

# Virus de l'hépatite D : cycle viral et nouvelles stratégies thérapeutiques

Vincent Turon-Lagot

Antonio Saviano

Catherine Schuster

Éloi R. Verrier

Université de Strasbourg, Inserm,  
Institut de recherche sur les maladies  
virales et hépatiques UMR\_S1110,  
F-67000 Strasbourg, France

**Résumé.** De récentes estimations suggèrent qu'environ 70 millions de personnes sont infectées par le virus de l'hépatite D (ou delta, HDV). HDV est un petit virus satellite du virus de l'hépatite B (HBV) capable d'achever son cycle viral uniquement en présence de ce dernier. L'hépatite D est la forme la plus sévère d'hépatite virale chronique. Elle est responsable d'une aggravation et d'une accélération de la progression de la maladie hépatique, en comparaison des patients mono-infectés par le HBV. Les traitements actuels, basés sur l'interféron pégylé sont peu efficaces et ne permettent que rarement l'élimination définitive du virus. L'absence d'un modèle d'étude simple a longtemps enfreint la compréhension des interactions HDV-hépatocytes, et notamment l'identification de facteurs hépatiques impliqués dans le cycle viral. Ces facteurs sont des cibles d'intérêt pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dont certaines sont en cours d'essai clinique. Cette revue résume les connaissances actuelles de la virologie moléculaire du HDV et fait le point sur les nouvelles solutions thérapeutiques en cours de développement.

**Mots clés :** HDV, virus hépatiques, stratégies antivirales

**Abstract.** An estimated 70 million people are chronically infected with hepatitis D (delta) virus (HDV) worldwide. HDV is a small satellite virus of hepatitis B virus (HBV) requiring HBV for the completion of its cycle. Hepatitis D is the most severe form of chronic viral hepatitis. It is responsible for an acceleration and an aggravation of chronic liver disease compared to HBV mono-infected patients. Current treatments based on pegylated interferon rarely allow viral clearance in chronically infected patients. For long time, the absence of easy-to-use models has limited the knowledge on virus-host interactions. Notably, hepatocyte host factors involved in the viral life cycle remain largely unknown. These host factors are potential therapeutic targets for novel treatment strategies, including molecules currently evaluated in clinical trials. This review summarizes our knowledge on HDV molecular virology and innovative therapeutic strategies targeting hepatocyte host factors.

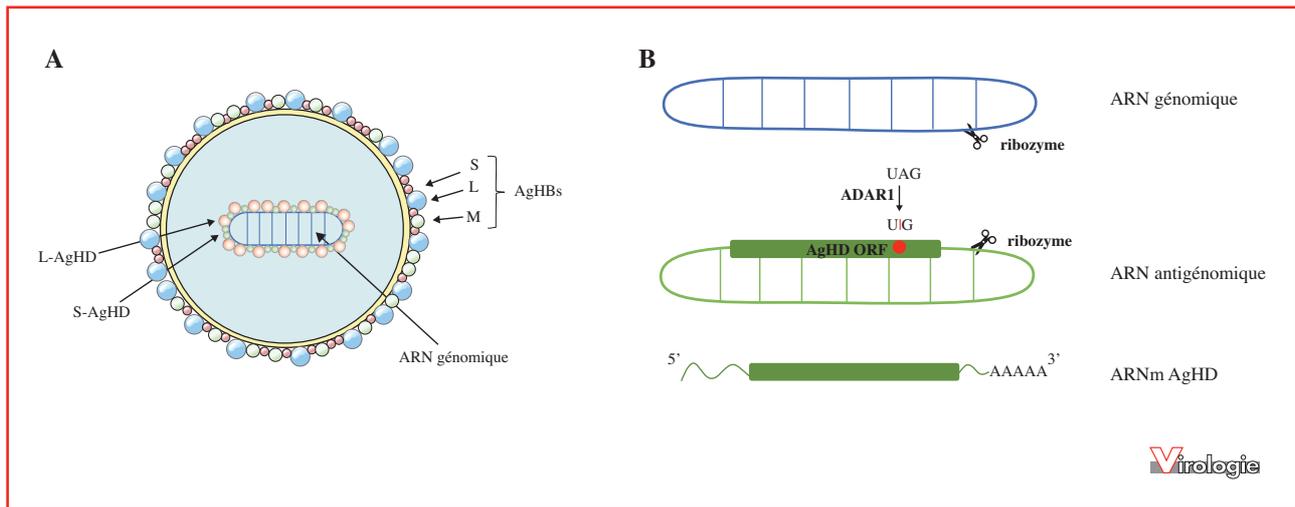
**Key words:** HDV, hepatotropic viruses, antiviral strategies

## Introduction : épidémiologie

L'hépatite D ou delta est considérée comme la forme la plus sévère d'hépatite virale chronique. Identifié initialement chez des patients atteints d'hépatite B chronique (HBC) comme un nouvel antigène du virus de l'hépatite B (HBV pour *hepatitis B virus*) [1], l'agent pathogène responsable est un petit virus à ARN infectant exclusivement les

hépatocytes et nécessitant la présence de HBV pour achever son cycle répliatif [2, 3]. Identifié aujourd'hui comme le plus petit virus capable d'infecter les animaux, le virus de l'hépatite D (HDV pour *hepatitis D virus*) est responsable d'une accélération et d'une aggravation de la progression de la maladie hépatique chez les patients souffrant d'HBC [4], déjà première cause mondiale de carcinome hépatocellulaire [5]. Initialement, il était estimé que l'hépatite D touchait environ 5 % des patients chroniquement infectés par le HBV, soit entre 15 et 20 millions de patients dans le monde [4]. Une récente

**Correspondance :** E.R. Verrier  
<e.verrier@unistra.fr>



**Figure 1. Structure du virus de l'hépatite D (HDV).** (A) Représentation schématique de la particule virale du HDV. Le virion est composé d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont enchâssées les trois formes des protéines d'enveloppe du virus de l'hépatite B (HBV) qui forment l'AgHBs (S, M et L). Le génome du HDV est composé d'un ARN simple brin circulaire à polarité négative entouré par les deux formes de l'antigène delta (L-AgHD et S-AgHD) formant le complexe ribonucléoprotéique. (B) Le génome du HDV est fortement apparié (> 70 % d'appariement) induisant une structure en bâtonnet. Il contient une séquence ribozyme qui catalyse la fragmentation des différentes unités de génome produites au cours de la réplication en cercles roulants. La transcription de l'ARN génomique permet la synthèse de deux ARNs différents : l'ARN antigénomique et l'ARNm AgHD. L'ARN antigénomique contient également une séquence ribozyme et permet la néosynthèse d'ARN génomique. Il contient également un site d'édition. L'enzyme ADAR1 catalyse la modification d'une adénosine (A) du codon stop de l'ORF S-AgHD en inosine (I). Cette édition de l'ARN induit la production de la seconde forme de AgHD, plus longue de 19 acides aminés.

méta-analyse présente une prévalence mondiale de 0,98 % inégalement répartie à travers le globe, correspondant à une prévalence de 10,58 % chez les patients HBV [6]. Même si les deux chiffres sont difficilement conciliables (de 62 millions à 27 millions de patients en fonction de l'approche), cette étude suggère un nombre de patients infectés par le HDV dans le monde bien plus important que les études précédentes. Certaines régions telles le bassin méditerranéen (27,8 % des patients atteints d'hépatite) [7], l'Afrique du Nord (20,7 % des patients atteints d'hépatite) [8] et l'Afrique centrale (38 % des patients atteints d'hépatite) [9] sont particulièrement touchées. En Europe et aux États-Unis, une majorité de patients infectés par le HDV sont des usagers de drogue injectable [6]. En dépit de la généralisation de la vaccination anti-HBV, la prévalence du HDV augmente dans les pays développés, ce rebond étant notamment dû à l'immigration depuis les régions endémiques mais également au manque de vigilance des populations à risque à l'égard des virus hépatiques [10]. À l'heure actuelle, aucun traitement ne permet efficacement d'éliminer le virus [4]. La recherche de nouvelles solutions thérapeutiques a longtemps été freinée par le manque de connaissances des interactions HDV-hépatocytes, en grande partie dû à l'absence de modèle d'étude simple. Des découvertes récentes sont à l'origine d'avancées significatives dans la compréhension du cycle viral, notamment dans

l'identification de nouveaux facteurs hépatiques impliqués dans le cycle viral, donnant lieu à l'émergence de nouvelles stratégies de traitement, dont certaines sont actuellement testées en essai clinique.

## Virologie moléculaire du HDV

### Structure des virions

Le HDV est un petit virus enveloppé satellite du HBV d'environ 35 nm de diamètre (figure 1) [2]. Il est caractérisé par la présence d'une enveloppe comportant les antigènes de surface du HBV (AgHBs), indispensables à la formation des particules virales, qui contient le génome viral circulaire associé aux deux formes de l'antigène delta (AgHD) formant un complexe ribonucléoprotéique (RNP) [2, 11]. Cet ARN circulaire de polarité négative permet l'expression d'ARNm codant pour les formes, courte (S-AgHD) et longue (L-AgHD) de l'antigène delta, toutes deux impliquées dans le cycle répliatif et la formation de la RNP virale [4]. Cette structure très particulière lui confère une place à part dans la classification des virus, seul représentant du genre non classé des Deltavirus. Le HDV est décliné en 8 génotypes hétérogènes inégalement répartis sur l'ensemble du globe [12]. Si le génotype 1 est retrouvé dans le monde entier, les génotypes 5 et 8 prédo-

minent en Afrique. Les génotypes 2 et 4, associés à une maladie hépatique moins agressive [13] sont retrouvés en Extrême-Orient. Enfin, le génotype 3, associé à un risque accru d'insuffisance hépatique est principalement présent en Amérique du Sud [12, 13].

### *Origine du HDV : évolution depuis un viroïde de plante ou d'un ARN cellulaire ?*

L'origine du HDV n'est à ce jour pas connue mais deux hypothèses majeures coexistent depuis une vingtaine d'années et proposent que HDV dérive soit de viroïdes de plantes soit d'un ARNm cellulaire.

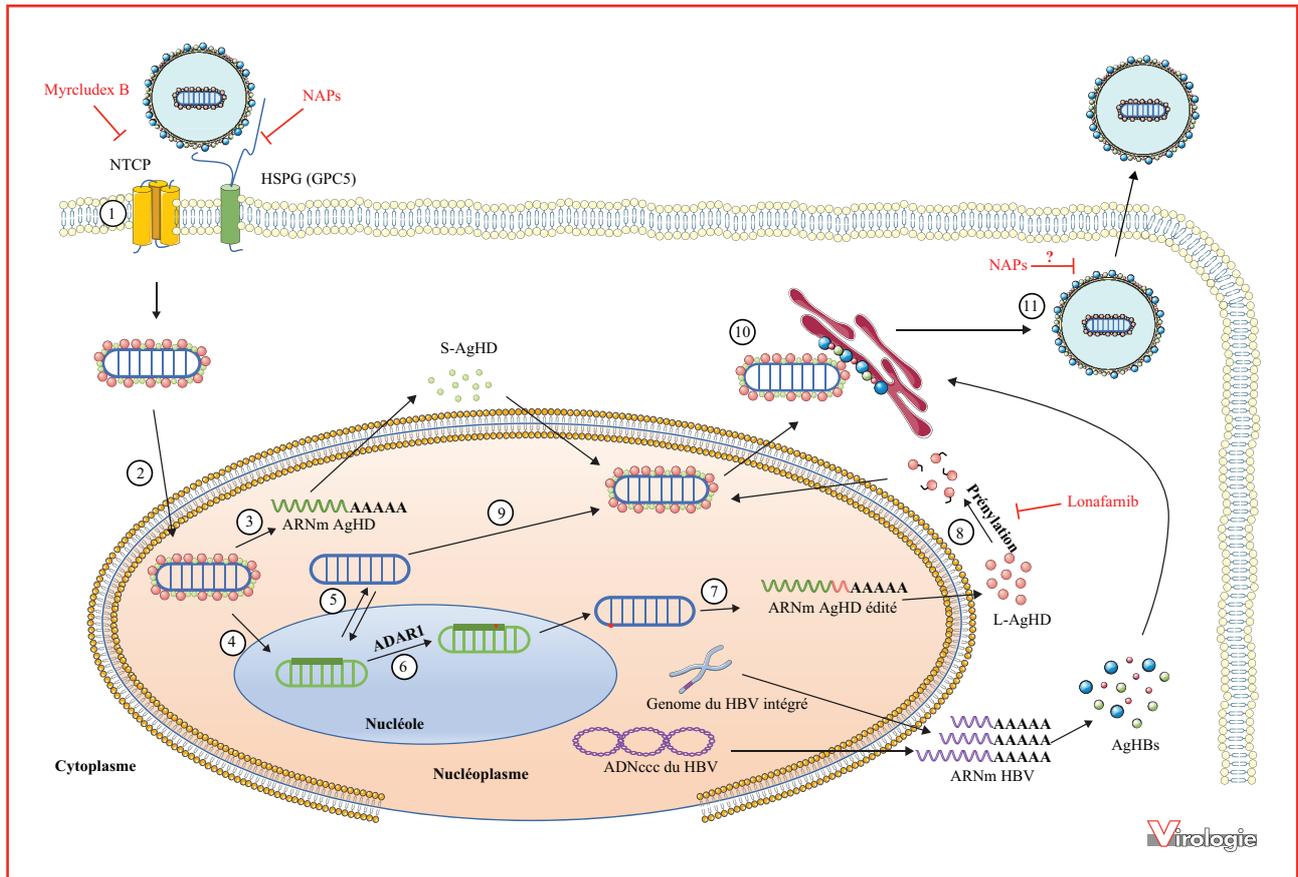
Parmi les caractéristiques du génome du HDV, sa structure circulaire et son fort taux d'appariement (*figure 1B*) le rapprochent fortement des génomes de viroïdes de plante, petits ARN circulaires simple brin à haut potentiel réplicatif, de taille cependant bien inférieure au génome du HDV, comprise entre 250 et 400 nucléotides [14-16]. Une autre différence notable est la présence sur l'antigénome du HDV d'un cadre ouvert de lecture codant pour l'antigène delta, alors que les génomes de viroïdes (à l'exception du scRYMV [17]) ne codent pour aucune protéine. En revanche, le mécanisme de réplication du génome, intégralement tributaire des ARN polymérases ADN dépendantes eucaryotes, est relativement similaire au mécanisme retrouvé chez certains viroïdes, comme les Avsunviroïdes [16]. Contrairement au HDV, les viroïdes de plantes ne s'assemblent pas en virions et se transmettent d'une plante à une autre par les graines ou des blessures, et aux cellules voisines au sein d'une plante infectée *via* les plasmodesmes [18]. Jusqu'à ce jour, aucune transmission active de cellule à cellule n'a été observée pour le HDV. Malgré tout, ces similitudes suggèrent que le HDV et les viroïdes pourraient descendre d'un même ancêtre commun, ou que l'un soit le précurseur de l'autre. L'hypothèse que le HDV provienne d'un viroïde ayant acquis une séquence codante lors de son évolution a été proposée en 1996 après la découverte dans le génome humain d'un gène codant pour une protéine interagissant avec l'antigène du virus (DIPA pour *delta-interacting protein A*) et présentant 60 % de similarité avec la séquence de la protéine virale [19]. De cette découverte, Brazas et Ganem ont émis l'hypothèse que le HDV dérive d'un ARN semblable à un viroïde ayant capturé la séquence codante pour la protéine DIPA à partir de l'ARNm cellulaire. D'autres travaux suggèrent que le HDV pourrait dériver d'un ARN cellulaire. Il y a une dizaine d'années, une étude démontra la présence d'une activité ribozyme dans la séquence de l'ARNm codant pour la *cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 3* (CPEB3) [20]. Ce ribozyme se trouve dans un intron de l'ARNm de *CPEB3* et s'apparente au ribozyme du HDV par sa structure et son activité biochimique. Le fait que ce

ribozyme ne soit présent que chez les mammifères a conduit les auteurs à émettre l'hypothèse que le génome du HDV pourrait dériver du transcriptome humain. L'un des arguments repose sur la mise en évidence des ARNs cellulaires circulaires (cARN) décrits dès le début des années 90 [21]. Ces cARN sont abondants et interviennent dans différents processus de régulation, comme la prolifération cellulaire et la progression cancéreuse, et interagissent notamment avec des microARN. Chaque cARN peut interagir avec plusieurs copies d'un même microARN et jouer ainsi un rôle d'« éponge » à microARN [22-24]. Toutefois, les cARN actuellement décrits ne comportent ni la séquence pouvant coder pour AgHD, ni l'activité ribozyme. De plus, la très récente description d'un virus partageant de nombreuses similarités avec le HDV chez les oiseaux, mais ne semblant pas dépendre d'un hépadnavirus pour l'achèvement de son cycle viral infirme l'hypothèse d'un HDV exclusivement humain [25].

### *Cycle viral du HDV*

Les virions HDV et HBV partagent les mêmes protéines d'enveloppe ; aussi, le mécanisme d'entrée dans les hépatocytes est supposé identique pour les deux virus. Le cycle viral est initié par l'attachement de la particule virale à la surface des hépatocytes *via* son interaction avec les chaînes de sucres des protéoglycanes à héparane sulfate (HSPG) [26], dont GPC5 [27] (*figure 2*). Il se lie ensuite de manière spécifique à son récepteur hépatocytaire, le transporteur d'acides biliaires NTCP (*sodium-taurocholate co-transporting polypeptide*), induisant l'entrée du virus dans la cellule [28]. Les 75 résidus myristoylés en N-terminal du domaine pré-S1 de la grande protéine d'enveloppe du HBV interagissent avec NTCP, potentiellement au niveau du site de liaison des acides biliaires [29, 30]. Un autre domaine du transporteur est impliqué dans l'entrée du virus mais sans interaction directe avec l'enveloppe virale, sa fonction dans l'entrée restant inconnue [28]. La liaison à NTCP induit l'endocytose de la particule virale selon un mécanisme encore inconnu. Le transport de la RNP du HDV du cytoplasme vers le noyau est également peu documenté, mais un signal NLS (signal de localisation nucléaire) a été identifié et caractérisé dans les deux formes d'AgHD [31].

Le génome du HDV ne codant pour aucune protéine non structurale, la réplication virale et la transcription de l'ARNm sont entièrement dépendantes des polymérases cellulaires. Le génome sert de matrice pour la transcription d'ARNm du HDV par l'ARN polymérase II. Une première forme d'ARNm est exportée dans le cytoplasme permettant la production de la forme courte S-AgHD. La protéine S-AgHD est importée dans le noyau et stimule la réplication virale [32], au cours de laquelle le génome



**Figure 2. Cycle viral du HDV.** (1) Le cycle viral débute par l'attachement aux protéoglycanes à sulfate d'héparane (HSPG), dont Glypican 5 (GPC5) à la surface des hépatocytes. La région pré-S1 de L-AgHBs se lie ensuite au récepteur spécifique du HBV et du HDV, le transporteur d'acides biliaires, NTCP. La particule virale est endocytée et la RNP virale est libérée dans le cytoplasme. (2) Elle est ensuite acheminée au noyau grâce au signal de localisation nucléaire présent sur les AgHD. (3) L'ARN polymérase II transcrit l'ARNm AgHD qui est ensuite exporté dans le cytoplasme où il est traduit pour produire la forme courte « *Small* » de AgHD (S-AgHD). (4) L'ARN polymérase II synthétise l'ARN antigénomique du HDV qui est ensuite transféré dans le nucléole. (5) Dans le nucléole, l'ARN antigénomique sert de matrice pour la néosynthèse d'ARN génomique par un mécanisme de cercle roulant. (6) L'ARN antigénomique est édité par l'action de l'enzyme ADAR1, supprimant le codon stop de l'ORF S-AgHD. (7) L'ARN antigénomique édité est transcrit en ARN génomique, induisant la synthèse de l'ARNm édité plus long. Ce dernier est exporté dans le cytoplasme où il est traduit en forme longue « *Large* » de AgHD (L-AgHD). (8) L-AgHD contient un site de prénylation qui est farnésylé par une farnésyltransférase cellulaire avant d'être transféré dans le noyau. (9) Les deux formes de AgHD interagissent avec les ARN génomiques néo-synthétisés afin de former de nouvelles ribonucléoprotéines virales qui sont exportées dans le cytoplasme. (10) Les ribonucléoprotéines virales interagissent, *via* une cystéine farnésylée de L-AgHD, avec la partie cytosolique de l'enveloppe du HBV au niveau du réticulum endoplasmique permettant leur enveloppement. (11) Les virions néoformés sont excrétés de la cellule infectée. Les différents antiviraux sont indiqués en rouge. L'hépatocyte représenté est également infecté par le HBV, indiqué par la présence l'ADNccc ou de son génome intégré (cycle complet non représenté).

du HDV recrute l'ARN polymérase II pour la synthèse de multimères d'ARN antigénomique par un mécanisme en cercle roulant [4]. L'activité ribozyme de l'antigénome catalyse l'auto-clivage des multimères en monomères, qui sont ensuite circularisés. L'ARN antigénomique du HDV sert ensuite de matrice à la synthèse de nouvelles copies de génome du HDV, également selon un mécanisme en cercle roulant *via* l'ARN polymérase II [4]. Bien que la réplication du HDV soit majoritairement portée par l'ARN polymérase II, plusieurs études suggèrent une implication des ARN polymérases I et III dans la synthèse de l'ARN

antigénomique [33, 34]. Il est généralement admis que la transcription des ARN génomiques et antigénomiques a lieu dans deux compartiments nucléaires différents. La transcription de l'ARN génomique a lieu dans le nucléoplasme et celle de l'ARN antigénomique se déroule dans le nucléole [35]. Durant la phase tardive de réplication, l'ARN antigénomique du HDV est édité *via* l'enzyme ADAR1 (*adenosine deaminase acting on RNA 1*), une adénosine du codon stop de S-AgHD étant transformée en inosine [4] ce qui conduira après réplication au remplacement du codon stop en codon tryptophane (*figure 2*). La nouvelle version

des ARN génomiques produits sert alors de matrice pour la transcription d'ARNm codant pour une forme plus longue, L-AgHD. Cette allongement C-terminale de 19 acides aminés contient notamment un signal d'export nucléaire (NES) [36] et un site de prénylation sur la cystéine 211 qui est farnésylée *via* une farnésyltransférase cellulaire après traduction [37, 38]. L-AgHD farnésylé est transféré dans le noyau et inhibe la réplication virale, ce qui a pour conséquence d'orienter le cycle viral vers l'assemblage de nouveaux virions [39]. L'ARN génomique néoformé s'associe avec S-AgHD et L-AgHD afin de former de nouvelles RNP qui sont ensuite exportées du noyau, grâce au NES de L-AgHD, par la voie TAP/Aly [40]. La cystéine farnésylée de L-AgHD permet l'interaction des RNP virales avec la partie cytosolique de AgHBs à la membrane du réticulum endoplasmique. L'interaction entre la RNP virale et AgHBs induit l'enveloppement des nouveaux virions ainsi que leur sécrétion, selon des voies encore inconnues [41]. HDV est donc tributaire de l'expression d'AgHBs pour achever son cycle viral. Au sein d'un hépatocyte préalablement infecté par le HBV, AgHBs peut être exprimé à partir de l'ADNccc du HBV mais aussi d'une version intégrée du génome viral dans le génome de la cellule hôte (*figure 2*). La réplication active du HBV ne semble en effet pas indispensable à la production de virions HDV [42].

Si les grandes étapes du cycle sont à présent bien décrites, de nombreuses zones d'ombre persistent quant aux interactions moléculaires entre HDV et facteurs hépatiques dont le virus dépend fortement pour l'achèvement de son cycle réplicatif.

### Interactions virus-hôte

Comme le démontre la réplication de son génome, entièrement réalisée *via* les ARN polymérases, le HDV est extrêmement dépendant des facteurs des cellules hôtes pour l'accomplissement de son cycle réplicatif. Même si ces interactions sont encore largement méconnues, un certain nombre d'acteurs cellulaires ont été décrits. Récemment, un criblage génomique a montré la forte dépendance du HDV à la biosynthèse des pyrimidines. En effet, l'inhibition de l'enzyme CAD (pour *Carbamyl-phosphate synthase II / Aspartate carbamoyltransférase / Dihydroorotase*), qui catalyse les trois premières étapes de la synthèse de l'uridine, inhibe fortement la réplication du HDV *in vitro*, sans impacter la réplication du HBV dans le laps de temps de l'étude [43]. De plus, l'inhibition du récepteur alpha des œstrogènes (ESR1), qui régule l'expression de CAD, inhibe également la réplication virale. En plus de la synthèse des pyrimidines, les résultats du criblage suggèrent l'importance d'autres facteurs cellulaires dans l'infection HDV, notamment des gènes impliqués dans la résistance à l'insuline ou la voie de signalisation HIF-1 (*hypoxia-*

*inducible factor*). À ce jour, il est décrit que l'AgHD interagit avec plus d'une centaine de protéines, dont beaucoup sont impliquées dans le métabolisme de l'ARN, mais également des hélicases à ARN, l'histone H1, ou encore des sous-unités de l'ARN polymérase II [44]. Les ARNs du HDV se lient également avec des protéines cellulaires, notamment la protéine kinase R ou ADAR1, qui catalyse l'édition de l'ARN antigénomique [45-47]. Au niveau des senseurs de l'immunité innée, le génome du HDV est détecté par l'hélicase MDA5 (*melanoma differentiation associated gene 5*), induisant la production d'IFN de type I et III [48]. La production d'ISG (*interferon stimulated gene*) n'a cependant que peu d'effet sur la réplication du HDV, qui inhibe activement les voies de signalisation de la réponse immunitaire innée en inhibant la phosphorylation de STAT1 (*signal transducer and activator of transcription 1*) et STAT2, et par conséquent l'expression des ISG [49]. En revanche, L-AgHD induit l'activation de NF- $\kappa$ B (*nuclear factor kappa B*) et de STAT3 *via* le stress oxydatif [50]. L'activation de ces facteurs de transcription participe à l'état inflammatoire hépatique et pourrait expliquer l'aggravation et l'accélération de la maladie hépatique chez le patient.

Par ailleurs, l'infection par le HDV induit chez les patients une réponse immunitaire adaptative soutenue. En effet, une étude menée sur des patients atteints d'hépatite virale HBV, HBV/HDV ou virus de l'hépatite C (HCV pour *hepatitis C virus*) a montré que les patients HDV présentent les taux les plus élevés de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> perforine-positifs [51]. Ces lymphocytes éliminent les cellules infectées et jouent probablement un rôle dans la progression plus rapide de la maladie hépatique chez les patients HDV. L'infection induit également une réponse immunitaire *via* les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> [52], mais un échappement viral par mutations est observé chez les patients, limitant le contrôle de l'infection. Ces lymphocytes T CD8<sup>+</sup> reconnaissant des épitopes du HDV sont retrouvés à la fois chez les patients chroniques et chez les patients ayant résolu l'infection, suggérant que ces mutations pourraient expliquer au moins en partie la mise en place d'une infection chronique, les mutants HDV échappant au contrôle des cellules T CD8<sup>+</sup> [52].

## Importance clinique

### Histoire naturelle

Chez le patient, il existe deux types d'infection par le HDV : 1) la co-infection initiale simultanée d'un patient sain par le HBV et le HDV, qui évolue chez la majorité des adultes vers l'élimination spontanée des virus (> 95 % des cas), comme lors d'une mono-infection HBV [53], avec cependant un risque accru d'hépatite fulminante [54, 55] ; 2) la surinfection HDV chez un patient HBC, qui évolue majoritairement vers une infection persistante et une

hépatite D chronique (environ 80 % des cas), caractérisée par une inflammation et une fibrose hépatiques progressant avec un risque trois fois plus élevé vers la cirrhose que chez les patients HBC [53, 56]. De plus, le risque de survenue d'un carcinome hépatocellulaire est trois fois plus élevé que pour des patients HBC [57]. En comparaison des autres hépatites chroniques, l'hépatite D est marquée par une progression rapide vers la cirrhose, et un risque de mortalité plus élevé [4].

### Diagnostic

Actuellement, il existe trois méthodes de détection du HDV mais ces méthodes restent inégalement disponibles et de fiabilité variable. Lors de l'infection aiguë, le HDV exprime et sécrète fortement AgHD qui peut être détecté par ELISA. Cependant, ce test n'est réalisable que lors des deux premières semaines d'infection, l'AgHD n'étant ensuite exprimé que de manière transitoire [58, 59].

La seconde méthode consiste à détecter les anticorps anti-HDV [60]. Les IgM sont les premières produites, concomitamment aux IgM anti-HBc (anti-*HBV core protein*) dans le cas d'une co-infection. Les IgG anti-HDV produites ensuite persistent dans le sérum des patients, que l'infection aiguë ait été résolue ou qu'elle soit devenue chronique. Chez les patients positifs pour AgHBs, la détection des IgG et IgM (Ig totaux) anti-HDV est généralement la première phase de diagnostic d'une infection HDV, même si le risque de faux-négatifs existe [10]. De plus, la détection d'IgG anti-HDV ne permet actuellement pas de conclure à une répllication active du virus, les IgG persistant en cas d'infection résolue spontanément. Une nouvelle méthode récemment développée, Q-MAC (*quantitative microarray antibody capture*), en plus d'être largement plus sensible et spécifique que les précédentes, permettrait, en fonction de l'intensité du signal, de discriminer les patients présentant ou non une activité répllicative du HDV, même si ce test nécessite encore des études sur des cohortes plus larges [61, 62].

La troisième méthode consiste à détecter l'ARN viral du HDV dans le sérum des patients par qRT-PCR, seul marqueur d'une répllication active du HDV dans les hépatocytes. La détection de l'ARN viral, après détection des Ig totaux anti-HDV, dans le sérum permet de distinguer une infection aiguë résolue, d'une infection chronique. Cependant, les différents tests disponibles en fonction des pays n'ont pas la même sensibilité ni la même précision dans la détermination de la charge virale. De plus, le HDV ayant une forte variabilité génétique, les tests ne détectent pas efficacement les 8 géotypes viraux [63, 64]. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a récemment mis en place un ARN standard international afin de permettre aux laboratoires d'exprimer leurs résultats en unité internationale

(UI). Depuis, plusieurs kits de détection de la charge virale ont été développés permettant une meilleure détection de tous les géotypes ainsi qu'une meilleure reproductibilité. L'un de ces kits, l'Eurobioplex HDV kit, a montré sur des échantillons de patients une forte sensibilité, précision et reproductibilité, dans la détection de tous les géotypes du HDV [65]. Une mesure précise de la charge virale du HDV chez les patients est nécessaire car elle est le seul moyen de mesurer et d'analyser la répllication virale afin de suivre l'efficacité des traitements antiviraux.

### Traitements actuels

Les méthodes de détection du HDV et le suivi des patients évoluent mais les traitements actuels reposent toujours sur l'utilisation de l'interféron-alpha pégylé (PEG-IFN $\alpha$ ), peu spécifique et responsable d'effets secondaires marqués tels qu'état grippal, anémie, dépression, conduisant parfois à un arrêt anticipé du traitement. Les réponses au traitement, de l'ordre de 30 %, sont partielles et conduisent rarement à l'élimination persistante de la charge virale [66-68]. Il est à noter que les analogues de nucléo(s)tidés (NUC) utilisés dans le traitement contre le HBV sont inefficaces contre le HDV [12]. Plusieurs éléments peuvent expliquer la difficulté de traitement du HDV. Premièrement, le HDV ne code pour aucune enzyme dans son génome dont la fonction pourrait être ciblée par un traitement antiviral direct. Si le ribozyme du génome présente bien une activité enzymatique, les tentatives d'utilisation d'inhibiteurs de ribozyme se sont heurtées à une très forte toxicité *in vitro*, limitant leur caractérisation antivirale [69]. Par ailleurs, en plus d'une forte diminution de la répllication du HDV, il est nécessaire d'inhiber l'expression d'AgHBs, responsable du rebond de charge virale HDV après arrêt du traitement PEG-IFN $\alpha$ , même si le sujet a développé une réponse virologique soutenue [70]. Cette inhibition n'est cependant observée que chez une minorité de patients à l'aide des traitements PEG-IFN $\alpha$  actuels (10 % environ) [70].

Par conséquent, de nouvelles stratégies de traitement du HDV sont attendues. Dans ce contexte, les molécules ciblant les facteurs hépatiques peuvent être de nouvelles armes antivirales, dont l'efficacité a été démontrée pour d'autres virus hépatiques [71-73]. Ce type de stratégie nécessite toutefois une connaissance approfondie des cycles viraux et des interactions moléculaires entre virus et facteurs cellulaires.

### Perspectives thérapeutiques : molécules ciblant l'hôte

Actuellement, plusieurs traitements sont en phase avancée d'essai clinique (*tableau 1*). Ils ciblent différentes étapes

Tableau 1 Molécules antivirales en essai clinique.

Cible cellulaire / étape du cycle viral	Stade essai clinique	Administration	Avantages	Inconvénients	Références
Myrcludex B NTCP / inhibiteur d'entrée	Phase II	Injection sous-cutanée 2, 5 ou 10 mg + 245 mg Ténofovir par jour (24 semaines)	1,6-2,7 log réduction ARN HDV	Rechute chez 60-83 % des patients	Wedemeyer <i>et al.</i> , 2018
Lonafarnib (LNF) + Ritonavir (RTV) Farnésylation / inhibiteur d'assemblage	Phase II	Orale 50-100 mg LNF + 100 mg RTV par jour (24 semaines)	1,6 log réduction ARN HDV ; ARN HDV indétectable chez 1 patient	Fortes augmentations des ALT après arrêt du traitement chez 30 % des patients ; pas de données sur rechutes	Wedemeyer <i>et al.</i> , 2017
REP2139 ? / Sécrétion d'AgHBs	Phase II	Injection intraveineuse 500 mg par semaine (15 semaines), 250 mg + 180 µg Peg-IFN (15 semaines), 180 µg Peg-IFN (33 semaines)	ARN HDV indétectable chez 7 patients sur 11	Fortes augmentations des ALT, pas de données sur rechutes	Bazinnet <i>et al.</i> , 2017 ; Vaillant, 2018

du cycle viral à savoir : l'entrée virale, l'assemblage des particules virales et la sécrétion d'AgHBs.

*Inhibiteur de l'entrée virale :  
l'exemple du Myrcludex B*

Le HBV et le HDV utilisent la même enveloppe virale et, de ce fait, le même récepteur, NTCP [74]. Ce récepteur spécifique du foie, a rapidement été considéré comme une cible thérapeutique d'intérêt après la découverte de son rôle dans l'entrée des deux virus (pour des revues, voir [74, 75]). Si de nombreux inhibiteurs de NTCP décrits ont montré une activité antivirale prometteuse, c'est un lipopeptide dérivé de la partie pré-S1 de l'enveloppe du HBV qui concentre l'essentiel des attentions. Même avant la découverte du récepteur, ce peptide était connu pour son activité préventive *in vivo*, inhibant l'infection par le HBV et le HDV dans un modèle murin [76]. Le peptide pré-S1, site de liaison de l'enveloppe virale au récepteur, se fixe spécifiquement sur NTCP [77-79]. La forme commerciale du peptide, le Myrcludex B, peptide myristoylé dérivant des 47 acides aminés en N-terminal du domaine pré-S1 d'AgHBs, a été testé pour son activité antivirale dans de nombreux modèles *in vitro* et *in vivo* et en essai clinique [80]. Dans cet essai, 24 patients HDV co-infectés HBV ont été divisés en trois groupes afin de recevoir, pendant 24 semaines, des injections sous-cutanées quotidiennes de 2 mg de Myrcludex B, couplé ou non au Peg-IFN $\alpha$ , comparé à un traitement Peg-IFN $\alpha$  seul. Le critère principal de l'étude reposait sur la mesure du taux d'AgHBs. Aucune baisse significative d'AgHBs n'a été observée chez les patients après traitement. Toutefois, dans le groupe de patients traités uniquement avec Myrcludex B, 6 patients (75 %) ont montré une stabilisation des ALT (alanine aminotransférase) et 4 patients (50 %) ont montré une baisse de l'ARN HDV sérique de plus d'un log. De plus, l'élimination du virus a été atteinte chez 2 patients (25 %). Le groupe traité avec Myrcludex B en combinaison au Peg-IFN $\alpha$  a montré de meilleurs résultats avec l'ARN HDV devenu indétectable chez 5 patients (62,5 %), en revanche l'ARN HDV est réapparu chez tous les patients après arrêt du traitement, quel que soit le traitement administré [81]. Plus récemment, les résultats d'un essai multicentrique ouvert de phase II ont été rendus publics [82]. Cet essai, réalisé sur une cohorte de 120 patients co-infectés HBV/HDV, avait pour but de déterminer la tolérance et l'efficacité d'un traitement composé de différentes doses de Myrcludex B en combinaison avec du ténofovir, un inhibiteur de la transcriptase inverse du HBV [83]. Les patients, divisés en quatre groupes, ont reçu quotidiennement 2, 5 ou 10 mg de Myrcludex B par injection sous-cutanée en combinaison avec du ténofovir (245 mg/jour), comparé à un traitement au ténofovir seul pendant 24 semaines. Après cette phase, tous les patients ont ensuite suivi un traitement au ténofovir pen-

dant 24 semaines. Le critère principal était une diminution de l'ARN HDV de 2 log ou une absence d'ARN viral détectable. À la fin du traitement, l'ARN HDV avait diminué en moyenne entre 1,6 et 2,7 log, la plus forte dose de Myrcludex B étant reliée à la baisse d'ARN HDV la plus forte. Un suivi à 12 semaines sur une partie des patients a révélé la rechute de l'infection chez 60 % à 83 % des patients en fonction des groupes. Plus récemment, les résultats provisoires de l'étude de phase II MYR203 indiquent des niveaux indétectables de HDV chez 9 des 15 patients traités 48 semaines avec une dose quotidienne de Myrcludex B (2 mg) en combinaison avec le PEG-IFN $\alpha$  [84]. Probablement insuffisant en monothérapie, l'utilisation du Myrcludex B semble donc bénéfique chez les patients HDV en combinaison avec du ténofovir ou du PEG-IFN $\alpha$ . Cependant, quelques effets secondaires ont été enregistrés (démangeaisons, augmentation des acides sériques, etc.) et les questions en suspens restent la sécurité et la tolérance à long terme, notamment chez les patients cirrhotiques.

#### *Inhibiteur de l'assemblage : lonafarnib*

Durant le cycle viral du HDV, la protéine L-AgHD est farnésylée et cette étape précède l'interaction avec AgHBs. L'inhibition de la farnésylation de L-AgHD inhibe l'assemblage des nouvelles particules virales dans des modèles cellulaires et murins [85, 86]. Le lonafarnib est un inhibiteur de farnésylation qui a d'abord été testé comme anti-cancéreux et ayant des effets bénéfiques chez les patients atteints du syndrome de Hutchinson-Gilford (progeria) [87]. Bien que son efficacité n'ait pas été démontrée dans ce contexte, les premières études ont fourni des données de tolérance chez le patient. Un premier essai chez des patients HDV a été réalisé durant lequel deux doses de lonafarnib (100 mg et 200 mg) ont été administrées deux fois par jour par voie orale pendant 28 jours. Comparés à un placebo, les deux groupes de patients ont montré une baisse significative de l'ARN HDV (0,73 log pour le groupe 100 mg ; 1,54 log pour le groupe 200 mg). En revanche, le traitement n'a induit aucune baisse ni des ALT, ni des AgHBs, et le taux d'ARN HDV est revenu à la normale chez la totalité des patients à la fin de la période de suivi. De plus, tous les patients ayant reçu la plus forte dose de lonafarnib ont subi de forts effets secondaires tels que des diarrhées, des nausées et une perte de poids [88]. Afin d'améliorer l'absorption dans le sang de lonafarnib et diminuer les effets secondaires, quatre études de phases II appelées LOWR-HDV ont été réalisées avec un traitement lonafarnib en combinaison avec le ritonavir, un inhibiteur du cytochrome P450-3A4 qui est le principal acteur du métabolisme du lonafarnib et améliore sa stabilité sans effet antiviral direct [89]. De manière générale, ces études ont montré que la combinaison des deux traitements

permet de diminuer la dose de lonafarnib administrée quotidiennement et d'améliorer la tolérance chez le patient [90, 91]. Cette combinaison de traitement a une meilleure efficacité sur la diminution de l'ARN HDV mais cette forte baisse est en général observée pour la moitié des patients seulement, et aucune information sur le suivi de ces patients après arrêt du traitement n'est encore disponible.

#### *Les polymères d'acides nucléiques*

Les polymères d'acides nucléiques (NAP) sont des oligonucléotides phosphorothioés leur conférant une résistance à la dégradation et à la dénaturation *in vivo*. Ils possèdent une activité inhibitrice à large spectre contre plusieurs virus comme le HCV [92] ou le virus herpes simplex [93]. Bien que leur mécanisme d'action précis ne soit pas connu avec précision, différents NAPs inhibent l'entrée des particules HDV *in vitro* [94]. De plus, les NAPs semblent inhiber la sécrétion d'AgHBs, affectant potentiellement le cycle du HDV *via* divers mécanismes [95]. Leur activité est indépendante de leur séquence mais dépendante de leur taille et de leur hydrophobicité [95]. La première étude *in vivo* a été conduite chez des canards infectés par le HBV du canard (DHBV) et traités pendant 28 jours avec le NAP REP2055. L'étude a montré une baisse d'AgHBs dans le sérum et de l'ADN DHBV, jusqu'à 16 semaines post-traitement, ainsi qu'une augmentation des anticorps anti-DHBV [96]. La tolérance et l'efficacité de REP2055 ainsi que de REP2139, un dérivé de REP2055, ont été étudiées dans une étude portant sur des patients HBV positifs à AgHBe. Pour chacun des composés, le traitement en monothérapie a montré une baisse de AgHBs dans le sérum de 2 à 7 log et de l'ADN HBV de 3 à 9 log. De plus, les traitements ont été accompagnés d'une production d'anticorps anti-HBs [97]. Le NAP REP2139 ayant montré une meilleure tolérance chez les patients ainsi qu'une forte efficacité, il a ensuite été utilisé dans une nouvelle étude afin d'évaluer sa tolérance et son efficacité en co-traitement avec Peg-IFN $\alpha$  sur des patients co-infectés avec HBV et HDV. Les patients ont été injectés une fois par semaine par voie intraveineuse avec 500 mg de REP2139-Ca seul pendant 15 semaines. Le traitement a été suivi par 15 semaines de traitement avec 250 mg de REP2139-Ca combiné à 180  $\mu$ g de Peg-IFN $\alpha$  puis 33 semaines de traitement avec 180  $\mu$ g de Peg-IFN $\alpha$  seul [98]. Après traitement, les patients ont été suivis pendant deux ans et l'ARN HDV est resté indétectable chez 7 patients (64 %), avec les AgHBs et l'ADN HBV en-dessous du seuil de détection chez 4 (36 %) et 6 (54 %) patients, respectivement [99]. Les résultats obtenus lors de ces études sont pour l'instant les plus convaincants, cependant les cohortes étudiées restent de petite taille et les effets restent à confirmer sur de plus grandes populations. De plus, le mode d'administration n'est pas adapté à un traitement

de longue durée. De nouvelles études seront menées afin de tester la tolérance du traitement en administration sous-cutanée. Enfin, le traitement au Peg-IFN $\alpha$  a induit chez 5 patients une forte augmentation des ALT [99]. Les patients de l'étude étant non-cirrhotiques, cette augmentation est restée asymptomatique et s'est résolue après arrêt du traitement. Le traitement pourrait cependant être plus délétère chez des patients cirrhotiques.

## Conclusion

L'hépatite D reste aujourd'hui incurable et représente une menace de santé publique majeure pour des millions de patients à travers le monde. Les données épidémiologiques actuelles sont des estimations approximatives car la présence du HDV chez les patients HBV est encore trop peu souvent recherchée dans certains pays. En plus d'une meilleure détection, les traitements nécessitent également d'être améliorés. Les avancées récentes sur le cycle viral ont permis l'émergence de nouvelles solutions thérapeutiques qui démontrent l'intérêt des molécules ciblant l'hôte dans le traitement contre ce virus. La caractérisation exhaustive des facteurs hépatocytaires impliqués dans le cycle viral permettra à terme le développement de nouvelles solutions thérapeutiques pour l'éradication de ce virus hépatique majeur.

**Remerciements.** Les travaux de l'unité résumés dans cette revue ont notamment été financés par l'Agence nationale de la recherche sur le sida et les hépatites virales (ANRS). Cette revue est écrite dans le cadre du LabEx HepSYS (ANR-10-LAB-28). Vincent Turon-Lagot bénéficie d'un contrat doctoral (MRES) du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.

Figures : certains éléments de figure ont été reproduits ou modifiés avec l'autorisation de Servier Medical Art (licence : <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/fr/>).

**Liens d'intérêt :** les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

## Références

- Rizzetto M, Canese MG, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, Verme G. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977 ; 18 : 997-1003.
- Rizzetto M, Hoyer B, Canese MG, Shih JW, Purcell RH, Gerin JL. Delta Agent : association of delta antigen with hepatitis B surface antigen and RNA in serum of delta-infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980 ; 77 : 6124-8.
- Sureau C, Guerra B, Lanford RE. Role of the large hepatitis B virus envelope protein in infectivity of the hepatitis delta virion. *J Virol* 1993 ; 67 : 366-72.
- Sureau C, Negro F. The hepatitis delta virus: Replication and pathogenesis. *J Hepatol* 2016 ; 64 : S102-16.
- Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014 ; 384 : 2053-63.
- Chen HY, Shen DT, Ji DZ, Han PC, Zhang WM, *et al.* Prevalence and burden of hepatitis D virus infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Gut* 2018 ; sous presse. doi:10.1136/gutjnl-2018-316601.
- Amini N, Alavian SM, Kabir A, Aalaei-Andabili SH, Saiedi Hosseini SY, Rizzetto M. Prevalence of hepatitis d in the eastern mediterranean region: systematic review and meta analysis. *Hepat Mon* 2013 ; 13 : e8210.
- Daw MA, Daw AM, Sifennasr NEM, Draha AM, Daw AM, Daw AM, *et al.* The Epidemiology of Hepatitis D Virus in North Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientific World Journal* 2018 : 9312650.
- Stockdale AJ, Chaponda M, Beloukas A, Phillips RO, Matthews PC, Papadimitropoulos A, *et al.* Prevalence of hepatitis D virus infection in sub-Saharan Africa : a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2017 ; 5 : e992-1003.
- Noureddin M, Gish R. Hepatitis delta : epidemiology, diagnosis and management 36 years after discovery. *Curr Gastroenterol Rep* 2014 ; 16 : 365.
- Bonino F, Heermann KH, Rizzetto M, Gerlich WH. Hepatitis delta virus : protein composition of delta antigen and its hepatitis B virus-derived envelope. *J Virol* 1986 ; 58 : 945-50.
- Koh C, Heller T, Glenn JS. Pathogenesis of and New Therapies for Hepatitis D. *Gastroenterology* 2019 ; 156 : 461-76.
- Farci P, Niro GA. Clinical features of hepatitis D. *Semin Liver Dis* 2012 ; 32 : 228-36.
- Tsagris EM, Martínez de Alba AE, Gozmanova M, Kalantidis K. Viroids. *Cell Microbiol* 2008 ; 10 : 2168-79.
- Tabler M, Tsagris M. Viroids : petite RNA pathogens with distinguished talents. *Trends Plant Sci* 2004 ; 9 : 339-48.
- Flores R, Gas ME, Molina-Serrano D, Nohales MÁ D, Carbonell A, Gago S, *et al.* Viroid replication : rolling-circles, enzymes and ribozymes. *Viruses* 2009 ; 1 : 317-34.
- AbouHaidar MG, Venkataraman S, Golshani A, Liu B, Ahmad T. Novel coding, translation, and gene expression of a replicating covalently closed circular RNA of 220 nt. *PNAS* 2014 ; 111 : 14542-7.
- Takeda R, Ding B. Viroid intercellular trafficking: RNA motifs, cellular factors and broad impacts. *Viruses* 2009 ; 1 : 210-21.
- Brazas R, Ganem D. A cellular homolog of hepatitis delta antigen: implications for viral replication and evolution. *Science* 1996 ; 274 : 90-4.
- Salehi-Ashtiani K, Lupták A, Litovchick A, Szostak JW. A genome-wide search for ribozymes reveals an HDV-like sequence in the human CPEB3 gene. *Science* 2006 ; 313 : 1788-92.
- Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, Kern SE, Ruppert JM, Oliner JD, *et al.* Scrambled exons. *Cell* 1991 ; 64 : 607-13.
- Zhang J, Liu H, Hou L, Wang G, Zhang R, Huang Y, *et al.* Circular RNA\_LARP4 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by sponging miR-424-5p and regulating LATS1 expression. *Mol Cancer* 2017 ; 16 : 151.
- Fu L, Chen Q, Yao T, Li T, Ying S, Hu Y, Guo J. Hsa\_circ\_0005986 inhibits carcinogenesis by acting as a miR-129-5p sponge and is used as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 43878-88.
- Han D, Li J, Wang H, Su X, Hou J, Gu Y, *et al.* Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology* 2017 ; 66 : 1151-64.
- Wille M, Netter HJ, Littlejohn M, Yuen L, Shi M, Eden JS, *et al.* A Divergent Hepatitis D-Like Agent in Birds. *Viruses* 2018 ; 10 : E720.

26. Schulze A, Gripon P, Urban S. Hepatitis B virus infection initiates with a large surface protein-dependent binding to heparan sulfate proteoglycans. *Hepatology* 2007 ; 46 : 1759-68.
27. Verrier ER, Colpitts CC, Bach C, Heydmann L, Weiss A, Renaud M, *et al.* A targeted functional RNA interference screen uncovers glypican 5 as an entry factor for hepatitis B and D viruses. *Hepatology* 2016 ; 63 : 35-48.
28. Li W, Urban S. Entry of hepatitis B and hepatitis D virus into hepatocytes : Basic insights and clinical implications. *J Hepatol* 2016 ; 64 : S32-40.
29. Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, *et al.* Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife* 2012 ; 1 : e00049.
30. Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Fälth M, *et al.* Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology* 2014 ; 146 : 1070-83.
31. Alves C, Freitas N, Cunha C. Characterization of the nuclear localization signal of the hepatitis delta virus antigen. *Virology* 2008 ; 370 : 12-21.
32. Chou HC, Hsieh TY, Sheu GT, Lai MM. Hepatitis delta antigen mediates the nuclear import of hepatitis delta virus RNA. *J Virol* 1998 ; 72 : 3684-90.
33. Modahl LE, Lai MM. Transcription of hepatitis delta antigen mRNA continues throughout hepatitis delta virus (HDV) replication: a new model of HDV RNA transcription and replication. *J Virol* 1998 ; 72 : 5449-56.
34. Macnaughton TB, Shi ST, Modahl LE, Lai MMC. Rolling circle replication of hepatitis delta virus RNA is carried out by two different cellular RNA polymerases. *J Virol* 2002 ; 76 : 3920-7.
35. Huang WH, Chen YS, Chen PJ. Nucleolar targeting of hepatitis delta antigen abolishes its ability to initiate viral antigenomic RNA replication. *J Virol* 2008 ; 82 : 692-9.
36. Lee CH, Chang SC, Wu CH, Chang MF. A novel chromosome region maintenance 1-independent nuclear export signal of the large form of hepatitis delta antigen that is required for the viral assembly. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 8142-8.
37. Glenn JS, Watson JA, Havel CM, White JM. Identification of a prenylation site in delta virus large antigen. *Science* 1992 ; 256 : 1331-3.
38. Otto JC, Casey PJ. The hepatitis delta virus large antigen is farnesylated both in vitro and in animal cells. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 4569-72.
39. Hwang SB, Lai MM. Isoprenylation masks a conformational epitope and enhances trans-dominant inhibitory function of the large hepatitis delta antigen. *J Virol* 1994 ; 68 : 2958-64.
40. Huang HC, Lee CP, Liu HK, Chang MF, Lai YH, Lee YC, Huang C. Cellular Nuclear Export Factors TAP and Aly Are Required for HDV-L-mediated Assembly of Hepatitis Delta Virus. *J Biol Chem* 2016 ; 291 : 26226-38.
41. Hwang SB, Lai MM. Isoprenylation mediates direct protein-protein interactions between hepatitis large delta antigen and hepatitis B virus surface antigen. *J Virol* 1993 ; 67 : 7659-62.
42. Freitas N, Cunha C, Menne S, Gudima SO. Envelope proteins derived from naturally integrated hepatitis B virus DNA support assembly and release of infectious hepatitis delta virus particles. *J Virol* 2014 ; 88 : 5742-54.
43. Verrier ER, Weiss A, Bach C, Heydmann L, Turon-Lagot V, Kopp A, *et al.* Combined small molecule and loss-of-function screen uncovers estrogen receptor alpha and CAD as host factors for HDV infection and antiviral targets. *Gut* 2019 ; sous presse. doi:10.1136/gutjnl-2018-317065.
44. Cao D, Haussecker D, Huang Y, Kay MA. Combined proteomic-RNAi screen for host factors involved in human hepatitis delta virus replication. *RNA* 2009 ; 15 : 1971-9.
45. Mota S, Mendes M, Penque D, Coelho AV, Cunha C. Changes in the proteome of Huh7 cells induced by transient expression of hepatitis D virus RNA and antigens. *J Proteomics* 2008 ; 71 : 71-9.
46. Mota S, Mendes M, Freitas N, Penque D, Coelho AV, Cunha C. Proteome analysis of a human liver carcinoma cell line stably expressing hepatitis delta virus ribonucleoproteins. *J Proteomics* 2009 ; 72 : 616-27.
47. Sikora D, Greco-Stewart VS, Miron P, Pelchat M. The hepatitis delta virus RNA genome interacts with eEF1A1, p54(nrb), hnRNP-L, GAPDH and ASF/SF2. *Virology* 2009 ; 390 : 71-8.
48. Zhang Z, Filzmayer C, Ni Y, Sültmann H, Mutz P, Hiet MS, *et al.* Hepatitis D virus replication is sensed by MDA5 and induces IFN- $\beta$ / $\lambda$  responses in hepatocytes. *J Hepatol* 2018 ; 69 : 25-35.
49. Pugnale P, Paziienza V, Guilloux K, Negro F. Hepatitis delta virus inhibits alpha interferon signaling. *Hepatology* 2009 ; 49 : 398-406.
50. Williams V, Brichler S, Khan E, Chami M, Dény P, Kremersdorf D, Gordien E. Large hepatitis delta antigen activates STAT-3 and NF- $\kappa$ B via oxidative stress. *J Viral Hepat* 2012 ; 19 : 744-53.
51. Aslan N, Yurdaydin C, Wiegand J, Greten T, Ciner A, Meyer MF, *et al.* Cytotoxic CD4+ T cells in viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2006 ; 13 : 505-14.
52. Karimzadeh H, Kiraithe MM, Oberhardt V, Alizei ES, Bockmann J, Zur Wiesch JS, *et al.* Mutations in Hepatitis D Virus Allow it to Escape Detection by CD8+ T Cells and Evolve at the Population Level. *Gastroenterology* 2019. Sous presse. doi:10.1053/j.gastro.2019.02.003.
53. Negro F. Hepatitis D virus coinfection and superinfection. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014 ; 4 : a021550.
54. Smedile A, Verme G, Cargnel A, Dentico P, Opolon P, Vergani D, *et al.* Influence of Delta Infection on Severity of Hepatitis B. *The Lancet* 1982 ; 320 : 945-7.
55. Govindarajan S, Chin KP, Redeker AG, Peters RL. Fulminant B viral hepatitis: role of delta agent. *Gastroenterology* 1984 ; 86 : 1417-20.
56. Fattovich G, Boscaro S, Noventa F, Pomaro E, Stenico D, Alberti A, *et al.* Influence of hepatitis delta virus infection on progression to cirrhosis in chronic hepatitis type B. *J Infect Dis* 1987 ; 155 : 931-5.
57. Fattovich G, Giustina G, Christensen E, Pantalena M, Zagni I, Realdi G, Schalm SW. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). *Gut* 2000 ; 46 : 420-6.
58. Shattock AG, Morgan BM. Sensitive enzyme immunoassay for the detection of delta antigen and anti-delta, using serum as the delta antigen source. *J Med Virol* 1984 ; 13 : 73-82.
59. Shattock AG, Morris MC. Evaluation of commercial enzyme immunoassays for detection of hepatitis delta antigen and anti-hepatitis delta virus (HDV) and immunoglobulin M anti-HDV antibodies. *J Clin Microbiol* 1991 ; 29 : 1873-6.
60. Aragona M, Macagno S, Caredda F, Crivelli O, Lavarini C, Maran E, *et al.* Serological response to the hepatitis delta virus in hepatitis D. *Lancet* 1987 ; 1 : 478-80.
61. Chen X, Oidovsambuu O, Liu P, Grosely R, Elazar M, Winn VD, *et al.* A novel quantitative microarray antibody capture assay identifies an extremely high hepatitis delta virus prevalence among hepatitis B virus-infected mongolians. *Hepatology* 2017 ; 66 : 1739-49.
62. Mahale P, Aka PV, Chen X, Liu P, Fram BJ, Wang AS, *et al.* Hepatitis D Viremia Among Injection Drug Users in San Francisco. *J Infect Dis* 2018 ; 217 : 1902-6.
63. Brichler S, Le Gal F, Butt A, Chevret S, Gordien E. Commercial real-time reverse transcriptase PCR assays can underestimate or fail to quantify hepatitis delta virus viremia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013 ; 11 : 734-40.
64. Brichler S, Le Gal F, Neri-Pinto F, Mansour W, Roulot D, Laperche S, Gordien E. Serological and molecular diagnosis of hepatitis delta virus infection: results of a French national quality control study. *J Clin Microbiol* 2014 ; 52 : 1694-7.
65. Le Gal F, Dziri S, Gerber A, Alloui C, Ben Abdesselam Z, Roulot D, *et al.* Performance Characteristics of a New Consensus Commercial Kit for Hepatitis D Virus RNA Viral Load Quantification. *J Clin Microbiol* 2017 ; 55 : 431-41.

66. Lempp FA, Ni Y, Urban S. Hepatitis delta virus : insights into a peculiar pathogen and novel treatment options. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016 ; 13 : 580-9.
67. Wedemeyer H, Yurdaydin C, Dalekos GN, Erhardt A, Çakaloğlu Y, Değertekin H, *et al.* Peginterferon plus Adefovir versus Either Drug Alone for Hepatitis Delta. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 322-31.
68. Yurdaydin C. New treatment option for delta virus: is a cure in sight ? *J Viral Hepat* 2019 ; sous presse. doi:10.1111/jvh.13081.
69. Buchmann B, Döhner K, Schirdewahn T, Sodeik B, Manns MP, Wedemeyer H, *et al.* A screening assay for the identification of host cell requirements and antiviral targets for hepatitis D virus infection. *Antiviral Res* 2017 ; 141 : 116-23.
70. Heidrich B, Yurdaydin C, Kabaçam G, Ratsch BA, Zachou K, Bremer B, *et al.* Late HDV RNA relapse after peginterferon alpha-based therapy of chronic hepatitis delta. *Hepatology* 2014 ; 60 : 87-97.
71. Baumert TF, Verrier ER, Nassal M, Chung RT, Zeisel MB. Host-targeting agents for treatment of hepatitis B virus infection. *Curr Opin Virol* 2015 ; 14 : 41-6.
72. Colpitts CC, Verrier ER, Baumert TF. Targeting Viral Entry for Treatment of Hepatitis B and C Virus Infections. *ACS Infect Dis* 2015 ; 1 : 420-7.
73. Crouchet E, Wrensche F, Schuster C, Zeisel MB, Baumert TF. Host-targeting therapies for hepatitis C virus infection: current developments and future applications. *Therap Adv Gastroenterol* 2018 ; 11 : 1-15.
74. Verrier ER, Heydmann L, Baumert TF, Schuster C. Le transporteur d'acides biliaires NTCP, un acteur majeur dans l'infection par les virus humains des hépatites offrant de nouvelles perspectives thérapeutiques. *Virologie* 2018 ; 22 : 55-66.
75. Verrier ER, Colpitts CC, Sureau C, Baumert TF. Hepatitis B virus receptors and molecular drug targets. *Hepatol Int* 2016 ; 10 : 567-73.
76. Petersen J, Dandri M, Mier W, Lütgehetmann M, Volz T, Weizsäcker F, von F, *et al.* Prevention of hepatitis B virus infection *in vivo* by entry inhibitors derived from the large envelope protein. *Nature Biotechnol* 2008 ; 26 : 335-41.
77. Barrera A, Guerra B, Notvall L, Lanford RE. Mapping of the hepatitis B virus pre-S1 domain involved in receptor recognition. *J Virol* 2005 ; 79 : 9786-98.
78. Gripon P, Cannie I, Urban S. Efficient Inhibition of Hepatitis B Virus Infection by Acylated Peptides Derived from the Large Viral Surface Protein. *J Virol* 2005 ; 79 : 1613-22.
79. Lütgehetmann M, Mancke LV, Volz T, Helbig M, Allweiss L, Bornscheuer T, *et al.* Humanized chimeric uPA mouse model for the study of hepatitis B and D virus interactions and preclinical drug evaluation. *Hepatology* 2012 ; 55 : 685-94.
80. Bogomolov P, Alexandrov A, Voronkova N, Macievich M, Kokina K, Petrachenkova M, *et al.* Treatment of chronic hepatitis D with the entry inhibitor myrcludex B: First results of a phase Ib/IIa study. *J Hepatol* 2016 ; 65 : 490-8.
81. Farci P, Niro GA. Current and Future Management of Chronic Hepatitis D. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2018 ; 14 : 342-51.
82. Wedemeyer H, Bogomolov P, Blank A, Allweiss L, Dandri-Petersen M, Bremer B, *et al.* Final results of a multicenter, open-label phase 2b clinical trial to assess safety and efficacy of Myrcludex B in combination with Tenofovir in patients with chronic HBV/HDV co-infection. *J Hepatol* 2018 ; 68 : S3.
83. Lou L. Advances in Nucleotide Antiviral Development from Scientific Discovery to Clinical Applications: Tenofovir Disoproxil Fumarate for Hepatitis B. *J Clin Transl Hepatol* 2013 ; 1 : 33-8.
84. Wedemeyer H, Schöneweis K, Bogomolov P, Voronkova N, Chulanov V, Stepanova T, *et al.* Interim Results of a Multicentre. Open-Label Phase 2 Clinical Trial (MYR203) to Assess Safety and Efficacy of Myrcludex B in Combination with Peg-Interferon Alpha 2a in Patients with Chronic HBV/HDV Co-Infection. *Hepatology* 2018 ; 68 : S11A.
85. Bordier BB, Marion PL, Ohashi K, Kay MA, Greenberg HB, Casey JL, Glenn JS. A prenylation inhibitor prevents production of infectious hepatitis delta virus particles. *J Virol* 2002 ; 76 : 10465-72.
86. Bordier BB, Ohkanda J, Liu P, Lee SY, Salazar FH, Marion PL, *et al.* In vivo antiviral efficacy of prenylation inhibitors against hepatitis delta virus. *J Clin Invest* 2003 ; 112 : 407-14.
87. Berndt N, Hamilton AD, Sebt SM. Targeting protein prenylation for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2011 ; 11 : 775-91.
88. Koh C, Canini L, Dahari H, Zhao X, Upprichard SL, Haynes-Williams V, *et al.* Oral prenylation inhibition with lonafarnib in chronic hepatitis D infection: a proof-of-concept randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2A trial. *Lancet Infect Dis* 2015 ; 15 : 1167-74.
89. Yurdaydin C, Keskin O, Kalkan Ç, Karakaya F, Çalişkan A, Karataylı E, *et al.* Optimizing lonafarnib treatment for the management of chronic delta hepatitis: The LOWR HDV-1 study. *Hepatology* 2018 ; 67 : 1224-36.
90. Wedemeyer H, Port K, Deterding K, Wranke A, Kirschner J, Bruno B, *et al.* A phase 2 dose-escalation study of lonafarnib plus ritonavir in patients with chronic hepatitis D : final results from the lonafarnib with ritonavir in HDV-4 (LOWR HDV-4) study. *J Hepatol* 2017 ; 66 : S24.
91. Koh C, Surana P, Han T, Fryzek N, Kapuria D, Etzion O, *et al.* A phase 2 study exploring once daily dosing of ritonavir boosted lonafarnib for the treatment of chronic delta hepatitis – end of study results from the LOWR HDV-3 study. *J Hepatol* 2017 ; 66 : S101-2.
92. Matsumura T, Hu Z, Kato T, Dreux M, Zhang YY, Imamura M, *et al.* Amphipathic DNA polymers inhibit hepatitis C virus infection by blocking viral entry. *Gastroenterology* 2009 ; 137 : 673-81.
93. Bernstein DI, Goyette N, Cardin R, Kern ER, Boivin G, Ireland J, *et al.* Amphipathic DNA polymers exhibit antiherpetic activity in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2008 ; 52 : 2727-33.
94. Beilstein F, Blanchet M, Vaillant A, Sureau C. Nucleic Acid Polymers Are Active against Hepatitis Delta Virus Infection In Vitro. *J Virol* 2018 ; 92 : e01416-1417.
95. Vaillant A. Nucleic acid polymers : Broad spectrum antiviral activity, antiviral mechanisms and optimization for the treatment of hepatitis B and hepatitis D infection. *Antiviral Res* 2016 ; 133 : 32-40.
96. Noordeen F, Scougall CA, Grosse A, Qiao Q, Ajilalian BB, Reiche-Miller G, *et al.* Therapeutic Antiviral Effect of the Nucleic Acid Polymer REP 2055 against Persistent Duck Hepatitis B Virus Infection. *PLoS ONE* 2015 ; 10 : e0140909.
97. Al-Mahtab M, Bazinet M, Vaillant A. Safety and Efficacy of Nucleic Acid Polymers in Monotherapy and Combined with Immunotherapy in Treatment-Naive Bangladeshi Patients with HBsAg+ Chronic Hepatitis B Infection. *PLoS ONE* 2016 ; 11 : e0156667.
98. Bazinet M, Pântea V, Ceboatarescu V, Cojohari L, Jimbei P, Albrecht J, *et al.* Safety and efficacy of REP 2139 and pegylated interferon alfa-2a for treatment-naive patients with chronic hepatitis B virus and hepatitis D virus co-infection (REP 301 and REP 301-LTF): a non-randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017 ; 2 : 877-89.
99. Vaillant A. REP 2139: Antiviral Mechanisms and Applications in Achieving Functional Control of HBV and HDV Infection. *ACS Infect Dis* 2018. Sous presse. doi:10.1021/acsinfecdis.8b00156.