

## Chimiokines et immunomodulation : applications à l'infection VIH

par I. Théodorou, C. Combadière, S. Faure et P. Debré

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire – INSERM U543 Pitié-Salpêtrière, 83, bd de l'Hôpital, 75013 Paris, France

Reçu le 21 janvier 2002

### RÉSUMÉ

Le contrôle génétique de l'infection VIH par l'hôte fait intervenir un certain nombre de gènes qui codent pour des chimiokines/chimiokines récepteurs, cytokines, complexe majeur d'histocompatibilité. Parmi ceux-ci, le CCR5, CCR2, SDF1 puis récemment le CX3CR1 ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux dont les nôtres, suscités par le rôle qu'ils jouent dans la liaison du virus à la membrane des cibles CD4 (co-récepteurs), et donc la susceptibilité à l'infection virale. Outre cette fonction, il a également été montré que le polymorphisme de ces gènes influence l'évolutivité de l'infection soit par un effet protecteur ou délétère. Les résultats obtenus par notre laboratoire sur leur implication au cours de la pathologie VIH seront rapportés. Par ailleurs, et dans le but de

mieux comprendre leur rôle, nous avons recherché si ces chimiokines, outre l'effet d'attraction, pouvaient avoir un effet immunomodulateur, notamment sur l'immunité cellulaire. C'est ainsi qu'à travers deux exemples, nous avons pu montrer que des chimiokines modulent la fonction cytotoxique (Rantes/CCR3), ou la sécrétion de gamma-interférons par les cellules CD8 (fractalkine/CX3CR1).

Plus globalement, ces résultats montrent que le polymorphisme des chimiokines/chimiokines récepteurs représente des facteurs importants en épidémiologie mais aussi contribue à évaluer le pronostic de l'évolution de la pathologie VIH, à travers une meilleure compréhension de sa physiopathologie.

### SUMMARY Chemokines and immunomodulation : applications to HIV infection

The genetic control of HIV infection by the host involves a certain number of genes, among which those which code for chemokines/chemokines receptors, cytokines, MHC. Genes such as CCR5, CCR2, SDF1, and more recently CX3CR1 received great attention from several laboratories including ours, since they play a role as HIV coreceptor and, as such, on the infectivity of the host. In addition, it was shown that the polymorphism of these genes influences the evolution of infection, whether they have a protective or deleterious effect. Results obtained by our laboratory on the genetic polymorphism and its implication in HIV infection will be reported herein. Furthermore,

to better understand their role, we looked for the capacities that the chemokines may have to play an immunomodulatory function, independently of their chemoattractive effect. In two examples, we showed that chemokines influence notably the cellular immune functions, such as CD8 cytotoxicity (Rantes/CCR3) and gamma interferon production (fractalkine/CX3CR1). Globally, the results indicate that chemokines/chemokines receptors polymorphism represent important epidemiological factors, but also contributes to evaluate the prognosis of HIV infection, through a better understanding of the disease physiopathology.

Le contrôle génétique de l'infection VIH, à travers le polymorphisme des gènes de réponses immunitaires de l'hôte, était attendu : de nombreux travaux dans le passé ont démontré que les réponses immunitaires contre les antigènes synthétiques ou naturels ou lors des infections rétrovirales murines, étaient génétiquement contrôlées et

ont ainsi mis en évidence le rôle du complexe majeur d'histocompatibilité. Plus inattendue fut l'influence du polymorphisme des gènes de récepteurs de chimiokines que le virus VIH utilise comme co-récepteur. La fonction physiopathologique de ce polymorphisme n'est pas totalement élucidée. Un rapprochement dans ce cadre peut

être fait avec un certain nombre de travaux qui montrent que les chimiokines/chimiokines récepteurs peuvent également avoir un effet immunomodulateur.

## 1. POLYMORPHISME DES CHIMIOKINES/CHIMIOKINES RÉCEPTEURS. EFFET AU COURS DE L'INFECTION VIH

La découverte que les chimiorécepteurs pourraient servir de co-récepteur au VIH a fait l'objet d'une série de travaux sur l'importance de leur polymorphisme en pathologie (Deng *et al.*, 1996 ; Dragic *et al.*, 1996 ; Alkhatib *et al.*, 1996). Le meilleur exemple de l'importance de ces mutants vient de la découverte de l'allèle CCR5 D32 porteur d'une délétion de 32 paires de bases dans la partie codante du gène, qui provoque un changement du cadre de lecture avec l'apparition d'un codon stop prématuré. Il est fréquent chez les Caucasiens avec un gradient Nord Sud sur le continent européen (Libert *et al.*, 1998, Magierowska *et al.*, 1998). Le résultat de cette modification génétique est la production d'une protéine non fonctionnelle qui ne peut agir, ni comme récepteur aux chimiokines, ni comme co-récepteur au VIH. De fait, le gène CCR5 code pour un co-récepteur du VIH, notamment pour les souches virales macrophagiques surtout présentes dans les étapes précoces de l'infection. Il fut originellement admis que les individus homozygotes pour l'allèle CCR5 D32 ne pouvaient pas être infectés par le virus VIH (Samson *et al.*, 1996). Bien que ceci concerne la très grande majorité des cas, nous avons cependant démontré que certains individus pouvaient s'infecter par le virus VIH et développer alors une forme sévère de la maladie (Théodorou *et al.*, 1997). Nous avons rapporté que les patients VIH+ porteurs de l'allèle CCR5 D32 à l'état hétérozygote évoluent plus lentement vers le SIDA par rapport aux patients porteurs des deux allèles sauvages. L'effet « protecteur » vis-à-vis de la progression de la maladie de cet allèle passe par une diminution de la charge virale qui persiste pendant au moins plusieurs années (Meyer *et al.*, 1997). De plus ce phénomène n'est pas le seul : d'autres études ont montré que les variants naturels du promoteur du gène CCR5 influencent aussi la vitesse d'évolution de la maladie (Martin *et al.*, 1998 McDermott *et al.*, 1998 ; Kostrikis, 2000 ; Kostrikis *et al.*, 1998).

Pour approfondir ces données, nous avons également entrepris l'étude du polymorphisme du gène CCR5 chez des individus non caucasiens afin de comprendre si d'autres mutants non fonctionnels existaient dans ces populations, pouvant expliquer des phénomènes de résistance à l'infection par le VIH. Nous avons ainsi étudié une population vietnamienne multi-exposée mais non infectée par le VIH et pu identifier un nouvel allèle non fonctionnel (Magierowska *et al.*, 1999). Le rôle de ce corécepteur n'est pas le seul en ce qui concerne les ligands naturels du gène CCR5 (MIP-1a, MIP-1b et RANTES) ; il semble également que certains allèles du gène RANTES influencent aussi bien la susceptibilité

que la vitesse d'évolution de la maladie (Liu *et al.* 1999, Liu *et al.* ; 1999).

A côté du CCR5, d'autres études ont concerné d'autres chimio-récepteurs, corécepteurs du VIH et/ou leurs ligands naturels, et les gènes HLA. Il a été de fait rapporté que les mutants du gène CCR2 plus particulièrement le mutant CCR2 641 et un mutant du gène SDF1 (SDF1-1-3'A) qui est le ligand naturel du chimiorécepteur CXCR4, pouvaient influencer le pronostic de la maladie, en ralentissant l'évolution de l'infection (Meyer *et al.*, 1999). De même, compte tenu du rôle joué par le CMH sur les réponses immunitaires, il est apparu possible que certains haplotypes HLA soient associés à un avantage protecteur pour l'hôte. Deux haplotypes ont été notamment impliqués : HLA-A1 - CR7 - B8 - DR3 - DQ2 et HLA CW4 - B35 - DR1 - DQ1 (Carington *et al.*, 1999). Notre équipe a tenté d'intégrer ces données dans un modèle de régression logistique afin de déterminer jusqu'à quel point il était possible d'utiliser les données génétiques pour prédire l'évolution naturelle de la maladie. Chez deux groupes de patients présentant des vitesses de progression différentes (asymptomatiques à long terme versus « normoprogresseur »), étudiant plusieurs gènes candidats, nous avons pu démontrer qu'en se basant sur les génotypes des gènes CCR5, CCR2, SDF1 et HLA, il était possible de construire des modèles de prédiction pour l'évolution de la maladie VIH (Magierowska *et al.*, 1999).

Plus récemment, nous avons examiné le polymorphisme du CX3CR1, et étudié son influence sur l'évolution de la maladie. Le CX3CR1 est un chimiorécepteur dont le ligand naturel est la fractalkine. Il en existe deux formes, soluble ou membranaire. La fractalkine est fortement exprimée sur les cellules endothéliales. Parmi les cellules leucocytaires, le CX3CR1 est exprimé surtout sur les monocytes et les cellules NK, dans lesquelles son activation module certaines réponses cellulaires (Yoneda *et al.*, 2000 Chapman *et al.*, 2000). Enfin, dans le système nerveux central, la fractalkine et son chimiorécepteur sont exprimés au niveau de la substance grise et semblent impliqués dans la survie neuronale (Meucci *et al.*, 2000) ainsi que dans l'interaction neurone-glie (Harrison *et al.*, 1998). Le CX3CR1 joue le rôle d'un corécepteur pour le VIH. Notre équipe a montré l'existence de mutations naturelles du CX3CR1, V249I et T280M. Une étude épidémiologique réalisée sur des cohortes de patients VIH<sup>+</sup> a révélé que les patients homozygotes pour l'allèle doublement muté de CX3CR1 (CX3CR1-I249 M280) progressent deux fois plus vite vers les stades terminaux de la maladie. Ces résultats ont cependant été contredits dans un premier temps par une étude récente portant sur des cohortes américaines (McDermott *et al.*, 2000). Pour comprendre cette discordance, nous avons complété nos investigations portant sur les patients séroconvertisseurs, par celle de patients séroprévalents. Les différences entre les deux études ont pu être expliquées par celle du recrutement des deux cohortes, notamment l'inclusion plus tardive des patients de la cohorte américaine, le retard entre le début de l'infection et celle de l'inclusion étant critique. Cette

observation souligne combien les études génétiques sont liées aux conditions du recrutement des sujets étudiés.

L'importance pronostique du polymorphisme des gènes de chimiorécepteur au cours de l'infection VIH a fait poser d'autres questions parmi lesquelles deux principales. Peuvent-ils influencer d'autres évolutions que l'évolution naturelle de la maladie? D'autres gènes immunorégulateurs que ceux des chimiokines peuvent-ils avoir une valeur pronostique?

Concernant la première question, des études ont été effectuées sur l'apparition d'infections opportunistes et ont pu montrer que le génotype CCR5 influence le type d'infections opportunistes à des stades tardifs d'évolution VIH (Liu *et al.*, 1999). Nous avons également montré que les variants des chimiorécepteurs dont notamment le CCR5 peuvent également influencer l'évolution des patients sous traitement antirétroviral actif (HAART).

Concernant la seconde question, l'effet des variants des gènes IL4, IL10 (Shin *et al.*, 2000) sur la vitesse de progression de la maladie vient d'être découvert, et il est fort probable que la caractérisation de nouveaux SNPs (single nucleotide polymorphism) pour d'autres gènes de cytokines va encore enrichir le nombre des gènes en cause.

## 2. CHIMIOKINES ET CHIMIORÉCEPTEURS : UN RÔLE IMMUNOMODULATEUR

Deux séries de travaux dans notre laboratoire ont permis de montrer l'effet immunomodulateur que peut représenter l'action des chimiokines sur leurs récepteurs.

Dans une première série d'études nous avons pu montrer l'implication de RANTES dans la cytotoxicité anti-VIH dépendant de Fas/Fas ligand. Afin de tester l'effet potentiel de certaines chimiokines sur les fonctions lymphocytaires T, nous avons en effet comparé l'action des diverses chimiokines RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1, MCP-3, MCP-4, SDF1, Eotaxine et de l'antagoniste RANTES [9-68] sur l'activité CD8 cytotoxique. Ces études ont été menées dans plusieurs modèles mais ont été particulièrement développées dans le cadre de l'infection VIH. Nous avons pu montrer que la lyse de cellules cibles exprimant les antigènes Gag, Pol, Env ou Nef du VIH1 est totalement abolie par l'addition d'un anticorps anti-RANTES, alors que l'addition d'anticorps dirigés contre les chimiokines MIP-1 $\alpha$  et MIP-1 $\beta$  ou d'anticorps témoins n'avait aucun effet. Par ailleurs, l'addition de RANTES augmente la lyse spécifique dirigée contre le VIH de façon dose-dépendante alors que l'addition des chimiokines MIP-1 $\alpha$  et MIP-1 $\beta$  n'a pas d'effet. Cette augmentation de lyse spécifique du VIH est bloquée par l'action d'un homologue synthétique de RANTES tronqué de son extrémité N-terminale, RANTES [9-68] qui agit comme un antagoniste de RANTES et inhibe l'infection par le VIH (Arenzana-Seisdedos *et al.*, 1996; Gong *et al.*, 1996). Compte tenu des spécificités croisées entre chimiokines et chimiorécepteurs, plusieurs chimiokines ont été testées dans le but d'identifier le chimiorécepteur impliqué dans l'augmentation de l'activité des cellules

CD8. Seul MCP-3, MCP-4 et l'Eotaxine ont la même capacité d'augmenter la lyse CTL spécifique du VIH alors que MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1 et SDF-1 restent inactifs. Ces observations suggèrent fortement l'implication du récepteur CCR3 et éliminent un éventuel rôle des autres chimiorécepteurs de RANTES, c'est-à-dire CCR1, CCR2 et CCR5. Enfin, un anticorps anti-CCR3 abolit totalement l'activité CTL de ces lignées, ce qui montre l'implication directe et sélective de CCR3 dans la cytolysse spécifique du VIH par les lymphocytes T CD8 restreints par l'antigène de classe I du CMH (Hadida *et al.*, 1999). Nous avons ensuite cherché à préciser les mécanismes responsables de cytotoxicité déclenchés par RANTES *via* CCR3. Celle-ci est bloquée par l'anticorps anti-Fas ou anti-Fas-Ligand, alors que les inhibiteurs de la voie Perforine Granzyme n'ont aucun effet. De plus, l'addition de RANTES sur les CD8 cytotoxiques augmente l'expression du messager de Fas Ligand. Le phénomène cytotoxique concerné semble donc passer exclusivement par la voie dépendante de Fas/Fas-Ligand (Hadida *et al.*, 1999). Nous avons pu montrer par la suite que seules les cellules CD8+CD56+ qui sont des cellules effectrices cytotoxiques sont impliquées dans ce phénomène. L'augmentation du Fas-Ligand, moléculaire et messager, est en effet uniquement observée, dans cette sous-population lymphocytaire CD8. RANTES ne semble pas avoir d'effet sur la population CD8+CD56- qui n'a pas d'activité cytotoxique (données personnelles).

Afin de rechercher d'autres modèles d'immunomodulation par chimiokines au cours de la pathologie VIH, une autre série d'études a porté sur le rôle de la Fractalkine sur des populations lymphocytaires CD8+ exprimant le CX3CR1. Une première série de résultats a montré une augmentation significative de l'expression du CX3CR1 chez les cellules CD8+ au cours de l'infection VIH. Parmi les cellules CD8+, les cellules CD8+CD57+ sont en quasi totalité CX3CR1 positives. Afin de tester l'implication de la Fractalkine sur les fonctions lymphocytaires T à travers son unique récepteur CX3CR1, nous avons dosé le  $\gamma$ -interféron produit par les cellules CD8 stimulées en présence ou non de doses croissantes de Fractalkine. De façon intéressante, nous avons observé que la Fractalkine module de manière dose-dépendante la production de  $\gamma$ -interféron aussi bien dans les cellules CD8+CD57+ que CD8+CD57- (Combadière *et al.*, manuscrit en préparation).

Pris globalement, ces deux exemples, effet de RANTES *via* le CCR3 sur la cytotoxicité Fas-Ligand dépendante, effet de la Fractalkine *via* le CX3CR1 sur la production de  $\gamma$ -interféron produit par les cellules CD8 stimulées, impliquent les chimiokines et leurs récepteurs dans l'immunorégulation des réponses immunitaires.

## 3. CONCLUSION

L'étude de la séquence des gènes du système immunitaire et leur criblage systématique pour la recherche de nouveaux SNPs (Single Nucleotide Polymorphism)

montre de plus en plus qu'il existe des variations individuelles dans la partie codante de ces gènes. Les chimiokines et leurs récepteurs expriment un important polymorphisme. Un certain nombre d'études dont les nôtres soulignent l'importance pronostique de ce polymorphisme et observent son effet au cours de l'évolution de la pathologie VIH (évolution naturelle, évolution sous HAART, complications...). D'un autre côté la démonstration que les chimiokines peuvent avoir un effet immunomodulateur sur les fonctions lymphocytaires, notamment la fonction des cellules CD8, permet d'évoquer le rôle de ces polymorphismes sur le contrôle des interactions hôtes-virus au cours de l'infection VIH. Ces données, appliquées également aux tentatives vaccinales, devraient permettre d'orienter des recherches pharmaceutiques vers de nouvelles cibles pour une immunothérapie efficace. Le polymorphisme des chimiokines/chimiorécepteurs et le rôle fonctionnel qu'il joue sur l'immunité cellulaire représentent ainsi des éléments importants d'ordre épidémiologique qui devraient permettre de mieux comprendre et prédire la contribution du génome de l'hôte non seulement à l'incidence de l'infection, mais à son évolution, notamment sous traitement innovant.

## BIBLIOGRAPHIE

- Alkhatib G., Combadière C., Broder C. C., Feng Y., Kennedy P. E., Murphy P. M. & Berger E. A., CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science*, 1996, 272, 1955.
- Arenzana-Seisdedos F., Virelizier J. L., Rousset D. *et al.*, HIV blocked by chemokine antagonist. *Nature*, 1996, 383, 400.
- Carington M., Nelson G. W., Martin M. P., Kissner T., Klattov D., Goedert D., Kaslow R., Buchbinder S., Hoots K., O'Brien S. D., HLA and HIV: heterozygote advantage and 835 - CW disadvantage. *Science*, 1999, 283, 1748-1752.
- Chapman G. A. *et al.*, The role of fractalkine in the recruitment of monocytes to the endothelium. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, 392 (3), 189-195.
- Combadière B., Faure S., Garin A., Debré P. & Combadière C. (manuscrit en préparation).
- Deng H., Liu R., Elimeler W., Choe S., Unutmaz D., Burkhardt M., Di Marzio P., Marmor S., Sutton R. E., 1-111 CM., Davis C. B., Peiper S. C., Schah T. J., Littman D. R. & Landau N. R., Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1 [see comments]. *Nature*, 1996, 381, 661.
- Dragic T., Litwin V., Allaway G. P., Martin S. R., Huang Y., Nagashima K. A., Cayanan C., Maddon P. J., Koup R. A., Moore J. P. & Paxton W. A., HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5 [see comments]. *Nature*, 1996, 381, 667.
- Gong J. H., Uguccioni M., Dewald B. *et al.*, RANTES and MCP-3 antagonists bind multiple chemokine receptors. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 10521-10527.
- Hadida F., Vicillard V., Autran B., Clark Lewis I., Baggio- lini M., Debré P., HIV-specific T cell cytotoxicity mediated by RANTES via the chemokine receptor CCR3. *J. Exp. Med.*, 1998, 3, 609-614.
- Hadida F., Vicillard V., Mollet L., Clark-Lewis L., Baggio- lini M., Debré P., RANTES regulates Fas ligand expression and killing by HIV-specific CD8 cytotoxic T cells. *J. Immunol.*, 1999, 163, 1105-1109.
- Harrison J. K. *et al.*, Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1998, 95 (18), 10896-10901.
- Kostrikus L. G., Huang Y., Moore J. P., Wolinsky S. M., Zhang L., Guo Y., Deutsch L., Phair J., Neumann A. U. & Ho D. D., A chemokine receptor CCR2 allele delays HIV-1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation [see comments]. *Nat. Med.*, 1998, 4, 350.
- Kostrikus L. G., Impact of natural chemokine receptor polymorphisms on perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1. *Teratology*; 2000, 61 (5), 387.
- Libert F., Cochaux P., Beckman G., Samson M., Aksenova M., Cao A., Czeizel A., Claustres M., R. ü. de la, Ferrari M., Ferrer C., Glover G., Grinde B., Güran S., Kucinskas V., Lavinha J., Mercier B., Ogur G., Peltonen L., Rosatelli C., Schwartz M., Spitsyn V., Timar L., Beckman L. & Vassart G., The delta CCR5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Hum. Mol. Genet.*, 1998, 7, 399.
- Liu H., Chao D., Nakayama E. E., Taguchi H., Goto M., Xin X., Takamatsu J., Saito H., Ishikawa Y., Akaza T., Juji T., Takebe Y., Ohishi T., Fukutake K., Maruyama Y., Yashiki S., Sonoda S., Nakamura T., Nagai Y., Iwamoto A. & Shioda T., Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects HIV-1 disease progression [In Process Citation]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 4581.
- Liu H., Shioda T., Nagai Y., Iwamoto A., Wasi C., Ma J., Liang W., Takebe Y., Théodorou I., Magierowska M., Krishnamoorthy R., Chaventre A. & Debré P., Distribution of HIV-1 disease modifying regulated on activation normal T cell expressed and secreted haplotypes in Asian, African and Caucasian individuals. French ALT and IMMUNOCO Study Group. *AIDS*, 1999, 13, 2602.
- Magierowska M., Lepage V., Boubnova L., Carcassi C., de Juan D., Djoulah S., El Chenawi F., Grunnet N., Halle L., Ivanova R., Jungerman M., Naumova E., Petraný G., Sonnerborg A., Stavropoulos C., Thorsby E., Vu-Trieu A., Debré P., Théodorou I. & Charron D., Distribution of the CCR5 gene 32 base pair deletion and SDF1-3'A variant in healthy individuals from different populations. *Immunogenetics*. 1998, 48, 417.
- Magierowska M., Lepage V., Lien T. X., Lan N. T., Guillo- tel M., Issafras H., Reynes J. M., Fleury H. J., Chi N. H., Follezo J. Y., Debré P., Théodorou I. & Barre-Sinoussi F., Novel variant of the CCR5 gene in a Vietnamese population. *Microbes. Infect.*, 1999, 1, 123.
- Magierowska M., Théodorou I., Debré P., Sanson F., Autran B., Riviere Y., Charron D. & Costagliola D., Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF1, and HLA genes can predict the long-term nonprogressor status in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Blood*, 1999, 93, 936.
- Martin M. P., Dean M., Smith M. W., Winkler C., Gerrard B., Michael N. L., Lee B., Doms R. W., Margolick J., Buchbinder S., Goedert J. J., O'Brien T. R., Hilgartner M. W., Vlahov D., O'Brien S. J. & Carrington M., Genetic acceleration of AIDS progression by a promoter variant of CCR5. *Science*, 1998, 282, 1907.
- Mcdermott D. H., Colla S. J., Kleiberger C. A., Plankey, Rosenberg P. S., Smith E. D., Zimmerman P. A., Combadière C., Leitman S. F., Kaslow R. A., Goeder J. J., Berger E. A., O'Brien T. R., Murphy P. M., Genetic polymorphism in CX3CR1 and risk of HIV disease. *Science*, 2000, 290 (5499), 2033.
- Mcdermott D. H., Zimmerman P. A., Guignard F., Kleiberger C. A., Leitman S. F. & Murphy P. M., CCR5 promoter polymorphism and HIV-1 disease progression. Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). *Lancet*, 1998, 352, 866.
- Meucci O. *et al.*, Expression of CX3CR1 chemokine receptors

- on neurons and their role in neuronal survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000.
24. Meyer L., Magierowska M., Hubert J. B., Rouziowe C., Dewau C., Sanson F., Debré P., Delfraissy J. F. & Théodorou I., Early protective effect of CR-5 delta 32 heterozygosity on HIV-1 disease progression: relationship with viral load. The SEROCO Study Group. *AIDS*, 1997, 11, 73.
25. Meyer L., Magierowska M., Hubert J. B., Théodorou I., van Rij R., Prins M., de Roda H., Coutinho R. & Schuitemaker H., CC-chemokine receptor variants, SDF-1 polymorphism, and disease progression in 720 HIV-infected patients. SEROCO Cohort. Amsterdam Cohort Studies on AIDS [letter]. *AIDS*, 1999, 13, 624.
26. Samson M., Libert F., Doranz B. J., Rucker J., Liesnard C., Farber C. M., Saragosti S., Lapoumeroulie C., Cognaux J., Forceille C., Muyldermans G., Verhofstede C., Burtonboy G., Georges M., Imai T., Rana S., Yi Y., Smyth R. J., Collman R. G., Dams R. W., Vassart G. & Parmentier M., Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene [see comments]. *Nature*, 1996, 382, 722.
27. Shin H. D., Winkler C., Srephens J. C. *et al.*, Genetic restriction of HIV-1 pathogenesis to AIDS by promoter alleles of IL10. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 14467-14472
28. Théodorou I., Meyer L., Magierowska M., Katlama C. & Rouziowe C., HIV-1 infection in an individual homozygous for CCR5 delta 32. Seroco Study Group [letter] [see comments]. *Lancet*, 1997, 349, 1219.
29. Yoneda O. *et al.*, Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells. *J. Immunol.*, 2000, 164(8), 4055-4062.