

Des petits ARN qui voient grand : les microARN et la persistance du VIH-1

Small RNAs with a big impact: microRNAs and HIV persistence

Nicolas Bellini^{1,2}

Robert Lodge¹

Éric A. Cohen^{1,2}

¹ Laboratoire de rétrovirologie humaine, Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, 110 avenue des Pins, Montréal, QC, Canada, H2W 1R7

² Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

Article accepté le 6 décembre 2021

Résumé. La thérapie antirétrovirale (TAR) inhibe la réplication du VIH-1 mais n'est pas curative. Pendant la TAR, le génome intégré du VIH-1 persiste principalement dans les lymphocytes T mémoires CD4⁺ ainsi que dans d'autres cellules immunitaires, notamment les cellules myéloïdes comme les macrophages. La majorité de ces cellules ne produisent pas de particules virales infectieuses et constituent le réservoir latent. D'importants progrès ont été réalisés dans l'identification des facteurs qui contribuent à l'établissement et au maintien du réservoir latent qui demeure le principal obstacle à l'éradication du VIH-1. Dans cette revue, nous mettons en relief le rôle des microARN dans le développement des réservoirs viraux vu que ceux-ci sont d'importants modulateurs de l'expression génique, ciblant des facteurs de transcription ainsi que d'autres effecteurs nécessaires à l'infection productive du VIH-1. Certains microARN ciblent même directement les transcrits viraux. Nous soulignerons les grandes questions en suspens sur la participation active des microARN de l'hôte aux mécanismes de persistance virale et notamment ceux régissant la latence virale. Finalement, compte tenu des stratégies actuelles qui ne permettent toujours pas de réduire efficacement les réservoirs viraux, les perspectives quant à l'utilisation des microARN comme approche pour contrer la persistance des réservoirs latents seront discutées.

Mots clés : microARN, VIH, persistance, latence, réservoir viral

Abstract. Antiretroviral therapy (ART) inhibits HIV-1 replication and disease progression but does not lead to a cure. During ART, the integrated HIV-1 genome persists mainly in memory CD4⁺ T lymphocytes, as well as in other immune cells, such as macrophages. Most of these cells do not produce viral particles, establishing a latent reservoir. Much progress has been made in identifying factors that contribute to the establishment and maintenance of latent reservoirs; however, they remain the main hurdle for HIV-1 eradication. In this review, we discuss the role of microRNAs in the development of the viral reservoir. These modulators of gene expression target effectors governing productive infection and have even direct impacts on viral transcripts. In this review, we consider current unresolved questions regarding host microRNAs in HIV-1 persistence, particularly those involved in viral latency. Additionally, given that current strategies have yet to effectively reduce viral reservoirs, the potential use of microRNAs to counter the persistence of latent reservoirs is also discussed.

Key words: microRNAs, HIV, persistence, latency, viral reservoir

Correspondance : É.A. Cohen
<eric.cohen@ircm.qc.ca>

Introduction

Le développement de la thérapie antirétrovirale (TAR) combinée pour la suppression de la réplication du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) représente une avancée remarquable de la médecine moderne. Bien que ces traitements améliorent la santé et prolongent la vie des personnes vivant avec le VIH-1, la TAR n'est pas curative. L'incapacité des traitements actuels d'éradiquer l'infection découle des propriétés du virus à persister dans plusieurs types de cellules et tissus [1]. À l'arrêt des traitements, la virémie rebondit rapidement, entraînant une morbidité et une mortalité accélérées soulignant la nécessité d'un traitement continu durant la vie de la personne infectée. Un des modes de persistance est celui établi dans les lymphocytes T CD4⁺ mémoires qui hébergent des formes intégrées latentes du génome viral qui sont compétentes pour la réplication virale. Sous cette forme, le virus n'est pas affecté par les médicaments antirétroviraux ou les réponses immunitaires, formant ainsi un réservoir latent [2]. Toutefois, si la cellule hôte est activée par un stimulus d'activation, la latence peut être inversée et la cellule peut commencer à produire de nouvelles particules virales infectieuses se traduisant par un rebond de la virémie en cas d'interruption du traitement [2, 3]. Bien que les lymphocytes T CD4⁺ mémoires représentent le réservoir latent du VIH-1 le mieux caractérisé, de plus en plus de données suggèrent que d'autres cellules à longue durée de vie comme certains types de macrophages tissulaires favorisent la persistance virale et contribuent au rebond de virémie lors d'une interruption de traitement [4]. Il est donc impératif de mieux comprendre les mécanismes permettant l'établissement de ces réservoirs et notamment les facteurs de l'hôte qui régissent la susceptibilité de ces cellules à l'infection et la latence virale. L'identification et la caractérisation du rôle de ces facteurs cellulaires dans la persistance virale sont des prérequis nécessaires afin d'informer et guider le développement d'approches thérapeutiques destinées à éliminer ou du moins contrôler les réservoirs viraux qui persistent en présence de TAR.

Dans cette revue, nous ferons une synthèse des progrès récents dans l'étude des mécanismes permettant l'établissement et la persistance des réservoirs viraux dans les lymphocytes T mémoires et les macrophages en mettant en relief le rôle des microARN (miARN) codés par ces cellules dans ces processus. Nous noterons également les propriétés de régulation de l'expression génique des miARN qui demeurent peu définis et soulignerons les questions qui sont toujours en suspens. Finalement, nous mettrons en avant comment l'étude et l'utilisation de ces miARN pourraient mener à de nouvelles approches innovantes pour contrer l'établissement et la persistance de ces réservoirs viraux.

Les réservoirs et la latence virale

Le VIH-1 est un rétrovirus appartenant au genre des lentivirus. Les rétrovirus ont la particularité de convertir leur information génétique sous forme de deux molécules d'ARN simple brin en un ADN proviral double brin à travers un processus de transcription inverse [5]. Par ailleurs, leur cycle d'infection productif passe par l'intégration de l'ADN proviral dans le génome de la cellule hôte par l'action de l'intégrase virale [6]. La latence virale est la capacité d'un virus pathogène de persister à l'état dormant dans une cellule hôte, c'est-à-dire sans production de nouveaux virions. La latence du VIH-1 peut-être sous deux formes. La première, dite latence pré-intégrative, survient avant l'intégration de l'ADN dans le génome de la cellule hôte ; cependant sa contribution à la persistance virale est très minoritaire. Au contraire, la latence post-intégrative représente le mécanisme majoritaire qui contribue à la persistance du VIH-1. La suppression de la transcription du VIH-1 contribue fortement à l'établissement et au maintien de la latence post-intégrative. Parmi les facteurs qui modulent cette transcription, citons d'abord l'organisation de la chromatine dont un état compact par l'introduction de modifications épigénétiques, inhibe la transcription des gènes [7]. En effet, l'initiation de la transcription des gènes viraux nécessite un accès au promoteur viral par des régulateurs transcriptionnels cellulaires clés, tels que NF- κ B (*Nuclear Factor kappa-B*) ou NFAT (*Nuclear Factor of Activated T-cells*) [8]. Le VIH-1 code également le transactivateur Tat (*Trans-Activator of Transcription*), qui interagit avec plusieurs facteurs d'élongation transcriptionnelle cellulaires, incluant pTEFb (*Positive Transcription Elongation Factor b*), afin de stimuler la transcription des gènes viraux [9].

L'établissement d'une infection latente par le VIH-1 dans une population cellulaire contribue à la formation du réservoir viral (*figure 1*). L'un des réservoirs principaux du VIH-1 se trouve dans les lymphocytes T CD4⁺ mémoires, principalement les cellules mémoires centrales et mémoires transitionnelles [3]. De plus, les lymphocytes mémoires T CD4⁺ CCR6⁺ (*C-C motif Chemokine Receptor 6*) contiennent de fortes quantités de virus intégrés par rapport aux lymphocytes mémoires T CD4⁺ CCR6⁻ [10]. Ces cellules, ayant la capacité de migrer vers les ganglions et l'intestin, pourraient contribuer à l'infection et à la persistance du VIH-1 dans ces sites privilégiés. Bien que l'on ne sache toujours pas précisément comment le virus établit une latence dans les lymphocytes T CD4⁺, l'une des hypothèses actuelles postule que l'infection latente découlerait de l'infection de lymphocytes T CD4⁺ activés [11]. L'infection entraînerait dans la majorité des cas une mort cellulaire rapide suite aux effets cytopathiques du virus,

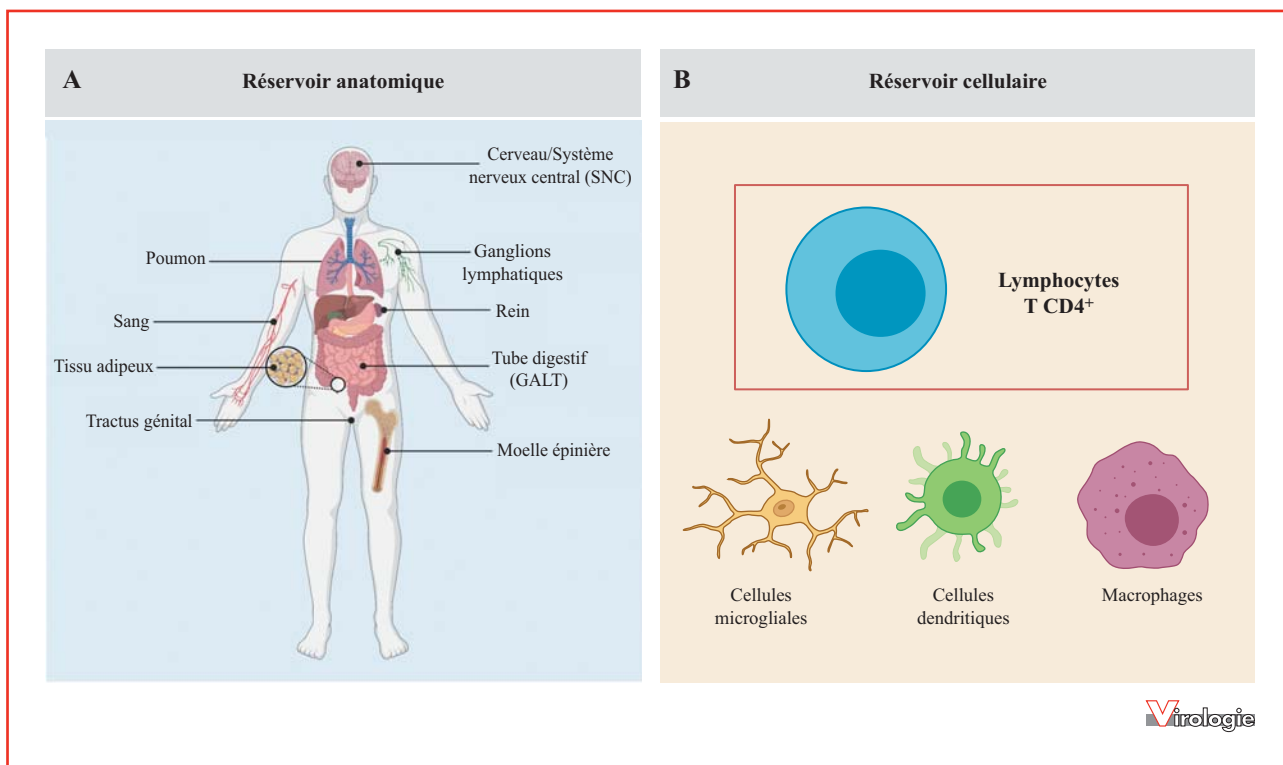


Figure 1. Le réservoir latent du VIH-1 est présent dans de nombreux tissus et types cellulaires. (A) Les lymphocytes T CD4⁺ trouvés entre autres dans le sang périphérique sont la principale source du réservoir du VIH-1. Les tissus lymphoïdes, comme le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT), ainsi que le système nerveux central (SNC), dû à la présence de cellules myéloïdes à durée de vie très longue (microglies et macrophages), agissent aussi comme réservoirs viraux. De plus, des tissus tels que les reins, les poumons, le tissu adipeux, le tractus génital, peuvent également contenir des cellules hébergeant un provirus latent. (B) Les tissus qui agissent comme réservoirs contiennent des cellules qui peuvent héberger des virus latents : majoritairement des lymphocytes T CD4⁺ (sang et tissus lymphoïdes), mais aussi les macrophages (poumons, cerveau, tractus génital). Ces nombreuses cellules aux propriétés uniques contribuent à la persistance du VIH-1 en présence de TAR.

mais une minorité d'entre elles pourraient survivre et revenir vers un état mémoire au repos. Le résultat serait une forme silencieuse du génome viral dans une cellule à longue durée de vie (figure 2A). Plus récemment, Shan *et al.* ont avancé une autre hypothèse suggérant que la latence découlerait de l'infection de lymphocytes T CD4⁺ dans un délai très bref suite à leur activation [12]. Ces cellules seraient caractérisées par une expression accrue du co-récepteur CCR5 (*C-C motif Chemokine Receptor 5*) facilitant l'entrée du virus, et dans un même temps, un environnement peu propice à l'expression des gènes du VIH-1, favorisant une infection latente (figure 2B). Une dernière hypothèse serait l'infection directe des lymphocytes T CD4⁺ au repos, malgré leur incapacité à produire des particules infectieuses due à la présence de nombreux facteurs de restriction qui bloquent des étapes précises du cycle de réplication virale [13] (figure 2C). Bien que le réservoir viral dans les lymphocytes T CD4⁺ soit le plus étudié, la comparaison des séquences entre virus latents dans les lymphocytes et les virus nouvellement produits suite à

l'interruption de la TAR suggère très fortement l'existence d'un réservoir viral dans d'autres types cellulaires [14].

Compte tenu de leur durée de vie pouvant s'échelonner de mois à des années, de leur capacité unique à résister aux effets cytopathiques du VIH-1 et à la destruction induite par les lymphocytes T CD8⁺ et les cellules NK (*Natural Killer*) [15], les macrophages seraient également un réservoir viral pendant le traitement antirétroviral (figure 1B) [16]. Cependant, les macrophages dérivés de monocytes ainsi que les autres macrophages spécialisés de différents tissus du corps (intestin, cerveau, foie, urètre, ganglions lymphatiques) varient dans leur permissivité au virus, à la fois selon leur origine, leurs particularités environnementales et leur état d'activation [17-19]. Par exemple, lors de la différenciation des monocytes en macrophages, ces cellules deviennent plus susceptibles à l'infection par le VIH-1 et contribueraient ainsi à la propagation du virus [20] ; cependant leur existence est relativement courte. En revanche, certaines populations de macrophages tissulaires spécialisés se renouvellent et ont une longue durée de

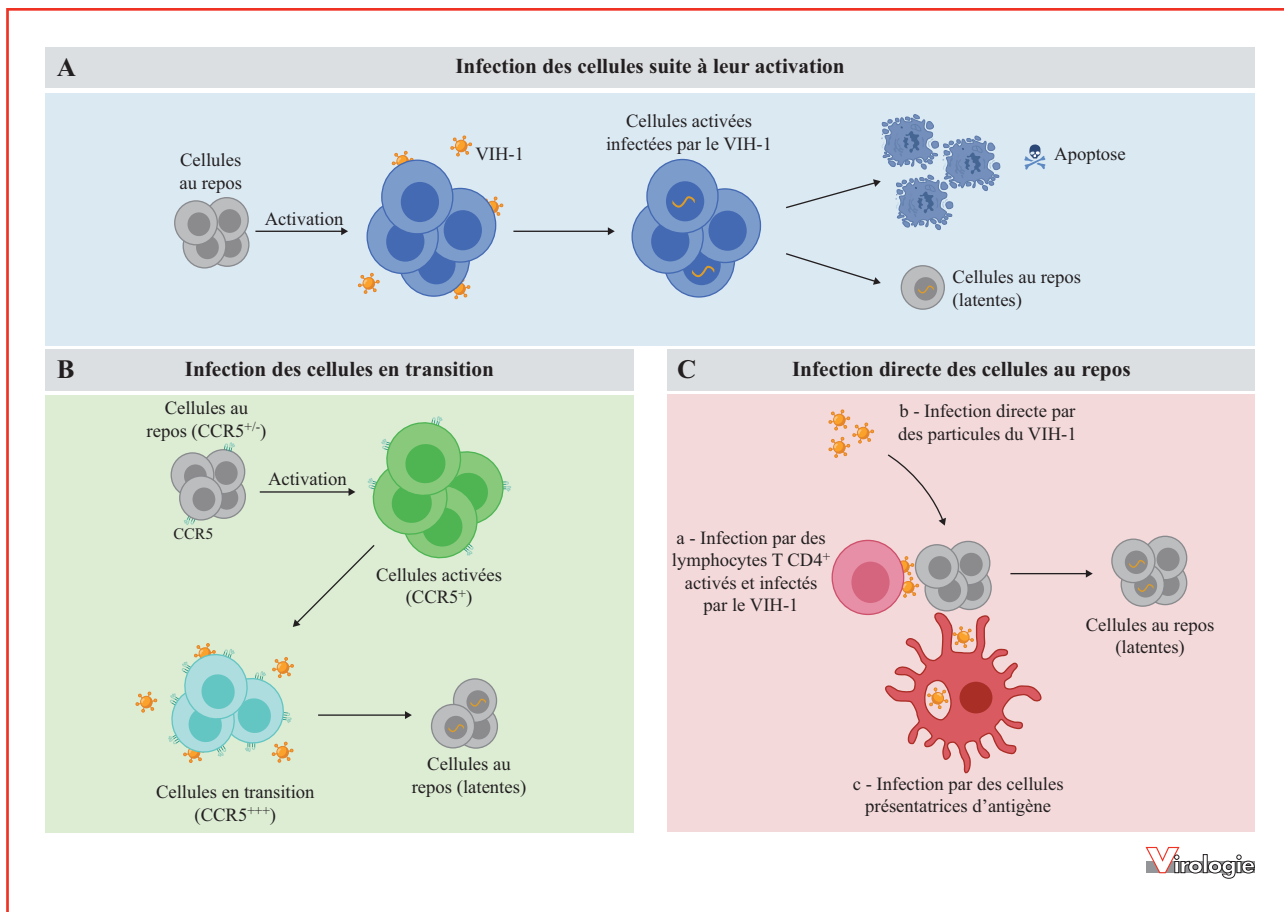


Figure 2. Établissement d'une infection latente dans les lymphocytes T CD4⁺. (A) Les lymphocytes T CD4⁺ au repos sont peu sensibles à l'infection par le VIH-1 dû à de nombreux facteurs de restriction. Cependant, à la suite d'une activation, les cellules deviennent particulièrement susceptibles à l'infection. À la suite de cette infection, la majorité des cellules T CD4⁺ vont être détruites, dû en partie aux effets cytopathiques du virus. Cependant, certaines cellules survivent et reviennent à un état de repos. Le résultat est une forme silencieuse du génome viral dans une cellule à longue durée de vie. (B) L'expression du co-récepteur CCR5 varie entre les différents états des lymphocytes T CD4⁺ à la suite de leur activation. Ainsi, il existe une population de cellules dans un état de « transition » (ni activée, ni mémoire) qui expriment fortement le CCR5, mais qui présentent un environnement peu favorable à l'expression des gènes du VIH-1 : ceci favorise une infection latente. (C) L'infection directe des cellules au repos peut se faire de différentes façons : (a) par contact cellule-cellule avec des lymphocytes T CD4⁺ activés et infectés, (b) par une infection directe du virus « libre », (c) par contact cellule-cellule avec des cellules présentatrices d'antigène qui ont internalisé le virus.

vie [19]. Quoique certains macrophages tissulaires sont résistants au VIH-1 (par exemple, les macrophages du tissu lymphoïde intestinal (GALT, *Gut-Associated Lymphoid Tissue*)) [21], les macrophages alvéolaires du poumon sont permissifs à l'infection [22]. De plus, l'ARN du VIH-1 est présent dans les macrophages du vagin [17] et récemment, une étude a mis en évidence la présence de provirus intégrés dans les macrophages urétraux, indiquant un réservoir potentiel dans ces tissus [23]. Le système nerveux central (SNC) est également un réservoir tissulaire important. Le VIH-1 atteint le SNC dès la primo-infection grâce au passage de cellules infectées à travers la barrière hémato-encéphalique. Dans le SNC, le VIH-1 persiste dans

les macrophages résidents comme les cellules microgliales et les macrophages périvasculaires [24] (*figure 1*).

Il est difficile de mesurer précisément le réservoir du VIH-1 car il n'existe pas de marqueur cellulaire qui distingue les cellules infectées latentes des cellules non infectées, d'autant plus que le nombre de cellules infectées latentes est très faible : la fréquence des cellules latentes compétentes pour la réplication est estimée à environ 0,1-10 unités infectieuses par millions de lymphocytes T CD4⁺ au repos chez la plupart des personnes sous TAR [25, 26]. L'une des stratégies les plus étudiées ces dernières années pour réduire le réservoir est connue sous le nom « réactivation et élimination (*shock and kill*) » et propose

dans un premier temps de réactiver le réservoir viral à l'aide de molécules inversant la latence dans le but d'exprimer des antigènes viraux. Par exemple, l'utilisation d'inhibiteurs de l'histone désacétylase (HDAC) perturbe l'activité désacétylase à proximité du LTR (*Long Terminal Repeat*) du VIH-1, favorisant l'expression des gènes viraux [27]. Les agonistes de la protéine kinase C (PKC), quant à eux, stimulent la voie NF- κ B ainsi que l'expression des gènes du VIH-1 [28]. Dans un deuxième temps, cette stratégie propose de stimuler le système immunitaire pour induire la clairance des cellules réactivées, le tout en présence de TAR pour limiter l'infection subséquente de cellules susceptibles au VIH-1 [29]. Cependant, malgré des résultats prometteurs *in vitro*, cette stratégie n'a pour le moment pas pu réduire efficacement le réservoir chez les individus infectés dans le cadre d'essais cliniques [30]. Une réactivation virale inefficace ainsi qu'une résistance des cellules latentes aux effets cytotoxiques des lymphocytes T CD8⁺ expliquent entre autres ces résultats *in vivo* [31]. Ceci confirme la nécessité de développer de nouvelles approches alternatives, dont fait partie la stratégie « bloquer et verrouiller (*block and lock*) ». En effet, contrairement à la stratégie décrite précédemment, celle-ci consisterait à induire une latence profonde de façon permanente en ciblant différents facteurs transcriptionnels [32]. Dans cette stratégie, l'utilisation des miARN peut être envisagée afin de maintenir le VIH-1 dans une latence profonde.

Les miARN et leur rôle dans l'infection par le VIH-1

Les miARN sont de petits ARN régulateurs d'environ 20-22 nucléotides dont l'appariement à un ARN messager (ARNm) cible conduit à une répression de la traduction ou à sa dégradation [33] (*figure 3*). Jusqu'à 60 % des gènes humains seraient régulés par les miARN [34], qui ciblent à la fois plusieurs fonctions cellulaires et familles de gènes. C'est le cas, par exemple, de la condensation de la chromatine, des mécanismes épigénétiques [35] et de la réponse immunitaire [36], tous pertinents dans l'établissement et le maintien de la latence virale. En effet, ces petits ARN régulateurs sont impliqués dans l'hématopoïèse des lignées lymphoïdes et myéloïdes, dans leur différenciation ainsi que dans leur activation [37, 38]. D'autre part, la modulation de la réponse immunitaire innée implique de nombreux miARN : par exemple, miR-146 et miR-155 sont parmi les premiers miARN identifiés à la suite d'une stimulation par les récepteurs de type Toll (*Toll-Like Receptors*, TLRs) ou des cytokines pro-inflammatoires [39]. Cependant l'expression de plusieurs miARN est contrôlée par de puissantes voies activatrices immunitaires, telle que la voie

NF- κ B et les conséquences de cette activation ont un lien direct avec la réponse antivirale cellulaire [40].

Le rôle régulateur des miARN dans les processus cellulaires a un impact sur la réplication des virus, ceux-ci étant reconnus pour détourner les machineries cellulaires à leur profit. Par exemple, miR-122 se lie à la région 5' du génome du virus de l'hépatite C (VHC), favorisant sa réplication virale [41]. Des essais pré-cliniques montrent que l'inhibition de ce miARN entraîne une forte diminution de la réplication du VHC [42]. Il n'est donc pas surprenant que la réplication du VIH soit également affectée par les miARN, d'autant plus que les cellules ont élaboré des réponses antivirales, parmi lesquelles les miARN jouent un rôle effecteur important (*figure 4*). Ainsi, certains miARN semblent avantager la réplication du VIH-1, notamment en ciblant des facteurs qui restreignent la réplication virale. Par exemple, le miR-148, en ciblant les ARNm du HLA-C (*Human Leukocyte Antigen-C*), diminuerait l'expression de cette molécule et un polymorphisme du HLA-C empêchant cette interaction est associé à un contrôle de la virémie chez l'hôte infecté [43]. Les miR-181 [44] et miR-124a [45] ciblent SAMHD1 (*SAM and HD Domain containing deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase 1*) et p21, respectivement, qui sont des régulateurs des niveaux de déoxynucléosides triphosphates cellulaires et ainsi des inhibiteurs de la transcription inverse (*figure 4*). Le miR-34a cible l'expression de TASK (*TWIK-related Acid Sensitive K⁺ channel*), un constituant de canaux potassiques qui inhibe la protéine virale Vpu (*Viral protein U*) [45]. Enfin, dans certains cas, le VIH-1 induit des miARN qui compromettent la réponse immunitaire : la protéine virale Vpu induit l'expression des miR-34c, miR-93, miR-381 et miR-500a qui réduisent les peroxisomes cellulaires, des plateformes de signalisation de la réponse immunitaire innée [46]. Ces effets favorisent une meilleure réplication virale. D'autres miARN induits par le VIH-1 sont associés à sa pathogenèse, par exemple lors de maladies neurocognitives, mais leurs mécanismes d'action ne sont pas bien définis [47].

Jusqu'à maintenant, la grande majorité des miARN identifiés comme étant impliqués dans la réplication du VIH-1 le sont du fait de leur effet antiviral. D'abord, plusieurs de ces miARN sont liés à la modulation de la réponse immunitaire innée. Parmi ceux-ci, notons miR-29, miR-125b, miR-149 et miR-223 [37]. Il est remarquable que le miR-29 cible directement l'ARN du VIH-1, possiblement au niveau des régions codantes (par exemple, pour *nef* (*negative regulatory factor*) [48]), quoique tous ciblent l'ARN viral au niveau du LTR [49] (*figure 4*). Une autre catégorie de miARN antiviraux est les modulateurs de facteurs cellulaires nécessaires à l'achèvement du cycle viral (les HDFs, *HIV-Dependency Factors*). On y retrouve le miR-155, qui, comme nous allons l'aborder dans la section suivante, se

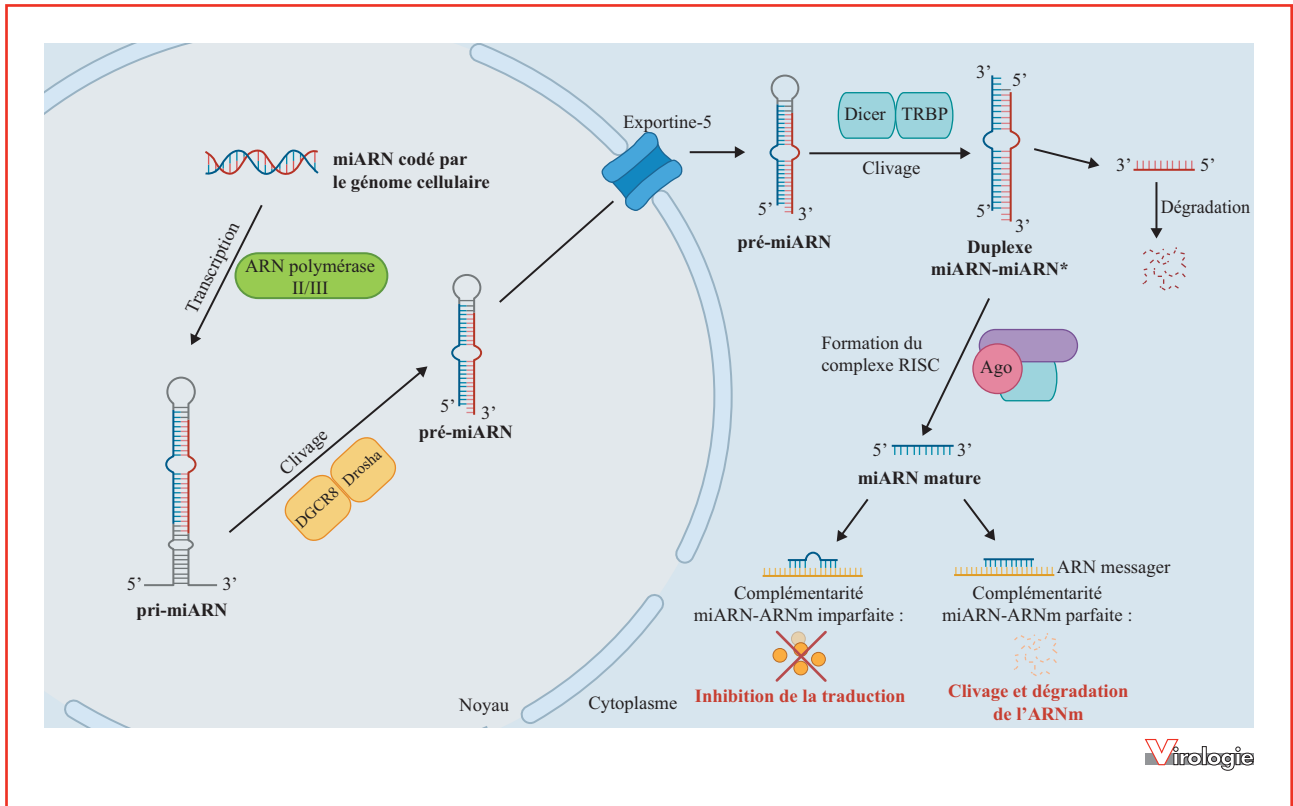


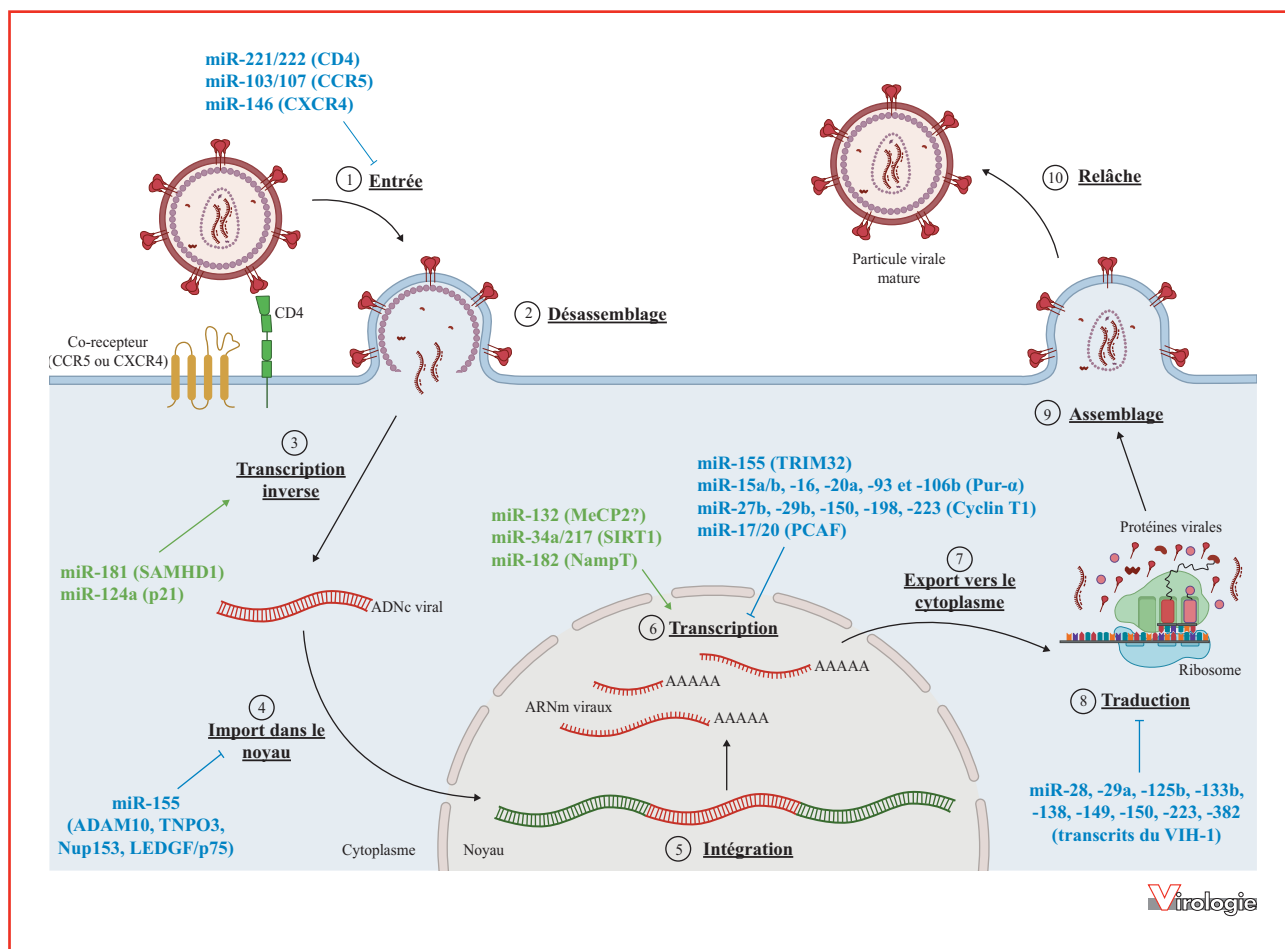
Figure 3. Biogenèse des miARN. Les miARN sont transcrits par une ARN polymérase de type II/III sous la forme de longs précurseurs tige-boucle appelés miARN primaires (pri-miARN). La première étape de maturation se déroule au sein du noyau où le pri-miARN est pris en charge par l'endoribonucléase de type III Drosha et son cofacteur DGCR8 (*DiGeorge syndrome Critical Region gene 8*). Un clivage permet de libérer le précurseur de miARN (pré-miARN), d'environ 60 à 70 nucléotides, caractérisé par la présence d'une structure en tige-boucle et d'une extrémité protubérante en 3'. Par la suite, les pré-miARN sont transportés de manière active depuis le noyau vers le cytosol par l'Exportine 5. Le pré-miARN est alors clivé par un complexe enzymatique comprenant un membre de la famille de la ribonucléase III Dicer et TRBP (*TAR-RNA Binding Protein*). Dicer reconnaît et clive l'ARN double-brin proche de la structure boucle du pré-miARN, ce qui libère un miARN mature, aux extrémités 3' cohésives, appelé « duplex miARN/miARN* », avec un brin guide et un brin passager. Le complexe multiprotéique RISC (*RNA-Induced Silencing Complex*), composé principalement d'une des quatre protéines Argonaute présente chez l'humain, va sélectionner un brin du duplex (le brin guide), et dégrader le brin opposé (le brin passager). Finalement, le miARN sélectionné va servir de guide pour cibler un ARNm. Deux voies de suppression sont alors possibles, soit un clivage de l'ARNm cible si la complémentarité avec le miARN est parfaite, soit une répression de la traduction, associée éventuellement à une dégradation de l'ARNm, dans le cas où la complémentarité entre miARN et ARNm est imparfaite.

trouve à être un modulateur important de la latence virale dans les lymphocytes et les macrophages.

Les miARN : un rôle dans l'établissement de la latence virale dans les lymphocytes T CD4⁺

Au-delà de leurs rôles au cours de l'infection par le VIH-1, les miARN interviennent aussi dans l'établissement de la latence virale [50]. Comme décrit précédemment, les lymphocytes T CD4⁺ au repos ne produisent pas de particules virales infectieuses ; cependant l'ADN proviral

peut être retrouvé dans ces cellules, suggérant la présence d'un réservoir latent. Les mécanismes menant à cette latence ne sont pas totalement compris mais les miARN cellulaires, en inhibant la réplication du virus, sont impliqués dans ce phénomène. Parmi eux, le miR-155 joue un rôle central dans l'établissement de la latence du VIH-1. Notamment, ce miARN cible le facteur TRIM32 (*Tripartite Motif containing 32*), une ubiquitine ligase E3 qui active NF-κB favorisant ainsi la transcription du VIH-1 dans le modèle lymphocytaire de latence post-intégration *J-lat* [51] (figure 4). Lorsque les niveaux de TRIM32 sont réduits, une réactivation plus faible du virus latent a été observée et inversement, lorsque TRIM32 est surexprimé, une activation virale accrue est détectée.



Virologie

Figure 4. Les miARN cellulaires peuvent moduler l'infektivité et la réplication du VIH-1. L'infection par le VIH-1 peut être directement affectée par des miARN cellulaires qui peuvent cibler le virus à différentes étapes de son cycle de réplication. La majorité des miARN identifiés à ce jour ont un effet antiviral et inhibent la réplication du VIH-1 (indiqués en bleu). Quelques miARN identifiés récemment peuvent favoriser l'infection par le VIH-1 (indiqués en vert). Les cibles des miARN sont entre parenthèses.

En plus de miR-155, d'autres miARN ont également un rôle dans la latence du VIH-1, en modulant des facteurs cellulaires dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos et activés. En effet, la cycline T1, qui a un rôle important dans la transactivation induite par Tat, est augmentée lors de l'activation des lymphocytes T CD4⁺. Cette augmentation est due à une diminution du miR-27b dans les cellules activées [52]. Les miARN peuvent également inhiber fortement la production du VIH-1 en réprimant l'expression des gènes du virus. Par exemple, un groupe de miARN comprenant les miR-28, miR-125b, miR-150, miR-223 et miR-382 sont considérablement enrichis dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos (par rapport aux cellules activées) [53]. Ces miARN ciblent l'extrémité 3' de l'ARN du VIH-1 (3' UTR, la région non traduite commune à tous les ARNm du VIH-1) empêchant ainsi la traduction des gènes du VIH-1 et la production de

nouvelles particules infectieuses. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de ces miARN augmente la production virale dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos, illustrant le rôle de ces miARN dans le maintien de la latence dans ces cellules [53].

Finalement, quelques miARN ont un effet positif sur la réplication du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4⁺. Ainsi, Chiang *et al.* ont rapporté que le miR-132 réactive le VIH-1 latent et augmente la réplication du virus dans les lymphocytes [54]. Il est possible que cette hausse de la réplication virale soit due à la réduction du régulateur transcriptionnel MeCP2 (*Methyl-CpG-binding protein 2*), mais le lien définitif reste à établir [55]. Enfin, les miR-34a, miR-182 et miR-217 inhibent l'expression de la Sirtuine 1 (SIRT1), une déacétylase, qui aboutit à une activité accrue de NF-κB favorisant la réplication du VIH-1 [56-58] (figure 4).

Les miARN : un rôle dans l'établissement de la latence virale dans les macrophages/monocytes

Le réservoir viral latent dans les macrophages/monocytes est moins caractérisé que celui des lymphocytes T CD4⁺ [16], bien qu'il existe plusieurs indications que les miARN jouent un rôle dans son établissement. Par exemple, dans les macrophages activés, le miR-155 cible les ARNm de plusieurs protéines cellulaires impliquées dans la biogenèse et le transport nucléaire du complexe de pré-intégration : ADAM10 (*A Disintegrin And Metalloprotease domain 10*), TNPO3 (*Transportin 3*), Nup153 (*Nucleoporin 153*) et LEDGF/p75 (*Lens Epithelium-Derived Growth Factor*). Ces protéines sont nécessaires à l'intégration de l'ADN proviral dans le génome de l'hôte [59] (figure 4).

Bien que les monocytes puissent être infectés par le VIH-1, ils sont réfractaires à sa réplication [16]. En effet, cette restriction peut être surmontée au cours de la différenciation en macrophages (MDMs, *Monocyte-Derived Macrophages*) [60] ou en cellules dendritiques (MDDCs, *Monocyte-Derived Dendritic Cells*) [61]. Dans ce sens, Shen *et al.* ont montré que l'expression de Pur- α (*Purine-Rich single stranded DNA-binding protein alpha*) une protéine de liaison à l'ADN et à l'ARN, connue pour favoriser la transactivation induite par Tat, est altérée dans les monocytes. L'étude en question montre que son 3'UTR est la cible d'un groupe de miARN (incluant miR-15a/b, miR-16, miR-20a, miR-93 et miR-106b) qui sont augmentés dans les monocytes par rapport aux MDDCs. Les monocytes traités avec des inhibiteurs (antagomirs) de ces miARN sont plus susceptibles à l'infection, tandis que les MDDCs traités avec les analogues de ces miARN sont plus résistantes à l'infection par le VIH-1 [62]. De plus, Wang *et al.* ont montré que les monocytes expriment des niveaux élevés de miR-28, miR-125b, miR-150, miR-223 et miR-382, qui correspondent aux miARN qui inhibent la réplication du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4⁺ au repos décrits précédemment. La diminution de ces miARN dans les monocytes a amélioré l'infection par le VIH-1, suggérant que ces miARN participent à la non-permissivité des monocytes à l'infection productive par le VIH-1 [49].

S'il est donc désormais fort probable que les miARN ont un rôle dans l'établissement de la latence du VIH-1 (par exemple par l'intermédiaire de la suppression de facteurs de transcription) et dans le maintien de la latence du VIH-1 (par exemple en ciblant directement les ARN viraux), très peu d'études comparatives du profil global d'expression des miARN entre cellules infectées et cellules latentes ont jusqu'ici été réalisées quel que soit le type cellulaire. Dans ce sens, Yang *et al.* ont montré une régulation différente de plusieurs miARN impliqués dans la signalisation cellulaire,

l'apoptose et la réorganisation du cytosquelette [63]. Cependant, cette étude porte sur une lignée cellulaire de type lymphocytaire modélisant la latence du VIH-1, en raison de la difficulté d'obtenir un modèle de latence de lymphocytes T CD4⁺ primaires. Des études plus approfondies basées sur des cellules primaires T CD4⁺ issues d'un réservoir de patient sous TAR, par exemple, ou des MDMs sont donc nécessaires. L'utilisation de vecteurs lentiviraux bi-cistroniques développés récemment afin de permettre la séparation de cellules infectées productivement de cellules infectées de manière latente serait dans ce sens utile pour répondre à cette question dans un contexte plus physiologique [64].

L'entrée, une étape du cycle viral modulée par les miARN

Bien que la latence du VIH-1 soit une caractéristique intimement liée à l'établissement du réservoir viral, il demeure que cibler d'autres étapes du cycle d'infection peut avoir des conséquences directes sur la constitution du réservoir, son importance et ses attributs. Par exemple, intervenir au niveau des premières étapes du cycle viral, c'est-à-dire au point de la reconnaissance par le virus de ses récepteurs CD4 et CCR5 ou CXCR4 (*C-X-C motif Chemokine Receptor 4*) à la surface cellulaire limiterait l'implantation de nouveaux réservoirs dans des tissus connexes susceptibles, à la suite d'une réactivation virale. Cette stratégie est validée par la reconstitution d'un système immunitaire chez un individu infecté composé de cellules n'exprimant pas CCR5 et ainsi résistantes à l'infection suite à une transplantation de cellules souches provenant d'un donneur homozygote pour une forme mutante de CCR5, CCR5 Δ 32 [65]. Comprendre comment l'expression du récepteur principal viral (CD4) et de ses co-récepteurs (CCR5/CXCR4) est modulée par les miARN a le potentiel d'ouvrir de précieuses pistes à ce sujet.

L'expression du récepteur CD4 à la surface des cellules diminue suite à la différenciation des monocytes du sang en macrophages [66]. En effet, la liaison de CD4 avec le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) est une étape qui déclenche cette différenciation [67]. Il est remarquable que bien que les monocytes expriment fortement le CD4, ils sont peu infectables par le VIH-1 [68] ; ceci est dû à la présence de facteurs de restriction cellulaires [49, 69], dont les miARN tels que décrits précédemment [49, 66]. De plus, l'activation des macrophages par des cytokines réduit l'expression de CD4 [70, 71] et donc leur susceptibilité au VIH-1 [72].

En triant les macrophages productivement infectés par le VIH-1 des autres cellules avoisinantes, nous avons ainsi

pu déterminer que l'infection par le VIH-1 conduit à une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires qui modifient substantiellement le répertoire de miARN exprimés par les macrophages [73]. Plus particulièrement, parmi ces cytokines, le facteur de nécrose tumorale (*Tumor Necrosis Factor*, TNF- α) augmente l'expression des miR-221/222, des miARN régulés par NF- κ B, qui modulent à la baisse le récepteur CD4 dans les cellules avoisinantes. Dans ces mêmes cellules, l'interleukine-1 β (IL-1 β) accroît l'expression des miR-103/107, deux miARN régulés par p53 (*TP53*, *Tumor Protein 53*), diminuant ainsi le niveau de co-récepteur CCR5 [74] (*figure 4*). Parallèlement, l'expression de CD4 est régulée par miR-222 [75] et celle de CXCR4 par miR-146 [76] dans les lymphocytes. En affectant l'entrée virale, ces miARN ne sont-ils pas indirectement des facteurs limitants pour l'établissement de réservoirs viraux ?

Les états d'activation et de différenciation ont aussi un impact sur l'expression de CCR5 dans les lymphocytes. En effet, Shan *et al.* ont observé une augmentation de CCR5 lors de la période de transition d'état activé/effecteur vers celui de lymphocyte mémoire, permettant au VIH-1 d'infecter et de compléter son cycle jusqu'à l'intégration [12]. Cependant, ces cellules étant peu actives au niveau transcriptionnel, ces étapes aboutiraient à une latence et à l'établissement d'un réservoir viral. Étant donné que les miR-103/107 ciblent le CCR5, il serait intéressant de déterminer si ces miARN sont modulés dans ce contexte. La voie de signalisation p53 est reconfigurée lors de l'établissement de la latence virale dans les lymphocytes [77], or cette voie est impliquée dans l'expression des miR-103/107 dans les macrophages [74]. Le rôle d'autres modulateurs de CCR5, tel que le long ARN non-codant (lncARN) CCR5AS (*CCR5 Anti-Sense RNA*), qui protège l'ARNm de CCR5 de la dégradation induite par la protéine Raly, reste aussi à être déterminé [78].

Les miARN pour maintenir ou contrer la latence

Jusqu'à présent, aucun médicament ne s'est avéré efficace *in vivo* pour réduire le réservoir latent. Basé sur leurs propriétés, les miARN pourraient être utilisés en tant que nouveaux composés capables de contrôler l'établissement et le maintien de la latence à l'aide de différentes approches (*figure 5*).

Comme discuté précédemment, il est tout d'abord possible d'induire les miARN par des facteurs cellulaires, notamment les cytokines. Ainsi, entraîner une augmentation des miARN ciblant des facteurs de dépendance du VIH-1 (miR-16, miR-132, miR-34c) ou des miARN ciblant

l'ARN viral (miR-29a, miR-92a), contribuerait à maintenir le réservoir dans une latence profonde (*figure 5A*). Cependant, l'efficacité et la pertinence physiologiques des effets induits par les miARN sur la réplication du VIH-1 restent un domaine encore en cours d'étude et sujet à certaines controverses. En effet, on peut se demander quel est le nombre de copies de miARN cellulaires nécessaire pour exercer un effet sur la réplication du VIH-1. Il est également important de mentionner que le réservoir latent se trouve dans différents types cellulaires et les effets des miARN peuvent être différents dans différents types de cellules. Il est probable qu'une surexpression de miARN induirait une certaine toxicité étant donné l'éventail de cibles modulées par un seul miARN [79] ; par ailleurs un excès de miARN pourrait être détecté par des senseurs à ARN capables de déclencher des réponses pro-inflammatoires [80]. Bien que certains résultats soient potentiellement prometteurs, des études plus approfondies concernant l'induction des miARN à l'aide de différents facteurs sont donc nécessaires.

L'utilisation de miARN « artificiels » permettrait en partie de contourner ce problème. Les miARN artificiels sont des molécules alternatives conçues pour imiter les tiges-boucles des miARN primaires (pri-miARN) endogènes dans lesquelles le duplex de miARN-miARN* est remplacé par des séquences conçues pour réprimer le gène souhaité [81]. Le pri-miARN conserve ainsi toutes les caractéristiques d'un miARN endogène. Le miARN artificiel peut être introduit dans une cellule cible choisie par l'entremise d'un vecteur viral [82]. Leur utilisation est très efficace par rapport aux méthodes de suppression génique et permet notamment une meilleure spécificité. Cette stratégie pourrait par exemple être utilisée pour réduire le niveau d'expression du co-récepteur CCR5 dans les cellules cibles et ainsi limiter leur susceptibilité à l'infection par le VIH-1 (*figure 5B*).

Récemment, López-Huertas *et al.* ont identifié de nouveaux miARN impliqués dans la persistance du VIH-1 à l'aide d'un séquençage de dernière génération (NGS, *Next-Generation Sequencing*) [83]. Ils les ont par la suite utilisés dans une approche pour inverser la latence virale en utilisant comme modèle les lymphocytes T CD4⁺ aux repos traités avec le ligand de chimiokine 19 (CCL19, *Chemokine C-C motif Ligand 19*) ou l'interleukine-7 (IL-7). Cependant, la modulation de ces miARN n'a pas été efficace pour réactiver le VIH-1. Il est donc possible que l'efficacité des miARN pour réactiver le VIH-1 varie selon le modèle de latence utilisé.

Finalement, les miARN pourraient être exploités en combinaison avec d'autres agents d'inversion de la latence (LRAs, *Latency Reversing Agents*) quoiqu'aucune étude sur ce sujet n'ait pour le moment été réalisée (*figure 5C*). Les LRAs se sont avérés efficaces pour induire la transcription du VIH-1 *in vitro*, mais leur efficacité pour diminuer la taille du réservoir

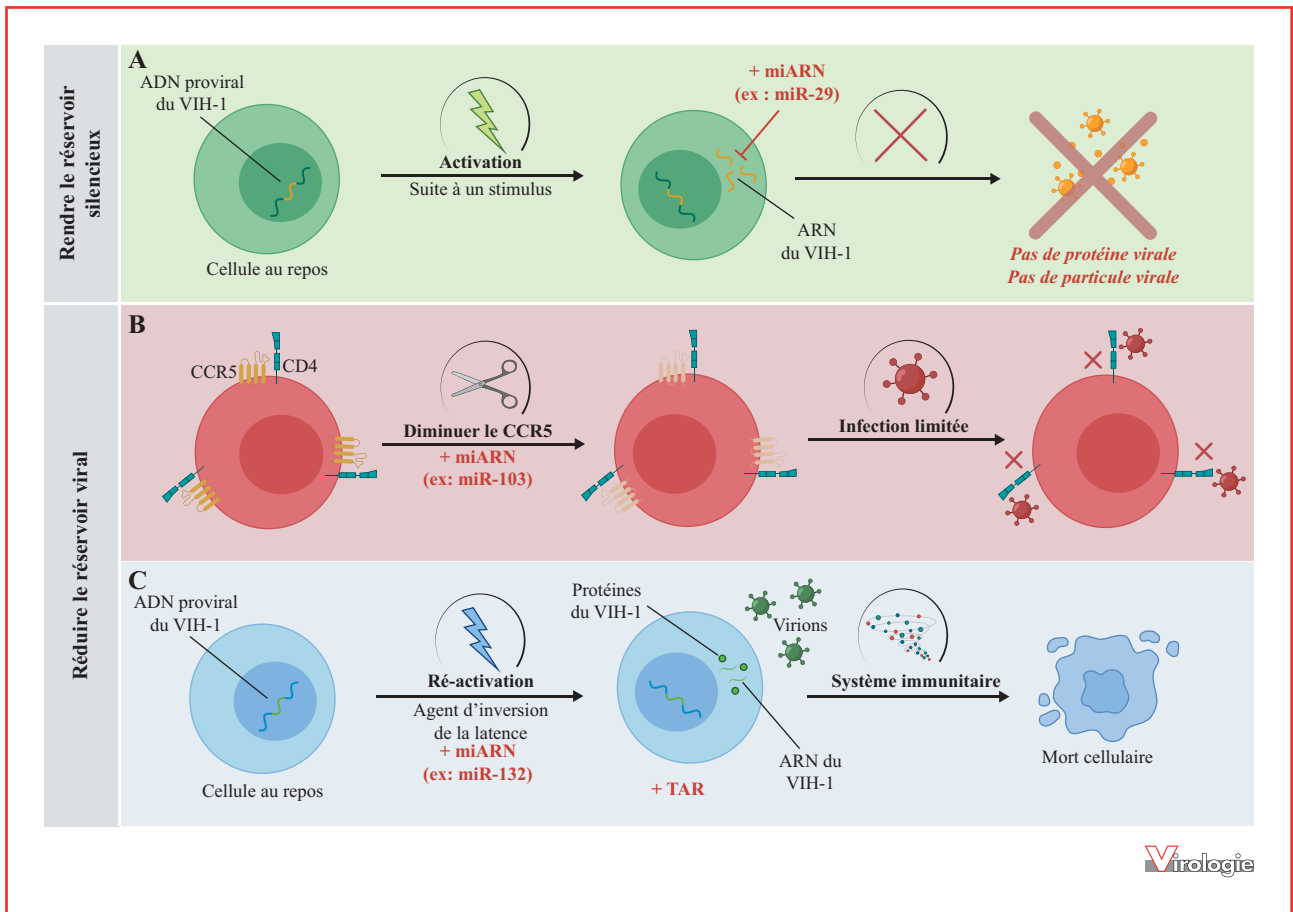


Figure 5. Stratégies potentielles basées sur l'utilisation des miARN pour contrôler ou éradiquer les réservoirs du VIH-1. (A) Les miARN peuvent être utilisés afin de cibler des facteurs de transcription ou les transcrits du VIH-1, aboutissant à un réservoir viral complètement dormant. (B) Les miARN peuvent être utilisés afin de diminuer le niveau d'expression du co-récepteur CCR5 à la surface des cellules cibles. La diminution du CCR5 inhibe très fortement l'infection par le VIH-1, ce qui limite l'implantation de réservoir et à terme conduit à une réduction du réservoir. (C) Les miARN peuvent être également utilisés en combinaison avec un agent d'inversion de la latence afin d'améliorer l'efficacité de la réactivation des cellules latentes. La réactivation entraîne la synthèse de protéines du VIH-1 ainsi que la production de particules virales infectieuses. Ces étapes se font en présence de thérapie antirétrovirale (TAR) pour inhiber la dissémination virale. Les cellules réactivées seront, dans un second temps, éliminées par le système immunitaire (lymphocytes T CD8⁺ et NK), entraînant ainsi une réduction du réservoir.

voir latent chez les patients sous traitement est très limitée [84]. Ceci soutient l'hypothèse qu'il n'existe probablement pas de molécule unique qui permettra de réduire les réservoirs, mais plutôt une combinaison de plusieurs classes de molécules différentes, incluant possiblement les miARN.

Conclusion

Au cours des dernières années, de nombreuses études ont confirmé le rôle des miARN dans la pathogenèse de nombreuses maladies, incluant les maladies infectieuses. Le nombre de miARN associés à la latence du VIH-1

augmente de plus en plus, et la manipulation de ces miARN représente une approche potentielle pour, par exemple, réactiver le VIH-1 ou limiter la susceptibilité des cellules à l'infection. Cependant, les études actuellement disponibles montrent que les effets de ces miARN varient selon le modèle cellulaire utilisé. Des études plus approfondies sont donc nécessaires, notamment sur les différents modèles de latence basés sur des lymphocytes T CD4⁺ ou macrophages primaires. Il est fort probable que les miARN seuls ne suffiront pas à réactiver complètement le VIH-1, mais que leur association avec d'autres molécules soit bénéfique. Si la réactivation directe du VIH-1 pour réduire la taille du réservoir viral demeure un concept expérimental dont les bénéfices restent à prouver, les miARN pourraient

en revanche servir pour contrer d'autres étapes du cycle de réplication du VIH-1, notamment l'entrée virale. Ceci permettrait de compromettre directement l'infection par le VIH-1 et indirectement l'établissement de réservoirs latents. Grâce aux nombreux progrès technologiques des dernières années, les miARN pourraient donc ouvrir la voie au développement de nouvelles approches thérapeutiques efficaces pour contrôler ou éradiquer les réservoirs latents du VIH-1, améliorant ainsi l'espérance et la qualité de vie de millions d'individus vivant avec le VIH-1 dans le monde aujourd'hui.

Remerciements. Nous tenons à remercier les Instituts de recherche en santé du Canada (Fonds FDN-154324, HAL-157986 [Canadian HIV-Ageing Multidisciplinary Programmatic Strategy in NeuroHIV Research - CHAMPS] et HB2-164064 [Consortium de recherche sur la guérison du VIH] à É.A.C.) et le Fonds de la recherche Québec-Santé (FRQ-S), Réseau SIDA/Maladies infectieuses pour leur soutien financier. É.A.C. est récipiendaire de la chaire d'excellence Université de Montréal-IRCM en recherche sur le VIH.

L'accès libre de cette revue est financé par le réseau SIDA & Maladies infectieuses du Fonds de recherche du Québec en santé.

Toutes les figures présentées dans cette revue ont été réalisées à l'aide de BioRender.com.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

- Churchill MJ, Deeks SG, Margolis DM, Siliciano RF, Swanstrom R. HIV reservoirs: what, where and how to target them. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14: 55-60.
- Cohn LB, Chomont N, Deeks SG. The biology of the HIV-1 latent reservoir and implications for cure strategies. *Cell Host Microbe* 2020; 27: 519-30.
- Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med* 2009; 15: 893-900.
- Andrade VM, Mavian C, Babic D, et al. A minor population of macrophage-tropic HIV-1 variants is identified in recrudescing viremia following analytic treatment interruption. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117: 9981-90.
- Krupkin M, Jackson LN, Ha B, Puglisi EV. Advances in understanding the initiation of HIV-1 reverse transcription. *Curr Opin Struct Biol* 2020; 65: 175-83.
- Janssens J, Bruggemans A, Christ F, Debyser Z. Towards a functional cure of HIV-1: insight into the chromatin landscape of the provirus. *Front Microbiol* 2021; 12: 636642.
- Van Lint C. Role of chromatin in HIV-1 transcriptional regulation. *Adv Pharmacol* 2000; 48: 121-60.
- Kinoshita S, Chen BK, Kaneshima H, Nolan GP. Host control of HIV-1 parasitism in T cells by the nuclear factor of activated T cells. *Cell* 1998; 95: 595-604.

- Zhou Q, Chen D, Pierstorff E, Luo K. Transcription elongation factor P-TEFb mediates Tat activation of HIV-1 transcription at multiple stages. *EMBO J* 1998; 17: 3681-91.
- Gosselin A, Monteiro P, Chomont N, et al. Peripheral blood CCR4+CCR6+ and CXCR3+CCR6+CD4+ T cells are highly permissive to HIV-1 infection. *J Immunol Baltim Md* 2010; 184: 1604-16.
- Siliciano RF, Greene WC. HIV latency. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011; 1: a007096.
- Shan L, Deng K, Gao H, et al. Transcriptional reprogramming during effector-to-memory transition renders CD4⁺ T cells permissive for latent HIV-1 infection. *Immunity* 2017; 47: 766-75.e3.
- Zack JA, Arrigo SJ, Weitsman SR, et al. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 1990; 61: 213-22.
- Ruff CT, Ray SC, Kwon P, et al. Persistence of wild-type virus and lack of temporal structure in the latent reservoir for human immunodeficiency virus type 1 in pediatric patients with extensive antiretroviral exposure. *J Virol* 2002; 76: 9481-92.
- Clayton KL, Mylvaganam G, Villasmil-Ocando A, et al. HIV-infected macrophages resist efficient NK cell-mediated killing while preserving inflammatory cytokine responses. *Cell Host Microbe* 2021; 29: 435-47.e9.
- Wong ME, Jaworowski A, Hearps AC. The HIV reservoir in monocytes and macrophages. *Front Immunol* 2019; 10: 1435.
- Shen R, Richter HE, Clements RH, et al. Macrophages in vaginal but not intestinal mucosa are monocyte-like and permissive to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 2009; 83: 3258-67.
- Veenhuis RT, Abreu CM, Shirk EN, Gama L, Clements JE. HIV replication and latency in monocytes and macrophages. *Semin Immunol* 2021; 51: 101472.
- Hendricks CM, Cordeiro T, Gomes AP, Stevenson M. The interplay of HIV-1 and macrophages in viral persistence. *Front Microbiol* 2021; 12: 646447.
- Kruize Z, Kootstra NA. The role of macrophages in HIV-1 persistence and pathogenesis. *Front Microbiol* 2019; 10: 2828.
- McElrath MJ, Smythe K, Randolph-Habecker J, et al. Comprehensive assessment of HIV target cells in the distal human gut suggests increasing HIV susceptibility toward the anus. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; 63: 263-71.
- Jambo KC, Banda DH, Kankwatira AM, et al. Small alveolar macrophages are infected preferentially by HIV and exhibit impaired phagocytic function. *Mucosal Immunol* 2014; 7: 1116-26.
- Ganor Y, Real F, Sennepin A, et al. HIV-1 reservoirs in urethral macrophages of patients under suppressive antiretroviral therapy. *Nat Microbiol* 2019; 4: 633-44.
- Schnell G, Spudich S, Harrington P, Price RW, Swanstrom R. Compartmentalized human immunodeficiency virus type 1 originates from long-lived cells in some subjects with HIV-1-associated dementia. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000395.
- Cicilionyté A, Berkhout B, Pasternak AO. Assessing proviral competence: current approaches to evaluate HIV-1 persistence. *Curr Opin HIV AIDS* 2021; 16: 223-31.
- Eriksson S, Graf EH, Dahl V, et al. Comparative analysis of measures of viral reservoirs in HIV-1 eradication studies. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003174.
- Shirakawa K, Chavez L, Hakre S, Calvanese V, Verdin E. Reactivation of latent HIV by histone deacetylase inhibitors. *Trends Microbiol* 2013; 21: 277-85.

28. French AJ, Natesampillai S, Krogman A, *et al.* Reactivating latent HIV with PKC agonists induces resistance to apoptosis and is associated with phosphorylation and activation of BCL2. *PLoS Pathog* 2020 ; 16 : e1008906.
29. Kim Y, Anderson JL, Lewin SR. Getting the “kill” into “shock and kill”: strategies to eliminate latent HIV. *Cell Host Microbe* 2018 ; 23 : 14-26.
30. Ait-Ammar A, Kula A, Darcis G, *et al.* Current status of latency reversing agents facing the heterogeneity of HIV-1 cellular and tissue reservoirs. *Front Microbiol* 2020 ; 10 : 3060.
31. Huang S-H, Ren Y, Thomas AS, *et al.* Latent HIV reservoirs exhibit inherent resistance to elimination by CD8⁺ T cells. *J Clin Invest* 2018 ; 128 : 876-89.
32. Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, Kelleher AD. Block and lock HIV cure strategies to control the latent reservoir. *Front Cell Infect Microbiol* 2020 ; 10 : 424.
33. Bartel DP. Metazoan microRNAs. *Cell* 2018 ; 173 : 20-51.
34. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009 ; 19 : 92-105.
35. Duursma AM, Kedde M, Schrier M, le Sage C, Agami R. miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. *RNA* 2008 ; 14 : 872-7.
36. Chandan K, Gupta M, Sarwat M. Role of host and pathogen-derived microRNAs in immune regulation during infectious and inflammatory diseases. *Front Immunol* 2020 ; 10 : 3081.
37. Curtale G, Rubino M, Locati M. MicroRNAs as molecular switches in macrophage activation. *Front Immunol* 2019 ; 10 : 799.
38. Hirschberger S, Hinske LC, Kreth S. MiRNAs: dynamic regulators of immune cell functions in inflammation and cancer. *Cancer Lett* 2018 ; 431 : 11-21.
39. Taganov KD, Boldin MP, Chang K-J, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 ; 103 : 12481-6.
40. Nejad C, Stunden HJ, Gantier MP. A guide to miRNAs in inflammation and innate immune responses. *FEBS J* 2018 ; 285 : 3695-716.
41. Jopling CL, Schütz S, Sarnow P. Position-dependent function for a tandem microRNA miR-122-binding site located in the hepatitis C virus RNA genome. *Cell Host Microbe* 2008 ; 4 : 77-85.
42. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, *et al.* Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science* 2010 ; 327 : 198-201.
43. Kulkarni S, Savan R, Qi Y, *et al.* Differential microRNA regulation of HLA-C expression and its association with HIV control. *Nature* 2011 ; 472 : 495-8.
44. Riess M, Fuchs NV, Idica A, *et al.* Interferons induce expression of SAMHD1 in monocytes through down-regulation of miR-181a and miR-30a. *J Biol Chem* 2017 ; 292 : 264-77.
45. Farberov L, Herzig E, Modai S, *et al.* MicroRNA-mediated regulation of p21 and TASK1 cellular restriction factors enhances HIV-1 infection. *J Cell Sci* 2015 ; 128 : 1607-16.
46. Xu Z, Lodge R, Power C, Cohen EA, Hobman TC. The HIV-1 accessory protein Vpu downregulates peroxisome biogenesis. *mBio* 2020 ; 11 : e03395-3419.
47. Asahchop EL, Akinwumi SM, Branton WG, *et al.* Plasma microRNA profiling predicts HIV-associated neurocognitive disorder. *AIDS Lond Engl* 2016 ; 30 : 2021-31.
48. Ahluwalia JK, Khan SZ, Soni K, *et al.* Human cellular microRNA hsa-miR-29a interferes with viral nef protein expression and HIV-1 replication. *Retrovirology* 2008 ; 5 : 117.
49. Wang X, Ye L, Hou W, *et al.* Cellular microRNA expression correlates with susceptibility of monocytes/macrophages to HIV-1 infection. *Blood* 2009 ; 113 : 671-4.
50. Triboulet R, Mari B, Lin Y-L, *et al.* Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science* 2007 ; 315 : 1579-82.
51. Ruelas DS, Chan JK, Oh E, *et al.* MicroRNA-155 reinforces HIV latency. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 13736-48.
52. Chiang K, Sung T-L, Rice AP. Regulation of cyclin T1 and HIV-1 replication by microRNAs in resting CD4⁺ T lymphocytes. *J Virol* 2012 ; 86 : 3244-52.
53. Huang J, Wang F, Argyris E, *et al.* Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4⁺ T lymphocytes. *Nat Med* 2007 ; 13 : 1241-7.
54. Chiang K, Liu H, Rice AP. miR-132 enhances HIV-1 replication. *Virology* 2013 ; 438 : 1-4.
55. Klein ME, Liroy DT, Ma L, *et al.* Homeostatic regulation of MeCP2 expression by a CREB-induced microRNA. *Nat Neurosci* 2007 ; 10 : 1513-4.
56. Zhang H-S, Chen X-Y, Wu T-C, Sang W-W, Ruan Z. MiR-34a is involved in Tat-induced HIV-1 long terminal repeat (LTR) transactivation through the SIRT1/NFκB pathway. *FEBS Lett* 2012 ; 586 : 4203-7.
57. Zhang H-S, Wu T-C, Sang W-W, Ruan Z. MiR-217 is involved in Tat-induced HIV-1 long terminal repeat (LTR) transactivation by down-regulation of SIRT1. *Biochim Biophys Acta* 2012 ; 1823 : 1017-23.
58. Chen X-Y, Zhang H-S, Wu T-C, Sang W-W, Ruan Z. Down-regulation of NAMPT expression by miR-182 is involved in Tat-induced HIV-1 long terminal repeat (LTR) transactivation. *Int J Biochem Cell Biol* 2013 ; 45 : 292-8.
59. Swaminathan G, Rossi F, Sierra L-J, *et al.* A role for microRNA-155 modulation in the anti-HIV-1 effects of toll-like receptor 3 stimulation in macrophages. *PLoS Pathog* 2012 ; 8 : e1002937.
60. Cassol E, Alfano M, Biswas P, Poli G. Monocyte-derived macrophages and myeloid cell lines as targets of HIV-1 replication and persistence. *J Leukoc Biol* 2006 ; 80 : 1018-30.
61. Mallon DF, Buck A, Reece JC, Crowe SM, Cameron PU. Monocyte-derived dendritic cells as a model for the study of HIV-1 infection: productive infection and phenotypic changes during culture in human serum. *Immunol Cell Biol* 1999 ; 77 : 442-50.
62. Shen C-J, Jia Y-H, Tian R-R, *et al.* Translation of Pur-α is targeted by cellular miRNAs to modulate the differentiation-dependent susceptibility of monocytes to HIV-1 infection. *FASEB J* 2012 ; 26 : 4755-64.
63. Yang Z, Yang J, Wang J, *et al.* Identify potential regulators in HIV-1 latency by joint microRNA and mRNA analysis. *Cell Physiol Biochem* 2015 ; 36 : 569-84.
64. Battivelli E, Dahabieh MS, Abdel-Mohsen M, *et al.* Distinct chromatin functional states correlate with HIV latency reactivation in infected primary CD4⁺ T cells. *eLife* 2018 ; 7 : e34655.
65. Allers K, Hütter G, Hofmann J, *et al.* Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cell transplantation. *Blood* 2011 ; 117 : 2791-9.
66. Lodge R, Gilmore JC, Ferreira Barbosa JA, Lombard-Vadnais F, Cohen EA. Regulation of CD4 receptor and HIV-1 entry by microRNAs-221 and -222 during differentiation of THP-1 cells. *Viruses* 2017 ; 10 : 13.

67. Zhen A, Krutzik SR, Levin BR, *et al.* CD4 ligation on human blood monocytes triggers macrophage differentiation and enhances HIV infection. *J Virol* 2014; 88: 9934-46.
68. Sonza S, Maerz A, Deacon N, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes. *J Virol* 1996; 70: 3863-9.
69. Peng G, Greenwell-Wild T, Nares S, *et al.* Myeloid differentiation and susceptibility to HIV-1 are linked to APOBEC3 expression. *Blood* 2007; 110: 393-400.
70. Herbein G, Doyle AG, Montaner LJ, Gordon S. Lipopolysaccharide (LPS) down-regulates CD4 expression in primary human macrophages through induction of endogenous tumour necrosis factor (TNF) and IL-1 beta. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 430-7.
71. Herbein G, Montaner LJ, Gordon S. Tumor necrosis factor alpha inhibits entry of human immunodeficiency virus type 1 into primary human macrophages: a selective role for the 75-kilodalton receptor. *J Virol* 1996; 70: 7388-97.
72. Joseph SB, Arrildt KT, Swanstrom AE, *et al.* Quantification of entry phenotypes of macrophage-tropic HIV-1 across a wide range of CD4 densities. *J Virol* 2014; 88: 1858-69.
73. Lodge R, Ferreira Barbosa JA, Lombard-Vadnais F, *et al.* Host microRNAs-221 and -222 inhibit HIV-1 entry in macrophages by targeting the CD4 viral receptor. *Cell Rep* 2017; 21: 141-53.
74. Lodge R, Bellini N, Laporte M, *et al.* Interleukin-1 β triggers p53-mediated downmodulation of CCR5 and HIV-1 entry in macrophages through microRNAs 103 and 107. *mBio* 2020; 11: e02314-2320.
75. Orecchini E, Doria M, Michienzi A, *et al.* The HIV-1 Tat protein modulates CD4 expression in human T cells through the induction of miR-222. *RNA Biol* 2014; 11: 334-8.
76. Quaranta MT, Olivetta E, Sanchez M, *et al.* miR-146a controls CXCR4 expression in a pathway that involves PLZF and can be used to inhibit HIV-1 infection of CD4(+) T lymphocytes. *Virology* 2015; 478: 27-38.
77. Heinson AI, Woo J, Mukim A, *et al.* Micro RNA targets in HIV latency: insights into novel layers of latency control. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2021; 37: 109-21.
78. Kulkarni S, Lied A, Kulkarni V, *et al.* CCR5AS lncRNA variation differentially regulates CCR5, influencing HIV disease outcome. *Nat Immunol* 2019; 20: 824-34.
79. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions and circulation. *Front Endocrinol* 2018; 9: 402.
80. Bayraktar R, Bertilaccio MTS, Calin GA. The interaction between two worlds: microRNAs and toll-like receptors. *Front Immunol* 2019; 10: 1053.
81. Paddison PJ, Cleary M, Silva JM, *et al.* Cloning of short hairpin RNAs for gene knockdown in mammalian cells. *Nat Methods* 2004; 1: 163-7.
82. Borel F, Kay MA, Mueller C. Recombinant AAV as a platform for translating the therapeutic potential of RNA interference. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther* 2014; 22: 692-701.
83. López-Huertas MR, Morín M, Madrid-Elena N, *et al.* Selective miRNA modulation fails to activate HIV replication in *in vitro* latency models. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019; 17: 323-36.
84. Grau-Expósito J, Luque-Ballesteros L, Navarro J, *et al.* Latency reversal agents affect differently the latent reservoir present in distinct CD4+ T subpopulations. *PLoS Pathog* 2019; 15: e1007991.