

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Alain Trautmann pour la relecture de cette nouvelle. Les travaux décrits ici ont été financés par le CNRS, l'Inserm, l'université Paris Descartes, la Fondation ARC pour la recherche sur le cancer et la Ligue contre le cancer.

## LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Bouchet J, Alcover A. La synapse immunologique : une plate-forme de signalisation dynamique pour l'activation des lymphocytes T. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 665-70.
2. Randriamampita C, Mouchacca P, Malissen B, et al. A novel ZAP-70 dependent FRET based biosensor reveals kinase activity at both the immunological synapse and the antisynapse. *PLoS One* 2008 ; 3 : e1521.
3. Guedj C, Abraham N, Jullie D, Randriamampita C. T cell adhesion triggers an early signaling pole distal to the immune synapse. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 2526-37.
4. Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, et al. Dynein-driven transport of T cell receptor microclusters regulates immune synapse formation and T cell activation. *Immunity* 2011 ; 34 : 919-31.
5. Houk AR, Jilkine A, Mejean CO, et al. Membrane tension maintains cell polarity by confining signals to the leading edge during neutrophil migration. *Cell* 2012 ; 148 : 175-88.
6. Allenspach EJ, Cullinan P, Tong J, et al. ERM-dependent movement of CD43 defines a novel protein complex distal to the immunological synapse. *Immunity* 2001 ; 15 : 739-50.

## NOUVELLE

### La molécule antivirale arbidol inhibe des virus pathogènes de prévalence mondiale

Ève-Isabelle Pécheur<sup>1</sup>, Stephen J. Polyak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Inserm 1052, CNRS 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France.

<sup>2</sup> Departments of Laboratory Medicine and Global Health, University of Washington, Seattle, Washington, États-Unis. [eve-isabelle.pecheur@inserm.fr](mailto:eve-isabelle.pecheur@inserm.fr)

À l'heure actuelle, il reste de nombreux virus de prévalence mondiale contre lesquels il n'existe ni traitement antiviral, ni vaccin. Certains de ces virus, comme le virus Ebola<sup>1</sup> ou les membres du genre des Arenavirus<sup>2</sup>, à l'origine d'infections aiguës, causent des maladies hémorragiques sévères pouvant être fatales. D'autres, comme le virus de l'hépatite B (VHB) ou certains herpès virus, établissent des infections persistantes pouvant évoluer en maladies chroniques, dont le cancer. Afin de contrer ces virus, il apparaît donc nécessaire de pouvoir identifier une molécule à action antivirale qui soit abordable, efficace et sûre.

<sup>1</sup> Le virus Ebola appartient à la famille des *Filoviridae*, comprenant également le virus Marburg. Ce sont des virus à ARN simple brin de polarité négative, causant tous deux des fièvres hémorragiques. Plusieurs espèces de virus Ebola existent : Forêt Tai, Soudan, Zaïre, Reston et Bundidugyo.

<sup>2</sup> Les Arenavirus sont un genre viral appartenant à la famille des *Arenaviridae*, comprenant notamment le virus de la fièvre de Lassa, les virus Tacaribe, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, Lujo et Chapare (virus du Nouveau Monde) et le virus de la chorioménigite lymphocytaire (virus de l'Ancien Monde). Les réservoirs sont la chauve-souris pour Tacaribe, et les rongeurs pour les autres virus. Tous ces virus sont responsables de fièvres hémorragiques parfois létales.

L'arbidol, un antiviral qui est déjà utilisé en clinique dans plusieurs pays comme traitement anti-grippal, pourrait être un candidat.

#### L'arbidol : un agent antiviral à large spectre

L'arbidol a été initialement synthétisé dans les années 1970, en URSS<sup>3</sup> (voir *Figure 1A* pour sa structure chimique). Il y est commercialisé depuis plus de 20 ans pour la prophylaxie et le traitement de maladies pulmonaires humaines dues aux virus A et B de la grippe, ainsi que d'autres virus respiratoires pathogènes [1, 2]. Il est également utilisé en clinique en Chine depuis 2006 pour les mêmes indications ainsi que pour la prévention d'épidémies de grippe aviaire en médecine vétérinaire [3]. Son innocuité a été démontrée sur des périodes de traitement allant d'une semaine à quelques mois.

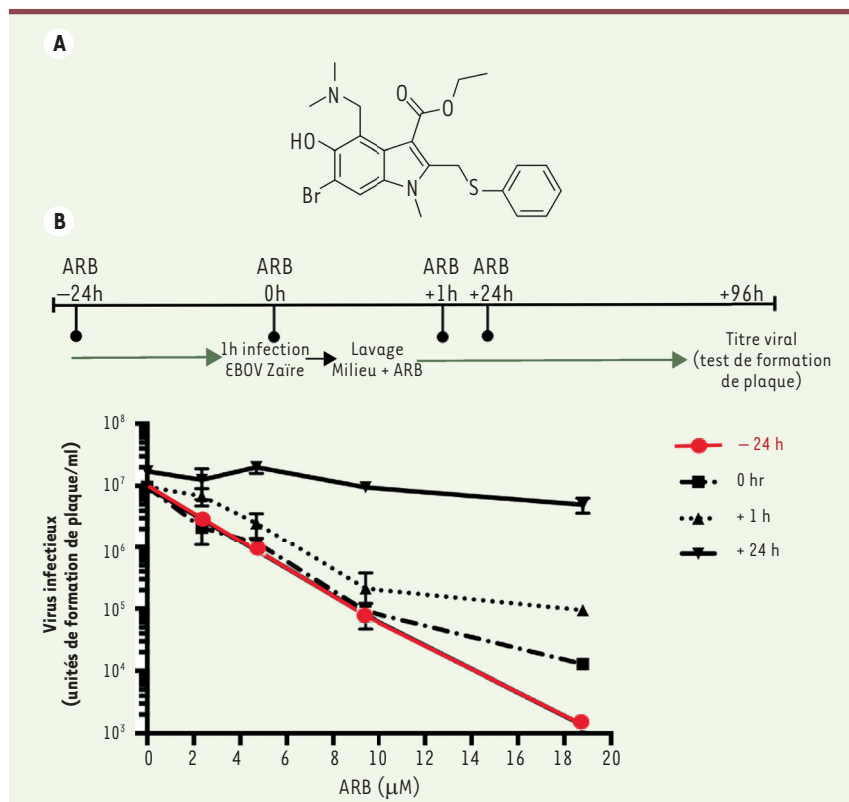
Des études récentes ont montré l'efficacité de l'arbidol *in vivo* contre des virus responsables d'infections respiratoires

(virus respiratoire syncytial, virus Cox-sackie B5) ou contre le virus Hantaan qui cause une fièvre hémorragique accompagnée d'un syndrome rénal d'issue souvent fatale [3]. Ces études ayant été effectuées sur un petit nombre d'animaux, leur interprétation doit cependant rester prudente. Une étude récente fait en effet état d'une absence d'activité antivirale, à la dose utilisée *in vivo*, contre le virus de la fièvre hémorragique Crimée-Congo<sup>4</sup>. La réplication de ce virus est toutefois inhibée par l'arbidol *in vitro* [4]. Le spectre antiviral de l'arbidol *in vitro* s'élargit donc à des pathogènes émergents comme le coronavirus causant le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS), le virus Chikungunya, ainsi qu'aux virus des hépatites virales B et C [3]. Ces virus sont différents d'un point de vue structural (virus enveloppés ou non, à ADN ou ARN) et leurs cycles réplicatifs sont différents.

Nous avons émis l'hypothèse que l'arbidol pourrait présenter une activité

<sup>3</sup> Union des républiques socialistes soviétiques ou Union soviétique.

<sup>4</sup> Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo provoque des flambées de fièvre hémorragique virale sévère avec un taux de létalité pouvant atteindre 40 %.



**Figure 1. L'arbidol inhibe un stade précoce du cycle infectieux du virus Ebola.** **A.** Structure chimique de l'arbidol. **B.** Les hépatocytes HepG2 sont traités avec 0, 2,35, 4,7, 9,4 ou 18,8 µM d'arbidol (ARB) pendant 24 h avant infection (- 24 h), au moment de l'infection (0 h), 1 h (+ 1 h) ou 24 h (+ 24 h) après l'infection. Les cellules sont infectées avec le virus Ebola (EBOV) souche Zaïre pendant 1 h, puis du milieu frais contenant de l'arbidol est ajouté aux cultures. Un test de formation de plaques est effectué au bout de 96 h d'infection, pour évaluer le titre viral.

responsables de fièvres hémorragiques létales et contre lesquels n'existe à ce jour aucun antiviral ni vaccin, l'arbidol pourrait constituer un espoir de lutte contre ces infections.

#### L'arbidol inhibe les étapes précoces de l'infection par le virus Ebola

Pour le virus Ebola souche Zaïre, nous avons approfondi nos études et réalisé des expériences de temps d'addition. L'arbidol est ajouté aux cellules avant infection, ou au moment de l'inoculation virale, ou à différents temps post-infection. Nous avons ainsi observé que l'action antivirale de l'arbidol s'exerçait de manière optimale quand la molécule était mise en contact avec les cellules avant l'inoculum viral [5] (Figure 1B). Cette observation suggérait que les étapes précoces de l'infection étaient ciblées par l'arbidol, c'est-à-dire les étapes de l'entrée virale (attachement des virions aux cellules, internalisation en compartiments intracellulaires, fusion membranaire). Pour affiner nos données, nous avons utilisé un modèle de pseudoparticules virales exprimant la glycoprotéine d'enveloppe du virus Ebola à leur surface. Ce modèle est bien adapté à l'étude de l'entrée virale, car, après leur internalisation intracellulaire, ces particules sont dépourvues de capacités répliquatives. Nous avons ainsi pu confirmer que l'arbidol ciblait l'entrée du virus Ebola dans ses cellules-hôte.

antivirale contre d'autres pathogènes, comme certains Arenavirus ou le virus Ebola, responsable de l'épidémie récente qui a touché plus de 28 000 personnes et est à l'origine de 11 000 décès<sup>5</sup>, et que son action pourrait cibler les particules virales et/ou la cellule infectée, en bloquant une(des) voie(s) intracellulaire(s) utilisée(s) par l'ensemble de ces virus au cours de leur cycle infectieux.

#### L'arbidol inhibe l'infection par des virus de prévalence mondiale

Nous avons étudié l'arbidol dans un programme de test antiviral *in vitro* de l'institut « Allergie et Maladies infectieuses » du NIH (NIAID, *National institute of allergy and infectious diseases* ; NIH, *National institutes of health*). Nous avons ainsi identifié une activité inhibitrice de l'arbidol pour les infections par l'Arenavirus Tacaribe,

ainsi que par les herpès virus HHV-8 (herpèsvirus humain type 8), VHB et Ebola souche Zaïre [5]. Cette inhibition a été observée pour des doses efficaces bloquant 50 % de l'infection (CE<sub>50</sub>) variant de 1 à 6 µM, sauf pour VHB où la CE<sub>50</sub> était de l'ordre de 20 µM. Ces doses sont comparables aux concentrations mesurées dans le plasma de sujets sains ayant reçu par voie orale une dose d'arbidol susceptible d'être administrée à des patients présentant un état grippal [3]. En outre, les index de sélectivité<sup>6</sup> mesurés *in vitro* variaient entre 6 et 40, ce qui indique une faible cytotoxicité de cette molécule. Dans l'infection par HHV-8, l'arbidol a démontré une efficacité antivirale équivalente à la molécule de référence, le cidofovir [5]. Concernant les virus Ebola et Tacaribe,

<sup>6</sup> L'index de sélectivité caractérise l'innocuité d'une molécule. Il est défini comme le rapport entre la concentration causant 50 % de cytotoxicité (CC<sub>50</sub>) et la concentration bloquant 50 % de l'infection (CE<sub>50</sub>) : IS = CC<sub>50</sub>/CE<sub>50</sub>. Plus cet index est élevé, moins la molécule présente de danger à l'administration.

<sup>5</sup> [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/208883/1/ebolasisrep\\_10Jun2016\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/208883/1/ebolasisrep_10Jun2016_eng.pdf?ua=1)

## Mécanisme d'action antivirale de l'arbidol

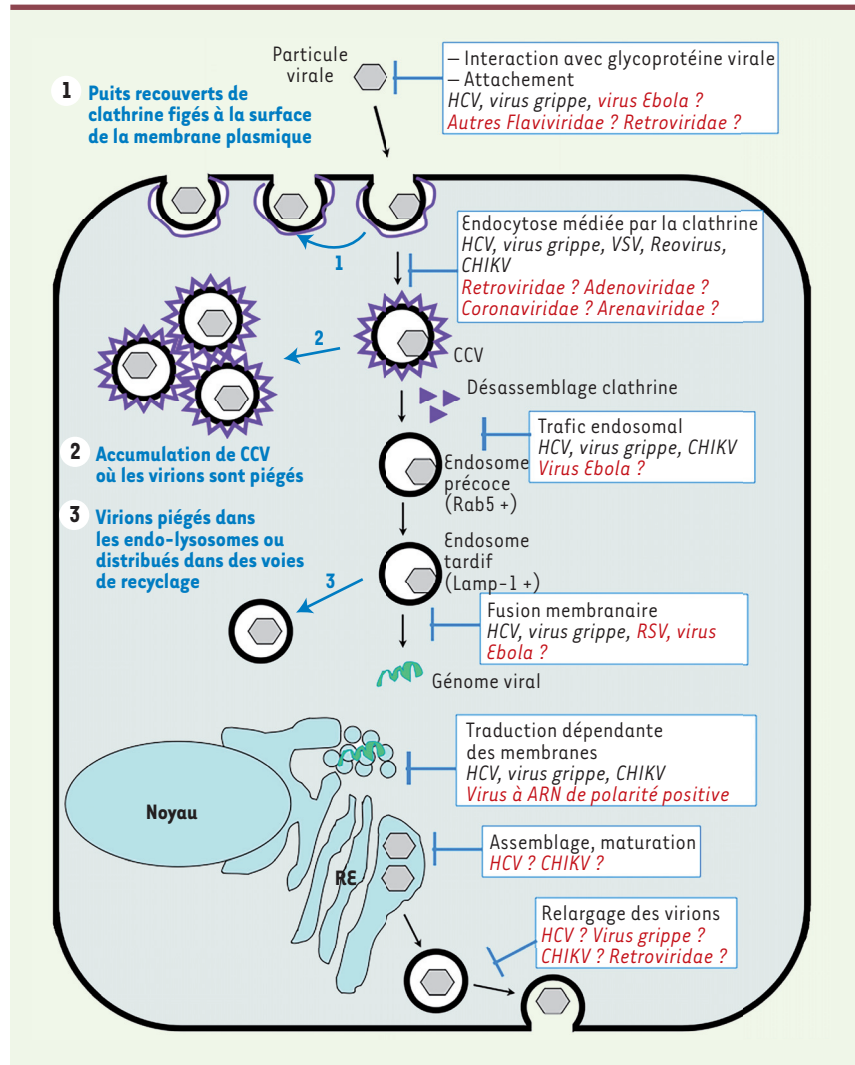
Du fait de son large spectre antiviral, deux hypothèses plausibles de mécanisme se dégagent pour expliquer l'effet inhibiteur de l'arbidol : (1) l'arbidol agirait sur les lipides et/ou les protéines composant les particules virales ; (2) l'arbidol agirait sur des cibles cellulaires. Ces hypothèses n'étant pas mutuellement exclusives, ceci rangerait l'arbidol dans la classe des agents antiviraux à action directe (*direct antiviral agents*, DAA) et/ou des agents ciblant l'hôte (*host targeting agents*, HTA).

Nos études biochimiques, combinant des approches de RMN (résonance magnétique nucléaire) du solide, de spectroscopie de fluorescence, de résonance plasmonique de surface<sup>7</sup> et d'imagerie, ont révélé que l'arbidol s'insère dans les membranes lipidiques artificielles (liposomes) et les rigidifie. Cette insertion se réalise d'autant mieux que le pH est acide, et avec une affinité de l'ordre du  $\mu\text{M}$  [6], réminiscente de la  $\text{CE}_{50}$  antivirale. L'arbidol montre également une affinité du même ordre pour les acides aminés aromatiques présents au sein d'une séquence polypeptidique. Ces acides aminés aromatiques sont notamment présents dans des régions de l'hémagglutinine de l'enveloppe du virus de la grippe ou de la glycoprotéine E2 de l'enveloppe du virus de l'hépatite C (VHC) [3, 6], régions impliquées dans l'entrée

cellulaire et la fusion membranaire de ces deux virus. Ce mode d'action double, par incorporation dans les membranes d'une part (membrane virale dans ce cas), et par interaction avec les régions de protéines virales responsables de l'entrée et de la fusion virale d'autre part, rangerait l'arbidol dans la classe des DAA.

L'hypothèse d'une action de type HTA a été testée dans le contexte de l'infection par VHC. Ce virus est internalisé dans ses cellules-cible, les hépatocytes, par endocytose dépendante de la clathrine [7, 8] (→).

(→) Voir la Nouvelle de E. Boucrot et H.T. McMahon, m/s n° 2, février 2011, page 122



**Figure 2. L'activité à large spectre de l'arbidol et ses mécanismes d'action moléculaire au niveau cellulaire.** Les différentes étapes du cycle viral inhibées par l'arbidol sont indiquées dans des boîtes bleues. Les virus sur lesquels l'effet de l'arbidol est attesté sont indiqués en noir, l'effet potentiel de l'arbidol sur d'autres virus ou familles de virus est mentionné en rouge. Les flèches bleues et le texte indiquent les conséquences de l'effet de l'arbidol sur les voies cellulaires et les virions. Pour la clarté de la figure, et d'après les connaissances actuelles des mécanismes moléculaires d'action de l'arbidol, seule la voie de l'endocytose dépendante de la clathrine est montrée. VHC : virus de l'hépatite C ; VSV : virus de la stomatite vésiculaire ; CHIKV : virus Chikungunya ; RSV : virus respiratoire syncytial ; CCV : vésicule recouverte de clathrine ; RE : réticulum endoplasmique ; Lamp-1 : *lysosomal-associated membrane protein 1* (droit de reproduction d'après [3], © n° de licence 3906600433506 du 12-07-2016).

<sup>7</sup> La résonance plasmonique de surface est un phénomène physique sur lequel repose la mesure de la liaison d'un « ligand » sur un « récepteur » adsorbé à la surface d'une couche métallique (biocapteur ou *sensor chip*). L'application consiste à déposer sur l'interface une couche d'or riche en électrons libres, recouverte éventuellement de revêtements appropriés à la fixation de « récepteurs » de nature protéique, glycosidique, lipidique, etc. Le « ligand » dilué dans un tampon circule à flux constant à la surface du biocapteur. Un faisceau de lumière incident riche en photons est dirigé sur le biocapteur, et ces photons incidents peuvent alors entrer en résonance avec des électrons libres. Les changements de masse induits par l'association ou dissociation des complexes modifient la réfringence du milieu et décalent la position de l'angle de résonance. L'enregistrement de la variation de l'angle de résonance permet ainsi de suivre en temps réel la fixation des molécules injectées sur le biocapteur.



La libération de son matériel génétique a ensuite lieu après abaissement du pH dans les endosomes et fusion des membranes virale et endosomale [9] (Figure 2). Nous avons montré que l'arbidol ralentissait l'endocytose des virions VHC et inhibait la fixation de la petite GTPase Rab5 sur les endosomes impliqués dans le trafic des virions [10, 11] (→).

(→) Voir la Nouvelle de J. Gilleron *et al.*, *m/s* n° 12, décembre 2012, page 1041

Ceci a pour effet de différer le moment auquel prend place la fusion virale ; les virions, n'ayant pas pu libérer leur nucléocapside, seraient alors dirigés vers des compartiments de dégradation de type lysosome [10]. L'arbidol inhibe également la scission membranaire induite par la dynamine-2, ce qui altère la formation des vésicules recouvertes de clathrine et donc l'endocytose dépendante de la clathrine.

Dans l'état actuel de la littérature, l'arbidol montre une activité antivirale contre des virus pénétrant dans leurs cellules-hôte par des voies utilisant soit une acidification, soit l'action de la GTPase Rab5, soit l'action de la dynamine-2. L'internalisation du virus Ebola requiert une étape d'acidification endosomale, ainsi que l'intervention

des petites GTPases Rab5 et Rab7 [12]. Cette étape et ces protéines pourraient donc être ciblées par l'arbidol, ce qui expliquerait l'inhibition observée sur les étapes précoces de l'entrée du virus Ebola (Figure 2).

Étant donné que l'arbidol semble être le plus efficace lorsqu'il est administré avant ou au moment de la survenue de l'infection par le virus Ebola, et du fait de son innocuité démontrée en clinique, il pourrait être utilisé en prophylaxie dans les épidémies de fièvres hémorragiques, en limitant la dissémination virale chez les personnes en contact avec les malades (famille, personnel prodiguant les soins, etc.). Chez les patients infectés, l'administration d'arbidol pourrait permettre de circonscrire ou d'atténuer les symptômes de l'infection, en protégeant les cellules non infectées.

Des recherches futures en ce sens pourraient donner l'espoir d'un traitement efficace et rapide à mettre en œuvre contre ces infections redoutables. ♦

### The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

## RÉFÉRENCES

1. Boriskin YS, Leneva IA, Pécheur EI, Polyak SJ. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. *Curr Med Chem* 2008 ; 15 : 997-1005.
2. Brooks MJ, Sasadeusz JJ, Tannock GA. Antiviral chemotherapeutic agents against respiratory viruses: where are we now and what's in the pipeline? *Curr Opin Pulm Med* 2004 ; 10 : 197-203.
3. Blaising J, Polyak SJ, Pécheur EI. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update. *Antiviral Res* 2014 ; 107 : 84-94.
4. Oestereich L, Rieger T, Neumann M, *et al.* Evaluation of antiviral efficacy of ribavirin, arbidol, and T-705 (favipiravir) in a mouse model for Crimean-Congo hemorrhagic fever. *PLoS Negl Trop Dis* 2014 ; 8 : e2804.
5. Pécheur EI, Borisevich V, Halfmann P, *et al.* The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses. *J Virol* 2016 ; 90 : 3086-92.
6. Teissier E, Zandomeneghi G, Loquet A, *et al.* Mechanism of inhibition of enveloped virus membrane fusion by the antiviral drug arbidol. *PLoS One* 2011 ; 6 : e15874.
7. Collier KE, Berger KL, Heaton NS, *et al.* RNA interference and single particle tracking analysis of hepatitis C virus endocytosis. *PLoS Pathog* 2009 ; 5 : e1000702.
8. Boucrot E, McMahon HT. Initiation de l'endocytose par vésicules de clathrine : des « sculpteurs de membrane » au travail. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 122-5.
9. Blaising J, Lévy PL, Gondeau C, *et al.* Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking. *Cell Microbiol* 2013 ; 15 : 1866-82.
10. Blaising J, Lévy PL, Polyak SJ, *et al.* Arbidol inhibits viral entry by interfering with clathrin-dependent trafficking. *Antiviral Res* 2013 ; 100 : 215-9.
11. Gilleron J, Zeigerer A, Marsico G, *et al.* Rôle clé de la petite GTPase Rab5 : de la biogenèse des endosomes au métabolisme du foie. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 1041-4.
12. Spence JS, Krause TB, Mittler E, *et al.* Direct visualization of Ebola virus fusion triggering in the endocytic pathway. *MBio* 2016 ; 7 : e01857-15.

## NOUVELLE

### Nucléation de l'actine et transfert du VIH des cellules dendritiques aux lymphocytes T

Mickaël Ménager

> Les cellules dendritiques sont des cellules du système immunitaire inné qui constituent une première barrière de défense contre les pathogènes. Elles permettent de capturer virus et bactéries, afin entre autres de présenter des peptides antigéniques aux lymphocytes T du système immunitaire

adaptatif, dans le but de générer une réponse immunitaire optimale et spécifique. Bien que les cellules dendritiques humaines soient capables de capturer le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) par l'intermédiaire de multiples récepteurs, la réplication du virus apparaît très faible dans ces

Molecular pathogenesis program, The Kimmel center for biology and medicine of the Skirball Institute, New York university school of medicine, 540 1<sup>st</sup> Ave, SK 2-17, 10016 New York, États-Unis  
[mickael.menager@med.nyu.edu](mailto:mickael.menager@med.nyu.edu)

cellules en comparaison à la réplication dans les lymphocytes T, principales cibles *in vivo* du virus [2]. Cette faible réplication repose sur l'existence dans ces cellules d'un facteur de restriction, SAMHD1 (*SAM domain and HD domain-containing protein 1*), qui, en inhibant la synthèse d'ADN à partir de l'ARN