

commandes locomotrices, et ainsi participer, au moins en partie, aux déficits locomoteurs rapportés dans cette pathologie. De plus, l'innervation dopaminergique du tronc cérébral pourrait contribuer à réguler d'autres fonctions motrices. Chez la lamproie, on sait, depuis peu, que des projections descendantes dopaminergiques influencent la détection d'une cible dans le champ visuel à travers l'innervation du tectum optique, une région du tronc cérébral contrôlant le mouvement des yeux et considérée homologue au colliculus supérieur chez le mammifère [11]. Si cette innervation est elle aussi conservée, les mouvements anormaux des yeux décrits chez les patients parkinsoniens pourraient mettre en jeu une dégénérescence de l'innervation dopaminergique du tronc cérébral. Globalement ces études soulignent l'importance de mieux appréhender le rôle de l'innervation

dopaminergique du tronc cérébral chez le mammifère. Les recherches futures viseront à décrypter les mécanismes impliqués dans ce contrôle descendant, ce qui pourrait permettre d'identifier de nouvelles stratégies pour améliorer la fonction motrice en conditions pathologiques. ♦

A descending dopaminergic pathway to control movement

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev* 1959 ; 11 : 490-3.
2. Shik ML, Severin FV, Orlovskii GN. Control of walking and running by means of electric stimulation of the midbrain. *Biofizika* 1966 ; 11 : 659-66.
3. Roseberry TK, Lee AM, Lalive AL, et al. Cell-type-specific control of brainstem locomotor circuits by basal ganglia. *Cell* 2016 ; 164 : 526-37.

4. Ryczko D, Dubuc R. Dopamine and the brainstem locomotor networks: from lamprey to human. *Front Neurosci* 2017 ; 11 : 295.
5. Ryczko D, Grätsch S, Auclair F, et al. Forebrain dopamine neurons project down to a brainstem region controlling locomotion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : E3235-42.
6. Pérez-Fernández J, Stephenson-Jones M, Suryanarayana SM et al. Evolutionarily conserved organization of the dopaminergic system in lamprey: SNc/VTA afferent and efferent connectivity and D2 receptor expression. *J Comp Neurol* 2014 ; 522 : 3775-94.
7. Ryczko D, Cone JJ, Alpert MH, et al. A descending dopamine pathway conserved from basal vertebrates to mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016 ; 113 : E2240-9.
8. Ryczko D, Grätsch S, Schläger L, et al. Nigral glutamatergic neurons control the speed of locomotion. *J Neurosci* 2017 ; 37 : 9759-70.
9. Rolland AS, Tandé D, Herrero MT, et al. Evidence for a dopaminergic innervation of the pedunculopontine nucleus in monkeys, and its drastic reduction after MPTP intoxication. *J Neurochem* 2009 ; 110 : 1321-9.
10. Thibault D, Kortleven C, Fasano C, et al. Découvertes récentes sur la fonction et la plasticité des voies dopaminergiques du cerveau. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 165-70.
11. Pérez-Fernández J, Kadamakis AA, Suzuki DG, et al. Direct Dopaminergic Projections from the SNc Modulate Visuomotor Transformation in the Lamprey Tectum. *Neuron* 2017 ; 96 : 910-924.

NOUVELLE

La protéine ISG20, un nouveau facteur de restriction contre le virus de l'hépatite B ?

Briech Chardès, Julie Lucifora, Anna Salvetti

Centre de recherche en cancérologie de Lyon (CRCL),
Inserm U1052, CNRS UMR 5286, Université de Lyon,
151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France
julie.lucifora@inserm.fr
anna.salvetti@inserm.fr

► Le virus de l'hépatite B (HBV) est un virus enveloppé dont le génome est constitué d'une molécule d'ADN circulaire partiellement double brin, appelée ADN relâché circulaire (ADNrc). Il se réplique par l'intermédiaire d'une étape de rétro-transcription. Au sein du noyau des hépatocytes, l'ADNrc est converti en une molécule d'ADN circulaire clos de manière covalente (ADNccc). L'ADNccc constitue le minichromosome viral. Il sert de matrice pour la transcription des ARN messagers viraux dont un long ARN pré-génomique (ARNpg) destiné à être encapsidé (Figure 1). L'encapsidation de l'ARNpg survient à la suite

de la fixation de la polymérase virale au niveau d'une région de son extrémité 5', appelée boucle ε, et au recrutement des protéines de capsid. La rétro-transcription de l'ARNpg en ADNrc a lieu au sein de la capsid assemblée, dans le cytoplasme cellulaire, avant que la capsid soit enveloppée, puis sécrétée (Figure 1). Plusieurs observations réalisées *in vitro* indiquent que l'interféron-α (IFN-α) peut inhiber la réplication d'HBV. Cependant, son ou ses mode(s) d'action reste(nt) encore mal identifié(s). En effet, il est parfaitement établi que l'IFN-α module, de manière fine et dif-

férentielle, la transcription de plusieurs gènes appelés *interferon-stimulated genes* (ISG) [1], qui possèdent des activités antivirales. Les gènes impliqués dans l'effet anti-HBV restent toutefois encore majoritairement inconnus. Actuellement, seuls quelques gènes ont pu être associés à l'effet anti-HBV de l'IFN-α (Tableau 1 et Figure 1).

L'ISG20, un facteur antiviral à large spectre qui induit la dégradation des ARN de l'HBV

L'ISG20 est un des gènes induit par l'IFN-α. Il code une ribonucléase (RNase)

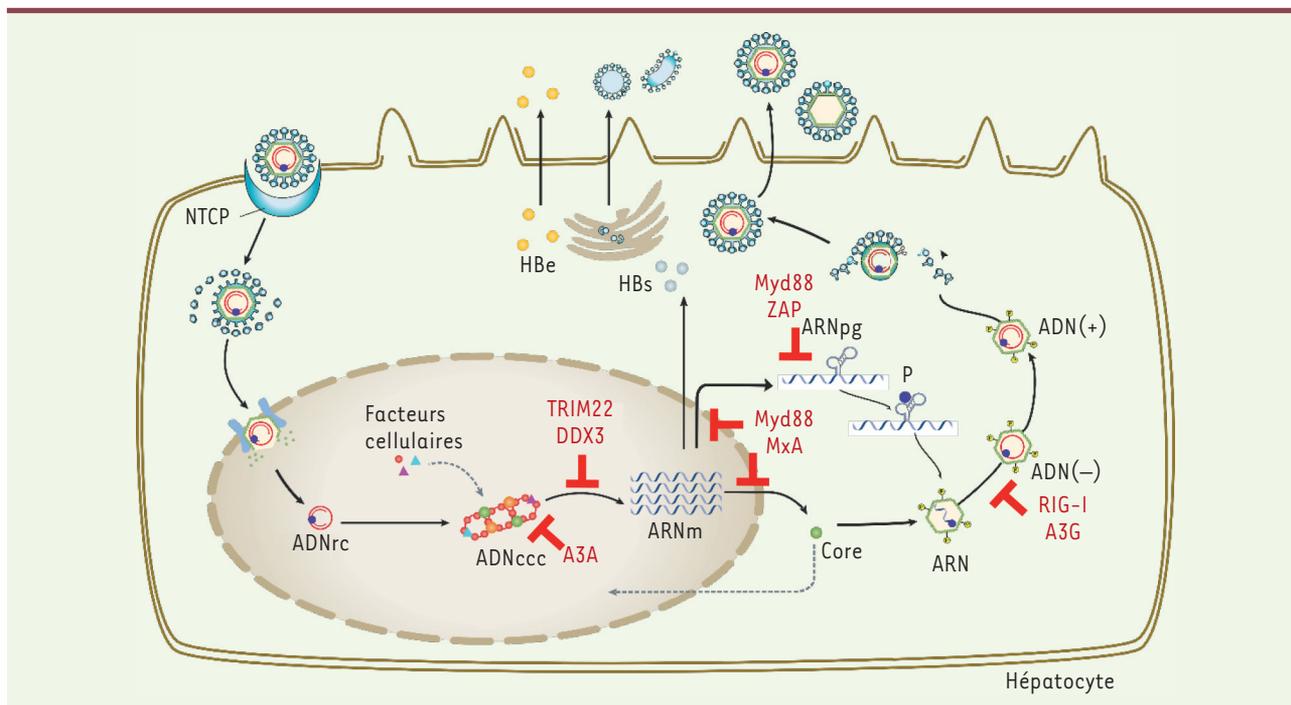


Figure 1. Cycle viral de l'HBV et mode d'action des ISG ayant un effet antiviral. Le cycle du virus de l'hépatite B (HBV) débute par sa fixation au récepteur NTCP (*sodium taurocholate cotransporting polypeptide*) à la surface des hépatocytes. Après son internalisation, la capsid virale se dirige vers le noyau où est déposé l'ADNrc (ADN relâché circulaire). Celui-ci est ensuite converti en ADNccc (ADN circulaire clos de manière covalente) qui sert de matrice pour la synthèse de tous les ARN viraux dont l'ARNpg (un long ARN pré-génomique). La formation de nouvelles capsides a lieu dans le cytoplasme suite à l'encapsidation du complexe ARNpg-polymérase virale et à sa rétro-transcription en ADNrc. Les capsides sont ensuite enveloppées et sécrétées. Des antigènes viraux, HBs et HBe, sont également produits et sécrétés dans le milieu extracellulaire. Un certain nombre d'ISG ont été associés à l'effet répressif de l'interféron (IFN) contre l'HBV : les facteurs cellulaires DDX3 (*DEAD-box RNA helicase*) et TRIM22 (*tripartite motif-containing 22*) inhibent la transcription des ARN viraux tandis que MxA (*myxovirus resistance gene A*) et Myd88 (*myeloid differentiation primary response 88*) se fixent aux ARNm de l'HBV pour empêcher leur export vers le cytoplasme. Comme le facteur cellulaire ZAP (*zinc finger antiviral protein*), Myd88 induit également une dégradation spécifique de l'ARNpg. Les protéines cellulaires RIG-I (*retinoic acid-inducible gene 1*) et A3G (*mosaic virus-type endopeptidase*) ont été associées à une inhibition de la rétro-transcription par fixation à l'ARNpg en compétition avec la polymérase virale. Enfin le gène A3A (*mosaic virus-type endopeptidase*) entraîne des déaminations de l'adénosine en inosine (A>I) de l'ADNccc menant à sa dégradation (figure adaptée de [14]).

qui exerce une activité antivirale contre de nombreux virus à ARN, tels que le virus de l'immunodéficience humaine, le virus de la grippe et les virus des hépatites A et C [2]. Des études antérieures ont montré que ce gène est fortement induit lors de la suppression de la réplication d'HBV par action de l'IFN- α dans des modèles d'hépatocytes murins et également au niveau du foie de patients chroniquement infectés, qui répondent au traitement par l'IFN- α [3,4]. *In vitro*, l'induction de l'ISG20 par l'IFN- α est associée à une diminution d'expression des ARN et des ADN viraux intracellulaires, de l'antigène de l'hépatite B (HBs) et de la production de particules virales.

Dans un article récent, Liu *et al.* ont cherché à comprendre le mode d'action de l'inhibition d'HBV par l'ISG20 [5]. Pour établir une relation de causalité entre induction du gène *ISG20* et diminution des ARN messagers viraux précédemment observée *in vitro* et *in vivo*, les auteurs ont montré que sa surexpression diminuait les niveaux d'ARNpg de manière dose-dépendante, et ceci sans toxicité pour la cellule infectée, suggérant que son effet serait restreint aux ARN viraux. La chute du niveau d'ARNpg pouvait résulter d'une répression transcriptionnelle du promoteur viral et/ou d'une dégradation survenant à une étape post-transcriptionnelle. En concordance avec

de précédentes observations attribuant l'activité antivirale de la protéine ISG20 à son activité 3'-5'-exonucléase, les auteurs ont démontré que l'enzyme n'affectait pas de manière significative l'activité du promoteur viral, mais qu'elle induisait une chute du niveau d'ARNpg du HBV en perturbant sa stabilité [5]. Plusieurs mécanismes pouvaient être à l'origine de ce phénomène. La protéine ISG20 appartient à la superfamille des DEDD 5-3' exonucléases¹ et possède trois domaines distincts caractéristiques

¹ Famille de protéines présentant un enchaînement d'acides aminés DED en N-terminal et deux séquences de localisation nucléaire (NLS).

Gène	Mécanisme antiviral	Références
DDX3	Répression de la transcription des ARN viraux	[11]
TRIM22	Répression de l'activité du promoteur viral core	[12]
MxA	Fixation aux ARN viraux et inhibition de leur export vers le cytoplasme	[12]
Myd88	Fixation aux ARN viraux et inhibition de leur export vers le cytoplasme Dégradation de l'ARNpg	[12]
ZAP	Dégradation de l'ARNpg	[12]
RIG-I	Inhibition de la fixation de la polymérase à l'ARNpg et blocage de la rétro-transcription	[13]
A3G	Inhibition de la rétro-transcription	[12]
A3A	Déamination A>I de l'ADNccc menant à sa dégradation	[12]

Tableau 1. Liste des facteurs induits par l'interféron- α nommés (ISG) et décrits comme possédant une activité antivirale vis-à-vis du virus de l'hépatite B (HBV). DDX3 : DEAD-box RNA helicase ; TRIM22 : tripartite motif containing 22 ; MxA : myxovirus resistance gene A ; Myd88 : myeloid differentiation primary response 88 ; ZAP : zinc finger antiviral protein ; RIG-I : retinoic acid-inducible gene 1 ; A3A et A3G : mosaic virus -type endopeptidase ; A : adénosine ; I : inosine ; ADNrc : ADN relâché circulaire ; ADNccc : ADN circulaire clos de manière covalente ; ARNpg : long ARN pré-génomique.

de ce type d'enzymes, désignés Exo I, Exo II et Exo III. L'activité antivirale de l'ISG20 contre le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) a été attribuée au site Exo II de la protéine, dont l'activité enzymatique cible préférentiellement les ARN simple brin [2]. Liu *et al.* ont également observé une perte du potentiel antiviral de la protéine ISG20 vis-à-vis du HBV lorsque le motif Exo II est muté.

Restait à comprendre comment la protéine ISG20 pouvait reconnaître spécifiquement l'ARN viral. L'observation d'une chute du niveau d'ARNpg encapsidé, en présence d'une protéine ISG20 mutée dans son activité exonucléase, a permis aux auteurs d'émettre l'hypothèse que celle-ci pouvait reconnaître l'ARNpg de l'HBV et entrer en compétition avec la polymérase virale. Comme mentionné précédemment, l'assemblage des particules implique la fixation de la polymérase virale à la boucle ϵ de l'ARNpg, suivie du recrutement des protéines de capsid. Par une série d'expériences d'immunoprécipitation, puis d'analyses des ARN viraux par *northern blot*, Liu *et al.* ont montré que la protéine ISG20 interagissait avec l'ARNpg via son domaine Exo III, mais indépendamment de son domaine catalytique

Exo II. Des expériences de retard sur gel ont permis de montrer qu'ISG20 se fixait préférentiellement au niveau de la boucle ϵ de l'ARNpg, dans une région proche de celle reconnue par la polymérase virale. Ceci suggérerait que ces deux protéines pouvaient entrer en compétition pour la fixation à l'ARNpg par un mécanisme d'inhibition allostérique.

Conclusions et perspectives thérapeutiques

Ce travail a permis de montrer que la protéine ISG20 reconnaît spécifiquement l'ARNpg d'HBV et induit sa dégradation. Faut-il pour autant considérer l'ISG20 comme un facteur de restriction du HBV comme le proposent Liu *et al.* ? Bien qu'aucune définition ne fasse consensus, les facteurs de restriction virale présentent certaines caractéristiques communes, telles qu'une expression basale dans quasiment tous les tissus et une modulation possible par l'IFN- α . Plus spécifiquement, Harris *et al.* ont défini un facteur de restriction viral selon quatre points : (1) une diminution forte et directe de l'infectivité du virus ; (2) l'existence d'un mécanisme d'échappement viral ; (3) l'implication

de la réponse immunitaire dans le fonctionnement du facteur de restriction, notamment par la réponse IFN- α ; (4) une compétition entre le facteur de restriction et le mécanisme d'échappement viral se traduisant par une signature d'évolution rapide dans la séquence du gène cellulaire [6, 7] (→).

(→) Voir la Synthèse de L. Gerossier *et al.*, *m/s* n° 10, octobre 2016, page 808

Dans le cas d'ISG20, le mécanisme d'échappement viral ainsi que la signature d'évolution rapide dans la séquence du gène restent à prouver. D'autres questions sont également en suspens dont, en particulier, le mode d'action d'ISG20 contre d'autres virus à ARN et son effet potentiel sur des ARN messagers cellulaires. Enfin, il faut remarquer que ces expériences ont été, pour la plupart, réalisées dans des modèles de cellules tumorales transfectées avec des plasmides codant le génome d'HBV. Il semble donc important de vérifier si l'ISG20 se comporte de façon similaire dans des modèles d'hépatocytes primaires infectés par l'HBV.

Cette approche anti-HBV de type *ISG20-like*, par déstabilisation des ARN de manière directe ou indirecte, constitue



une piste thérapeutique, qui commence à être de plus en plus explorée dans l'optique de développer de nouvelles classes d'agents antiviraux. Des travaux récents se sont focalisés sur le développement de molécules pouvant affecter la stabilité des ARN viraux. Il s'agit, en particulier, des molécules RG7834 (Roche) et DHQ-1 (Arbutus Bio Pharma), qui permettent de diminuer les taux d'ARNm viraux en les déstabilisant [8,9]. Bien que plusieurs mécanismes puissent conduire à la dégradation des ARN viraux, une perspective ouverte par l'étude de Liu *et al.* consisterait à sélectionner des molécules ayant la capacité de se fixer sur la boucle ϵ de l'ARNpg. De façon intéressante, l'utilisation d'aptamères mimant la structure de la boucle ϵ supprime la réplication d'HBV en empêchant son interaction avec la polymérase virale [10]. Les résultats de Liu *et al.* confirment ainsi le potentiel thérapeutique de stratégies visant à cibler et dégrader spécifiquement les ARN viraux, et four-

nissent de nouvelles données mécanistiques importantes pour la sélection de molécules à activité antivirale. \diamond

The ISG20 protein, a new restriction factor against hepatitis B virus?

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Sadler AJ, Williams BR. Interferon-inducible antiviral effectors. *Nat Rev Immunol* 2008 ; 8 : 559-68. doi:10.1038/nri2314
- Degols G, Eldin P, Mechetti N. ISG20, an actor of the innate immune response. *Biochimie* 2007 ; 89 : 831-5. doi:10.1016/j.biochi.2007.03.006
- Wieland SF, Vega RG, Muller R, *et al.* Searching for interferon-induced genes that inhibit hepatitis B virus replication in transgenic mouse hepatocytes. *J Viral* 2003 ; 77 : 1227-36.
- Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 6669-74. doi:10.1073/pnas.0401771101
- Liu Y, Nie H, Mao R, *et al.* Interferon-inducible ribonuclease ISG20 inhibits hepatitis B virus replication through directly binding to the epsilon stem-loop structure of viral RNA. *PLoS Pathog* 2017 ; 13 : e1006296. doi:10.1371/journal.ppat.1006296
- Harris RS, Hultquist JF, Evans DT. The restriction factors of human immunodeficiency virus. *J Biol Chem* 2012 ; 287 : 40875-83. doi:10.1074/jbc.R112.416925
- Gerossier L, Decorsière A, Abdul F, Hantz O. Identification d'un nouveau facteur de restriction contre l'infection par le virus de l'hépatite B : le complexe SMC5/6. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 808-12.
- Mueller H, Wildum S, Luangsay S, *et al.* A novel orally available small molecule that inhibits hepatitis B virus expression. *J Hepatol* 2017 ; doi:10.1016/j.jhep.2017.10.014
- Zhou T, Block T, Liu F, *et al.* HBsAg mRNA degradation induced by a dihydroquinolinone compound depends on the HBV posttranscriptional regulatory element. *Antiviral Res* 2018 ; 149 : 191-201. doi:10.1016/j.antiviral.2017.11.009
- Feng H, Beck J, Nassal M, Hu KH. A SELEX-screened aptamer of human hepatitis B virus RNA encapsidation signal suppresses viral replication. *PLoS One* 2011 ; 6 : e27862. doi:10.1371/journal.pone.0027862.
- Ko C, Lee S, Windisch MP, Ryu WS. DDX3 DEAD-box RNA helicase is a host factor that restricts hepatitis B virus replication at the transcriptional level. *J Virol* 2014 ; 88 : 13689-98. doi:10.1128/JVI.02035-14.
- Xia Y, Protzer U. Control of hepatitis B virus by cytokines. *Viruses* 2017 ; 9. doi:10.3390/v910018.
- Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, *et al.* The RNA sensor RIG-I dually functions as an innate sensor and direct antiviral factor for hepatitis B virus. *Immunity* 2015 ; 42 : 123-32. doi:10.1016/j.immuni.2014.12.016.
- Testoni B, Durantel D, Zoulim F. Novel targets for hepatitis B therapy. *Liver Int* 2017 ; 37 (suppl 1) : 33-9.

NOUVELLE

Carcinome hépatocellulaire après éradication du virus de l'hépatite C par les antiviraux à action directe

Prochains défis

Nourdine Hamdane^{1,2}, Thomas F. Baumert¹⁻³, Mirjam B. Zeisel⁴

L'hépatite C et le carcinome hépatocellulaire à l'ère des antiviraux à action directe

L'infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC) est une des principales causes de maladies hépatiques chroniques (comme l'hépatite et la cirrhose) et de carcinome hépatocellulaire (CHC) dans le monde [1, 2]. Le CHC est le second cancer en terme de taux de mortalité et, contrairement à d'autres types de cancer, son incidence continue

à progresser [2]. Des traitements à base d'interféron alpha (IFN- α) permettaient auparavant de guérir environ 50 % des patients atteints d'hépatite C chronique. Les nouveaux traitements antiviraux (les antiviraux à action directe [AAD]) rendent actuellement possible la guérison (obtention d'une réponse virologique soutenue [RVS]) de la grande majorité des patients [3] (→).

(→) Voir la Nouvelle de L. Mailly *et al.*, *m/s* n° 12, décembre 2015, page 1075

¹Inserm U1110, institut de recherche sur les maladies virales et hépatiques, 3, rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, France.

²Université de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France.

³Institut hospitalo-universitaire, pôle hépato-digestif, nouvel hôpital civil, 67000 Strasbourg, France.

⁴Inserm U1052, CNRS UMR 5286, centre de recherche sur le cancer de Lyon (CRCL), université de Lyon (UCBL), 151, cours Albert Thomas, 69424 Lyon, France.

mirjam.zeisel@inserm.fr

Cette révolution dans la prise en charge des patients atteints d'hépatite C chronique avait nourri l'espoir de voir disparaître les CHC consécutifs à l'infection par le VHC. Cependant, les résultats du suivi de différentes cohortes de patients ont révélé que bien que les AAD permettent de diminuer le risque de développer un CHC, ils ne