

Hiv kan måske kureres

Anne Sofie Høgh Kjølbæk Kjær¹ & Helena Bleken Østergaard²

STATUSARTIKEL

1) Infektionsmedicinsk Afdeling Q, Aarhus Universitetshospital
2) Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Ugeskr Læger
2015;177:V10140558

Idag findes der 35 millioner hiv-smittede på verdensplan, og antallet stiger med ca. to millioner årligt [1]. I 1996 blev kombinationsantiretroviralbehandling (cART) tilgængelig, hvilket betød, at hiv-smittede patienter uden anden sygdom kunne forvente en næsten normal levetid [2]. Der er dog stadig en øget risiko for komorbiditet som f.eks. kardiovaskulær sygdom, cancer, osteoporose og lidelser i centralnervesystemet i forhold til baggrundsbefolkningen [3]. Derudover er hiv og aids stadig omfattet af betydelig stigmatisering, og langt fra alle har adgang til cART; således er kun ca. en tredjedel af de hiv-smittede i lav- og mellemindkomst lande i behandling [4]. Der forskes derfor i at finde en kur, hvor hiv-virus ikke blot holdes nede, men i stedet helt fjernes fra kroppen. Denne forskning dannede baggrunden for symposiet Towards an HIV Cure, der blev afholdt i Melbourne den 19. og 20. juli 2014 af the International AIDS Society forud for den 20. internationale AIDS-konference.

HIV-LATENS – STØRSTE UDFORDRING PÅ VEJEN MOD EN HIV-KUR

En af de største udfordringer ved at finde en kur mod hiv er det latente reservoir, der findes i kroppen på trods af livslang cART, og som fører til viralt *rebound* ved ophør af cART.

Hiv binder sig primært til overfladen af CD4+-T-celler. Efter at virus er trængt ind i cellen, danner et

hiv-enzym benævnt revers transkriptase en DNA-kopi ud fra det virale RNA. Dette virale DNA kan derefter integreres i værtscellens genom ved hjælp af hiv-enzymet integrase. Det inkorporerede hiv-DNA benævnes hiv-provirus og kan i hukommelses-CD4+-T-celler ligge latent i værtscellen i flere årtier [5, 6], uden at cellen er genkendelig for immunsystemet.

Det latente hiv-reservoir udgøres af disse inficerede CD4+-T-celler, der indeholder hiv-provirus, og reservoiret dannes tidligt i infektionen. I det inaktive stadie ligger virus i dvale, men cellen er til enhver tid i stand til at genoptage transkriptionen af virus ved aktivering, og derfor skal hiv-patienter være i livslang cART.

MÅLING AF DET LATENTE RESERVOIR

For at kunne vurdere effekten af »kur«-interventioner har det høj prioritet at udvikle en metode, hvormed man med præcision kan måle det latente hiv-reservoir [7]. Metoden skal være sensitiv, da kun en ud af en million CD4+-T-celler er latent inficerede. Metoden skal samtidig være specifik, da en ukendt andel af de integrerede provirus er defekt og således ikke kan generere viruspartikler, der udtrykkes på cellens overflade og gør den inficerede celle synlig for immunsystemet [8]. I øjeblikket anvendes der hovedsageligt polymerasekædereaktion (PCR) og *viral outgrowth assay* (VOA). Ved PCR måles hiv-provirus i CD4+-T-celler, men med denne metode overestimeres det latente reservoir, da man måler både på reaktiverbart og defekt provirus. Ved VOA aktiveres inficerede CD4+-T-celler, og herefter måles mængden af produceret virus [9]. Assay'et har derfor den fordel, at man ikke måler på defekt virus, men ulempen er, at det giver en tendens til at underestimere det latente hiv-reservoir, samtidig med at det er dyrt og omfattende at udføre.

Til symposiet fremlagde *Nicolas Chomont* (Florida) en ny metode til måling af det latente hiv-reservoir, Tat/rev Induced Limiting Dilution Assay (TILDA) [10]. Med TILDA måler man frekvensen af CD4+-T-celler med *multiple spliced* hiv-RNA efter kraftig aktivering. Man fandt, at reservoiret var 48 gange større med denne metode end ved bestemmelse med VOA og 6-27 gange mindre end ved PCR målt på samme cellepopulation. Ud fra forskningsresultaterne konkluderede *Chomont*, at TILDA synes at



FAKTABOKS

I alt 35 millioner mennesker er smittede med hiv.

Infektionen kan behandles med antiretrovirale stoffer, hvilket forlænger overlevelsen betydeligt, men behandlingen er livslang, da hiv persisterer i kroppen i form af latente reservoirer.

International AIDS Society afholder årligt symposiet Towards an HIV Cure med deltagelse af forskere fra hele verden.

En mulig strategi for en hiv-kur er den såkaldte *shock and kill*-strategi. Herved forstås, at celler, der er latent inficerede med hiv, reaktiveres, så virale proteiner på overfladen gør inficerede celler genkendelige (*shock*). Efterfølgende undergår disse celler apoptose eller bekæmpes af immunsystemet (*kill*).

På dette års symposium blev der fremlagt forskningsresultater, der tyder på, at *shock and kill*-strategien kan være en mulig tilgang til at udrydde hiv fra kroppen.

De relevante mål for fremtidige kliniske hiv-forskningsprojekter vil være »tid uden påviselig virus«, som det kendes fra kræftforskningens »sygdomsfri overlevelse«.

være mere eksakt i måling af det latente reservoir. Dette sammenholdt med økonomisk overkommelighed og en fornuftig tidsramme gør TILDA til en mulig kandidat til et fremtidigt specifikt og sensitivt assay, der kan bruges i vurdering af effekten af »kur«-interventioner. Resultaterne understreger således også behovet for en kritisk tilgang i valg af metoder og disses målinger.

SHOCK AND KILL-STRATEGI

For at hiv skal kunne kureres, skal de latent inficerede celler udryddes. Med en såkaldt *shock and kill*-strategi arbejder man på at reaktivere de latent inficerede celler til at producere virus (*shock*) med efterfølgende drab af cellen (*kill*) (Figur 1) [11].

Flere små molekyler har nu vist sig at kunne reaktivere latent virus [12-15], og heriblandt er histon deacetylase-inhibitorer (HDACi).

Histon deacetylase-enzymet stabiliserer kromatinet i en lukket struktur, hvorved cellen bliver transkriptionel inaktiv [16]. Hermed bidrager histon deacetylase-enzymet til opretholdelse af latens. Hæmmere af histon deacetylaserne resulterer i acetylering af histonerne og et åbent kromatin, hvortil transkriptionsfaktorer kan binde, og herefter kan virus transkriberes [17].

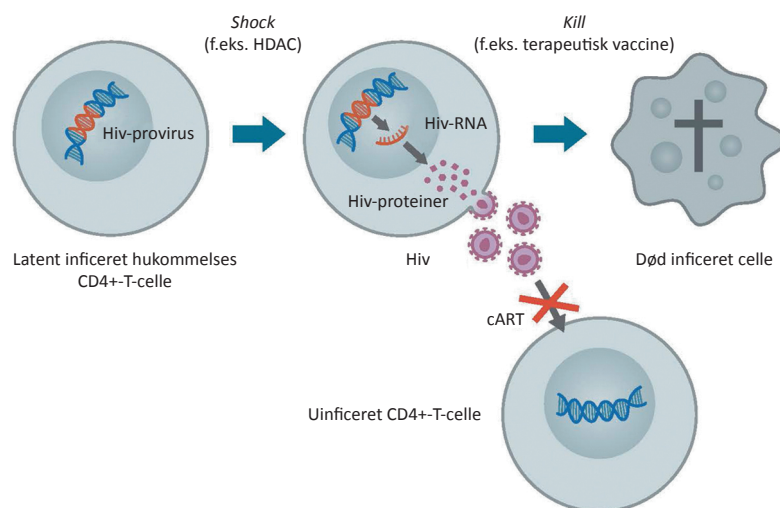
NYE SHOCK-INITIATIVER

Tidligere kliniske studier med HDACi'er har vist, at de effektivt kan reaktivere latent inficerede celler. Eksempelvis kunne HDACi'en vorinostat i et studie inducere intracellulær produktion af hiv-RNA, men det har ikke været muligt at påvise hiv-RNA på cellerne eller i perifert blod, og dermed mangler der indikation for, at hiv har været udtrykt på overfladen af den aktiverede celle [12]. I et dansk klinisk studie med HDACi'en panobinostat, der i in vitro-forsøg har vist sig at være mere potent end vorinostat [18], kunne man påvise hiv-virus i blodet med en kvalitativ hiv-RNA-metode. På kongressen præsenterede *Martin Tolstrup et al* yderligere resultater af studiet, som viste, at hiv-reservoiret formentlig blev reduceret ved behandlingen hos en mindre gruppe af patienterne [13, 19].

Ole S. Søgaard præsenterede resultater fra et andet dansk klinisk studie med HDACi'en romidepsin, hvor seks patienter med hiv fik romidepsin, mens cART blev opretholdt [20]. Romidepsin var overordnet godt tålt og sikker. Histonacetyleringen steg umiddelbart efter hver romidepsininfusion, og niveauerne af celleassocieret *unspliced* hiv-RNA steg samtidig signifikant. Ved brug af et standardklinisk *viral-load assay* påviste man hos fem ud af seks patienter stigning i plasma-hiv-RNA fra umålelige ni-

FIGUR 1

Skematisk tegning af *shock and kill*-strategien. En latent inficeret hukommelses CD4+-T-celle ligger i dvale med hiv-provirus gemt i sit genom. Cellen producerer ikke vira og er derfor usynlig over for immunsystemet. Ved hjælp af et *shock*, f.eks. i form af en histondeacetylaseinhibitor (HDACi) eller et andet latensreverserende stof, kan cellen aktiveres til at transkribere hiv-DNA. Hiv-RNA og hiv-proteiner samles til en viruspartikel, der afsøres fra cellen. Den aktiverede celle udtrykker nu virusproteiner på sin overflade og bliver dermed synlig for immunsystemet, men det alene har ikke vist sig effektivt til at eradicere den inficerede celle. Derfor kombineres *shock* med en *kill*-strategi, hvor f.eks. en terapeutisk vaccine eller bispecifikke antistoffer booster immunsystemet, og den latent inficerede celle dræbes. Kombinationsantiretroviral behandling (cART) forhindrer samtidig infektion af nye celler.



veauer ved *baseline* til kvantificerbare niveauer under behandlingen. Der var dog overordnet set intet fald i reservoirstørrelsen. Romidepsin har ud fra disse resultater vist sig at være en mulig effektiv shockstrategi, men infusionerne førte ikke til et effektivt drab af latent inficerede celler, hvorfor et nyt klinisk studie, hvor romidepsin kombineres med en terapeutisk vaccine, er igangsat.

Det er almindeligt accepteret, at der ud over kromatinstrukturen findes flere molekylære mekanismer, der bidrager til opretholdelsen af hiv-latens. Værtstranskriptionsfaktorer, såsom positiv transkriptionselongeringsfaktor B (P-TEFb) og nuklearfaktor-κB (NF-κB), er særdeles vigtige for hiv-transkriptionen [7].

Dette betyder, at stoffer, der aktiverer eller fører til frigivelse af de nævnte transkriptionsfaktorer, potentielt kan føre til virustranskription. En stofklasse kaldet proteinkinase C-aktivatorer fører netop til aktivering af NF-κB, mens en anden stofklasse frigiver aktiv P-TEFb fra en konkurrerende proteinbinding [9]. Begge stofklasser er i in vitro- og ex vivo-forsøg fundet at have en reaktiverende effekt hver for sig.

Gilles Darcis et al (Belgien) fandt, at kombination af stoffer fra de to forskellige klasser i latent infi-



Delstaten Victorias sundhedsminister *David Davis* byder velkommen til to intense og spændende symposiedage, hvor hiv-forskere fra hele verden samledes i Melbourne. Billedet er fra IAS' hjemmeside: <http://aids2014.smugmug.com/2014-Towards-an-HIV-Cure-Sympo/2014-TOWARDS-AN-HIV-CURE/i-JcnbWt/A>.

cerede cellelinjer førte til en stærk synergistisk aktivering af hiv-produktionen, og hiv-ekspressionen blev øget i en højere andel af celler [21]. Desuden så man i ex vivo-patientceller, at et bestemt stof, der frigiver P-TEFb, kaldet JQ1, i kombination med en vilkårlig proteinkinase C-aktivator var mest potent.

En kombination af stoffer, der frigiver samt aktiverer P-TEFb og NF-κB, er ud fra disse resultater en mulig potent reaktiveringsstrategi.

Vicente Planelles (Utah) præsenterede en helt ny stofklasse, der kan reaktivere latent virus [22]. Via et screenings-assay opdagede de, at benzotriazololderivater var latensreverserende, og 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt) var særligt potent.

Reaktiveringen foregik uden en generel immunaktivering. Dette er ønskværdigt, idet generel immunaktivering kan øge antallet af celler, der kan inficeres, og øge proliferation af latent inficerede celler [23]. STAT-5 er en vigtig transkriptionsfaktor. STAT-5-hæmmere kunne blokere den HOAt-inducerede reaktivering, og hermed blev det foreslået, at STAT-5 kunne indgå i den molekylære reaktiveringsmekanisme. Disse tidlige in vitro-resultater peger på HOAt som en mulig shockstrategi.

EN MULIG KILL-STRATEGI

Efter reaktivering af de latent inficerede celler skal disse eradikeres, og her kommer andet trin i *shock and kill*-strategien. Der forskes i metoder, der booster patienternes immunforsvar enten i form af immunaktiverende molekyler, terapeutiske vacciner eller artificielle antistoffer [24].

R. Koup (Bethesda) fremlagde ved symposiet en mulig metode til at udrydde det latente reservoir ved brug af bispecifikke antistoffer [25]. Bispecifikke antistoffer kan binde to forskellige antigener på samme tid. Hvis et sådant bispecifikt antistof designes til at kunne binde proteinet hiv-Envelope, der udtrykkes på overfladen af en aktiveret hiv-inficeret CD4+-T-celle, og CD3, der bl.a. sidder på de cytotoksiske CD8+-T-celler, vil det kunne mediere et cytotoksisk *kill* af en aktiveret hiv-inficeret CD4+-T-celle. In vitro-resultater viste, at de bispecifikke antistoffer kunne mediere et drab af aktiverede CD4+-T-celler i lymfeknuder hos hiv-smittede patienter, men ikke hos raske kontrolpersoner. Dette er i god overensstemmelse med, at latent inficerede celler typisk ikke udtrykker hiv-Envelope, hvorfor de bispecifikke antistoffer kun udøver en effekt efter en reaktivering af latent inficerede celler.

MISSISSIPPI-BABY OG TIDLIG INITIERING AF cART

Problemet med hiv-latens og reservoirdannelse blev tydeliggjort med de skuffende nyheder om den såkaldte Mississippi-baby kun ti dage før symposiet. *Deborah Persaud* gav en opfølgning på de nyeste fund.

Barnet fra Mississippi blev født af en udiagnosticeret hiv-positiv kvinde og blev sat i cART allerede 30 timer efter fødslen. Senere påvist en infektion, og da barnet var 18 måneder, blev cART utilsigtet afbrudt i fem måneder, men til stor overraskelse uden viralt *rebound*. Virus var fortsat udetekterbar ved standard-assays, og der var ingen hiv-specifikke antistoffer. Tidlig cART-initiering blev derfor tolket som en mulig strategi til at påvirke reservoirdannelse og dermed som en mulig kur [26].

Barnet opnåede samlet 27 måneder med remission uden cART, men til stor skuffelse blev virus påvist i plasma ved et klinisk rutinebesøg i juli 2014. Der var ikke tale om en ny eksponering. Barnet var altså ikke kureret og blev igen sat i cART.

Casen understøtter, at det latente reservoir dannes meget tidligt. Tidlig cART undersøges også fortsat som en klinisk strategi til at begrænse størrelsen af hiv-reservoirret [27].

Det virale *rebound* hos dette barn komplicerer brugen af ordet »kur«, og en diskussion om terminologi blev derfor aktuel. En steriliserende kur, hvor virus definitivt eradikeres, er fortsat et mål. Indtil en sådan situation er nået, blev det foreslået at tale om vedvarende »remission« i stedet for en funktionel »kur«.

KONKLUSION

Symposiet Towards and HIV Cure synliggjorde den øgede interesse og udvikling inden for hiv-forskning.

Forskere præsenterede en ny metode, TILDA, til måling af det latente reservoir, og nye strategier til at chokere de latente celler og efterfølgende dræbe dem blev fremlagt.

Troen på en kur lever, men vejen dertil er kompleks. Med barnet fra Mississippi opstår spørgsmålet om, hvornår man kan sige, at en hiv-patient er kureret. Symposiumet dannede grundlag for diskussion af resultater og fremtidige strategier, og forskere over hele verden arbejder videre mod at nå det fælles mål om vedvarende hiv-remission uden cART.

SUMMARY

Anne Sofie Høgh Kølback Kjør & Helena Bleken Østergaard:

HIV may be cured

Ugeskr Læger 2015;177:V10140558

The symposium IAS Towards an HIV Cure was held in Melbourne, Australia, in July 2014. There are several challenges regarding an HIV cure, among these the reservoir of latently infected CD4+ T cells which are hidden from the immune system. A new promising approach towards an HIV cure is the "shock and kill" strategy. Here, the latently infected cells are shocked to express HIV on the surface, and afterwards the shocked cells can be eradicated by apoptosis or destruction by the immune system. In this paper the most important results from the symposium are presented.

KORRESPONDANCE: Anne Sofie Høgh Kølback Kjør, Infektionsmedicinsk Afdeling Q, Aarhus Universitetshospital, Palle Juul-Jensens Boulevard 99, 8200 Aarhus N. E-mail: as.kjaer@outlook.com

ANTAGET: 29. januar 2015

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 20. april 2015

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

Begge forfattere har bidraget ligeligt til udarbejdelsen af artiklen.

LITTERATUR

- WHO. HIV/AIDS Fact Sheet No. 360, www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/ (9. okt. 2014).
- Lohse N, Hansen AB, Pedersen G et al. Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995-2005. *Ann Intern Med* 2007;146:87-95.
- van Lint C, Bouchat S, Marcello A. HIV-1 transcription and latency: an update. *Retrovirology* 2013;10:67.
- UNAIDS. Global Report, www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf. 2013. (9. okt 2014).
- Siliciano RF, Greene WC. HIV latency. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011;1:a007096.
- 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.
- Deeks SG, Autran B, Berghaut B et al. Towards an HIV cure: a global scientific strategy. *Nat Rev Immunol* 2012;12:607-14.
- Finzi D, Hermankova M, Pierson T et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* 1997;278:1295-300.
- Archin NM, Margolis DM. Emerging strategies to deplete the HIV reservoir. *Curr Opin Infect Dis* 2014;27:29-35.
- Procopio RFFA, Kulpa D, Chomont N et al. A novel assay that precisely measures the size of the latent HIV reservoir reveals that ART-naïve individuals harbour a large pool of latently infected CD4+ T cells. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Deeks SG. HIV: shock and kill. *Nature* 2012;487:439-40.
- Archin NM, Liberty AL, Kashuba AD et al. Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy. *Nature* 2012;487:482-5.
- Rasmussen TA, Tolstrup M, Brinkmann CR et al. Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single group, clinical trial. *Lancet HIV* 2014;1:13-21.
- Kulkosky J, Culnan DM, Roman J et al. Prostratin: activation of latent HIV-1 expression suggests a potential inductive adjuvant therapy for HAART. *Blood* 2001;98:3006-15.
- Banerjee C, Archin N, Michaels D et al. BET bromodomain inhibition as a novel strategy for reactivation of HIV-1. *J Leukoc Biol* 2012;92:1147-54.
- Dahl V, Josefsson L, Palmer S. HIV reservoirs, latency, and reactivation: prospects for eradication. *Antiviral Res* 2010;85:286-94.
- Matalon S, Rasmussen TA, Dinarello CA. Histone deacetylase inhibitors for purging HIV-1 from the latent reservoir. *Mol Med* 2011;17:466-72.
- Rasmussen TA, Schmeltz Sogaard O, Brinkmann C et al. Comparison of HDAC inhibitors in clinical development: effect on HIV production in latently infected cells and T-cell activation. *Hum Vaccin Immunother* 2013;9:993-1001.
- Tolstrup M, Vigano S, Olesen R et al. Immunological correlates of HIV-1 DNA decline during latency reversal with panobinostat in patients on suppressive cART. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Søgaard OS, Graversen ME, Leth S et al. The HDAC inhibitor Romidepsin is safe and effectively reverses HIV-1 latency in vivo as measured by standard clinical assays. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Darcis G, Kula A, Bouchat S et al. Synergistic activation of HIV-1 expression by compounds releasing active positive transcription elongation factor b (P-TEFb) and by inducers of the NF-κB signaling pathway. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Bosque A, Novis C, Martins L et al. A new family of compounds that reactivate latent HIV in central memory T cells. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Klatt NR, Chomont N, Douek DC et al. Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection. *Immunol Rev* 2013;254:326-42.
- Shan L, Deng K, Shroff NS et al. Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after virus reactivation. *Immunity* 2012;36:491-501.
- Petrovas SFMC, Pegu A, Koup R et al. A population of CD8 T cells is located in germinal centers that is functionally capable of mediating bispecific antibody mediated killing of HIV-infected T-cells. Melbourne: IAS Towards an HIV Cure, 2014.
- Persaud D, Gay H, Ziemniak C et al. Absence of detectable HIV-1 viremia after treatment cessation in an infant. *N Engl J Med* 2013;369:1828-35.
- Saez-Cirion A, Bacchus C, Hocqueloux L et al. Post-treatment HIV-1 controllers with a long-term virological remission after the interruption of early initiated antiretroviral therapy ANRS VISCONTI Study. *PLoS Pathog* 2013;9:e1003211.