

Médecine Science: *Nouvelle*

## **Sésame, ouvre-toi : régulation de l'entrée du virus de l'hépatite C**

Marine Turek<sup>1,2</sup>, Joachim Lupberger<sup>1,2</sup>, Thomas F. Baumert<sup>1,2,3</sup>, Mirjam B. Zeisel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inserm, U748, Strasbourg, France, <sup>2</sup>Université de Strasbourg, Strasbourg, France,

<sup>3</sup>Pôle Hépatodigestif, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Titre anglais: Open Sesame – regulation of hepatitis C virus entry

Nombre de caractères (espaces compris): 6948

Nombre de références: 11

Nombre de figures : 1

## **Coordonnées des auteurs**

Marine Turek, Inserm U748, 3 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, Tel : +33 3 68 85 37 03, Fax : +33 3 68 85 37 24, e-mail : [mturek@unistra.fr](mailto:mturek@unistra.fr)

Joachim Lupberger, Inserm U748, 3 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, Tel : +33 3 68 85 37 03, Fax : +33 3 68 85 37 24, e-mail : [joachim.lupberger@unistra.fr](mailto:joachim.lupberger@unistra.fr)

Thomas F. Baumert\*, Inserm U748, 3 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, Tel : +33 3 68 85 37 03, Fax : +33 3 68 85 37 24, e-mail : [thomas.baumert@unistra.fr](mailto:thomas.baumert@unistra.fr)

Mirjam B. Zeisel\*, Inserm U748, 3 rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, Tel : +33 3 68 85 37 03, Fax : +33 3 68 85 37 24, e-mail : [mirjam.zeisel@unistra.fr](mailto:mirjam.zeisel@unistra.fr)

\* auteurs correspondants

L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) touche environ 170 millions de personnes dans le monde et représente donc un problème majeur de santé publique. L'hépatite C est une maladie progressive: la phase aiguë évolue le plus souvent vers une hépatite chronique, qui peut conduire dans 20% des cas vers une cirrhose, puis vers un carcinome hépatocellulaire. La cirrhose et le carcinome hépatocellulaire associés au VHC sont les indications majeures de transplantation hépatique. Il n'existe à ce jour pas de vaccin et les options thérapeutiques actuelles ne permettent pas d'éradiquer le virus chez tous les patients. Le VHC est un virus enveloppé à ARN simple brin de polarité positive. Son tropisme est essentiellement restreint aux hépatocytes [1]. L'entrée virale, qui fait intervenir les glycoprotéines d'enveloppe du virus et plusieurs facteurs de l'hôte, est nécessaire à l'initiation, la dissémination et la pérennisation de l'infection. Cette étape du cycle viral représente ainsi une cible prometteuse pour le développement de nouvelles stratégies antivirales [2].

### **L'entrée du VHC dans les hépatocytes : régulation par les protéines kinases**

Au cours des dernières années, de nombreux facteurs de l'hôte impliqués dans l'entrée du VHC ont été découverts, tels les héparanes sulfates, le récepteur des LDL, la tétraspanine CD81, le récepteur scavenger BI (SR-BI) et les protéines de jonction claudine-1 (CLDN-1) et occludine (OCLN) [2]. L'entrée du virus dans l'hépatocyte est un processus complexe et multifactoriel. Les données expérimentales suggèrent que le VHC, associé aux lipoprotéines, s'attache dans un premier temps aux héparanes sulfates et au récepteur des LDL, permettant ainsi de concentrer le virus à la surface des hépatocytes, avant d'interagir de manière directe ou indirecte avec les facteurs d'entrée tel que SR-BI, CD81, CLDN-1 et OCLN. Ce processus fait intervenir l'association entre CD81 et CLDN-1 [3-4] et résulte en

l'internalisation du virus par endocytose clathrine-dépendante [5]. Cependant la séquence exacte des évènements conduisant à l'internalisation du virus et les mécanismes régulant le fonctionnement de ses facteurs d'entrée ne sont pas encore élucidés. Différents groupes ont ainsi commencé à étudier l'implication de protéines kinases dans le processus d'entrée du VHC. En effet, les protéines kinases sont des protéines clés de la régulation de nombreux processus cellulaires qui peuvent également contribuer à l'internalisation de différents virus [6].

La protéine kinase A (PKA) fut la première protéine kinase identifiée comme étant impliquée dans l'entrée du VHC [7]. L'utilisation d'un inhibiteur de PKA a permis de montrer que l'inhibition de l'activité kinase de la PKA conduit à une localisation intracellulaire de la CLDN-1 et une diminution concomitante de l'entrée du VHC. En effet, cet inhibiteur réduit l'association entre CD81 et CLDN-1 qui est essentielle à l'entrée virale, suggérant que la PKA favorise l'association entre ces deux co-récepteurs. Cependant, ceci ne semble pas faire intervenir une phosphorylation directe de ces récepteurs par la PKA. Outre le rôle de la PKA dans l'entrée du VHC, il a été montré que l'infection par le VHC conduit à une augmentation de l'activité de cette kinase, ce qui pourrait favoriser la dissémination du virus [7].

Le développement de criblages fonctionnels basés sur l'ARN interférant a représenté une avancée considérable dans la découverte de nouvelles interactions entre des virus et leurs cellules hôtes [6]. Au cours de ces dernières années, de tels criblages ont été effectués afin de découvrir des facteurs fonctionnels de l'hôte indispensables pour l'entrée du VHC et pouvant constituer de nouvelles cibles pour de futurs antiviraux [8,9]. Ces criblages ont permis d'identifier plusieurs autres protéines kinases impliquées dans l'entrée du VHC. Une première étude qui s'est concentrée sur les processus de remodelage et trafic membranaire a montré que les

phosphatidylinositol 4-kinases de type III alpha (PI4KIII $\alpha$ ) et beta (PI4KIII $\beta$ ) semblent intervenir dans l'entrée de certains génotypes de VHC [8]. De plus, la PI4KIII $\alpha$  joue également un rôle dans la réplication du VHC de par son activité kinase et l'interaction avec la protéine non structurale 5A du VHC [8,10]. Cependant, les étapes de l'entrée virale faisant intervenir ces kinases et les mécanismes moléculaires sous-jacents restent à élucider.

Une autre étude, focalisée sur les protéines kinases, a permis d'identifier 58 protéines kinases impliquées dans l'entrée du VHC et de mettre en lumière deux récepteurs tyrosine kinase en particulier : le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et l'ephrine A2 (EphA2) qui sont des récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase fortement exprimés dans le foie [9]. Ces kinases semblent jouer un rôle au cours de différentes étapes de l'entrée du VHC. Bien qu'exprimés au niveau membranaire, l'EGFR et l'EphA2 semblent ne pas intervenir directement dans la liaison du VHC à sa cellule hôte mais plutôt jouer un rôle dans des étapes suivant l'attachement du virus. En effet, il a été montré que l'activité kinase de ces deux protéines kinase favorise l'association CD81-CLDN-1 indispensable à l'internalisation du virus. De plus, l'EGFR et l'EphA2 jouent un rôle lors de l'étape de fusion membranaire faisant intervenir les glycoprotéines d'enveloppe du VHC. Enfin, ces deux protéines kinases interviennent dans la transmission du virus de cellule à cellule indiquant qu'elles favorisent la dissémination du virus [9].

L'ensemble de ces études suggère que plusieurs protéines kinases interviennent à différentes étapes de l'entrée du VHC dans les hépatocytes telles que l'association du complexe CD81-CLDN-1, la fusion membranaire et la transmission cellule à cellule (Figure 1).

### **Les inhibiteurs de protéines kinases : vers une nouvelle classe d'antiviraux ?**

Outre l'effet des inhibiteurs de la PKA, de l'EGFR et de l'EphA2 sur l'infection par le VHC *in vitro*, ces inhibiteurs pourraient avoir un potentiel dans la prévention de l'infection par le VHC *in vivo*. Différents inhibiteurs de protéines kinases sont actuellement utilisés dans le traitement de certains cancers et il serait envisageable d'utiliser de tels inhibiteurs pour d'autres indications. Ainsi, il est intéressant de noter que l'erlotinib, inhibiteur de l'EGFR utilisé dans le traitement du cancer du poumon, permet de ralentir et de diminuer l'infection de souris par le VHC [9]. Ceci suggère que des protéines kinases pourrait constituer des cibles antivirales intéressantes dans la prévention et/ou le traitement de l'infection par le VHC. Une meilleure caractérisation des interactions entre le VHC et les protéines kinases permettra peut-être de développer de nouvelles stratégies antivirales, tels que de nouveaux anticorps monoclonaux ou de petites molécules inhibitrices, pour prévenir et traiter l'infection par le VHC à l'avenir.

## Références

1. Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. Dans : Philadelphia: Lippincott-Raven, 2007 : 1101-1152.
2. Zeisel MB, Fofana I, Fafi-Kremer S, *et al.* Hepatitis C virus entry into hepatocytes: molecular mechanisms and targets for antiviral therapies. *J. Hepatol* 2011 ; 54 : 566-576.
3. Harris HJ, Farquhar MJ, Mee CJ, *et al.* CD81 and claudin 1 coreceptor association: role in hepatitis C virus entry. *J. Virol* 2008 ; 82 : 5007-5020.
4. Krieger SE, Zeisel MB, Davis C, *et al.* Inhibition of hepatitis C virus infection by anti-claudin-1 antibodies is mediated by neutralization of E2-CD81-claudin-1 associations. *Hepatology* 2010 ; 51 : 1144-1157.
5. Blanchard E, Belouzard S, Goueslain L, *et al.* Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol* 2006 ; 80 : 6964-6972.
6. Pelkmans L, Fava E, Grabner H, *et al.* Genome-wide analysis of human kinases in clathrin- and caveolae/raft-mediated endocytosis. *Nature* 2005 ; 436 : 78-86.
7. Farquhar MJ, Harris HJ, Diskar M, *et al.* Protein kinase A-dependent step(s) in hepatitis C virus entry and infectivity. *J. Virol* 2008 ; 82 : 8797-8811.
8. Trotard M, Lepère-Douard C, Régeard M, *et al.* Kinases required in hepatitis C virus entry and replication highlighted by small interference RNA screening. *FASEB J* 2009 ; 23 : 3780-3789.
9. Lupberger J, Zeisel MB, Xiao F, *et al.* EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat. Med* 2011 ; 17 : 589-595.
10. Reiss S, Rebhan I, Backes P, *et al.* Recruitment and activation of a lipid kinase by hepatitis C virus NS5A is essential for integrity of the membranous replication

compartment. *Cell Host Microbe* 2011 ; 9 : 32-45.

11. Gerold G, Rice CM. Locking out hepatitis C. *Nat Med* 2011 ; 17 : 542-544.

## **Conflit d'intérêts**

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

## **Remerciements**

Les auteurs remercient l'Union Européenne (ERC-2008-AdG-233130-HEPCENT et INTERREG-IV-2009-FEDER-Hepato-Regio-Net), l'ANRS (2011/132), l'Inserm, l'Université de Strasbourg et les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg pour leur soutien.

## Légende Figure 1

L'entrée et la dissémination du VHC dans les hépatocytes sont schématisées. Le VHC interagit dans un premier temps avec les héparanes sulfates et le récepteur des LDL afin de permettre la concentration du virus à la surface des hépatocytes. Par la suite, l'interaction avec d'autres facteurs de l'hôte tel que SR-BI, CD81, CLDN-1 et OCLN entraîne l'internalisation du virus par endocytose clathrine-dépendante. Suite à l'étape de fusion membranaire entre le virus et l'endosome, le génome viral est libéré dans le cytosol. Après traduction et réplication, les particules virales sont assemblées et sécrétées hors de la cellule hôte. Cette dissémination du virus pourra se faire par transmission de cellule à cellule. Des protéines kinases, tels l'EGFR, l'EphA2, la PKA et la PI4K, interviennent à différentes étapes de l'entrée du VHC dans les hépatocytes telles que l'association du complexe CD81-CLDN-1, la fusion membranaire et la transmission cellule à cellule. EGFR, récepteur du facteur de croissance épidermique; EphA2, ephrine A2; CLDN-1, claudine 1; CD81, cluster de différenciation 81; OCLN, occludine; SR-BI, récepteur scavenger BI; VHC, virus de l'hépatite C; HS, héparane sulfate; JAM, molécule d'adhésion associé à la jonction; LDL-R, récepteur des LDL; PI4K, phosphatidylinositol 4-kinase ; PKA, protéine kinase A ; ZO-1, protéine de jonction serrée. Adapté de [2,11]