

Réplication : l'enjeu des dernières étapes

Les médicaments anti-VIH actuellement disponibles sur le marché utilisent différents modes d'action : empêcher l'entrée du virus dans la cellule (inhibiteurs de fusion), transformer le matériel génétique viral (inhibiteurs de transcriptase inverse) ou découper les protéines virales (inhibiteurs de la protéase). D'autres stratégies sont désormais à l'étude, notamment emprisonner le virus dans sa cellule hôte en l'empêchant de sortir pour éviter sa dissémination. Explications.

Bien connaître son ennemi, c'est bien connaître ses failles. Comprendre le cycle de réplication du VIH se révèle ainsi indispensable pour identifier des cibles potentielles de nouveaux traitements. Un cycle de mieux en mieux connu, qui peut se résumer en sept étapes principales : l'entrée du virus dans la cellule, la transcription inverse de l'ARN viral en ADN, l'intégration de cet ADN dans le génome de la cellule hôte, la synthèse des ARN génomiques et des protéines virales, le transport et l'assemblage des différents composants viraux et, enfin, la formation de nouvelles particules virales qui bourgeonnent à la surface de la cellule.

Les dernières phases – transport, assemblage et bourgeonnement – font actuellement l'objet de nombreuses recherches, qui pourraient aboutir à la fabrication de nouvelles familles de médicaments bloquant la sortie du virus de sa cellule hôte. Des médicaments assimilables à des gardiens de prison cellulaire.

Le transport par les endosomes. Le VIH actif est composé de deux copies d'ARN, de diverses protéines et de trois enzymes clés (transcriptase inverse, intégrase et protéase). Dans une cellule infectée, ces divers éléments sont séparés et dispersés avant de se retrouver à un endroit précis pour se réassembler et former de nouveaux virus. Biologiste cellulaire au CNRS (Montpellier), le Dr Edouard Bertrand s'est intéressé au transport d'ARN viral à l'intérieur de cellules infectées. « *Le mécanisme de sortie de l'ARN viral du noyau de la cellule, maintenant bien connu, est réalisé grâce à une protéine appelée REV, explique-t-il. Avec mon équipe, nous tentons de comprendre comment cet ARN est transporté jusqu'à la membrane externe de la cellule.* » Ses recherches portent principalement sur le virus de la leucémie murine (MLV), qui présente plusieurs caractéristiques communes avec le VIH, notamment lors des phases de transport et de bourgeonnement.

Ses travaux montrent que les ARN viraux sont transportés par les protéines virales ENV et le précurseur de la protéine GAG (appelé, dans le cas du VIH, PR55GAG), qui détournent au profit du virus la machinerie endosomale, très complexe et indispensable à la survie cellulaire. Selon le Dr Bertrand, « *ces protéines virales peuvent s'insérer dans la membrane des endosomes : le précurseur GAG se lie aussi à l'ARN viral et ENV présente des signaux de routage qui permettront de guider l'endosome vers un endroit précis de la membrane cellulaire.* » L'ARN viral est

CONTACTS

Dr Sylvie Friant
virologie biomédicale fondamentale
tél. : +33 (0)3 88 41 70 67
mail : s.friant@ibmc.u-strasbg.fr

Dr Pablo Gluschkof
virologie biomédicale fondamentale
tél. : +33 (0)4 91 32 46 30
mail :
pablo.gluschkof@medecine.univ-mrs.fr

Dr Edouard Bertrand
virologie biomédicale fondamentale
tél. : +33 (0)4 67 61 36 50
mail : edouard.bertrand@igmm.cnrs.fr

Dr Nathalie Chazal
virologie biomédicale appliquée
tél. : +33 (0)5 61 55 86 06
mail : chazal@cict.fr

GLOSSAIRE

Actine

Protéine très abondante dans les cellules, qui joue un rôle important dans le maintien de la forme de la cellule.

Compartiment multivésiculaire

Structure cellulaire impliquée dans le tri des protéines à l'intérieur des cellules.

Endosome

Vésicule formée à l'intérieur des cellules, qui est chargée du transport de diverses molécules.

PR55GAG

Précurseur de la protéine virale GAG qui produit des composants structuraux du VIH (matrice, capsid, nucléocapside et autres petites protéines virales).

ainsi transporté par l'endosome *via* le précurseur GAG. « *Il reste maintenant à démontrer que ce mécanisme est le même dans le cas du VIH* », souligne le Dr Bertrand.

Un assemblage différencié. L'assemblage des particules virales du VIH fait aussi intervenir le précurseur GAG, mais le processus n'a pas encore été clairement élucidé. Deux phénomènes différents pourraient exister. Certains chercheurs ont montré que l'assemblage pouvait s'effectuer directement dans l'endosome, pendant le transport des constituants viraux. D'autres pensent au contraire que chaque composant viral s'accumule d'abord à un même endroit de la membrane cellulaire, puis que l'assemblage est réalisé. « *En fait, les deux mécanismes sont probables*, explique le Dr Bertrand. *Il semble que dans les lymphocytes, l'assemblage des particules virales soit réalisé au niveau de la membrane de la cellule, alors que dans les macrophages, il se fait dans les endosomes.* »

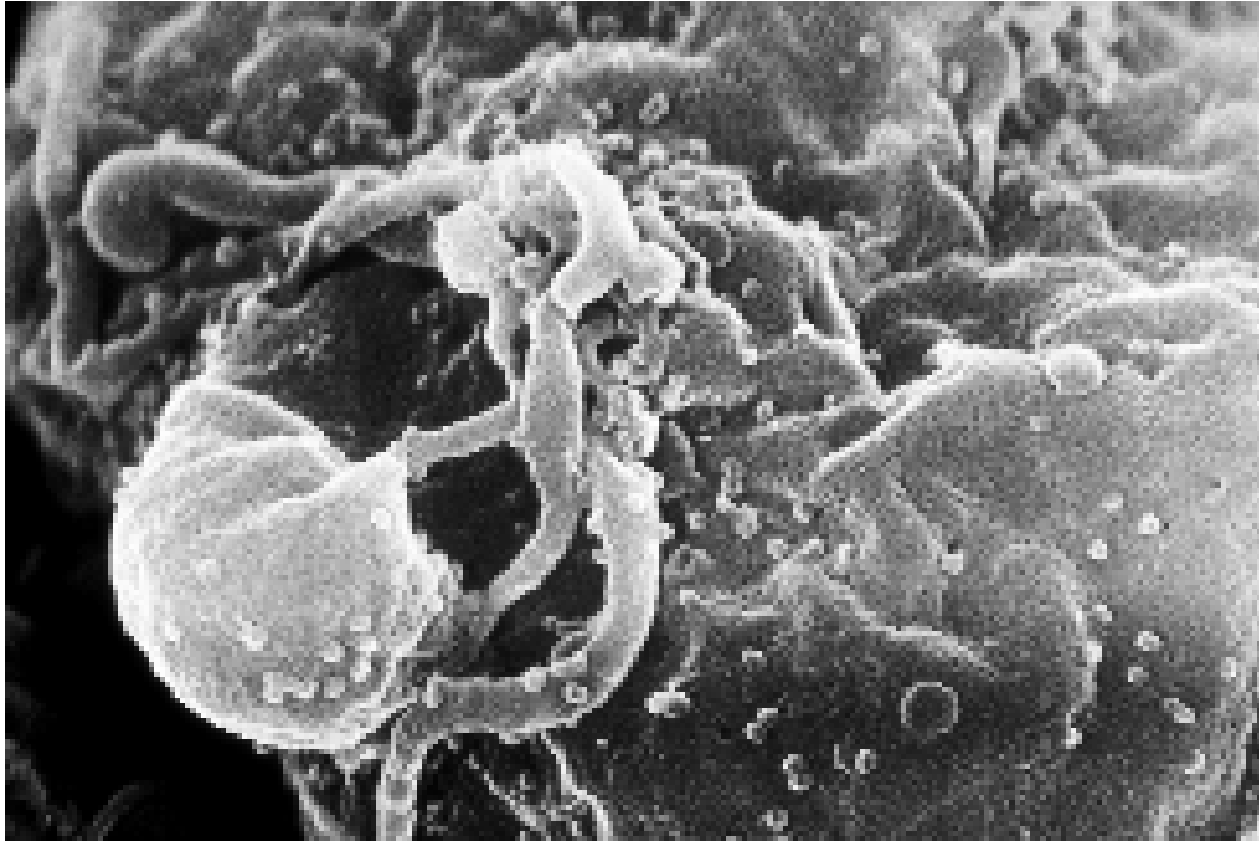
Des radeaux membranaires. Quel que soit le mécanisme de l'assemblage, les constituants viraux doivent arriver jusqu'à la membrane de la cellule pour pouvoir bourgeonner. Comment parviennent-ils à tous se retrouver au même endroit ? Le Dr Nathalie Chazal, virologue à l'université Paul-Sabatier (Toulouse), a en partie répondu à cette question. La membrane cellulaire est constituée d'une grande variété de lipides et de protéines, qui se répartissent selon des affinités moléculaires. Certains domaines, riches en cholestérol, forment des plates-formes qui, comme l'explique le Dr Chazal, « *constituent des radeaux membranaires idéaux pour un point de rencontre des constituants viraux.* » Et d'ajouter : « *Il est probable*

qu'une protéine virale, la protéine NEF, intervienne dans la synthèse de cholestérol au niveau de la membrane cellulaire afin de favoriser la formation de ces radeaux. » Cette hypothèse, qui reste à vérifier, pourrait constituer une nouvelle voie de recherche d'inhibiteurs aptes à bloquer la formation de ces radeaux membranaires.

Le bourgeonnement du virus. Permettant au virus nouvellement constitué de sortir de la cellule, l'étape du bourgeonnement commence par une déformation convexe d'une partie de la membrane cellulaire dans laquelle le VIH vient se loger. Les bords de cette déformation fusionnent ensuite pour aboutir à la création d'une vésicule à l'extérieur de la cellule, dans laquelle se retrouvent tous les constituants du VIH. « *L'étape du bourgeonnement du VIH, que l'on retrouve aussi avec le virus Ebola, est très particulière, car la déformation est inverse aux mécanismes de ce type connus dans une cellule (déformation concave)* », souligne le Dr Sylvie Friant, virologue au CNRS (Strasbourg). Après avoir longtemps cherché comment le VIH pouvait créer une telle déformation, les scientifiques ont découvert l'existence du compartiment multivésiculaire (MVB, de l'anglais Multi Vesicular Body), qui « *constitue une plate-forme de tri des molécules entrant ou sortant de la cellule*, explique le Dr Friant. *Comme une sorte de rond-point par lequel de nombreuses molécules transitent pour être dirigées dans la bonne direction.* » Ce MVB est la seule structure cellulaire capable de créer des déformations convexes. Plusieurs études ont ainsi montré que la protéine PR55GAG du VIH détourne des protéines du MVB pour créer la déformation convexe nécessaire au bourgeonnement viral.

Reste donc à savoir quelles sont les protéines du MVB utilisées par le virus et comment elles le sont. Assez récentes, les recherches dans ce domaine ont fourni des résultats prometteurs. « *Nous connaissons déjà l'existence d'une protéine du MVB, la TSG101, qui est utilisée par le précurseur GAG pour obliger la membrane cellulaire à se courber lors du bourgeonnement viral. Mais le fonctionnement du compartiment multivésiculaire est très complexe et fait intervenir de nombreuses cascades de réactions entre diverses protéines*, explique le Dr Friant. *Il faut donc d'abord commencer par comprendre comment fonctionne ce compartiment et décrypter les cascades.* » C'est ce qu'elle tente de faire avec son équipe dans un modèle de levure qui contient, comme les cellules humaines, un compartiment multivésiculaire, mais simplifié et n'ayant conservé que les protéines essentielles.

Le Dr Pablo Gluschankof, chercheur au CNRS (Marseille), s'est lui aussi intéressé aux interactions entre les éléments viraux et cellulaires permettant le bourgeonnement et la libération de nouveaux virus. Avec son équipe, il a réussi dans



© C. Goldsmith

un modèle de levure à sélectionner 16 protéines cellulaires nécessaires au bourgeonnement du précurseur GAG. Certaines d'entre elles sont impliquées dans le maintien de la dynamique de l'actine, une protéine importante pour conserver la forme de la cellule. « *Nous avons découvert en particulier que la protéine CDC42, qui joue un rôle dans la polymérisation de l'actine, était recrutée par la PR55GAG pour permettre le bourgeonnement du virus* », explique le Dr Gluschankof. Du fait de son caractère trop délétère pour les cellules, un inhibiteur de CDC42 à des fins thérapeutiques – une nouveauté, les inhibiteurs actuels visant le virus et non les cellules –, n'est pas envisageable pour autant. Le Dr Gluschankof se demande donc désormais s'il serait possible d'empêcher son interaction avec le précurseur GAG. Une autre idée serait « *d'arriver à accélérer la maturation du précurseur GAG en ses produits finaux – matrice, capsid, nucléocapsid et protéine P6 – qui ne sont pas capables de bourgeonner* », ajoute-t-il.

Les nouvelles cibles thérapeutiques. Différentes recherches sont actuellement en cours afin de tester l'efficacité de médicaments inhibiteurs des protéines du MVB impliquées dans le bourgeonnement (TSG101 étant la première identifiée comme telle), qui pourraient servir à terme d'antiviraux contre de nombreux virus utilisant ce même MVB. « *Mais nous devons trouver une stratégie qui permette à ces inhibiteurs d'agir de l'extérieur de la cellule, car s'ils entraînent à l'intérieur, ils pourraient désorganiser le tri protéique des cellules saines, causant alors de nombreux effets secondaires* », explique le Dr Friant.

En parallèle, d'autres recherches sont menées pour élaborer des molécules inhibant les interactions entre la protéine virale PR55GAG et les protéines cellulaires. Car « *toutes les étapes faisant intervenir une interaction avec la PR55GAG sont potentiellement exploitables dans la recherche de nouveaux médicaments anti-VIH* », conclut le Dr Chazal.