

Réplication du virus de l'hépatite E dans les cellules intestinales

Une nouvelle facette de ce virus dévoilée

Jacques Izopet^{1,2}, Olivier Marion^{1,3}, Nassim Kamar^{1,3}, Sébastien Lhomme^{1,2}

¹Inserm UMR1291/CNRS UMR5051, INFINITY - Institut toulousain des maladies infectieuses et inflammatoires, 31024 Toulouse, France.

²CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Laboratoire de virologie, Institut fédératif de biologie de Purpan, 31059 Toulouse, France.

³CHU Toulouse, Hôpital Rangueil, Service de néphrologie-hypertension artérielle-dialyse-transplantation, 31059 Toulouse, France.

izopet.j@chu-toulouse.fr

> Le virus de l'hépatite E (HEV) est une cause majeure d'hépatite aiguë dans le monde, et il est responsable d'hépatites chroniques chez les personnes immunodéprimées [1-3] (→).

Il est aussi responsable de manifestations extra-hépatiques de mieux en mieux connues, notamment neurologiques [3]. Ce virus appartient à la famille des *Hepeviridae* et au genre *Orthohepevirus*. Les espèces *Orthohepevirus A*, comportant 8 génotypes (HEV 1-8), et *Orthohepevirus C* peuvent infecter l'homme, HEV 1-4 étant les virus les plus fréquemment détectés. HEV 1 et HEV 2 infectent uniquement l'espèce humaine, par voie hydrique,

dans les pays à ressources limitées, où ils sont responsables d'hépatites aiguës, alors que HEV 3 et HEV 4 provoquent des infections aiguës ou chroniques d'origine zoonotique à partir d'un large réservoir animal, principalement porcine.

Le génome de HEV est un ARN simple brin à polarité positive d'environ 7,2 kilobases, et sa capsid est icosaédrique. Une caractéristique essentielle de ce virus est qu'il existe sous une forme nue dans les selles des sujets infectés ou dans l'environnement, et sous une forme enveloppée dans le sang ou dans le sur-nageant de culture. L'enveloppe étant constituée de lipides mais dépourvue de péplomères, protéines codées par le génome viral, HEV est qualifié de virus quasi-enveloppé, au même titre que le virus de l'hépatite A [4].

Bien que la transmission entérique de HEV soit parfaitement établie, les modalités de franchissement de la barrière épithéliale intestinale restaient jusqu'à présent inconnues. L'infection du tractus digestif était cependant suspectée sur la base d'observations faites dans des modèles animaux [5, 6] et la mise en évidence d'une réplication de HEV dans les cellules de la lignée d'adénocarcinome colique Caco-2 [7]. Une avancée sur ce sujet a pu être obtenue grâce au développement de différents systèmes cellulaires incluant des cellules intestinales humaines primaires, des entérocytes primaires polarisés, et des explants tissulaires obtenus à partir de résections d'intestin grêle [8]. Dans un premier temps, une infection productive a été objectivée dans des

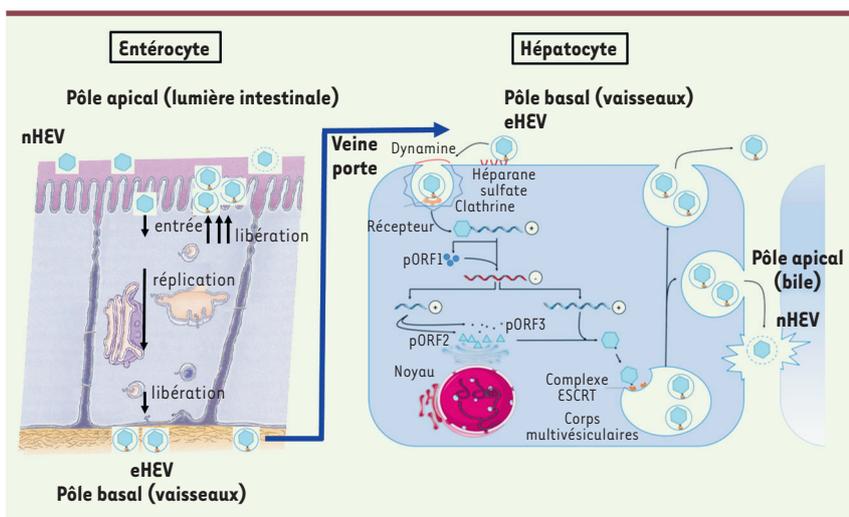


Figure 1. Représentation schématique de la réplication du virus de l'hépatite E (HEV) dans les entérocytes et dans les hépatocytes. Les entérocytes infectés à leur pôle apical par la forme nue de HEV (nHEV) produisent des particules enveloppées (eHEV) à leurs pôles apical et basal. Les particules eHEV libérées au pôle basal sont véhiculées par la veine porte jusqu'au foie, où elles infectent les hépatocytes. Les particules virales produites par les hépatocytes sont libérées à leur pôle basolatéral (vasculaire) et à leur pôle apical (biliaire), et deviennent des particules nues (nHEV) après dégradation de l'enveloppe lipidique par les sels biliaires. Complexe

ESCRT : *endosomal sorting complex required for transport*. pORF1 : polyprotéine non-structurale ; pORF2 : protéine de capsid ; pORF3 : phosphoprotéine multifonctionnelle.

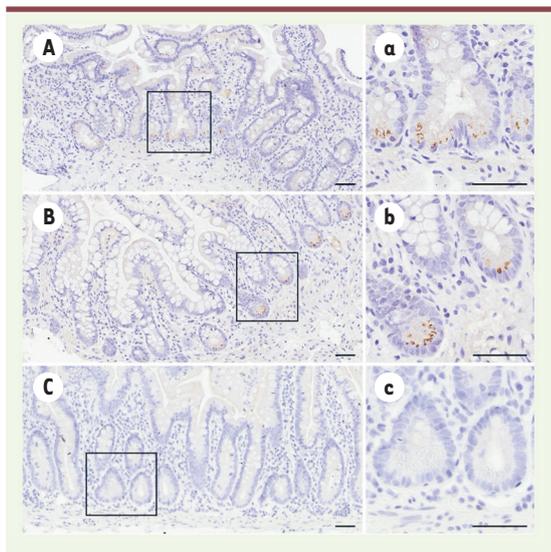


Figure 2. Détection de l'antigène de capsid du virus de l'hépatite E (HEV) dans les entérocytes d'une patiente chroniquement infectée par ce virus. Marquage immunohistochimique de la protéine de capsid ORF2 dans les biopsies intestinales. (A, a) duodénum ; (B, b) iléum ; (C, c) témoin non infecté. Barre d'échelle : 50 μ m.

cellules intestinales humaines primaires avec des souches cliniques de HEV-1 et HEV-3. Par la suite, un système de culture d'entérocytes primaires polarisés a permis de montrer la production de particules virales infectieuses au pôle basal (vaisseaux sanguins) et au pôle apical (lumière intestinale) des entérocytes. Des expériences d'ultra-centrifugation en gradient d'iodixanol ont montré que les particules virales produites aux deux pôles étaient quasi-enveloppées, ce qui expliquait leur faible densité. Une production virale plus marquée au pôle apical a été observée, comme cela avait été précédemment décrit dans des hépatocytes polarisés [9]. Ainsi, HEV sous une forme enveloppée (eHEV) pourrait franchir l'endothélium vasculaire intestinal, atteindre le foie par la veine porte, et infecter les hépatocytes à leur pôle basolatéral (Figure 1).

L'influence de l'infection par HEV 1 ou HEV 3 sur le sécrétome des entérocytes polarisés a également été étudiée en mesurant les concentrations de facteurs solubles (interférons de type I et III, interleukines et chimiokines). Une induction marquée d'interféron de type III a été observée, de manière similaire à ce qui a été décrit pour l'infection des hépatocytes [10]. L'interféron de type III pourrait donc contribuer à limiter l'infection des cellules

intestinales, sans qu'il n'y ait de différence entre HEV 1 et HEV 3, contrairement à ce qui a été observé dans des explants de décídua ou de placenta, où l'infection par HEV 1 est associée à une réduction d'interféron de type III [11].

Des explants de muqueuse intestinale ont pu être infectés par HEV 1 ou HEV 3 avec production de virus quasi-enveloppés sans qu'aucune différence dans le niveau de réplication entre HEV 1 et HEV 3 ne soit détectée. Un argument complémentaire en faveur de l'infection du tractus digestif a été apporté par la réalisation de biopsies duodénales et iléales chez une patiente immunodéprimée chroniquement infectée par HEV 3, présentant des douleurs abdominales, une diarrhée, et une perte de poids. La protéine de capsid ORF2 du HEV a été détectée par immunohistochimie dans les cryptes intestinales de cette patiente (Figure 2). La ribavirine en monothérapie constitue le traitement antiviral de choix chez les personnes ayant une hépatite E chronique [12]. Si un traitement de 3 mois à la posologie de 600 mg / jour permet l'éradication du virus dans plus de 80 % des cas [13, 14], des échecs peuvent survenir après l'arrêt du traitement. Ces échecs se caractérisent par une nouvelle détection du virus dans le sang après amplification génique par PCR, alors que le virus était indétectable sous

traitement. Le compartiment intestinal pourrait constituer un réservoir de HEV, où les concentrations tissulaires de ribavirine pourraient être insuffisantes pour supprimer définitivement la production du virus. En effet, les systèmes cellulaires expérimentaux ont montré que la ribavirine bloquait plus efficacement la production de particules virales au pôle basal des entérocytes (> 80 %) qu'à leur pôle apical (< 20 %). [8]

La mise en évidence de la réplication de HEV dans les entérocytes conduit à proposer un nouveau scénario de l'infection, dans lequel l'intestin est le site initial d'infection et d'amplification virale, avant le transport par le système vasculaire de particules quasi-enveloppées vers le foie et l'infection des hépatocytes. Une réplication virale résiduelle dans le tractus digestif pourrait être une des causes d'échec au traitement par la ribavirine. \diamond

Hepatitis E virus replication in intestinal cells: A new facet of this virus revealed

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Izopet J, Kamar N. Hépatite E : de la transmission zoonotique du virus à l'évolution chronique de l'infection chez l'immunodéprimé. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 1023-5.
2. Ankavay M, Dubuisson J, Cocquerel L. Le virus de l'hépatite E : un virus méconnu qui se dévoile. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 1071-8.
3. Kamar N, Izopet J, Pavio N, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 2017 ; 3 : 17086.
4. Feng Z, Hirai-Yuki A, McKnight KL, et al. Naked viruses that aren't always naked: quasi-enveloped agents of acute hepatitis. *Annu Rev Virol* 2014 ; 1 : 539-60.
5. Williams TP, Kasornrondkua C, Halbur PG, et al. Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *J Clin Microbiol* 2001 ; 39 : 3040-6.
6. Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, et al. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerg Infect Dis* 2012 ; 18 : 1274-81.
7. Emerson SU, Nguyen HT, Torian U, et al. Release of genotype 1 hepatitis E virus from cultured hepatoma and polarized intestinal cells depends on open reading frame 3 protein and requires an intact PXXP motif. *J Virol* 2010 ; 84 : 9059-69.
8. Marion O, Lhomme S, Nayrac M, et al. Hepatitis E virus replication in human intestinal cells. *Gut* 2020 ; 69 : 901-10.

RÉFÉRENCES

9. Capelli N, Marion O, Dubois M, et al. Vectorial release of hepatitis E virus in polarized human hepatocytes. *J Virol* 2019 ; 93 : e01207-18.
10. Yin X, Li X, Ambardekar C, et al. Hepatitis E virus persists in the presence of a type III interferon response. *PLoS Pathog* 2017 ; 13 : e1006417.
11. Gouilly J, Chen Q, Siewiera J, et al. Genotype specific pathogenicity of hepatitis E virus at the human maternal-fetal interface. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 4748.
12. Liver EAftSot. EASL clinical practice guideline: occupational liver diseases. *J Hepatol* 2019 ; 71 : 1022-37.
13. Kamar N, Izopet J, Tripon S, et al. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients. *N Engl J Med* 2014 ; 370 : 1111-20.
14. Kamar N, Abravanel F, Behrendt P, et al. Ribavirin for hepatitis E virus infection after organ transplantation: a large European retrospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 2020 ; 71 : 1204-11.

NOUVELLE

La réduction des ponts disulfures de la matrice extracellulaire

Un prérequis à l'invasion par les cellules tumorales

Manon Ros¹, Frédéric Bard^{2,3}, Frédéric Saltel¹

¹Inserm UMR1053, Univ. Bordeaux, *Bordeaux Research In Translational Oncology* (BaRITon), 33000 Bordeaux, France.

²Institute of molecular and cell biology, A*STAR, Proteos, Singapore, Singapour.

³Department of biochemistry, National university of Singapore, Singapore, Singapour.

frederic.saltel@inserm.fr

fbard@imcb.a-star.edu.sg

Le développement de métastases est la cause principale des décès liés aux cancers. Au cours de ce processus, des cellules tumorales acquièrent la capacité de dégrader la matrice extracellulaire (MEC) et d'envahir le tissu environnant. La MEC est un élément complexe et dynamique du microenvironnement tumoral. Le collagène de type I, un composant important de la MEC, est un inducteur de la formation des invadosomes, qui sont des structures d'adhérence des cellules, notamment tumorales, à la MEC, associées à sa dégradation [1]. Ce collagène interagit avec de nombreux autres composants de la MEC comme la fibronectine, le collagène de type III, l'élastine, la ténascine-C ou encore la vitronectine, pour former des réseaux de fibres entremêlées [2, 3]. Un grand nombre de ces composants, impliqués eux aussi dans l'invasion tumorale [3, 4], contiennent des ponts disulfures afin de stabiliser leur structure (Figure 1). Au cours de la progression tumorale, la MEC est constamment remodelée (accumulation, activation de sa dégradation, mais aussi réorganisation par alignement ou réticulation), afin de favoriser l'invasion tumorale. Les invadosomes formés

par les cellules tumorales recrutent et sécrètent des métalloprotéinases matricielles (MMP), des enzymes contribuant à la dégradation des composants de la MEC. Bien que les étapes de dégradation de la MEC par les MMP aient été caractérisées [5], le remodelage des ponts disulfures au cours de ce processus n'avait pas encore été analysé.

L'invasion des tissus par les cellules tumorales peut être favorisée par une dérégulation de la glycosylation des protéines dans ces cellules, notamment par activation de la voie de signalisation GALA (pour *GALNT activation*) [6, 7], qui induit la relocalisation partielle des enzymes de O-glycosylation GALNT (*polypeptide GalNAc transferases*) de l'appareil de Golgi vers le réticulum endoplasmique. Cette relocalisation augmente la glycosylation de nombreuses protéines, sans que l'on en comprenne encore totalement le mécanisme : il est possible que les conformations incomplètement « repliées » des protéines nouvellement synthétisées favorisent l'interaction avec les GALNT. Les protéines cibles de cette glycosylation anormale comprennent des protéines de surface et des protéines du réticulum endoplasmique.

Ainsi, l'activation de la voie GALA favorise la glycosylation de MMP14 sur une portion charnière entre deux domaines globulaires [6]. Cette glycosylation active l'activité collagénase de MMP14, ce qui favorise la dégradation de la MEC, et par conséquent, la migration des cellules tumorales à partir de la tumeur primaire et l'invasion d'autres tissus par ces cellules [6]. Une analyse glycoprotéomique a aussi permis de mettre en évidence l'hyperglycosylation de la calnexine (CNX) lorsque la voie GALA est activée [8]. La CNX est une protéine chaperonne favorisant le repliement productif des protéines dans le réticulum endoplasmique grâce à son interaction avec l'oxydoréductase ERp57. En effet, lorsqu'au cours de sa synthèse, une protéine mal repliée est figée en raison de ponts disulfures inopportuns, cette protéine est d'abord reconnue par CNX, puis l'enzyme ERp57 réduit les ponts disulfures anormaux, permettant ainsi à la protéine de se replier correctement [9]. Par ailleurs, le réticulum endoplasmique se concentre au niveau des invadosomes [10], suggérant un lien possible entre la protéine CNX, les invadosomes, et l'invasion par les cellules tumorales.