Interaction virus-cellules: Immunité innée

Jeudi 22 mars, 15 h 45-17 h 00

Modération : Danielle Blondel, Maxime Ratinier
Communications orales : O16 à O20
Affiches : P1 à P45

O16

L'évolution du récepteur du virus de l'hépatite B, NTCP, révèle une pathogénicité et spécificité différentielles des hepadnavirus chez les primates, les rongeurs et les chauves-souris

Stéphanie Jacquet[1,2], Jean-Baptiste Pons[2,3], Ariel De Bernardo[2], Barthélémy Ngoubangoye[4], François-Loïc Cosset[2,3], Corinne Régis[1], Lucie Etienne[2], Dominique Pontier[1]
[1] Laboratoire de biométrie et biologie évolutive (LBBE), Université Claude-Bernard Lyon 1, Inria, CNRS UMR5558,Villeurbanne, France
[2] CIRI, Inserm U1111, CNRS UMR5308, Université Lyon I, ENS Lyon, Univ Lyon, Lyon, France
[3] LabEx Ecofect (ANR-11-LABX-0048) de l'Université de Lyon, France
[4] Centre international de recherches médicales de Franceville (CIRMF), Franceville, Gabon
<lucie.etienne@ens-lyon.fr>,
<dominique.pontier@univ-lyon1.fr>

Le virus de l'hépatite B (VHB), membre des Orthohepadnavirus, affecte plus de 250 millions de personnes dans le monde. Chez les primates non-humains, les rongeurs et les chauves-souris, l'histoire évolutive et la pathogénicité de ces virus restent inconnues. Dans cette étude, nous déterminons si l'évolution des récepteurs du VHB, NTCP et GPC5, a été façonnée par les orthohepadnavirus chez les primates, les rongeurs et les chauve-souris, et utilisons cette inférence comme un proxy pour comprendre : i) la pathogénicité des orthohepadnavirus chez les mammifères et ii) les conséquences de cette coévolution sur leur spectre d'hôtes. Pour cela, nous avons analysé des séquences de NTCP chez des espèces de primates (27 sp.), de rongeurs (18 sp.) et de chauves-souris (21 sp.). Nos résultats ont révélé que la protéine NTCP, contrairement à GPC5, a évolué sous un régime de sélection positive chez les primates, les rongeurs et les chauves-souris. Cependant, les signatures génétiques de NTCP sont différentielles entre les trois groupes de mammifères. En particulier, les régions de NTCP en interaction avec le VHB ont évolué très rapidement au cours de l'évolution des primates. Ceci témoignerait d'une « course à l'armement » entre le NTCP et le VHB, suggérant que les orthohepadnavirus ont impacté négativement la *fitness* des primates au cours de leur évolution. Chez les rongeurs, les codons sous sélection positive se situent à l'intérieur et à l'extérieur des régions en interaction avec le VHB, ce qui contribue potentiellement à la spécificité de l'hôte des orthohepadnavirus chez ce groupe de mammifères. En revanche, chez les chauves-souris, les régions supposées d'interaction avec le VHB ne montrent aucune signature de sélection positive. Ces résultats indiquent que les orthohepadnavirus des chauves-souris interagissent avec d'autres sites de NTCP ou utilisent un autre récepteur. Une hypothèse alternative implique que les orthohepadnavirus ne constituent pas une pression de sélection pour les chauves-souris. Dans ce cas, les patrons génétiques observés reflèteraient des changements adaptatifs associés au métabolisme plutôt qu'à l'effet de pathogènes. Dans l'ensemble, nos données suggèrent que NTCP constitue une barrière génétique naturelle pour la transmission inter-espèces des VHB chez les primates. Chez les chauves-souris, cette contrainte, si elle existe, serait moins importante, facilitant les phénomènes de transmission inter-espèces et contribuant à la diversité des orthohepadnavirus dans ce groupe.

O17

L'isoforme de NCOA7 induite par l'interféron inhibe l'entrée virale par endocytose

Tomas Doyle[1], Olivier Moncorgé[2], Boris Bonaventure[2], Darja Pollpeter[1], Marion Lussignol[1], Marine Tauziet[2], Maria Teresa Catanese[1], Michael Malim[1], Caroline Goujon[2]
[1] Infectious Diseases Department, King's College, London, Royaume-Uni
[2] Institut de recherche en infectiologie de Montpellier (IRIM), CNRS UMR9004, Université de Montpellier, CPBS, Montpellier, France
<caroline.goujon@cpbs.cnrs.fr>

L'interféron de type 1 induit un état antiviral puissant *via* la régulation de plusieurs centaines de gènes, dits gènes stimulés par l'interféron (ISG). Les produits de certains de ces gènes ont un mécanisme d'action large contre des virus de différentes familles alors que d'autres ont une activité beaucoup plus spécifique. Suite à l'exposition des cellules cibles à de l'interféron, la réplication du virus influenza A est largement inhibée grâce à l'activité de différents ISG telles que la protéine membranaire IFITM3 et la GTPase MxA. Cependant, ces ISG n'expliquent pas l'intégralité de l'inhibition observée. Nous avons identifié un nouvel ISG jouant un rôle important dans l'inhibition du virus influenza A, ainsi que d'autres virus entrant dans la cellule hôte par endocytose. Il s'agit de l'isoforme courte de la protéine NCOA7 (également nommée NCOA7-AS pour Alternative Start), qui est spécifiquement induite par l'interféron. L'invalidation de NCOA7-AS par CRISPR/Cas9 permet de restaurer partiellement l'infection par le virus influenza A suite à un traitement interféron. Réciproquement, l'expression ectopique de cette protéine permet d'inhiber l'infection par le virus influenza A. Nous avons observé que le virus de l'hépatite C ainsi que des lentivirus pseudotypés par l'enveloppe du VSV ou du virus de la rage sont également affectés, ce qui n'est pas le cas de lentivirus porteurs de leurs enveloppes naturelles, suggérant que NCOA7 pourrait affecter l'entrée par endocytose. Une analyse détaillée des étapes de l'entrée du virus influenza A dans la cellule a permis de montrer que les changements conformationnels de l'hémagglutinine (HA) induits par l'acidification des endosomes et nécessaires à l'exposition du peptide de fusion avaient bien lieu, mais pas l'étape de fusion entre les membranes virales et endosomales. De façon importante, une combinaison d'expériences d'invalidation CRISPR/Cas9 et d'expression ectopique a montré que NCOA7 et IFITM3, qui inhibe également l'entrée virale, sont fonctionnellement indépendants. NCOA7 est capable d'interagir avec l'ATPase vacuolaire (V-ATPase) et cette interaction semble avoir pour conséquence la diminution du pH des vésicules intracellulaires et l'augmentation de l'activité des protéases lysosomales. Nous proposons donc un modèle dans lequel l'interféron est capable, via l'induction de la courte isoforme de NCOA7, de réguler positivement l'activité de la V-ATPase et ainsi de restreindre l'entrée de virus dont l'enveloppe est dépendante du pH, tel que le virus influenza A.

O18

Virus Zika et organes du tractus génital masculin : infection et réponse innée

Laurent Houzet[1], Giulia Matusali[1], Florence Aubry[1], Anne-Pascale Satie[1], Dominique Mahé[1], Thérèse Couderc[2], Nathalie Rioux-Leclerq[1], Marc Lecuit[2], Anna Le Tortorec[1], Nathalie Dejucq-Rainsford[1]
[1] Inserm U1085 Irset, Université de Rennes 1, École des hautes études en santé publique [EHESP], CHU Rennes, Rennes, France
[2] Biology of Infection, Institut Pasteur, Inserm U1117, Université Paris V, Paris, France
<nathalie.dejucq-rainsford@inserm.fr>

Les épidémies récentes des virus Zika et Ebola ont révélé leur transmission sexuelle via le sperme. De plus, la persistance de ces virus dans le sperme pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, après la guérison des patients et en dépit d'une virémie négative indique l'existence de

doi:10.1691/ph.2019.0763

réservoirs viraux au sein du tractus génital masculin. Nous avons récemment démontré l'infection du testicule humain par le virus Zika et mis en évidence la présence de cellules germinales infectées et de spermatozoïdes infectieux dans le sperme de patients (Matusali *et al*, *Journal of Clinical Investigation* 2018 ; Joguet *et al*, *Lancet Infectious Diseases* 2017). Les particularités de la réponse immune innée dans le testicule humain infecté par le virus Zika, notamment une absence de stimulation des interférons et une faible induction de la réponse pro-inflammatoire, pourrait participer à l'infection persistante de cet organe. Néanmoins, la détection du virus Zika dans le sperme d'hommes vasectomisés jusqu'à 69 jours post-infection indique que d'autres organes du tractus génital masculin que le testicule sont également sources de virus. Grâce à un modèle unique de culture organotypique associé à une analyse quantitative et in situ de la réplication virale, nous avons ici mis en évidence le potentiel infectieux du virus Zika dans des explants d'épididyme et de vésicule séminale humains. Par ailleurs, nous avons montré que cette réplication s'accompagne d'une forte stimulation de gènes impliqués dans la réponse antivirale, mais n'induit pas ceux impliqués dans la réponse inflammatoire. Nous avons également étendu notre investigation à une analyse *in vivo* dans les souris immunodéficientes IFNAR -/- infectées par le virus Zika. Nos résultats préliminaires montrent une forte réplication virale dans l'épididyme murin, accompagnée d'une induction des gènes de la réponse antivirale similaire à celle observée dans les explants d'épididymes humains. Cependant, à la différence de l'épididyme humain *ex vivo*, une augmentation de l'expression des gènes de la réponse inflammatoire est observée dans l'épididyme de souris. Ces résultats démontrent le potentiel infectieux du virus Zika dans l'épididyme et la vésicule séminale humaine, lequel pourrait expliquer la persistance du virus dans le sperme d'hommes vasectomisés. Nos données mettent également en exergue des différences au niveau de la réponse immune innée entre les organes génitaux mâles et inter-espèces.

O19

Le domaine CTD de la protéine L du virus Ebola joue un rôle important dans l'activité méthyltransferase

Coralie Valle[1], Baptiste Martin[1], Bruno Coutard[1], Sarah Attoumani[1], Françoise Debart[2], Jean-Jacques Vasseur[2], Bruno Canard[1], Etienne Decroly[1]

[1] *Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques (AFMB), CNRS, Aix-Marseille Université, UMR 7257, Marseille, France*

[2] *IBMM, UMR 5247 CNRS-UM1-UM2, Department of Nucleic Acids, Montpellier University, Montpellier, France*

<etienne.decroly@afmb.univ-mrs.fr>

L'infection à virus Ebola (EBOV) se caractérisée chez l'Homme par de fortes fièvres hémorragiques souvent mortelles. Plus d'une vingtaine d'épidémie ont été recensées en Afrique depuis sa découverte en 1976, dont une importante en 2015, qui a entraîné le décès de plus de 11 000 personnes. EBOV pose un important problème de santé publique et reste une priorité pour l'OMS. EBOV est un virus enveloppé à génome ARN non segmenté de polarité positive appartenant à l'ordre des Mononegavirales, famille Filovirus et genre Ebolavirus. Actuellement il existe 5 différentes espèces : Zaïre, Reston, Bundibugyo, Sudan et Taï. Comme d'autres Mononegavirales tels que virus de la rage, le virus de la rougeole et le virus respiratoire syncytial, le génome possède une séquence codant pour une protéine L (Large) qui joue un rôle clé dans le cycle de réplication/transcription. La protéine L de EBOV contient six régions conservées (CR) entrecoupées de régions variables. Son extrémité N-terminale (CRI, CRII et CRIII) forme le domaine ARN polymerase ARN dépendante (RdRp) suivi du domaine Cap (CRIV et CRV) qui porte l'activité ribonucleotidyltransferase (PRNTase) nécessaire à la synthèse de la structure coiffe. Le domaine C-terminal de la protéine L contient successivement les domaines « Connecteur » (CD), « méthytrasnferase » (MTase) et « C-terminal » (CTD). Une étude récente menée au sein du laboratoire a permis de caractériser la fonction MTase de la protéine L du virus Ebola. La région C-terminale (MTase-CTD) de la protéine L de Sudan Ebolavirus a été produite sous forme recombinante et purifiée. En utilisant des ARNs substrats synthétiques mimant l'extrémité 5' des ARNm du virus Ebola, il a été montré que la MTase de EBOV méthyle successivement la position 2'O du premier nucléotide des ARNs et la position N7 du groupement guanosine pour former une structure Cap-1 qui permet l'initiation de la traduction des protéines virales et l'échappement aux senseurs de l'immunité innée (RIG-I). De façon surprenante, la MTase de EBOV catalyse également des modifications épi-transcriptomiques des ARNs viraux en méthylant en 2'O des adénosines internes aux séquences ARN. Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer le rôle du domaine CTD de la protéine L sur l'activité MTase. La caractérisation des protéines recombinantes MTase-CTD et MTase-CTD a montré que le domaine CTD joue un rôle crucial dans l'activité MTase. Une étude bio-informatique des domaines CTD chez les filovirus a montré que ce domaine été enrichi en acides aminés basiques. En mutant les résidus basiques du domaine CTD, nous avons mis en évidence leur rôle clef dans la reconnaissance des ARNs viraux et l'activité MTase. L'ensemble de ces résultats contribue à une meilleure compréhension de l'activité MTase de EBOV, un acteur central dans la réplication virale et l'échappement à la réponse immunitaire innée de l'hôte.

O20

Réponse antivirale des cellules dendritiques plasmacytoïdes contre des cellules infectées via la formation d'une synapse interferogénique

Séverin Coleon, Sonia Assil, Marlène Dreux

Centre international de recherche en infectiologie, CIRI, Inserm, U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, Lyon, France

<severin.coleon@ens-lyon.fr>

La réponse interféron de type I (IFN-I) est un acteur crucial de la réponse antivirale. Dans le cas d'une infection virale, celui-ci est majoritairement produit par les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs). Afin d'assurer leur fonction antivirale, les pDCs forment des contacts physiques avec les cellules infectées, une caractéristique observée pour un grand nombre de virus, même distant génétiquement. Cependant, comment et pourquoi ces contacts s'établissent reste à ce jour un mystère. En utilisant les virus de la dengue (DENV), de l'hépatite C (HCV) et de Zika (ZIKV), nous avons démontré qu'au niveau de l'interface de contact entre une pDC et une cellule infectée se formait une plateforme spécialisée dans le transfert d'ARN immunostimulateurs. Cette structure que nous avons choisi d'appeler la synapse interferogénique résulte de la polarisation de complexes d'adhésion accompagnés de régulateurs du réseau d'actine et de l'endocytose. De plus la voie de signalisation du *Toll-Like Receptor*-7 (TLR-7) vient, de manière rétroactive, promouvoir l'établissement de la synapse interferogénique, produisant un renforcement des contacts entre pDCs et cellules infectées. Nous proposons que la synapse interferogénique soit nécessaire quant au bon fonctionnement des pDCs et à leurs activations tout en favorisant une sécrétion localisée d'IFN-I au niveau du site d'infection, confinant une réponse potentiellement délétère pour l'hôte.