

Monocytes et virus Zika

À la conquête du cerveau

Emma Partiot, Raphaël Gaudin

Université de Montpellier, CNRS UMR 9004,
Institut de recherche en infectiologie de Montpellier,
1919 route de Mende, 34293 Montpellier, France.
raphael.gaudin@irim.cnrs.fr



Le réchauffement climatique est l'une des préoccupations majeures de notre société, et certains ennemis de l'homme profitent de ce phénomène pour se propager. En effet, le moustique tigre (*Aedes albopictus*) colonise dans l'hémisphère nord des régions toujours plus septentrionales, et les arbovirus, qui utilisent ce moustique comme vecteur de dissémination, profitent de cette conquête pour infecter de nouveaux hôtes. Les virus comptent parmi les derniers « prédateurs » de l'homme [1]. Ils ont une grande capacité évolutive et s'adaptent rapidement aux changements de leur environnement. Parmi les arbovirus, le virus Zika (ZIKV), peu étudié il y a encore cinq ans, a fait récemment la une des informations internationales. Découvert en 1947 dans la forêt Zika en Ouganda, ZIKV a colonisé des territoires variés et provoqué de graves épidémies, dont la plus connue en 2015, au Brésil, où des millions de personnes ont été infectées [2]. En quelques années, l'épidémie s'est propagée au reste du monde (États-Unis, autres pays d'Amérique du Sud, Asie), et en novembre 2019, deux cas autochtones d'infection par le virus ont été découverts en France [3]. Cette colonisation rapide de ZIKV à l'échelle mondiale a entraîné l'intensification des recherches sur ce virus.

Plus de 70 % des infections par ZIKV sont asymptomatiques [4]. Cependant, l'infection chez la femme enceinte, en particulier lors des premiers mois de la grossesse, augmente significativement le risque de microcéphalie et d'autres anomalies neurologiques chez le fœtus. Chez l'adulte, bien que l'association de ZIKV avec des troubles neurologiques graves

comme une encéphalite ou le syndrome de Guillain-Barré ait été rapportée, les effets de l'infection à moyen et long terme sont encore incertains. En effet, ZIKV est capable de persister dans le sperme et dans le système nerveux central (SNC) pendant plusieurs mois, et une étude a montré que la présence du virus pourrait avoir des conséquences non négligeables sur les capacités cognitives de jeunes macaques [5].

Dans ce contexte, il reste à comprendre comment ZIKV est capable de passer de la circulation sanguine au SNC, séparés par une couche de cellules imperméable : la barrière hémato-encéphalique (BHE). Nos travaux récents nous ont conduits à proposer un modèle, métaphoriquement comparable à la légende du cheval de Troie, selon lequel ZIKV se cache dans les monocytes circulants du sang pour passer la BHE et se dissémine alors dans le système nerveux central [6] (Figure 1).

Les monocytes du sang sont une cible du virus Zika

Les monocytes circulants du sang ont la capacité de transmigrer vers les tissus et de s'y différencier en cellules dendritiques ou en macrophages, selon le contexte cytokinique [7]. Ces cellules sont donc des cibles de choix pour le virus, leur permettant de voyager sur de longues distances sans être « repérés » par le système immunitaire [8].

Plusieurs groupes, incluant le nôtre, ont montré que ZIKV infecte préférentiellement les monocytes (en particulier le sous-type CD14⁺ CD16⁺) plutôt que les autres leucocytes [6, 9, 10]. De plus, grâce à la détection de la protéine virale non structurale NS2B et de l'ARN double

brin, et grâce à la quantification de la production de particules virales infectieuses, nous avons montré que le virus infecte de façon productive les monocytes primaires humains, bien que les niveaux de production du virus par les monocytes soient très bas [6].

Les monocytes, agents de dissémination du virus Zika

Nous avons étudié la capacité de monocytes (cellules aptes à migrer dans les tissus) à propager l'infection à des cellules neuronales dans un modèle d'organoides cérébraux dérivés de cellules souches embryonnaires. Dans ce modèle, nous avons observé une accélération de la dissémination de ZIKV associé aux monocytes par rapport à celle du virus libre. En effet, des cellules neuronales étaient déjà infectées deux jours après l'introduction de ZIKV dans le milieu de culture, uniquement dans le cas d'une incubation avec des monocytes infectés. En revanche, sept jours plus tard, des niveaux similaires d'infection des cellules neuronales étaient observés, que les organoides aient été incubés avec des monocytes préalablement infectés par le virus ou avec le virus libre [6]. Ces résultats semblent indiquer que l'infection des monocytes par ZIKV constitue un moyen efficace pour accélérer la dissémination de ZIKV et l'infection des tissus de l'hôte.

Nous avons ensuite étudié le rôle des monocytes infectés dans les maladies neuronales. L'infection de souris par ZIKV provoque des modifications considérables de l'architecture neuronale, notamment dans le cervelet [11]. Nous avons utilisé un modèle de culture *ex vivo*

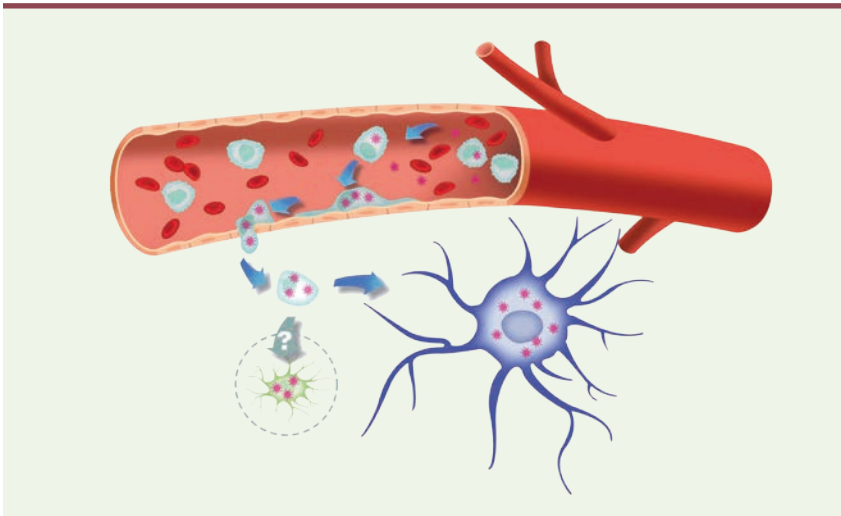


Figure 1. Modèle du « cheval de Troie » ZIKV-monocyte-BHE. Le virus Zika (ZIKV, en rose) circulant dans le vaisseau sanguin (en rouge) infecte les monocytes environnants (en bleu clair). Il s'ensuit alors une reprogrammation qui augmente la quantité de protéines impliquées dans l'adhérence cellulaire à la surface des monocytes. Les monocytes infectés tendent alors à adhérer davantage à l'endothélium du vaisseau sanguin (en beige) et à migrer dans le tissu nerveux à travers la BHE. Une fois dans le tissu nerveux, les monocytes favorisent la dissémination du virus vers les cellules neurales (en violet). Le devenir des monocytes infectés (en vert clair) reste inconnu.

de coupes de cervelet de souris, qui nous a permis de montrer que les monocytes infectés provoquent des perturbations structurelles du cervelet, un phénomène qui n'apparaît pas en présence du virus libre ou de monocytes non-infectés. L'ensemble de ces résultats suggère que les monocytes jouent un rôle majeur dans la physiopathologie de l'infection par ZIKV.

Le virus Zika induit un programme pro-migratoire dans les monocytes

La BHE est constituée par les cellules endothéliales des capillaires cérébraux, qui sont unies par des jonctions serrées (*tight junctions*). Il existe cependant, à travers la BHE, des échanges moléculaires et cellulaires contrôlés entre le système nerveux central et le reste de l'organisme [12]. Les monocytes traversent la BHE par un processus de transmigration comportant plusieurs étapes : d'abord un roulement de la cellule le long de la paroi interne du vaisseau sanguin, puis son attachement plus ferme à l'endothélium grâce à une

séquence d'interactions entre différentes molécules d'adhérence exprimées par les monocytes et les cellules endothéliales, ce qui entraîne l'immobilisation du monocyte ; l'attachement se renforce ensuite par de nouvelles interactions plus robustes entre molécules d'adhérence lors du contact cellule-cellule, avant l'étape finale de migration à travers l'endothélium (diapédèse). Deux modes de passage sont possibles, sans être mutuellement exclusifs : un passage « paracellulaire » du monocyte à la jonction entre deux cellules endothéliales, ou un passage « transcellulaire » à travers une cellule endothéliale [13]. Afin de mimer la transmigration des monocytes, nous avons utilisé comme modèle de la BHE une couche de cellules endothéliales (lignée cellulaire endothéliale dérivée de la BHE) cultivées sur une membrane poreuse placée au-dessus d'un puits. Les monocytes sont déposés sur cette membrane, et l'efficacité de leur transmigration est évaluée par quantification des cellules récupérées dans la chambre inférieure du puits. Ce système

expérimental a permis de montrer que les monocytes infectés par ZIKV transmigrent davantage que des monocytes non infectés. Grâce à ce système et à l'ajout d'organoïdes cérébraux dans la chambre inférieure du puits, nous avons pu également confirmer l'avantage du virus à utiliser le monocyte pour se disséminer dans le tissu nerveux [6].

Ce modèle expérimental ne permet cependant pas de mimer le flux sanguin auquel sont naturellement exposés les monocytes circulants. Nous avons donc développé un modèle d'embryon de poisson-zèbre permettant de mesurer la transmigration des monocytes *in vivo*. En accord avec les résultats obtenus *in vitro*, l'exposition des monocytes à ZIKV induit une augmentation significative de leur transmigration par rapport à des monocytes non-infectés. Ce résultat constitue l'une des premières preuves *in vivo* à l'appui du modèle du « cheval de Troie », qui avait été proposé pour la première fois il y a 35 ans à propos d'un lentivirus infectant les ovins [14].

L'exposition de monocytes au virus Zika augmente leur capacité d'adhérence à divers substrats

Une analyse protéomique différentielle des monocytes afin de déterminer les mécanismes moléculaires responsables de l'augmentation de la transmigration des monocytes infectés par ZIKV a révélé que l'infection par ce virus augmente l'expression de nombreuses molécules d'adhérence par rapport aux monocytes non-infectés. Ce résultat est spécifique de l'infection par ZIKV, puisque ni le virus de la dengue (un flavivirus proche de ZIKV), ni le virus de l'immunodéficience humain VIH-1 (un virus induisant aussi une augmentation de la transmigration) [15] n'augmentent l'expression des molécules d'adhérence dans les monocytes. En revanche, ZIKV n'induit pas d'activation notable du monocyte. Dans des tests *in vitro* d'adhérence sur collagène, fibronectine, ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*), ou sur cellules endothéliales

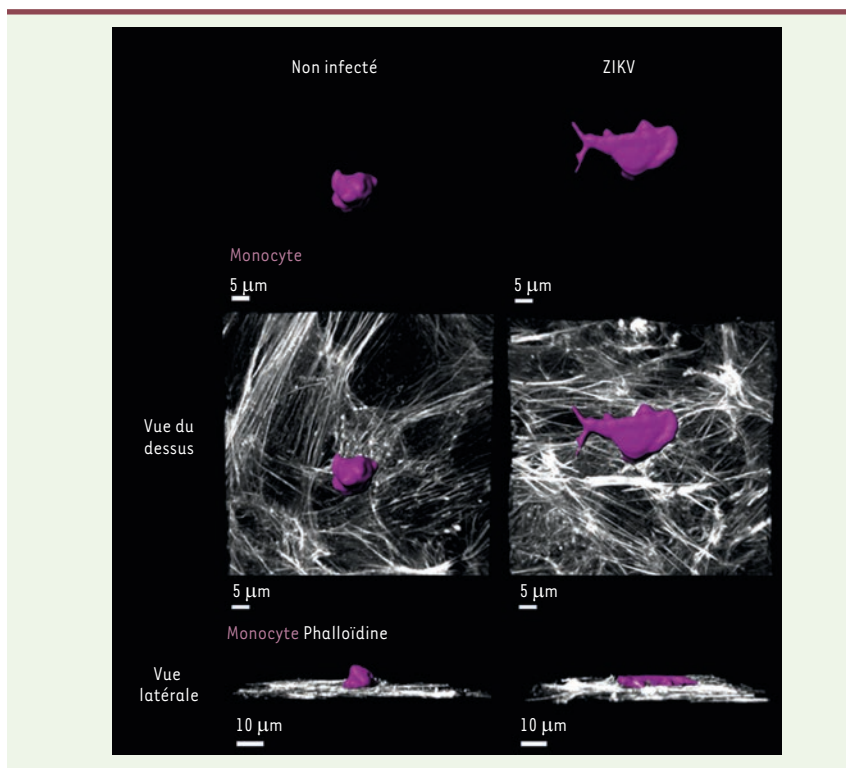


Figure 2. Influence du virus Zika sur la morphologie des monocytes adhérant aux cellules endothéliales. À droite, l'infection du monocyte (en rose) par ZIKV provoque son aplatissement lors de son immobilisation sur une monocouche de cellules endothéliales, dont le cytosquelette d'actine a été marqué par la phalloïdine (en blanc). À gauche, monocyte non infecté, pour comparaison.

de BHE, ZIKV favorise l'adhérence des monocytes sur tout type de substrat. L'imagerie en temps réel de monocytes injectés dans la circulation sanguine de poissons-zèbres a révélé qu'*in vivo*, les monocytes exposés à ZIKV ont également une plus grande capacité d'attachement à l'endothélium des vaisseaux sanguins. En effet, environ quatre monocytes sur dix adhèrent à l'endothélium lorsqu'ils ont préalablement été exposés à ZIKV, contre seulement un monocyte naïf sur dix. Cependant, une fois que le monocyte a adhéré, la durée moyenne d'attachement à l'endothélium est similaire, qu'il ait été exposé au virus ou non.

Enfin, les monocytes exposés au virus semblent adopter un mode migratoire différent des cellules non-infectées. En effet, l'infection par ZIKV entraîne d'importants changements morphologiques

des monocytes, qui s'aplatissent et s'étendent sur les cellules endothéliales, ce qui implique un remodelage majeur du cytosquelette et des membranes de ces monocytes, alors que les monocytes non infectés conservent une forme relativement sphérique (Figure 2).

Perspectives

Nous avons caractérisé *in vitro*, *ex vivo*, et *in vivo*, un nouveau processus par lequel ZIKV favorise la transmigration des monocytes exposés à travers la BHE et se dissémine dans le cerveau. Cependant, les mécanismes moléculaires impliqués dans les différentes étapes de ce processus restent en grande partie à élucider. Les modifications morphologiques des monocytes induites par ZIKV lors de leur transmigration laissent entrevoir la possibilité d'une thérapie ciblant ces modifications afin

d'empêcher ou de limiter les atteintes neurologiques au cours de l'infection. **Monocytes and Zika virus: the brain's conquest**

REMERCIEMENTS

É.P. et R.G. bénéficient respectivement d'un financement de l'école doctorale Sciences chimiques et biologiques pour la santé (CBS2 Montpellier) et du CNRS. Nous remercions Marie-José Partiot pour la réalisation de l'illustration présentée sur la Figure 1.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Outbreak (novel). Wikipedia 2019.
2. Hills SL, Fischer M, Petersen LR. Epidemiology of Zika virus infection. *J Infect Dis* 2017 ; 216 : S868-74.
3. Salinas S, Simonin Y, L'Ambert G, Nisole S. Cas autochtones de virus Zika en France métropolitaine : un changement de paradigme pour cet arbovirus ? *Virologie* 2019 ; 23 : 329-32.
4. Pierson TC, Diamond MS. The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes. *Nature* 2018 ; 560 : 573-81.
5. Mavigner M, Raper J, Kovacs-Balint Z, et al. Postnatal Zika virus infection is associated with persistent abnormalities in brain structure, function, and behavior in infant macaques. *Sci Transl Med* 2018 ; 10 : doi: 10.1126/scitranslmed.aao6975.
6. Ayala-Nunez NV, Follain G, Delalande F, et al. Zika virus enhances monocyte adhesion and transmigration favoring viral dissemination to neural cells. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 1-16.
7. Teh YC, Ding JL, Ng LG, Chong SZ. Capturing the fantastic voyage of monocytes through time and space. *Front Immunol* 2019 ; 10 : 834.
8. Nikitina E, Larionova I, Choinzonov E, Kzhyshkowska J. Monocytes and macrophages as viral targets and reservoirs. *Int J Mol Sci* 2018 ; 19 : doi: 10.3390/ijms19092821.
9. Foo SS, Chen W, Chan Y, et al. Asian Zika virus strains target CD14⁺ blood monocytes and induce M2-skewed immunosuppression during pregnancy. *Nat Microbiol* 2017 ; 2 : 1558-70.
10. Michlmayr D, Andrade P, Gonzalez K, et al. CD14⁺ CD16⁺ monocytes are the main target of Zika virus infection in peripheral blood mononuclear cells in a paediatric study in Nicaragua. *Nat Microbiol* 2017 ; 2 : 1462-70.
11. Cui L, Zou P, Chen E, et al. Visual and motor deficits in grown-up mice with congenital Zika virus infection. *EBioMedicine* 2017 ; 20 : 193-201.
12. Daneman R, Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015 ; 7 : a020412.
13. Gerhardt T, Ley K. Monocyte trafficking across the vessel wall. *Cardiovasc Res* 2015 ; 107 : 321-30.
14. Peluso R, Haase A, Stowring L, et al. Trojan Horse mechanism for the spread of visna virus in monocytes. *Virology* 1985 ; 147 : 231-6.
15. Williams DW, Eugenin EA, Calderon TM, Berman JW. Monocyte maturation, HIV susceptibility, and transmigration across the blood brain barrier are critical in HIV neuropathogenesis. *J Leukoc Biol* 2012 ; 91 : 401-15.