

Hépatite C, EGFR, cirrhose et nétrine-1

Intérêt en hépatocarcinogénèse ?

Marie-Laure Plissonnier, Thomas Lahlali, Patrick Mehlen, Romain Parent

Centre de recherche en cancérologie de Lyon, 151, cours Albert Thomas, 69424 Lyon, France.
romain.parent@inserm.fr

> Le virus de l'hépatite C (VHC) est un virus enveloppé comprenant un génome à ARN inclus dans une capsid protéique et entouré d'une bicouche lipidique contenant deux glycoprotéines. Chez les individus infectés, le virus persiste habituellement sous la forme d'une infection chronique du foie. Il est ainsi à l'origine d'un processus inflammatoire au long cours et, éventuellement, du développement d'un carcinome hépatocellulaire (CHC). Ceci survient la plupart du temps chez des patients atteints de cirrhose. Les traitements antiviraux à action directe ont beaucoup évolué récemment (avec entre autres molécules le sofosbuvir associé ou non au daclatasvir). Cependant, la manière dont le VHC influe sur le phénotype hépatocytaire pour permettre sa propre persistance reste le sujet de nombreuses questions qui ne sont toujours pas résolues.

Le virus de l'hépatite C se réplique principalement dans les hépatocytes dans lesquels il pénètre par des interactions complexes reposant sur plusieurs protéines de surface comme CD81 (ou *tetraspanin-28*), SRB1 (*scavenger receptor class B type 1*), certaines protéines de jonction serrée et le récepteur à l'EGF (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Dans la cellule, le virus se réplique au niveau de membranes intracellulaires, en particulier celles dérivées du réticulum endoplasmique (RE).

Nous avons montré que la nétrine-1, une molécule chimiotropique, est étroitement impliquée dans le cycle de vie du virus *via* l'EGFR [1]. Ce rôle de la nétrine-1 en virologie est nouveau. En effet, initialement décrite en embryogé-

nèse comme un modulateur de la croissance axonale [2, 3] (→) la nétrine-1 a été impliquée, pour son rôle délétère, dans des processus inflammatoires gastrointestinaux [4], ainsi qu'en oncologie générale, tant dans des tissus épithéliaux que neuronaux [5-7].

La nétrine-1 favorise l'entrée du virus dans les cellules hépatiques en bloquant l'internalisation de l'EGFR, augmentant ainsi la présence de ce récepteur nécessaire à son adsorption, à la surface de la cellule. L'expression de la nétrine-1, qui est augmentée par le virus, conduit à son tour à une augmentation à la fois de la quantité de génome de l'ARN viral mais aussi du pouvoir infectieux des particules virales produites.

Nous avons mesuré la quantité de nétrine-1 dans des échantillons de biopsie de foie de patients infectés par le virus comparés à des prélèvements histologiquement similaires réalisés chez des patients non infectés par le VHC, ni par le virus de l'hépatite B. Une augmentation substantielle (> 20 fois) de la quantité de transcrit de nétrine-1 a été observée dans les échantillons provenant des patients infectés. Le traitement de ces patients avec des médicaments antiviraux, le plus souvent une bithérapie basée sur l'interféron alpha et la ribavirine, permet de réverser cette augmentation. *In vitro*, l'infection par le VHC d'hépatocytes humains primaires et d'une lignée de cellules hépatocytaires (Huh7.5) conduit également à une aug-

mentation importante de la quantité d'ARNm de la nétrine-1, ainsi qu'à une traduction accrue de ce transcrit.

Bien que son importance fonctionnelle soit peu claire, une interaction entre le transcrit de la nétrine-1 et la protéine liant l'ARN, LARP1 (*La-related protein 1*), a été décrite [8]. Nous avons constaté que LARP1 interagissait également spécifiquement avec l'une des protéines non structurales du VHC, NS5A (*nonstructural protein 5A*), au niveau des membranes du RE où elle favorise la traduction de la nétrine-1. Dans les cellules infectées, NS5A contribue à la relocalisation de LARP1 et du transcrit de nétrine-1 qui lui est associé dans des zones du RE traductionnellement actives. Dans des expériences de surexpression et de *knock-down* du transcrit *nétrine-1*, nous avons montré que la quantité de transcrit de la protéine était corrélée à celle d'ARN du VHC produit et au pouvoir infectieux des particules virales produites. L'infection par le VHC favorise donc la traduction de nétrine-1 qui, à son tour, favorise l'infectivité du virus. La nétrine-1 augmente également le niveau global d'EGFR à la surface des cellules et de sa forme activée (c'est-à-dire phosphorylée) en entravant son internalisation, cet événement moléculaire concourant à l'entrée du virus dans les cellules.

Une telle boucle de rétroaction positive (résumée dans la *Figure 1*) est rarement observée dans les systèmes biologiques. Elle pourrait expliquer comment l'infection par le virus peut favoriser une certaine résistance à la mort cellulaire des cellules du foie infectées par le VHC.

(→) Voir la Synthèse de P. Mehlen et N. Rama, *m/s* n° 3, mars 2007, page 311

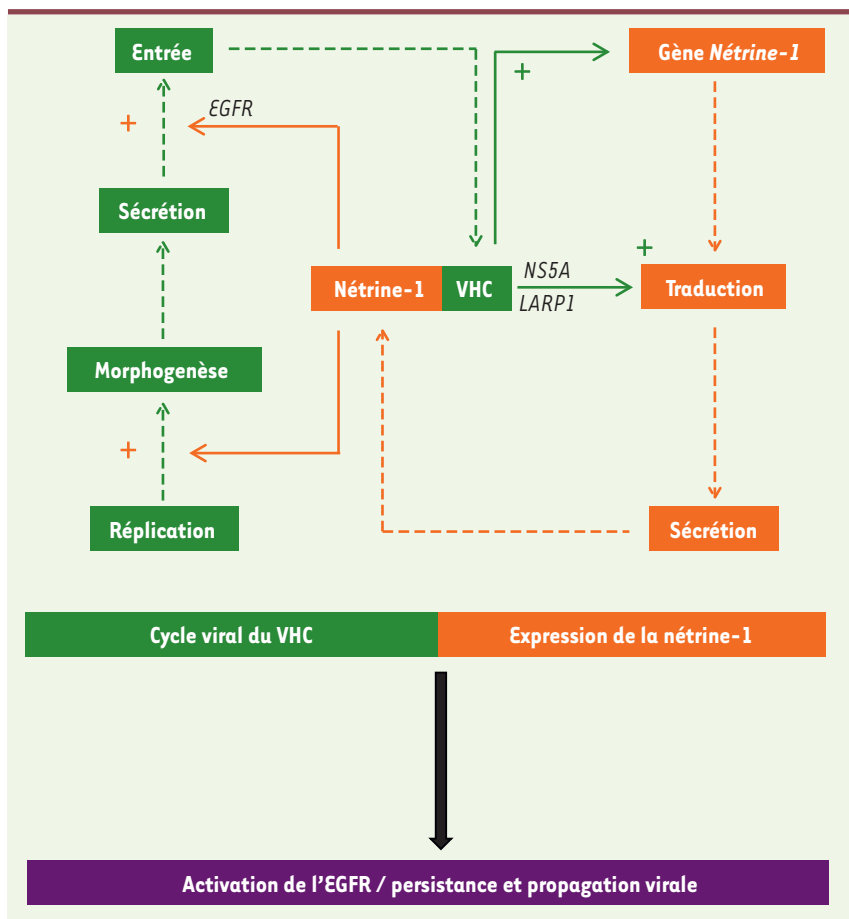


Figure 1. Amplification mutuelle du virus de l'hépatite C et de la nétrine-1. Le virus de l'hépatite C induit la relocalisation de la protéine LARP1 sur des sites actifs de traduction par expression de sa protéine NS5A, favorisant ainsi l'expression de la nétrine-1. La nétrine-1 facilite en retour l'entrée virale par activation quantitative et qualitative du récepteur de l'EGF à la membrane plasmique de la cellule hôte. Les modalités par lesquelles l'induction transcriptionnelle du transcrypt nétrine-1 et l'activation de la morphogénèse virale ont lieu ne sont pas identifiées. EGFR : epidermal growth factor ; EGFR : récepteur de l'EGF ; LARP1 : La-related protein 1 ; NS5A : nonstructural protein 5A ; VHC : virus de l'hépatite C.

Cette résistance potentielle, induite par la nétrine-1, pourrait ainsi participer au processus de cancérisation au stade cirrhotique, où les taux de nétrine sont les plus élevés, en s'ajoutant au caractère directement oncogène de certaines protéines virales comme la capsid et NS5A [9]. L'effondrement des taux de nétrine-1 entre les stades cirrhotiques et CHC que nous avons observé, semble suggérer que la protéine exercerait son pouvoir oncogène éventuel à un stade initial de la maladie, la tumeur s'émançant ensuite du système des récepteurs à dépendance pour son évolution ultérieure.

Cette hypothèse reste cependant à démontrer et demande une confirmation expérimentale. En effet, l'expression de la nétrine-1 ne confère pas un avantage de survie aux cellules cultivées que nous avons utilisées dans cette étude. Cependant, dans une autre étude, nous avons montré qu'elle déterminait une survie hépatocytaire accrue lors de l'induction expérimentale de la réponse aux protéines mal repliées (appelée UPR en anglais, *unfolded protein response*), une caractéristique commune à de nombreuses maladies chroniques du foie [10]. De

plus, compte tenu de la fréquence de dysrégulation de la voie de l'EGFR que l'on observe à un stade avancé de la maladie hépatique chronique [11], l'association fonctionnelle entre nétrine-1 et EGFR pourrait être potentiellement importante pour l'apparition du carcinome hépatocellulaire.

Nous avons donc montré que la nétrine-1 pouvait constituer une cible potentielle en hépatologie et, en premier lieu, contre le VHC chez les patients cirrhotiques. La nétrine-1 est actuellement évaluée dans des essais de phase I en oncologie générale au Centre de lutte contre le cancer Léon Bérard de Lyon. Son implication possible, mais qui reste à démontrer, dans le développement du VHC, renforce son intérêt thérapeutique potentiel chez les 5 à 15 % de patients cirrhotiques infectés par ce virus et en échec thérapeutique, malgré les dernières avancées antivirales. [12]. ♦

Hepatitis C, EGFR, cirrhosis and netrin-1: potential implications for HCC onset

REMERCIEMENTS

Nous remercions la société Plume Scientific Communication Services pour leur apport rédactionnel sur la version initiale de cet article.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- 1 Plissonnier ML, Lahlali T, Michelet M, et al. Epidermal growth factor receptor-dependent mutual amplification between netrin-1 and the hepatitis C virus. *PLoS Biol* 2016 ; 14 : e1002421.
- 2 Corset V, Nguyen-Ba-Charvet KT, Forcet C, et al. Netrin-1-mediated axon outgrowth and cAMP production requires interaction with adenosine A2B receptor. *Nature* 2000 ; 407 : 747-50.
- 3 Mehlen P, Rama N. Nétrine-1 et guidage axonal : signalisation et traduction asymétrique. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 311-6.
- 4 Paradisi A, Maisse C, Bernet A, et al. NF-kappaB regulates netrin-1 expression and affects the conditional tumor suppressive activity of the netrin-1 receptors. *Gastroenterology* 2008 ; 135 : 1248-57.
- 5 Castets M, Broutier L, Molin Y, et al. DCC constrains tumour progression via its dependence receptor activity. *Nature* 2011 ; 482 : 534-7.
- 6 Mazelin L, Bernet A, Bonod-Bidaud C, et al. Netrin-1 controls colorectal tumorigenesis by regulating apoptosis. *Nature* 2004 ; 431 : 80-4.

RÉFÉRENCES

- 7 Delloye-Bourgeois C, Fitamant J, Paradisi A, et al. Netrin-1 acts as a survival factor for aggressive neuroblastoma. *J Exp Med* 2009 ; 206 : 833-47.
- 8 Mura M, Hopkins TG, Michael T, et al. LARP1 post-transcriptionally regulates mTOR and contributes to cancer progression. *Oncogene* 2015 ; 34 : 5025-36.

- 9 Mitchell JK, Lemon SM, McGivern DR. How do persistent infections with hepatitis C virus cause liver cancer? *Curr Opin Virol* 2015 ; 14 : 101-8.
- 10 Lahali T, Michelet M, Zoulim F, et al. Netrin-1 protects against hepatocytic cell death through sustained translation during the unfolded protein response. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2016 ; 2 : 281-301.e9.

- 11 Berasain C, Avila MA. The EGFR signalling system in the liver: from hepatoprotection to hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2014 ; 49 : 9-23.
- 12 Zoulim F, Liang TJ, Gerbes AL, et al. Hepatitis C virus treatment in the real world: optimising treatment and access to therapies. *Gut* 2015 ; 64 : 1824-33.

NOUVELLE

Implication de la réponse au stress du réticulum endoplasmique dans le contrôle de la neurogenèse corticale

Sophie Laguesse^{1,2}, Catherine Creppe^{1,2}, Juliette D. Godin³, Laurent Nguyen^{1,2}

Le développement du cortex cérébral

Le cortex cérébral est la couche de matière grise qui recouvre les hémisphères cérébraux. Il est le siège des fonctions neurologiques élaborées comme le mouvement volontaire, le traitement des informations sensorielles, l'apprentissage ou encore la mémoire. Au cours de la corticogenèse, les progéniteurs neuronaux prolifèrent puis se différencient pour produire des neurones. Dans le cortex cérébral des rongeurs, on distingue essentiellement deux types de progéniteurs selon leur morphologie, l'expression de marqueurs moléculaires et leur mode de division : les progéniteurs apicaux (PA) et les progéniteurs intermédiaires (PI) [1]. Les premiers jours du développement cortical sont marqués par des étapes d'amplification des PA, au cours desquelles la majorité de ces progéniteurs se divisent au niveau de la surface apicale pour donner naissance à deux nouveaux PA. On parle alors de divisions « prolifératrices ». Plus tard au cours du développement, le mode de division des PA change. Grâce à des divisions dites « neurogéniques », un PA génère alors un nouveau PA ainsi qu'un autre type cellulaire différencié. Cette nouvelle cellule différenciée est soit un neurone soit un PI. Les PI se divisent ensuite à distance de la surface apicale et la plupart d'entre eux donnent naissance à

deux neurones. La production de neurones directement à partir de PA est appelée neurogenèse directe. La neurogenèse indirecte, elle, implique l'étape intermédiaire des PI et permet d'accroître le nombre de neurones produits par unité de temps et de surface [2] (Figure 1).

Le complexe Elongator

Elongator est un complexe macromoléculaire jouant un rôle critique dans la maturation des neurones de projection¹ [3, 4] (→).

Il est composé de deux copies de chacune de ses six sous-unités (Elp[Elongator complex protein]1 à Elp6). Elp1 est une protéine de structure essentielle à l'assemblage du complexe tandis qu'Elp3 est la sous-unité enzymatique présentant à la fois une activité d'acétyltransférase et de déméthylase [5, 6]. Le complexe Elongator est présent dans le noyau et dans le cytoplasme de tous les neurones corticaux ainsi que leurs progéniteurs, où il exerce différentes fonctions [7]. Une activité cytoplasmique majeure de ce complexe est son implication dans la maturation

¹GIGA-Neurosciences, université de Liège, CHU Sart Tilman, Avenue de l'Hopital, 1, Liège 4020, Belgique ;

²Interdisciplinary cluster for applied genoproteomics (GIGA-R), université de Liège, CHU Sart Tilman, Liège 4000, Belgique ;

³Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC), Inserm U964, CNRS UMR7104, université de Strasbourg, Illkirch, France. sophie.laguesse@ucsf.edu

de certains ARN de transfert (ARNt). Plus particulièrement, Elongator est requis pour l'ajout d'un groupement chimique 5-méthoxycarbonylméthyl (mcm5) sur l'uridine présente en position 34 (U₃₄) de l'anticodon de certains ARNt. Cette modification est nécessaire pour assurer une traduction fidèle et efficace de l'ARN messager (ARNm) en protéine [8].

Elongator contrôle l'équilibre entre les neurogenèses directe et indirecte

Afin d'étudier le rôle d'Elongator au sein des progéniteurs corticaux, nous avons créé un modèle murin d'inactivation conditionnelle de la sous-unité Elp3. Pour cela, nous avons croisé des souris transgéniques où une partie de la séquence codante d'Elp3 est flanquée de sites « loxp² » (Elp3lox/lox) avec des souris exprimant la recombinaison Cre sous le promoteur de FoxG1, un gène exprimé par les progéniteurs de neurones corticaux (FoxG1Cre). Dans la lignée de souris transgéniques résultant de ce croi-

² Le système de recombinaison Cre-lox utilise l'enzyme recombinaison Cre, une tyrosine recombinaison issue du bactériophage P1, afin de cibler des séquences loxp (également issues du bactériophage P1), permettant ainsi d'activer, réprimer, voire même échanger, les gènes situés entre les séquences lox.

¹ Neurones dont l'axone va se projeter vers une ou plusieurs structures cérébrales à distance.