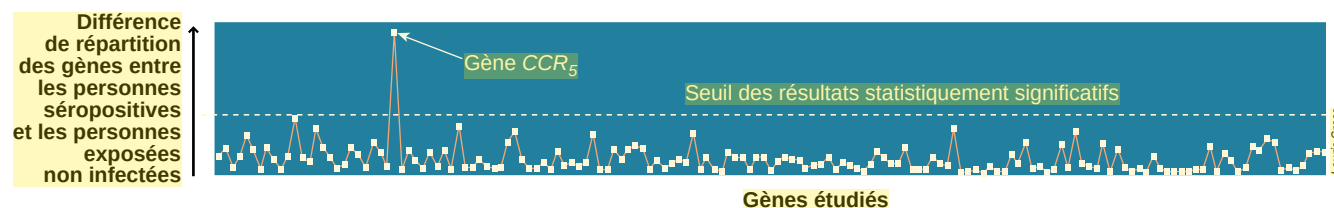
Les molécules CD₄ des lymphocytes *T* et des macrophages participent aux communications entre les cellules immunitaires. Le VIH les utilise quand il infecte l'organisme : une des protéines virales (gp120), qui fait saillie sur l'enveloppe externe du virus, se lie à la protéine CD₄, et le virus traverse alors la membrane cellulaire. Toutefois, diverses expériences avaient montré que si le récepteur CD₄ est nécessaire à la pénétration du VIH dans les cellules, il n'est pas suffisant : les cellules doivent porter au moins une autre protéine de surface à laquelle le virus se lie. Plus de dix ans après la découverte du VIH, les chercheurs ignoraient encore tout de la nature de ce deuxième récepteur.

De surcroît, en 1986, à l'Université de San Francisco, Jay Levy avait découvert que d'autres lymphocytes *T*, portant une protéine différente (CD₈), sécrètent des molécules nommées facteurs de suppression, qui empêchent le virus de pénétrer dans des cultures de cellules normalement susceptibles d'être infectées. On avait isolé de tels facteurs de suppression chez les personnes qui restent très longtemps séropositives sans avoir de SIDA et chez des

singes africains qui, même infectés par le VIS (la forme simienne du VIH), n'ont jamais de SIDA. Toutefois, on ignorait la nature de ces divers facteurs de suppression.

En décembre 1995, Robert Gallo et ses collègues identifièrent trois facteurs de suppression capables de bloquer

	2 allèles CCR ₅ standards	2 copies de l'allèle CCR ₅ mutées	1 allèle CCR ₅ standard et 1 allèle muté
Personnes séropositives	85 pour cent	0 pour cent	15 pour cent
Personnes non infectées	83 pour cent	3 pour cent	14 pour cent



3. DES DIFFÉRENCES DE PROFIL GÉNÉTIQUE entre deux populations ont montré le rôle du gène CCR₅ dans la résistance à l'infection par le VIH. Les auteurs ont commencé par identifier les combinaisons d'allèles de 170 gènes dans un groupe de personnes infectées par le VIH et dans un groupe de personnes non infectées, mais exposées. Ils ont, par exemple, mesuré la proportion de personnes qui ont

deux allèles CCR₅ normaux, deux allèles CCR₅ déléétés (tronqués), ou une copie de chaque allèle (*tableau*). Ensuite, pour chaque gène, ils ont calculé la différence statistique (*petits carrés blancs*) dans la répartition des génotypes des deux populations. Sur les 170 gènes analysés, seule la différence pour le gène CCR₅ était statistiquement significative.

l'infection par un variant du VIH qui colonise les macrophages (les souches rivales dites M-tropiques). Ces trois facteurs étaient des chimiokines : de courtes chaînes d'acides aminés qui attirent les cellules immunitaires vers les tissus blessés ou malades.

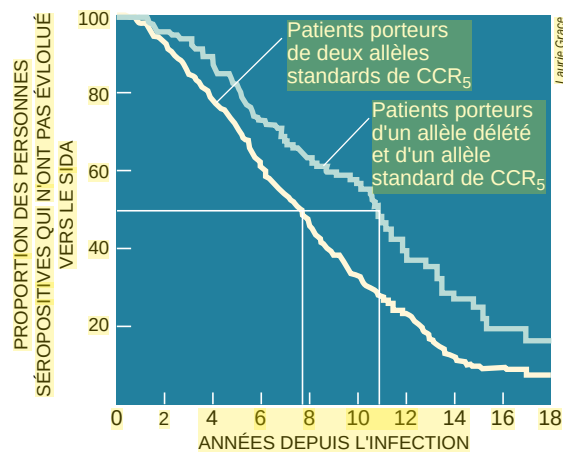
Les biologistes qui tentaient toujours d'identifier le second récepteur du VIH comprirent que les chimiokines agissent en se liant aux protéines de surface des cellules de défense. On supposa alors que les chimiokines isolées par le groupe de R. Gallo, nommées RANTES, MIP-1 α , et MIP-1 β , empêchent le VIH de pénétrer dans les cellules immunitaires, parce qu'elles masquent certaines protéines de la surface des cellules indispensables à sa pénétration. Autrement dit, les récepteurs de surface de ces chimiokines étaient peut-être le second récepteur nécessaire au VIH pour infecter les macrophages et, peut-être, d'autres cellules qui portent des récepteurs CD₄.

On n'a pu tester cette hypothèse rapidement, parce que l'on n'avait pas encore identifié les récepteurs de la chimiokine RANTES et de ses cousines. Toutefois, des résultats publiés en avril 1996 rendirent ces tests possibles et fournirent des gènes potentiels de résistance.

Tout d'abord, Edward Berger et ses collègues de l'Institut américain des maladies allergiques et infectieuses isolèrent le second récepteur des variants de VIH qui colonisent les lymphocytes T (les souches virales T-tropiques). C'est un récepteur de chimiokine, nommé CXCR₄, qui se lie à une molécule qui n'est ni RANTES, ni MIP-1 α , ni MIP-1 β . Si les résultats de R. Gallo n'avaient pas encore convaincu les spécialistes du SIDA que les récepteurs des chimiokines ont un rôle essentiel dans l'infection par le VIH, ceux de E. Berger ont dû les persuader.

Simultanément, Michael Samson, Marc Parmentier et leurs collaborateurs de l'Université de Bruxelles isolèrent le gène d'un récepteur auquel RANTES, MIP-1 α et MIP-1 β se lient lorsqu'ils attirent des cellules immunitaires vers des tissus lésés. Dans les deux mois qui suivirent, cinq groupes différents montrèrent que la protéine qui est aujourd'hui nommée CCR₅ est aussi un récepteur du VIH sur les lymphocytes T.

Tous les nouveaux résultats sur les récepteurs des chimiokines préci-



4. L'ÉTUDE du temps écoulé entre l'infection par le VIH et l'apparition du SIDA a révélé que les personnes portant un allèle CCR₅ muté (ligne verte) échappent au SIDA plus longtemps que les personnes ayant deux allèles CCR₅ standards (ligne rose). Par exemple, la moitié des personnes du premier groupe ont vécu douze ans sans SIDA, tandis que le SIDA s'est déclaré chez la moitié des personnes du deuxième groupe en seulement neuf ans.

sèrent les mécanismes de l'infection par le VIH et de son évolution. Initialement, le VIH s'installe surtout dans les macrophages. Il y pénètre en se liant, par l'intermédiaire de sa protéine gp120, à deux récepteurs des macrophages : les protéines CD₄ et CCR₅. Une fois dans les macrophages, le virus fabrique de grandes quantités de particules virales (on estime que plus d'un milliard de copies sont fabriquées chaque jour, au moins au début de l'infection), commençant à épuiser le système immunitaire.

Pendant la phase de séropositivité, le virus évolue sans cesse par mutations génétiques. Quelques années après le début de l'infection, le gène codant la gp120 mute, de sorte que la protéine virale gp120 change de second récepteur (voir la figure 2). À cause de cette modification génétique, la région qui reconnaît le récepteur CCR₅ se lie désormais avec plus d'affinité au récepteur CXCR₄ des lymphocytes T. À partir de cet instant, la population des VIH infecte plutôt les lymphocytes T.

Cette modification de l'affinité est rapidement mortelle, car les virus tuent les lymphocytes T qu'ils infectent. Le nombre de lymphocytes T CD₄ chute notablement chez les patients et, simultanément, les infections opportunistes et les cancers apparaissent. Pendant longtemps, l'apparition de ces maladies a signifié que la phase de SIDA était commencée. Aujourd'hui, on dit qu'une personne a un SIDA soit quand les maladies caractéristiques apparaissent, soit quand le sang contient moins de 200

lymphocytes T CD₄ par millimètre cube (on en dénombre, normalement, environ 1 000 par millimètre cube).

Le succès de l'entreprise

Dès que nous avons su que les protéines CCR₅ et CXCR₄ sont des corécepteurs du VIH, nous avons cherché si les gènes codant ces protéines influent sur la résistance au VIH dans nos cohortes. Il nous fallut d'abord déterminer si les gènes CCR₅ et CXCR₄ sont polymorphes : si ces gènes étaient identiques dans la population générale, ils ne pouvaient être responsables de différences de sensibilité face au VIH.

Nous avons d'abord observé que toutes les copies du gène CXCR₄ que nous avons examinées étaient identiques ; puis, en juillet 1996, Mary Carrington découvrit qu'une personne sur cinq possède un gène CCR₅ où manquent 32 nucléotides ! Cette délétion entraîne la synthèse d'une protéine CCR₅ raccourcie.

Nous avons alors comparé les génotypes CCR₅ d'environ 2 000 personnes à haut risque, séparées en deux groupes selon qu'elles étaient infectées ou non, et nous avons trouvé des différences génétiques telles que nous les cherchions. Trois pour cent des personnes non infectées avaient les deux allèles du gène CCR₅ délévés (c'est-à-dire qu'elles étaient homozygotes pour le mutant), tandis qu'aucune des 1 343 personnes infectées n'étaient homozygotes pour le mutant délévé. Ainsi la possession de deux allèles délévés du gène CCR₅ semblait protéger contre le VIH.

De plus, l'apparente protection conférée par les allèles mutants de CCR₅ ne dépendait pas de la voie d'infection : aucun hémophile, homosexuel ou toxicomane homozygote pour ce gène n'était infecté. Nous pensions que le gène délévé protège les patients parce qu'ils ne fabriquent qu'une protéine CCR₅ tronquée, qui n'atteint pas la surface de la cellule ou qui est si déformée que le VIH ne peut s'y lier.

D'autres groupes recherchaient des polymorphismes des récepteurs des chimiokines. Nathaniel Landau, Richard Koup et leurs collègues du Centre de recherche sur le SIDA de New York avaient découvert indépendam-