

Maturation extracellulaire du virus de l'hépatite C

Une cape d'invisibilité plasmatique

Marion Chanut, Christelle Granier, François-Loïc Cosset,
Solène Denolly

CIRI - Centre International de Recherche
en Infectiologie, Université Lyon, Université
Claude Bernard Lyon 1, Inserm, U1111,
CNRS, UMR5308, ENS Lyon, 46, allée d'Italie,
F-69007, Lyon, France.

flcosset@ens-lyon.fr

Le virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C (VHC) est un virus à tropisme hépatique responsable d'infections aiguës ou chroniques. Ces infections ont un impact important en santé publique dû au nombre de décès causés, estimé à environ 399 000 en 2015, qui ont majoritairement pour origine une cirrhose, mais également un carcinome hépatocellulaire [1].

Le VHC est un petit virus enveloppé de 80 à 120 nanomètres de diamètre, de la famille des *Flaviviridae* et du genre des *Hepacivirus*. Il présente une nucléocapside composée de la protéine core et du génome viral à ARN, protégés par une enveloppe membranaire où sont ancrées deux glycoprotéines, E1 et E2 (Figure 1). Lors du cycle viral, une unique polyprotéine, obtenue par traduction du génome viral, permet la production après clivage des protéines structurales et non structurales du virus. Parmi les protéines structurales, les protéines core, E1 et E2, sont présentes dans les particules virales. Les protéines p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B sont, elles, non structurales, et ont un rôle dans la réplication, la morphogénèse, et la régulation des facteurs cellulaires modulant la propagation du virus [2]. Le génome viral présente une variabilité très importante qui, au sein d'un même virus et de ses protéines, n'est pas distribuée de manière équivalente. C'est le cas de la glycoprotéine E2 et notamment des 27 acides aminés les plus divergents, qui constituent sa partie N-terminale et forment la région hypervariable 1 (HVR1) de la protéine.

La découverte de nouvelles molécules antivirales a permis des avancées considérables dans le traitement du VHC. La perspective d'un vaccin reste néanmoins pertinente afin de pouvoir éradiquer ce virus [2, 3] (→).

(→) Voir la Nouvelle
de N. Hamdane et al.,
m/s n° 5, mai 2018,
page 391

Sa conception reste cependant difficile à cause de la variabilité génétique du virus, comme le reflète sa classification en 7 génotypes différents, en de nombreux sous-types et en une quasi-espèce extrêmement abondante chez les individus infectés. Le virus a également développé différents mécanismes permettant son échappement à la réponse immunitaire. Notamment, la région hypervariable HVR1 de la glycoprotéine E2 joue un rôle important pour sa protection contre le système immunitaire [4]. De plus, le virion du VHC présente une caractéristique unique : il s'associe et incorpore des lipides neutres (triglycérides et esters de cholestérol) issus de son hôte, qui pourraient modifier sa conformation spatiale [5]. La source de ces lipides est constituée par les lipoprotéines présentes dans le sérum des patients et dont le rôle est le transport des lipides dans l'organisme. Cette lipodation du virus est à l'origine de l'acquisition de la très faible densité de ses virions, entre 1,00 et 1,08. Cela lui permet d'échapper aux anticorps capables de neutraliser ces particules virales, notamment en raison d'un accès plus difficile aux épitopes cibles d'anticorps neutralisants et/ou d'une entrée plus rapide dans la cellule [6].

VHCcc produites en présence de sérum humain : nouveau modèle de particules

Un enjeu majeur pour progresser dans la connaissance des mécanismes d'infection par le virus est la mise au point d'un modèle de particules virales produites *in vitro* et capables de mimer celles retrouvées chez le patient. Ces particules sont de très faible densité [5], selon leur association avec les lipides de l'hôte [7]. Plusieurs modèles *in vitro* ont permis l'étude du cycle du virus, mais les particules produites dans ces modèles, appelées VHCcc (*cell-culture-derived hepatitis C virus*), se retrouvent à des hauts niveaux de densité [8]. Les particules virales produites dans des hépatocytes primaires humains [9] ou dans des modèles de souris humanisées [10] présentent des densités intermédiaires entre celles des patients infectés et celles du VHCcc.

Des travaux de notre laboratoire, publiés récemment, ont permis de mettre en évidence l'importance du sérum humain pour la production de VHCcc se rapprochant davantage des caractéristiques des particules virales dérivées des patients [11]. La production *in vitro* de ces particules, ou encore leur incubation pendant quelques heures en présence de sérum humain, provoquent un changement de densité des virions. Ils sont alors distribués dans les niveaux de faible densité, probablement en raison de leur lipodation, alors que l'absence de sérum, ou l'utilisation de sérum de veau fœtal maintiennent ou confèrent à ces particules une densité plus élevée

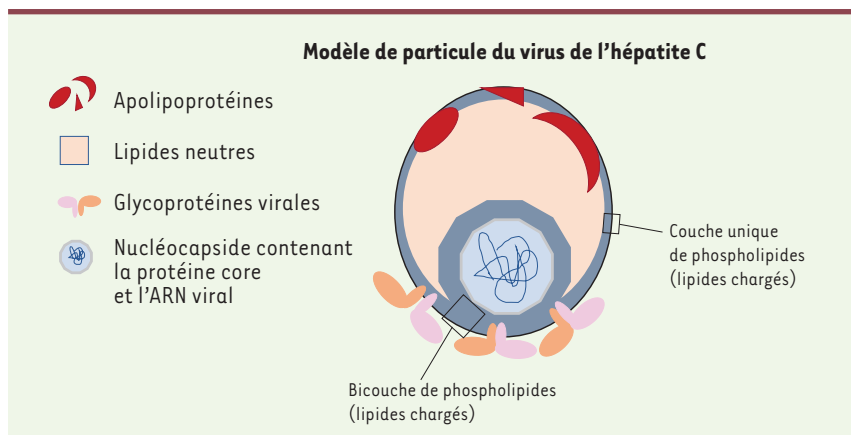


Figure 1. Modèle de particule du virus de l'hépatite C. Les particules du VHC sont associées aux lipoprotéines, présentant à leur surface, d'une part des apolipoprotéines comme apoB, apoE, apoC et, d'autre part, des lipides neutres comme des esters de cholestérol et des triglycérides. Les glycoprotéines virales, imbriquées à la surface des particules virales, permettent l'interaction avec la cellule *via* des récepteurs spécifiques. La nucléocapside, composée de la protéine core et du génome à ARN, est ainsi protégée par ces structures externes.

[11]. Comme cela a été observé pour le VHC dérivé de patients infectés, les particules produites ou incubées avec du sérum humain sont associées à l'apolipoprotéine B, une protéine structurale majeure des lipoprotéines de faible densité.

Mécanisme de lipodation du virus

Alors que d'autres études suggéraient que l'association des virions aux lipoprotéines se réalisait très précocement, lors de leur assemblage ou au moment de la phase de sécrétion des virions par la cellule, nos résultats montrent que la lipodation pourrait également, voire principalement, se produire dans le milieu extracellulaire, après la production des particules par les hépatocytes infectés [11]. En effet, l'incubation de particules virales, initialement produites sans sérum, avec du sérum humain permet de produire des particules de faible densité, indiquant que la maturation des virions par lipodation se produit après leur sécrétion dans la circulation.

Nous avons montré également que les différentes classes de lipoprotéines sériques (les lipoprotéines de très basse densité [*very-low density lipo-*

protein ou VLDL], les lipoprotéines de basse densité [*low density lipoprotein* ou LDL] et les lipoprotéines de haute densité [*high density lipoprotein* ou HDL]) constituaient la source de lipides pour la formation des lipo-viro-particules. Pourtant, si chacune d'entre elles peut être à l'origine de la fourniture de lipides, la lipodation complète des particules virales est induite par leur association avec une combinaison de ces trois classes de lipoprotéines. Ce mécanisme nécessite également des facteurs sériques non lipidiques qui ne sont pas encore totalement identifiés. Néanmoins, le rôle de l'albumine sérique pour l'acquisition de la faible densité en présence de LDL ou de VLDL a pu être mis en évidence (Figure 2).

En accord avec des études précédentes qui soulignaient son rôle dans l'interaction du virus avec les lipoprotéines [4], la région HVRI apparaît comme essentielle dans le mécanisme de lipodation des virions. Notamment, des échanges génétiques de cette région HVRI entre deux souches du VHC présentant des distributions différentes de densités en présence de sérum humain ont permis de montrer que la région HVRI déterminait le niveau de lipodation de la souche

virale [11]. Cette région semble donc être spécifiquement impliquée dans la lipodation des particules virales, dictant leur niveau de lipodation et ainsi, l'acquisition de la faible densité.

Anticorps et neutralisation

Hormis l'apport de ce modèle de lipodation *in vitro* permettant une meilleure compréhension fondamentale des propriétés du VHC, plusieurs perspectives importantes de cette observation sont à souligner. L'association des virions aux lipides est un élément clé pour l'échappement du virus à la réponse immunitaire. L'élimination spontanée du virus a été associée à une réponse immunitaire importante et précoce, pouvant être maintenue durant plusieurs années. Des anticorps neutralisants sont produits à la suite d'une infection aiguë. Ils sont notamment dirigés contre différents épitopes, dont certains sont capables d'engendrer des réactions de neutralisation croisée [12]. Ces anticorps semblent avoir un rôle dans le contrôle de l'infection. Ils pourraient contribuer au développement d'une immunité protectrice [13], même si des mécanismes d'échappement mis en place par le virus limitent fortement leur capacité de neutralisation [4].

Les approches utilisant des particules produites *in vitro* permettent d'étudier précisément la réponse humorale, et cela de manière d'autant plus pertinente que les modèles développés produisent des particules virales telles qu'elles sont observées chez les patients. Il est probable que l'association du virus aux lipides permette d'échapper à ces anticorps. L'association aux composants des lipides et/ou lipoprotéines pourrait en effet modifier la structure de la particule, ce qui pourrait conduire à une utilisation différente par le virus de ses récepteurs d'entrée dans la cellule, rendant sa pénétration plus rapide et plus efficace [6] en évitant que les particules ne soient ciblées par les anticorps [14]. Il est également possible que l'asso-

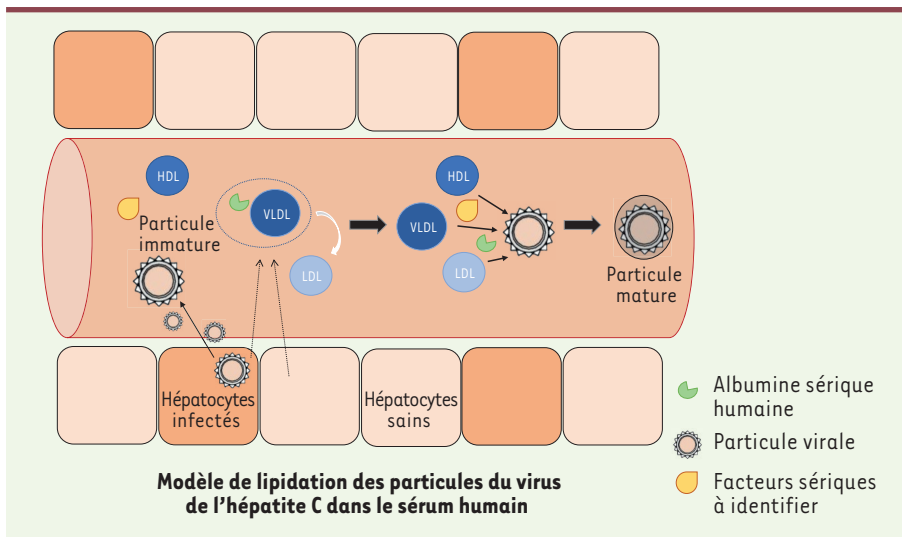


Figure 2. Modèle de lipidation des particules du virus de l'hépatite C dans le sérum humain. Les hépatocytes infectés permettent la libération des particules immatures dans la circulation sanguine. Dans ce compartiment, le virus trouve les facteurs qui vont aider à la formation des particules lipidées. Pour cela, les différentes lipoprotéines circulantes du sérum vont entrer en jeu, ainsi que d'autres facteurs sériques dont l'albumine sérique. Ces particules vont alors être capables d'aller infecter d'autres hépatocytes.

ciation avec les lipoprotéines, ou avec les lipides, masque les épitopes cibles de ces anticorps neutralisants [4, 8, 11, 12, 14].

Nos travaux ont confirmé que les anticorps ciblant la glycoprotéine E2 ont une capacité de neutralisation des particules incubées avec du sérum humain inférieures à celles des particules produites sans sérum [11]. Ceci renforce donc l'hypothèse du rôle de l'association des virions aux lipoprotéines dans la protection des particules contre la neutralisation par les anticorps [4], suggérant le masquage par des composants du sérum, d'épitopes importants dans l'activité neutralisante des anticorps.

Conclusion

La mise au point d'un outil d'étude du virus de l'hépatite C se rapprochant davantage de ce qui est observé *in vivo* a permis de préciser le mécanisme de lipidation du virus. Cela pourrait permettre aussi des avancées dans l'étude structurale et fonctionnelle du virus, pouvant aider à concevoir des candidats pour un vaccin. ♦

Extracellular maturation of hepatitis C virus: a plasma cloak of invisibility

REMERCIEMENTS

Notre laboratoire est financé par l'agence nationale de la recherche sur le SIDA et les hépatites

virales (ANRS) et par le LabEx Ecofect (ANR-11-LABX-0048) de l'Université de Lyon dans le cadre du programme d'investissements d'avenir (ANR-11-IDEX-0007) de l'agence nationale pour la recherche (ANR).

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Organisation Mondiale de la Santé. *Global hepatitis report*. Genève : OMS, 2017
2. Hamdane N, Baumert T, Zeisel MB. Carcinome hépatocellulaire après éradication du virus de l'hépatite C par des antiviraux à action directe. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 391-4.
3. Bartenschlager R, Baumert TF, Bukh J, et al. Critical challenges and emerging opportunities in hepatitis C virus research in an era of potent antiviral therapy: considerations for scientists and funding agencies. *Virus Res* 2018 ; 248 : 53-62
4. Bartosch B, Verney G, Dreux M, et al. An interplay between the hyper-variable region 1 of the HCV E2 glycoprotein, the scavenger receptor BI and HDL promotes both enhancement of infection and protection against neutralizing antibodies. *J Virol* 2005 ; 79 : 8217-29.
5. André P, Komurian-Pradel F, Deforges S, et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J Virol* 2002 ; 76 : 6919-28.
6. Dreux M, Pietschmann T, Granier C, et al. High density lipoprotein inhibits hepatitis C virus-neutralizing antibodies by stimulating cell entry via activation of the scavenger receptor BI. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 18285-95.
7. Merz A, Long G, Hiet MS, et al. Biochemical and morphological properties of HCV particles and determination of their lipidome. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 3018-32.
8. Dao Thi VL, Granier C, Zeisel MB, Guérin M, et al. Characterization of hepatitis C virus particle subpopulations reveals multiple usage of SRBI for entry steps. *J Biol Chem* 2012 ; 287 : 31242-57.

9. Povedin P, Carpentier A, Pene V, et al. Production of infectious hepatitis C virus in primary cultures of human adult hepatocytes. *Gastroenterology* 2010 ; 139 : 1355-64.
10. Calattini S, Fusil F, Mancip J, et al. Functional and biochemical characterization of Hepatitis C virus (HCV) particles produced in a humanized liver mouse model. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 23173-87.
11. Denolly, Granier C, Fontaine N, et al. A serum protein factor mediates maturation and apoB-association of HCV particles. *J Hepatol* 2019 ; 70 : 626-38.
12. Lavillette D, Morice Y, Germanidis G, et al. Human serum facilitates hepatitis C virus infection, and neutralizing responses inversely correlate with viral replication kinetics at the acute phase of hepatitis C virus infection. *J Virol* 2005 ; 79 : 6023-34.
13. Fafi-Kremer S, Fauvel C, Felmlee DJ, et al. Neutralizing antibodies and pathogenesis of hepatitis C virus infection. *Viruses* 2012 ; 4 : 2016-30.
14. Prentoe J, Serre SB, Ramirez S, et al. HVR1 deletion and required adaptive envelope mutations confer decreased dependency on SRBI and LDLr for HCV. *J Virol* 2014 ; 88 : 1725-39.

Abonnez-vous à médecine/sciences

Bulletin d'abonnement page 714 dans ce numéro de m/s