

L'immunothérapie de l'infection par le VIH

par Pr Yves Lévy

Service d'immunologie clinique, Hôpital Henri Mondor
51, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil

Reçu le 13 décembre 2001

RÉSUMÉ

L'objectif du traitement par immunothérapie de l'infection par le VIH a pour but de favoriser le renouvellement et la mobilisation des lymphocytes T CD4, de diminuer la destruction de ces cellules soit par apoptose, soit par le virus et de rétablir le réseau perturbé des cytokines et une fonction lymphocytaire T normale notamment vis-à-vis du VIH. Une immunothérapie de l'infection par le VIH pourrait participer à la suppression de la réplication virale, prévenir la réplication virale et agir de manière synergique avec les antiviraux dans le contrôle de cette réplication par l'élimination des cellules infectées complétant ainsi leur action. Enfin, le but ultime d'une stratégie d'immunothérapie pourrait être, par le renforcement

de la réponse immunitaire spécifique, l'allègement et/ou l'interruption des traitements antirétroviraux en raison de leur toxicité dans le long terme.

Les différentes stratégies évaluées largement à ce jour sont l'utilisation de l'Interleukine-2, dont l'effet majeur est d'augmenter le compartiment T CD4 chez les patients. Le bénéfice clinique de cet effet immunologique est en cours d'évaluation. L'utilisation de vaccins thérapeutiques a déjà été évaluée dans plusieurs essais de phase III. Les résultats jusqu'à présent décevants ne doivent pas ralentir l'effort de définir de nouveaux immunogènes ou de nouvelles stratégies vaccinales.

SUMMARY Immune-based therapies of HIV-infection

HIV infection leads to a severe decrease of T CD4 lymphocytes with subsequent development of opportunistic infections. The use of current combination of antivirals has improved the morbidity and mortality of patients. Such treatments are not without severe drawbacks such as toxicity and resistance. Development of additional therapeutic strategies with cyto-

kines, immunomodulators or therapeutic immunizations are currently intensely investigated. The clinical benefit of such strategies is under evaluation. However, these strategies may help to potentiate the immune restoration obtained with antivirals or alternatively to spare or delay the use of antivirals.

Les données récentes sur la physiopathologie de l'infection par le VIH montrent que très tôt, dès la primo-infection et durant toute la phase cliniquement latente, une détérioration qualitative du système immunitaire s'installe et évolue vers un déficit immunitaire quantitatif sévère responsable des manifestations cliniques du SIDA. Ainsi, le déficit quantitatif des lymphocytes T CD4, lié à l'effet direct du virus et/ou à l'élimination des cellules infectées par le système immunitaire, est précédé par l'existence d'anomalies fonctionnelles des lymphocytes T CD4, CD8, des monocytes et des macrophages (Fauci, 1996). La dérégulation

du réseau des cytokines joue probablement un rôle dans ces anomalies fonctionnelles. Des modifications de la production des cytokines de type 1, en particulier de l'IL-12, et de type 2 ont été décrites. Cette dérégulation joue un rôle dans l'activation chronique du système immunitaire observée pendant toute l'évolution de l'infection, et favorise l'anergie et l'apoptose des lymphocytes T qui contribuent à la déplétion lymphocytaire T. D'autre part, une anomalie de la régulation des cytokines au niveau unicellulaire, comme l'attestent un défaut de prolifération des lymphocytes T et de synthèse d'IL-2 après stimulation *in vitro* par des antigènes de

rappel, participerait également à la perte de la fonction des lymphocytes T matures et à la progression de la maladie.

Le traitement efficace de l'infection par le VIH repose sur l'association de plusieurs molécules antirétrovirales. Dans la majorité des cas, ces traitements permettent de réduire la multiplication virale. Ceci se traduit par une amélioration significative de la qualité de vie et de la survie des patients. Malgré ces résultats, ces thérapeutiques antivirales ne permettent pas de rétablir un fonctionnement tout à fait normal du système immunitaire. D'autre part, l'apparition de résistances, les effets secondaires et la complexité de ces traitements, incitent à développer de nouvelles thérapeutiques de l'infection par le VIH.

Un aspect remarquable de l'infection par le VIH est l'installation progressive sur de nombreuses années, du déficit immunitaire contrastant avec une réplication virale permanente dès le stade de la primo-infection. Ceci suggère que la réponse immunitaire anti-VIH joue un rôle essentiel dans le contrôle d'une réplication virale pendant une très longue période malgré une multiplication virale intense. D'autre part, le système immunitaire est capable, en l'absence de tout traitement antirétroviral, de réduire significativement la multiplication virale plasmatique lors de la primo-infection et de retarder la progression vers le déficit immunitaire pendant plusieurs années. Les études réalisées chez les singes infectés par le virus de l'immunodéficience simienne (VIS) ou chez les patients infectés par le VIH qui conservent un système immunitaire intact de nombreuses années après l'infection, ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de cette infection et également de définir des objectifs des thérapeutiques immunologiques. En effet, la déplétion des lymphocytes T CD8 chez les macaques infectés par le SIV aboutit à une réplication virale non contrôlée et une évolution rapide vers le déficit immunitaire (Schmitz et al., 1999). La diminution de la virémie chez les patients, au stade de la primo-infection coïncide avec l'apparition d'une réponse T CD8 spécifique. Les essais récents d'interruptions thérapeutiques intermittentes ont montré l'apparition de réponses cellulaires spécifiques du VIH lors de la remontée de la réplication virale. Enfin, l'observation d'une réponse immunitaire spécifique chez les sujets exposés non infectés comme les cohortes de prostituées africaines, ou les enfants nés de mères séropositives, suggèrent la possibilité d'une réponse immunitaire soit protectrice, soit capable de diminuer la réplication virale. L'ensemble de ces éléments est en faveur d'un contrôle par le système immunitaire de la réplication virale.

Les objectifs théoriques d'un traitement immunologique de l'infection par le VIH peuvent être énoncés de la manière suivante :

- maintien et/ou stimulation d'une réponse immunitaire spécifique du VIH,
- restauration et/ou stimulation d'une réponse immunitaire vis-à-vis des pathogènes,
- restauration d'une réponse spécifique du VIH perdue durant l'infection.

LES STRATEGIES D'IMMUNOTHÉRAPIE

Utilisation des cytokines

L'interleukine-2

L'Interleukine-2 est une cytokine produite par les lymphocytes T CD4 qui joue un rôle central dans le fonctionnement du système immunitaire. En effet, ce facteur stimule l'activation et la prolifération des cellules T CD4 et CD8. Depuis maintenant près de 15 ans, plus de 1000 patients ont été traités par l'interleukine-2 dans le cadre d'essais randomisés de phase II. On peut noter 3 étapes dans l'utilisation de l'IL-2 dans l'infection par le VIH. La première génération des essais (entre 1986 et 1995) a permis de montrer que l'administration par cures (en général de 5 jours) espacées (tous les 2 mois) permet d'augmenter de manière significative les lymphocytes T CD4 chez des sujets traités de manière suboptimale par les antiviraux disponibles à cette époque-là (monothérapie ou bithérapie) (Kovacs *et al.*, 1995, 1996). D'autre part, ces essais nous ont appris à moduler les doses d'IL-2 pour éviter l'inconvénient majeur de ce traitement qui est l'apparition d'effets secondaires à type principalement de fièvre, de douleurs musculaires ou de troubles digestifs, survenant généralement dans les 2-3 derniers jours de la cure et disparaissant ensuite. L'inconvénient majeur de l'utilisation d'IL-2 pendant cette période a été l'utilisation de la voie intraveineuse, contraignante pour les patients. En même temps, un certain nombre d'inquiétudes liées au risque de multiplication du virus lors du traitement par l'IL-2 sont alors apparues. La deuxième étape du développement de l'IL-2 (1995-1999) a permis de réaliser des progrès significatifs améliorant la tolérance de l'IL-2, diminuant ses risques quant à la multiplication virale, mais surtout des données précises concernant le fonctionnement des lymphocytes T CD4 apparus sous traitement (Carr *et al.*, 1998; Davey *et al.*, 1997 et 1999; Hengge *et al.*, 1998; Levy *et al.*, 1999; Tambussi *et al.*, 2001). En effet, les essais comparant l'IL-2 administrée par voie intraveineuse et par cures par voie sous cutanée réalisées au domicile des patients ont montré que ces deux voies d'administration étaient identiques quant à l'efficacité en terme d'augmentation des lymphocytes T CD4 (Levy *et al.*, 1999). Depuis 1996, l'utilisation de la voie intraveineuse a été complètement abandonnée et tous les patients traités par IL-2 reçoivent maintenant ce traitement par voie sous cutanée à domicile, réalisé par une infirmière ou par auto-injection. D'autre part, l'apparition de traitements antirétroviraux efficaces et la combinaison de médicaments antirétroviraux ont écarté le risque de multiplication virale sous IL-2 (Levy *et al.*, soumis). En effet, aucun essai réalisé jusqu'à présent n'a montré une augmentation de la charge virale globale chez les patients recevant de l'IL-2 comparativement aux sujets traités par antirétroviraux seuls. Au contraire, un certain nombre de données obtenues à court terme ou à long terme chez les patients seraient plutôt en faveur d'une diminution de la charge

virale, un peu plus marquée lorsque les patients ont été traités par IL-2 par rapport au traitement antirétroviral seul (Davey *et al.*, 2000). Enfin, des tests immunologiques tentant d'évaluer la fonction du système immunitaire ont pu clairement montrer que les lymphocytes T CD4 produits sous traitement par IL-2 sont fonctionnels (Levy *et al.*, 1999; Gougeon *et al.*, 2001). Cependant la signification à long terme, en terme de bénéfice clinique authentique, de la récupération de ses fonctions lymphocytaires reste à prouver.

La dernière phase des essais qui a débuté en 1999, a permis tout d'abord de montrer que l'IL-2 était également efficace chez des patients un peu plus avancés dans le déficit immunitaire (Arno *et al.*, 1999; Katlama *et al.*, 1999). En effet, l'administration de cette cytokine, associée à un traitement antirétroviral maximal, permet une augmentation significative du taux des lymphocytes T CD4 permettant l'arrêt des traitements préventifs des infections opportunistes. Ces résultats encourageants ont permis dès à présent une autorisation temporaire d'utilisation d'IL-2 chez les patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 < 200/μl. Cependant, l'administration de cette cytokine s'accompagne d'inconvénients et d'effets indésirables avec une grande fréquence qui justifient son utilisation par des équipes expérimentées.

L'absence de corrélation évidente entre des tests d'évaluation de la fonction du système immunitaire et la prédiction d'un éventuel bénéfice clinique à long terme posent la question de l'utilisation de l'utilisation d'IL-2 dans de larges essais de phase III ayant pour objectif de prouver l'effet préventif de l'utilisation de cette cytokine sur l'apparition d'événements définissant le SIDA. Deux essais de ce type ont débuté. Ces essais sont internationaux (en général plus de 10 pays) et s'adressent à des patients ayant moins (essai SILCAAT) ou plus (essai ESPRIT) de 300 lymphocytes T CD4. L'objectif de ces essais est de comparer à long terme le traitement antirétroviral conventionnel à l'IL-2 associée à ces traitements. Les résultats de ces essais sont attendus entre 2005 et 2006, et devraient permettre de répondre à la question, jamais résolue jusqu'à présent, de la possibilité d'obtenir un authentique bénéfice clinique chez les patients traités par immunothérapie.

L'interféron α

L'interféron α est un inhibiteur de la replication virale *in vitro*. Les objectifs théoriques de l'utilisation de l'interféron α reposent sur l'induction d'une réponse cellulaire T CD4 de type TH1 vis-à-vis du virus, son effet antiviral et l'augmentation de la présentation antigénique. Les résultats récents de l'utilisation d'interféron α chez les patients au stade de primo-infection, associée à un traitement antirétroviral combiné, obtenus dans un essai de phase II non randomisé (essai ANRS 086) a permis de montrer une diminution significative du réservoir viral (décroissance de la pente d'ADN proviral de - 0.9 logs), et un fort pourcentage de patients (90 %) ayant une charge virale indétectable après un an de traitement (Emilie *et al.*, 2001). Ces résultats, comparés à d'autres cohortes de patients traités par antirétroviraux seuls au

décours de la trithérapie, suggèrent un effet antiviral significatif de l'interféron α. De plus, cette baisse de la charge virale est associée à un maintien des réponses T CD4 spécifiques vis-à-vis du virus. Ces résultats demandent à être confirmés dans des études randomisées comparant une stratégie d'antirétroviraux seuls, à un traitement antirétroviral associé à l'administration d'interféron α.

L'interleukine 12

L'IL-12 est une cytokine intervenant dans l'activation des CTL et des cellules NK, en induisant la production d'interféron γ et en stimulant les cellules TH1. Les récepteurs pour l'IL-12 sont exprimés uniquement par les lymphocytes T et les cellules NK. *In vivo*, l'IL-12 est produite par les macrophages activés et les lymphocytes B. L'IL-12 joue un rôle dans la stimulation de la réponse immunitaire vis-à-vis des agents infectieux lors des infections chroniques, augmente les fonctions immunitaires des sujets immunodéprimés et permet d'obtenir une réponse à médiation cellulaire et humorale lorsqu'elle est utilisée comme adjuvant vaccinal chez des modèles animaux. Un déficit de la production d'IL-12 a été mis en évidence chez les patients infectés par le VIH. *In vitro*, cette cytokine est capable de restaurer la production d'interféron γ, d'IL-2, l'activité cytotoxique NK et la prolifération lymphocytaire vis-à-vis d'antigènes spécifiques, et des antigènes du VIH chez des sujets infectés par le VIH à un niveau comparable à celui des témoins sains.

Des essais de tolérance de l'IL-12 recombinante (Genetics institute) viennent de débiter chez des patients infectés par le VIH. Un premier essai, réalisé aux Etats-Unis, concernant 49 patients ayant entre 100 et 500 CD4/μl. L'administration d'IL-12 par voie sous cutanée en dose unique, à dose croissante, entraîne des effets secondaires comparables à ceux de l'IL-2 à partir de 300 ng/kg. Après administration d'IL-12, un pic transitoire de réplication virale a été observé. L'effet biologique le plus frappant est l'augmentation très importante du taux d'interféron γ chez les malades (Jacobson *et al.*, 2000).

L'immunothérapie passive

L'injection de lymphocytes T cytotoxiques (LTC) autologues

Des essais d'immunothérapie passive fondée sur l'administration de LTC autologues sont peu nombreux en raison de la difficulté technique d'induire *in vitro* de grandes quantités de LTC polyclonaux spécifiques ou non de protéine virale. D'autre part, le cas anecdotique rapporté par Koenig (Koenig *et al.*, 1995) montrant une aggravation de la maladie chez un patient recevant des clones de LTC dirigés contre la protéine NEF du VIH, vraisemblablement lié à des mutations de la protéine nef *in vivo*, peuvent expliquer les réticences vis-à-vis de ce type d'approche.

Les résultats préliminaires des tentatives visant à modifier génétiquement les lymphocytes T cytotoxiques



(Ho *et al.*, 1993 ; Riddell *et al.*, 1996) montrent que ces injections sont bien tolérées, et que les LTC migrent dans les ganglions. La réinjection de lymphocytes T cytotoxiques modifiés pour exprimer une nouvelle protéine, chez 6 patients infectés par le VIH (ayant des CD4 entre 200 et 500/ μ l) a montré une diminution transitoire de la charge virale dans certains cas et l'induction dans la quasi-majorité des cas d'une réponse immunitaire spécifique contre la nouvelle protéine exprimée par les cellules T modifiées (Riddell *et al.*, 1996).

Ces protocoles de thérapie génique, ou de réinjection de LTC, posent un certain nombre de problèmes : leur complexité, la possibilité d'un effet délétère avec apparition de virus mutants échappant à la pression des lymphocytes LTC, l'effet transitoire de leur action.

Vaccination thérapeutique

L'objectif d'une vaccination thérapeutique est de stimuler une immunité adoptive supplémentaire par rapport à l'infection naturelle chez des patients ayant encore un système immunitaire fonctionnel. Les vaccinations pourraient permettre de préserver ou restaurer une réponse immunitaire anti-VIH, ou plus large (Goulder *et al.*, 1999).

Plusieurs équipes ont rapporté des résultats d'études visant à stimuler la réponse immunitaire spécifique du VIH, soit par l'utilisation des protéines recombinantes d'enveloppe du virus (gp 160, gp 120) soit l'utilisation de vecteurs viraux recombinants (canarypox contenant des gènes codant pour le VIH), soit de VIH modifié (Remune® : virus VIH inactivé n'exprimant pas la protéine gp 120).

Les résultats obtenus montrent que l'utilisation des protéines recombinantes gp160 ou gp120, chez les sujets infectés par le VIH, est bien tolérée, et permettent d'obtenir des réponses immunitaires humorales ou lymphocytaires vis-à-vis des antigènes vaccinaux (Ratto-Kim *et al.*, 1999 ; Tsoukas *et al.*, 1998 ; Sitz *et al.*, 1999). L'évaluation, dans des essais randomisés, de la vaccination par la protéine recombinante gp160, chez les patients infectés par le VIH ayant plus de 200 lymphocytes T CD4 et traités par une monothérapie ou une bithérapie d'analogues nucléosidiques, n'a pas montré d'efficacité de la vaccination en terme de prévention des événements cliniques (Goebel *et al.*, 1999). Une étude récente (Sandstrom & Wahren, 1999) a cependant montré que les patients ayant reçu des injections répétées de protéine recombinante gp 160 maintenaient un taux de CD4 au-dessus de leur taux initial, comparativement à des patients recevant un placebo. Cette augmentation des lymphocytes T CD4 était associée à une apparition de réponses cellulaires spécifiques vis-à-vis de l'immunogène.

L'utilisation de virus de la variole du canari (canarypox) recombinant exprimant la gp160 du VIH (ALVAC 125) n'a pas permis d'obtenir de réponse cellulaire spécifique chez les sujets infectés par le VIH (Tubiana *et al.*, 1997). Cependant, dans cet essai les patients vaccinés recevaient un traitement antirétroviral suboptimal et

avaient une charge virale élevée. La tolérance de nouvelles générations de vecteurs canarypox codant pour plusieurs épitopes du VIH (gag, env, pol et nef) est en cours d'évaluation chez des volontaires non infectés par le VIH. Les premiers résultats obtenus sont intéressants en terme d'obtention de réponse anticorps, capable de neutraliser des souches de laboratoire, ou de réponse lymphocytaire T cytotoxique (Belshe *et al.*, 1998).

L'utilisation d'un virus VIH tué, délété en protéine gp120 chez des patients infectés par le VIH a permis d'obtenir des réponses prolifératives T CD4, CD8 et NK (Moss *et al.*, 1999), l'induction de la sécrétion de chemokines chez des enfants ayant une réponse anticorps vis-à-vis de l'immunogène (Sei *et al.*, 1999) et plus récemment une réponse lymphocytaire T CD4 chez près de 50 % des sujets recevant un traitement antirétroviral optimal (Valentine *et al.*, 1998).

Les résultats d'essais de vaccination à base d'ADN nu codant pour des protéines virales montrent que ceux-ci sont bien tolérés mais que les réponses immunitaires induites restent de faible amplitude (Calarota *et al.*, 1998 ; MacGregor *et al.*, 1998).

Plusieurs essais de vaccination thérapeutique utilisant un vecteur canarypox recombinant seul (essai ANRS 094) ou associé à l'administration de protéine recombinante du VIH sous forme de lipopeptides suivie de l'administration d'Interleukine-2 dans le but d'amplifier la réponse immunitaire induite par la vaccination (essais ANRS 093 et 095) sont en cours. L'objectif de ces essais est de stimuler la réponse immunitaire spécifique dans un objectif de contrôle de la replication virale lors d'une interruption du traitement antiviral.

BIBLIOGRAPHIE

- Arno A., Ruiz L., Juan M., Jou A., Balague M., Zayat M.K., Marfil S., Martinez-Picado J., Martinez MA., Romeu J., Pujol-Borrell R., Lane C., Clotet B. Efficacy of low-dose subcutaneous interleukin-2 to treat advanced human immunodeficiency virus type 1 in persons with < 250 μ l CD4 T cells and undetectable plasma virus load. *J. Inf. D.* 1999, 180, 56-60.
- Belshe R.B., Gorge G.J., Mulligan M.J., Evans T.G., Keefer M.C., Excler J.L., Duliege A.M., Tartaglia J., Cox W.I., McNamara J., Hwang K.L., Bradney A., Montefiori D., Weinhold K.J., for the NIAID AIDS vaccine evaluation group. Induction of immune responses to HIV-1 by canarypox virus (ALVAC) HIV-1 and gp120 SF-2 recombinant vaccines in uninfected volunteers. *AIDS*, 1998, 12, 2407-2415.
- Calarota S., Bratt G., Nordlund S. *et al.* Cellular cytotoxic response induced by DNA vaccination in HIV-1 infected patients. *Lancet*, 1998, 351, 1320-1325.
- Carr A., Emery S., Lloyd A., Hoy J., Garsia R., French M., Stewart G., Fyfe G., Cooper D.A. Outpatient continuous intravenous Interleukin-2 or subcutaneous, PEG interleukin-2 in HIV-infected patients : a randomized, controlled, multicenter study. *J. Infect. Dis.*, 1998, 178, 992-999.
- Davey R.T. Jr, Chait D.G., Piscitelli S.C., Wells M., Kovacs J.A., Walker R.E. Falloon J., Polis M.A., Metcalf J.A., Masur H., Fyfe G., Lane H.C. Subcutaneous administration of inter-

- leukin-2 in human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *J Infect Dis.*, 1997, 175, 781-789.
- Davey R.T. Jr, Chait D.G., Albert J.M., Piscitelli S.C., Kovacs J.A., Walker R.E., Falloon J., Polis M.A., Metcalf J.A., Masur H., Dewar R., Baseler M., Fyfe G., Giedlin M.A., Lane H.C. A randomized trial of high-versus low-dose subcutaneous Interleukin-2 outpatient therapy for early human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Infect. Dis.*, 1999, 179, 849-858.
- Davey R.T. Jr, Murphy R.L., Graziano F.M., Boswell S.L., Pavia A.T., Cancio M., Nadler J.P., Chait D.G., Dewar R.L., Shaner D.K., Duliege A.M., Capra W.B., Leong W.P., Giedlin M.A., Lane H.C., Kahn J.O. Immunologic and virologic effects of subcutaneous interleukin-2 in combination with antiretroviral therapy : a randomized controlled trial. *JAMA.* 2000, 284, 183-189.
- Emilie D., Burgard M., Lascoux-Combe C., Laughlin M., Krzysiek R., Pignon C., Rudent A., Molina J.M., Livrozet J.M., Souala F., Chene G., Grangeot-Keros L., Galanaud P., Sereni D., Rouzioux C., Primoféron A study group. Early control of HIV replication in primary HIV-1 infection treated with antiretroviral drugs and pegylated IFN alpha : results from the Primoféron A (ANRS 086) study. *AIDS.* 2001, 15, 1435-1437.
- Fauci A.S. Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature.* 1996, 384, 529-534.
- Goebel F.D., Mannhalter J.W., Belshe R.B., Eibl M.M., Grob P.J., de Gruttola V., Griffiths P.D., Erfle V., Kunschak M., Engl W. and the European multinational Immuno AIDS vaccine study group. Recombinant gp160 as a therapeutic vaccine for HIV-infection : results of a large randomized controlled trial. *AIDS.* 1999, 13, 1461-1468.
- Gougeon M.L., Rouzioux C., Liberman I., Burgard M., Taoufik Y., Viard J.P., Bouchenafa K., Capitant C., Delfraissy J.F., the ANRS 048 study group and Y. Levy. Immunological and virological effects of long term IL-2 therapy in HIV-1 infected patients. *AIDS.* 2001, 15, 1729-1731.
- Goulder P.J.R., Rowland-Jones S.L., McMichael A.J., Walker B.D. Anti-HIV cellular immunity : recent advances towards vaccine design. *AIDS.* 1999, 13, S121-S136.
- Hengge U.R., Goos M., Esser S., Exner V., Dotterer H., Wiehler H., Borchard C., Muller K., Beckmann A., Eppner M.T., Berger A., Fiedler M. Randomized, controlled phase II trial of subcutaneous interleukin-2 in combination with highly active antiretroviral therapy (HAART) in HIV patients. *AIDS.* 1998, 12, F225-F234.
- Ho M., Armstrong J., MacMahon D., Pazin G., Huang X.L., Rinaldo C., Whiteside T., Tripoli C., Levine G., Moody D., et al. A phase I study of adoptive transfer of autologous CD8+ T lymphocytes in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)-related complex of AIDS. *Blood.* 1993, 81, 2093-101.
- Jacobson M.A., Hardy D., Connick E., Watson J., DeBruin M. Phase I trial of a single dose of recombinant human interleukin-12 in human immunodeficiency virus-infected patients with 100-500 CD4 cells/ μ l. *J. Infect. Dis.* 2000, 182, 1070-1076.
- Katlama C. et al. Abstract. 7th European Conference on clinical aspects and treatment of HIV infection. Lisbonne, 23-27 octobre 1999.
- Koenig S., Conely A.J., Brewah Y.A., Jones G.M., Leath S., Boots L.J., Davey V., Pantaleo G., Demarest J.F., Carter C., et al. Transfer of HIV-1 specific cytotoxic T lymphocytes to an AIDS patient leads to selection for mutant HIV variants and subsequent disease progression. *Nature Med.*, 1995, 1, 93-6.
- Kovacs J.A., Baseler M., Dewar R.J., Vogel S., Davey R.T. Jr, Falloon J., Polis M.A., Walker R.E., Stevens R., Salzman N.P., et al. Increases in CD4 T lymphocytes with intermittent courses of interleukin-2 in patients with human immunodeficiency virus infection : a preliminary study. *N Engl J Med.*, 1995, 332, 567-75.
- Kovacs J.A., Vogel S., Albert J.M., Falloon J., Davey R.T., Walker R.E., Polis M.A., Spooner K., Metcalf J.A., Baseler M., Fyfe G., Lane H.C. Controlled trial in interleukin-2 infusions in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med.*, 1996, 335, 1350-1356.
- Levy Y., Capitant C., Houhou S., Carriere I., Viard J.P., Goujard C., Gastaut J.A., Oksenhendler E., Boumsell L., Gomard E., Rabian C., Weiss L., Guillet J.G., Delfraissy J.F., Aboulker J.P., Seligmann M. Comparison of subcutaneous and intravenous interleukin-2 in asymptomatic HIV-1 infection: a randomised controlled trial. *Lancet.*, 1999, 353, 1923-1929.
- Levy Y., Durier C., Krzysiek R., Rabian C., Capitant C., Lascoux A.S., Michon C., Oksenhendler E., Weiss L., Gastaut J.A., Goujard C., Rouzioux C., Maral J., Delfraissy J.F., Emilie D., Aboulker J.P. and the ANRS 079 study group. Effects of intermittent subcutaneous interleukin-2 therapy combined with highly active antiretroviral treatment on immune restoration in asymptomatic HIV-1 infection: a randomized controlled trial. Soumis 2002.
- MacGregor R.R., Boyer J.D., Ugen K.E., Lacy K.E., Gluckman S.J., Bagarazzi M.L., Chattergoon M.A., Baine Y., Higgins T.J., Ciccarelli R.B., Conely L.R., Ginsberg R.S., Weiner D.B. First human trial of a DNA-based vaccine for treatment of human immunodeficiency virus type 1 infection: safety and host response. *J Infect Dis.* 1998, 178, 92-100.
- Moss R.B., Wallace M.R., Giermakowska W.K., Webb E., Savary J., Chamberlin-Brandt C., Theofan G., Musil R., Richieri S.P., Jensen F.C., Carlo D.J. Phenotypic analysis of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 cell-mediated immune responses after treatment with an HIV-1 immunogen. *J. Infect. Diseases.*, 1999, 180, 641-648.
- Ratto-Kim S., Sitz K.V., Garner R.P., Kim J.H., Davis C., Aronson N., Ruiz, Tencer K., Redfield R.R. Repeated immunization with recombinant gp160 human immunodeficiency virus (HIV) envelope protein in early HIV-1 infection : evaluation of the T cell proliferative response. *J. Infect. Disease.* 1999, 179, 337-344.
- Riddell S.R., Elliott M., Lewinsohn D.A., Gilbert M.J., Wilson L., Manley S.A., Lupton S.D., Overell R.W., Reynolds T.C., Corey L., Greenberg P.D. T-cell mediated rejection of gene-modified HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in HIV-infection patients. *Nature Med.*, 1996, 2, 216-23.
- Sandstrom E., Wahren B. Therapeutic immunisation with recombinant gp160 in HIV-1 infection : a randomised double-blind placebo-controlled trial. Nordic VAC-04 study group. *Lancet.* 1999, 353, 1735-1742.
- Schmitz J.E., Kuroda M.J., Santra S., Sasseville V.G., Simon M.A., Lifton M.A., Racz P., Tenner-Racz K., Dalesandro M., Scalton B.J., Ghayeb J., Forman M.A., Montefiori D., Rieber E.P., Letvin N.L., Reinmann K.A. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science.* 1999, 283, 857-860.
- Sei S., Sandelli S.L., Theofan G., Ratto-Kim S., Kumagai M., Loomis-Price L.D., Cox J.H., Jarosinski P., Walsek C.M., Brouwers P., Venzon D.J., Xu J., Pizzo P.A., Moss R.B., Robb M.L., Wood L.V. Preliminary evaluation of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) immunogen in children with HIV-1 infection. *J. Infect. Diseases.*, 1999, 180, 626-640.
- Sitz K.V., Ratto-Kim S., Hodgkins A.S., Robb M.L., Bix D.L. Proliferative responses to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp120 peptides in HIV-1 infected individuals immunized with HIV-1 rgp120 or rgp160 compared with non immunized and uninfected controls. *J. Infect. Diseases* 1999, 179, 817-824.

- Tambussi G., Ghezzi S., Nozza S., Vallanti G., Magenta L., Guffanti M., Brambilla A., Vicenzi E., Carrera P., Racca S., Soldini L., Gianotti N., Murone M., Veglia F., Poli G., Lazzarin A. Efficacy of low-dose intermittent subcutaneous interleukin (IL)-2 in antiviral drug experienced human immunodeficiency virus infected persons with detectable virus load : a controlled study of 3 IL-2 regimens with antiviral drug therapy. *J. Infect. Dis.*, 2001, *183*, 1476-1484.
- Tsoukas C.M., Raboud J., Benard N.F., Montaner J.S., Gill M.J., Rachlis A., Fong I.W., Schlech W., Djurdjev O., Freedman J., Thomas R., Lafrenière R., Wainberg M.A., Casol S., O'Shaughnessy M., Todd J., Volvovitz F., Smith G.E. Active immunization of patients with HIV infection : a study of the effect of VaxSyn, a recombinant HIV envelope subunit vaccine, on progression of immune deficiency. *AIDS Res Human Retrovir.* 1998, *14*, 483-490.
- Tubiana R., Gomard E., Fleury H., Gougeon M.L., Mouthon B., Picolet H., Katlama C. Vaccine therapy in early HIV-1 infection using a recombinant canarypox virus expressing gp160mn (ALVAC-HIV) : a double-blind controlled randomized study of safety and immunogenicity. *AIDS*, 1997, *11*, 819-841.
- Valentine F.T., DeGruttola V., Kaplan M. *et al.* Effects of HAART compared to HAART plus an inactivated HIV immunogen on lymphocyte proliferative responses (LPR) to HIV antigens. Conference supplement 12th World AIDS Conference, Geneva, June 28-July 3, 1998, abstract LB31227.