



# De nouvelles structures infectieuses, potentielles cibles thérapeutiques antirétrovirales

Marie-Isabelle Thoulouze, Andrès Alcover

## ► To cite this version:

Marie-Isabelle Thoulouze, Andrès Alcover. De nouvelles structures infectieuses, potentielles cibles thérapeutiques antirétrovirales. Biofutur, 2010, 315, pp.52-57. hal-02947623

**HAL Id: hal-02947623**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02947623v1>**

Submitted on 24 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

# Virologie

Andrés Alcover, Maria-Isabel Thoulouze

Institut Pasteur, unité de Biologie cellulaire des lymphocytes, CNRS URA 1961  
marie-isabelle.thoulouze@pasteur.fr

## De nouvelles structures infectieuses, potentielles cibles thérapeutiques antirétrovirales

La transmission par contact cellulaire est récemment apparue comme le mécanisme de dissémination privilégié des rétrovirus lymphotropes humains. L'étude des structures intercellulaires mises en jeu et la caractérisation du matériel viral infectieux transmis au niveau de ces contacts cellulaires devraient permettre de définir de nouvelles cibles thérapeutiques antirétrovirales.

Les virus sont des parasites stricts qui doivent se transmettre de cellule à cellule pour se multiplier. À l'issue d'un cycle viral, des particules virales sont émises dans le milieu extracellulaire par la cellule infectée. Ces virions doivent alors atteindre la surface d'une nouvelle cellule cible pour réinitier un cycle réplcatif. Il était communément admis que pour la majorité des virus, agents infectieux ultrafiltrables<sup>\*1</sup> par définition, des particules virales infectieuses « libres » sont libérées par les cellules infectées et diffusent dans l'organisme hôte pour atteindre leurs cibles cellulaires portant les récepteurs viraux. Il est pourtant apparu progressivement que pour nombre d'entre eux, peu ou pas de ces virions libres sont émis par les cellules infectées et que des contacts physiques entre cellule infectée et cellule cible sont nécessaires à la transmission de ces virus.

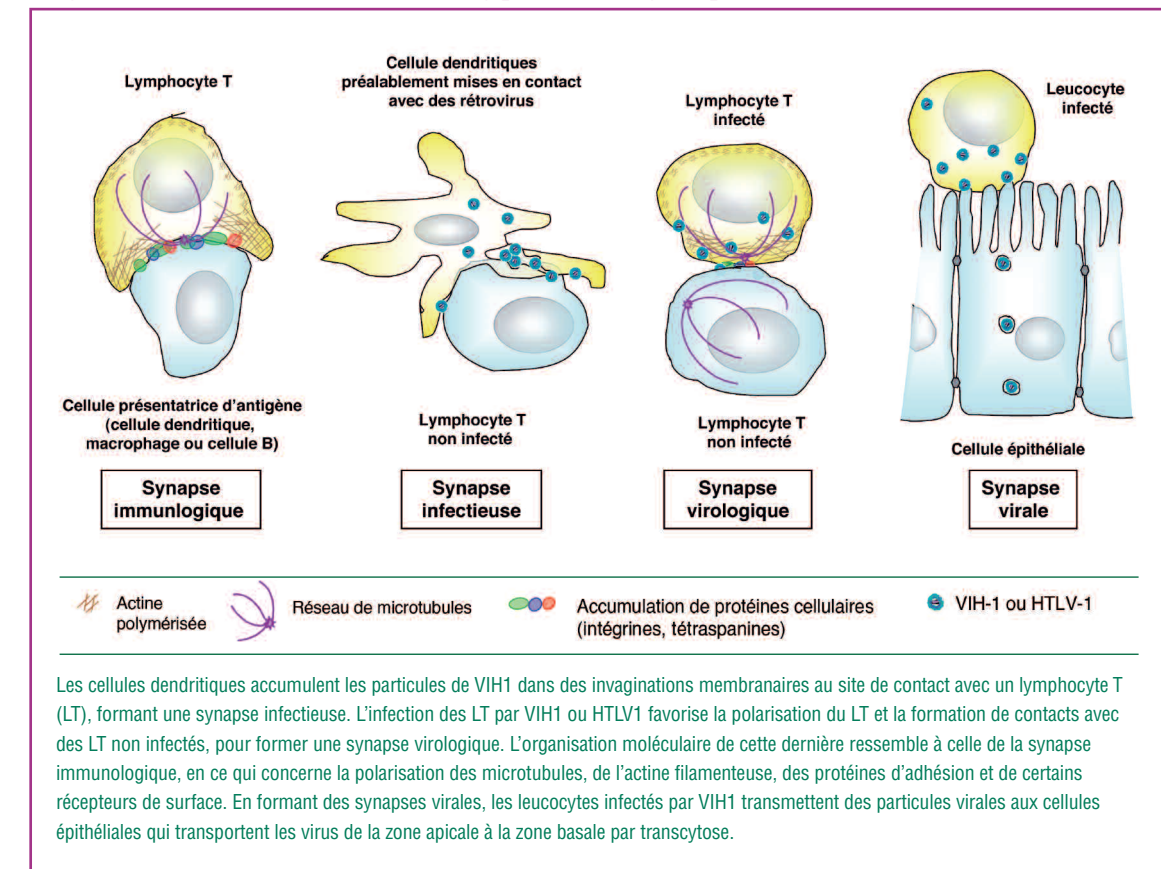
Le cas des rétrovirus humains lymphotropes<sup>\*2</sup> constitue un exemple intéressant à cet égard. Le VIH1 comme le HTLV1<sup>\*3</sup> sont à l'origine de maladies chroniques graves. Tous deux se transmettent essentiellement entre individus, par voies sexuelle et sanguine, et de la mère à l'enfant, notamment au cours de l'allaitement. Les personnes infectées par ces deux rétrovirus peuvent présenter des charges virales très élevées, le plus souvent corrélées à l'évolution de la pathologie associée. Dans le cas de VIH1, la présence de nombreuses par-

ticules virales infectieuses dans les fluides biologiques (plasma et sperme) d'individus infectés et la transmission du virus par des produits dérivés du sang, y compris acellulaires<sup>\*4</sup>, est en faveur d'une transmission via des particules virales libres. À l'inverse, l'isolement de particules virales à partir de fluides biologiques ou de surnageants de culture s'est avéré extrêmement difficile dans le cas de HTLV1. En outre, la transmission in vivo ou in vitro de HTLV1 nécessite l'inoculation de fractions biologiques contenant des cellules, ce qui constituait un argument fort en faveur d'une transmission par contact direct entre cellule infectée et cellule cible, jusqu'à sa démonstration formelle en 2003. Les deux rétrovirus apparaissent donc, de prime abord, comme deux exemples extrêmes en termes de transmission virale.

### Contact cellulaire : le mode de dissémination privilégié des rétrovirus

Pour HTLV1 comme pour VIH1, l'existence de jonctions intercellulaires très jointives au niveau desquelles s'accumulent les particules virales a été décrite dès la fin des années 1980. Des études quantitatives récentes confirment que la transmission de HTLV1 requiert des

Figure 1 : Les différents types de synapses viro-induites



contacts intercellulaires : la transmission par cellules infectées est alors, au minimum, 10 000 fois plus efficace que lorsque l'inoculum est dépourvu de cellules (1). En revanche, l'importance de contacts cellulaires dans la dissémination de VIH1 n'a été démontrée que très récemment. Toutes les études en culture cellulaire in vitro publiées à ce jour indiquent que la transmission par contact cellulaire est nettement plus efficace que par particule virale libre, variant d'un facteur 2 à 10 000 en fonction des types cellulaires et des systèmes de détection utilisés (1,2). Un travail effectué ex vivo, utilisant un modèle de tissu mucosal reconstitué, montre que seules des cellules infectées produisant de grandes quantités de particules virales aboutissent par exemple à l'infection de lymphocytes T (LT) par VIH1. Dans ce modèle, les particules virales libres ne permettent pas l'infection des LT, même en grandes quantités (3). Ainsi, les deux types de transmission virale, par particules virales libres ou par cellule infectée, sont finalement partagés par les deux rétrovirus, avec une contribution majeure des contacts intercellulaires. Mais dans le cas de HTLV1, la dépendance vis-à-vis de la transmission par contact cellulaire est nettement plus stricte que pour VIH1.

La dissémination virale mettant en jeu des contacts intercellulaires a soulevé de nombreuses questions :

entre quels types de cellules s'opère-t-elle ? Le virus utilise-t-il des jonctions préexistantes entre cellules, les modifie-t-il ou induit-il la formation de nouvelles structures intercellulaires ? Quels mécanismes moléculaires permettent ce type de transmission, vraisemblablement propre à chaque virus et à chaque type cellulaire engagé ? Plus généralement, quelle est la nature du matériel viral infectieux transmis au niveau de ces contacts cellulaires ?

### Différents partenaires cellulaires, différents types de jonctions viro-induites

L'étude des contacts intercellulaires induits par l'infection a révélé l'existence de différents types de jonctions organisées entre différents partenaires cellulaires (figure 1). Ces jonctions ont été appelées « synapses », terme qualifiant des jonctions organisées dédiées à une fonction d'échange, la transmission des virus dans le cas présent.

#### Synapses infectieuses

La première preuve du transfert de particules rétrovirales au niveau d'une jonction cellulaire a été rapportée en 2003 par l'étude en imagerie dynamique

<sup>\*1</sup> En référence aux expériences de transmission de la mosaïque du tabac à partir de filtrats de plantes, en 1892 par Dmitrii Ivanovski, qui ont permis de distinguer les virus des bactéries et des toxines qu'elles secrètent. Les virus passaient à travers les pores des filtres en porcelaine, connus pour retenir les bactéries.

<sup>\*2</sup> Infectant les lymphocytes

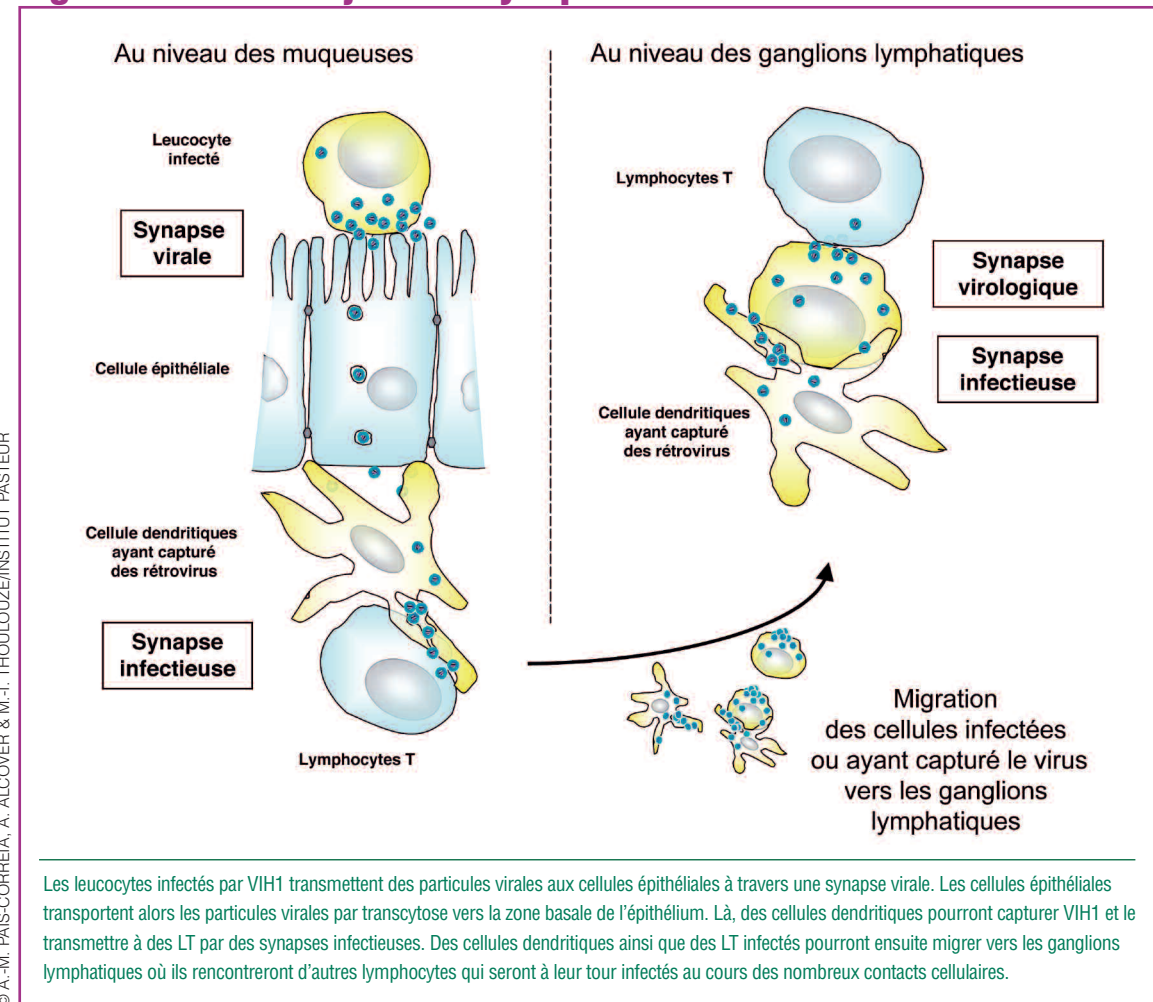
<sup>\*3</sup> Virus de la leucémie humaine à cellules T

<sup>\*4</sup> Plasma, albumine, immunoglobulines...

(1) Mazurov D *et al.* (2010) *PLoS Pathog* 6(2), doi:10.1371/journal.ppat.1000788  
(2) Chen P *et al.* (2007) *J Virol* 81, 12582-95  
(3) Ganor Y *et al.* (2010) *Mucosal Immunol* 23, 506-22

# Virologie

**Figure 2 : Mise en jeu des synapses lors de l'infection rétrovirale**



des contacts formés entre une cellule dendritique – qui a la propriété de fixer et transmettre le virus sans être nécessairement infectée –, préalablement mise en contact avec VIH1, et un LT non infecté (4). Ces travaux décrivaient l'accumulation de particules virales à l'interface entre les deux cellules et la concentration, au niveau de la jonction, des récepteurs de VIH1 (CD4, CCR5 et CXCR4) présents à la surface du LT. Les particules virales, préalablement stockées dans une invagination de la cellule dendritique, transitent ensuite par cette jonction jusqu'au LT. Ces synapses infectieuses mettent en jeu les mêmes partenaires cellulaires que les synapses immunologiques, qui se forment entre une cellule présentatrice d'antigène (une cellule dendritique, par exemple) et un LT au cours de la réponse immunitaire. Néanmoins, la formation de telles structures en l'absence de tout signal antigénique spécifique suggère que VIH1 favorise leur formation ou leur stabilisation.

## Synapses virologiques

Depuis, d'autres types de contacts intercellulaires mettant en jeu des cellules infectées par VIH1 ou HTLV1 ont été décrits. Des jonctions formées entre un LT infecté et un LT cible, appelées « synapses viro-

logiques », présentent également des similarités avec les synapses immunologiques (5,6). Elles se caractérisent par la polarisation du LT infecté et par l'accumulation à l'interface cellulaire de protéines virales (protéines de capsid et d'enveloppe du rétrovirus) et du récepteur cellulaire du virus. Diverses protéines cellulaires également engagées dans la synapse immune, telles les intégrines, les tétraspanines, mais aussi le cytosquelette d'actine et le réseau de microtubules sont impliqués dans la formation de ces jonctions viro-induites. La formation de ces structures requiert l'expression de la protéine d'enveloppe rétrovirale qui faciliterait la stabilisation de la jonction en interagissant avec le récepteur cellulaire du virus exposé à la surface de la cellule cible. Des synapses virologiques ont été depuis décrites pour d'autres virus, notamment celui de l'*Herpes simplex* de type 1 (HSV1).

## Synapses virales

Enfin, des « synapses virales » ont été mises en évidence entre des leucocytes infectés par VIH1 et des cellules épithéliales présentes au niveau des muqueuses (7). Bien que les cellules épithéliales ne soient pas infectées par VIH1, elles permettent le passage des particules virales par transcytose. Les jonctions qu'elles forment

avec les leucocytes infectés par VIH1 mettent en jeu un récepteur alternatif du virus, le céramide GalCer<sup>\*\*</sup>. Comme pour la synapse virologique, ces « synapses virales » se caractérisent par l'accumulation de particules virales à la jonction, dont le maintien est médié par les intégrines. Un sulfate d'héparane, l'agrine, constituant de la matrice extracellulaire qui s'accumule au niveau des synapses immunologique et neuronale, se concentre également au niveau de cette jonction viro-induite.

## Dissémination des rétrovirus dans l'hôte

Lors de l'infection d'un individu, ces différents types de synapses viro-induites permettraient la dissémination du rétrovirus dans l'organisme hôte (figure 2). Dans un premier temps, la formation d'une synapse virale engageant un leucocyte infecté présent dans le fluide biologique contaminant permettrait la transcytose des particules virales au niveau des muqueuses. Ces particules seraient alors prises en charge par des cellules dendritiques qui les transmettraient localement à un LT par le biais d'une synapse infectieuse, ou les achemineraient vers les sites de multiplication virale, les ganglions lymphatiques. Ces organes lymphoïdes sont le siège de très nombreuses interactions dynamiques entre diverses cellules du système immunitaire, en particulier les cellules dendritiques et les LT CD4+. Dans les ganglions, les virus seraient transmis via des

synapses infectieuses aux LT CD4+ et via des synapses virologiques entre lymphocytes CD4+, les cibles cellulaires préférentielles des rétrovirus VIH1 et HTLV1.

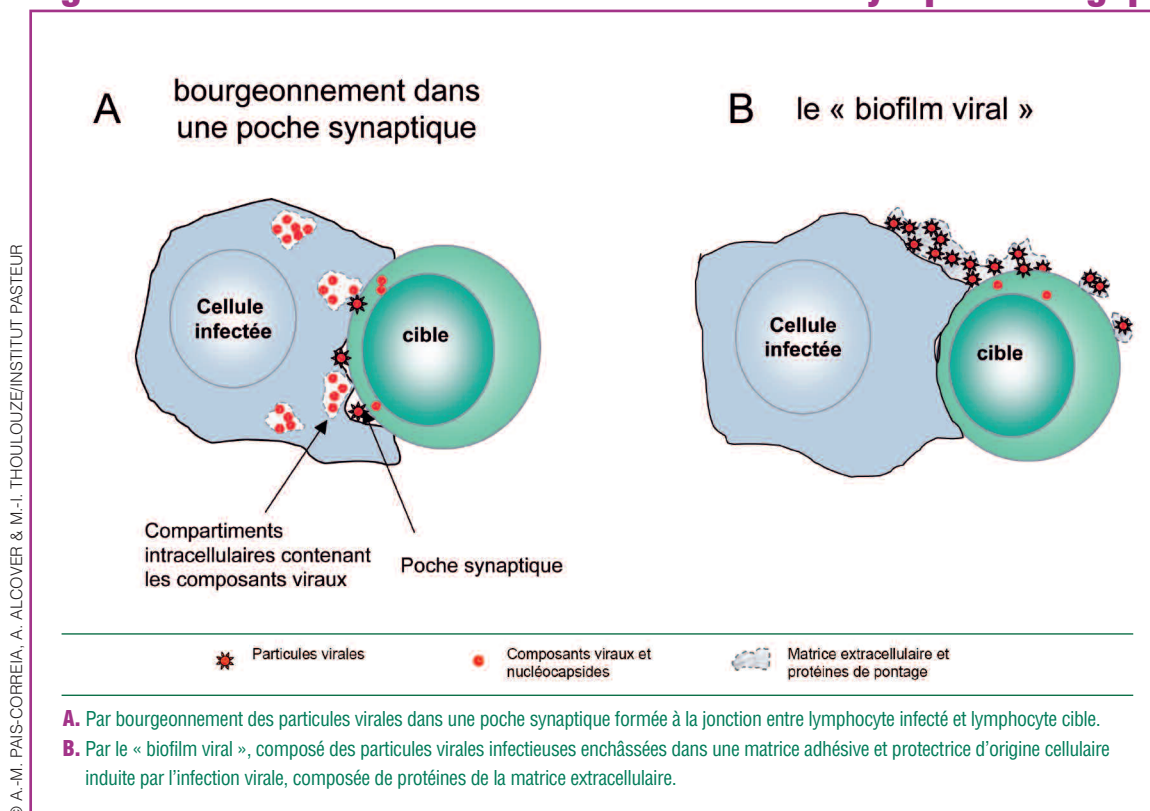
## Des interfaces cellulaires spécifiques

Les synapses viro-induites étaient initialement considérées comme des jonctions intercellulaires très jointives permettant le transfert de particules virales dans une poche synaptique confinée à la jonction (figure 3A). La structure plus précise de ces synapses commence à être élucidée. De manière surprenante, il apparaît finalement que des interfaces cellulaires très différentes peuvent servir de support au transfert de particules virales entre cellules.

Dans le cas de VIH1, les synapses virologiques permettant le transfert du virus présentent un bouton synaptique<sup>\*\*</sup> moins jointif qu'initialement proposé (8). Des particules virales bourgeonnent au niveau de ces structures et transitent vers la surface de la cellule cible par des mouvements latéraux de part et d'autre de la zone de contact. Le transfert de particules rétrovirales peut également s'effectuer entre cellules nettement plus distantes, jusqu'à plusieurs dizaines de microns. Ce transfert se fait à la surface de différents types de fins prolongements membranaires, les filopodes et les nanotubes (9,10). Les filopodes sont émis par la cellule cible et interagissent, à leur extrémité, avec les cellules infectées. L'interaction de l'enveloppe virale, présente à la

<sup>\*\*</sup> Galactosyl céramide  
<sup>\*\*</sup> Extrémité renflée de la synapse où a lieu le contact avec la cellule cible

**Figure 3 : Transmission de HTLV1 au niveau de la synapse virologique**



- (4) McDonald D *et al.* (2003) *Science* 300, 1295-7  
(5) Igakura T *et al.* (2003) *Science* 299, 1713-6  
(6) Jolly C *et al.* (2004) *J Exp Med* 199, 283-93  
(7) Alfsen A *et al.* (2005) *Mol Biol Cell* 16, 4267-79



## Virologie

surface de la cellule infectée, avec les récepteurs cellulaires du virus, présents à l'extrémité des filopodes, stabilise le pont ainsi formé par lequel les particules virales gagnent la cellule cible (9). Des particules virales ont également été mises en évidence à la surface de longs nanotubes joignant deux LT (10). Dans les cas décrits pour VIH1, la formation de telles structures n'est pas induite par l'infection, ce qui suggère que les rétrovirus peuvent également exploiter différentes structures membranaires préexistantes dédiées au transport des composants d'une cellule à l'autre.

### Matériel infectieux transmis entre cellules

#### Particules virales libres

La nature du matériel viral infectieux transmis au niveau de ces contacts cellulaires restait mal définie. Dans le cas du transfert infectieux entre lymphocytes, il avait été proposé que des particules virales enveloppées pouvaient être émises dans une poche synaptique formée à la jonction entre les cellules engagées (5). Dans ce modèle, les composants viraux préalablement stockés à l'intérieur de la cellule infectée sont acheminés à l'interface cellulaire, où la particule virale s'assemble et bourgeonne dans la poche synaptique pour atteindre directement la surface de la cellule cible, avec laquelle elle fusionne ou par laquelle elle est internalisée via d'autres mécanismes (figure 3A). De telles structures ont été mises en évidence dans le cas de HTLV1, mais le caractère infectieux des particules virales observées dans les poches synaptiques reste controversé (11). Le transfert de nucléocapsides virales nues, non enveloppées, fut également envisagé. Dans ces deux modèles, le transfert de matériel infectieux peut s'effectuer à l'abri de tout contact avec les différentes composantes du système immunitaire.

#### Biofilm viral

La caractérisation récente de nouvelles structures infectieuses adhérant à la surface de LT de patients infectés par HTLV1 a apporté des éléments nouveaux sur la nature du matériel infectieux transmis entre cellules (12). Ces structures, appelées « biofilms viraux », sont formées de particules virales infectieuses complètes (enveloppées), enchâssées dans un cocon de matrice sécrétée par la cellule productrice de virions (figure 3B et 4A-C). Ce cocon est enrichi en résidus glycosylés et est composé de constituants de la matrice extracellulaire (collagène et agrine) et de protéines de pontage (galectine-3 et tétherine), qui permettent la cohésion et l'adhésion de ces structures à la surface cellulaire. Ces structures infectieuses complexes présentent de très fortes similitudes avec les biofilms développés par les bactéries et levures. Au niveau structural, la matrice associée aux particules virales infectieuses, potentiellement protectrice, est enrichie en protéines fortement glycosylées. Au niveau moléculaire, ce biofilm viral partage le sialyl lewis<sup>x</sup>\* et la galectine-3 avec certains biofilms bactériens (13). Néanmoins, à la différence de la matrice composant les biofilms conventionnels, majoritairement synthétisée par le microbe, la matrice du bio-

film viral est composée de constituants de la cellule hôte. Mais c'est l'infection virale qui dirige l'organisation, la composition protéique et la nature des glycosylations de cette matrice pathologique générée par la cellule hôte.

#### Un nouveau mode de dissémination...

Plus généralement, l'existence de biofilms viraux permet de porter un regard nouveau sur les modalités de transmission virale par contact cellulaire. D'un point de vue fonctionnel, le biofilm viral, préformé à la surface des cellules infectées, est essentiel pour stocker le pathogène, en concentrer le pouvoir infectieux et permettre sa dissémination lors de contacts entre cellules. En effet, ces structures infectieuses extracellulaires adhèrent à la surface des LT produisant des particules virales (figure 4A). Lors du contact entre cellule productrice de virus et cellule cible, le biofilm viral (particules virales et protéines cellulaires associées) crée un pont entre les surfaces des deux cellules engagées et adhère très rapidement à la surface de la cellule cible (figure 3B et 4D). Il permet ainsi la transmission des particules virales, qui fusionnent ensuite avec la membrane de la cellule cible.

Enfin, ce biofilm viral est primordial pour la dissémination de HTLV1. Son élimination de la surface des cellules infectées diminue de plus de 80 % leur capacité à infecter d'autres cellules (12). Ce type de structures, infectieuses, adhésives et se fractionnant au fil des contacts entre cellules, paraissent particulièrement adaptées à la dissémination de particules virales dans les zones de haute densité cellulaire comme les ganglions lymphatiques, sites de dissémination du virus entre LT, et les muqueuses, sites de pénétration du virus dans l'hôte.

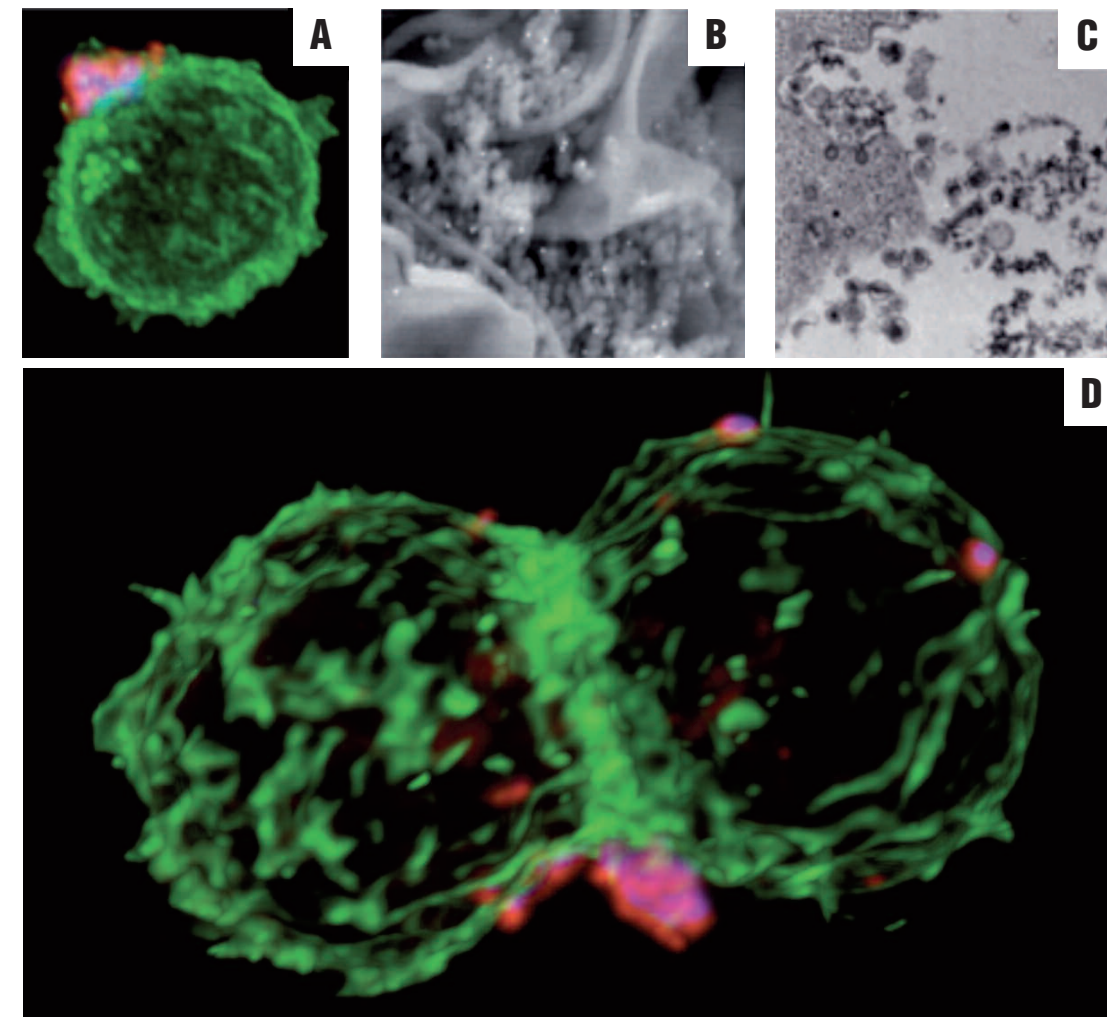
#### ... pour une nouvelle cible thérapeutique ?

De manière plus générale, la découverte d'un biofilm viral et son rôle clé dans la dissémination de HTLV1 soulèvent de nouvelles questions.

- D'autre virus induisent-ils ou utilisent-ils également ce type de structure infectieuse pour se propager dans l'hôte ? En particulier, VIH1 produit-il des structures similaires ?
- Si tel est le cas, ces structures facilitent-elles toujours la dissémination du virus ? La production de biofilms viraux pourrait résulter d'une réaction cellulaire d'enkystement visant initialement à réduire la dissémination des pathogènes. Processus qui serait finalement détourné par certains virus tel HTLV1 pour se transmettre efficacement de cellule à cellule.

Pour les virus formant de tels biofilms, ces structures constitueraient un réservoir encore non ciblé chez les individus infectés. Il serait donc intéressant de redessiner des stratégies thérapeutiques antivirales qui viseraient non seulement le virus lui-même, mais la formation de ces biofilms. Pour les particules virales infectieuses, ces derniers constituent un micro-environnement extracellulaire potentiellement protecteur contre la réponse immune, en particulier les anticorps neutralisants présents chez l'individu chroniquement infecté. Le développement de molécules qui déstructureraient le biofilm viral ou inhiberaient sa formation constitue un axe de développement thérapeutique

Figure 4 : Biofilm viral



A-C. LT infectés par HTLV1 présentant à leur surface un biofilm viral.

A. LT infecté par HTLV1 dont la surface cellulaire a été marquée à la lectine fluorescente (vert). Les protéines virales sont révélées par immunofluorescence à l'aide d'anticorps contre la protéine de capsid (bleu) et d'un sérum de patient (rouge) (12).

B. Surface d'un LT infecté par HTLV1 en microscopie électronique à balayage. Des amas de particules virales adhèrent à la surface cellulaire. La glycoprotéine d'enveloppe du virus a été marquée à l'or colloïdal (points blancs).

C. Particules virales à la surface d'un LT infecté vues au microscope électronique de transmission. Les particules virales matures se caractérisent par la présence d'un core dense aux électrons entouré d'une enveloppe. Il est à noter la présence de matériel dense aux électrons entre les particules, correspondant à de la matrice extracellulaire.

D. Contact entre un LT infecté par HTLV1 (à gauche) et un lymphocyte non infecté (à droite). Le biofilm viral adhère aux deux cellules dans la zone de contact. Les virus sont révélés comme en A.

© A.-M. PAIS-CORREIA, A. ALCOVER & M.-I. THOULOUZE/INSTITUT PASTEUR

intéressant qui permettrait de rendre son efficacité antivirale à un système immunitaire muselé par la protection conférée par ce cocon de matrice extracellulaire pathologique.

### Changer de dogme pour inventer de nouvelles stratégies de lutte

Plus généralement, les particules virales libres émises dans les milieux de culture et dans les liquides biologiques, ou même dans des aérosols, sont également

associées à des protéines et éventuellement protégées par de la matrice extracellulaire modifiée par le virus ? Il est à noter que des études récentes décrivent l'association de particules virales présumées libres avec certaines molécules sécrétées par les cellules dans les fluides biologiques. C'est en particulier le cas de VIH1, pour lequel l'association à certaines protéines du sperme facilite l'infection alors que d'autres semblent l'inhiber (14). Si tel est le cas, les différents composants cellulaires associés aux particules virales que l'on pensait libres devront être pris en compte dans les stratégies visant à limiter la dissémination des virus. ●

(14) Münch J et al. (2007) *Cell* 131,1059-71

(11) Majorovits ES et al. (2008) *PLoS One* 3(5), doi:10.1371/journal.pone.0002251

(12) Pais-Correia AM et al. (2010) *Nat Med* 16, 83-9

(13) Moran AP (2008) *Carbohydr Res* 343, 1952-65

\*7 Tétraccharide constituant le résidu terminal de glycoprotéines de la surface des leucocytes. En interagissant avec certaines lectines, qui reconnaissent spécifiquement des sucres, il joue un rôle fondamental dans l'adhésion des leucocytes, en particulier lors de leur sortie du système sanguin (diapédèse).