

Morphogenèse et trafic intracellulaire des particules sous-virales d'enveloppe du virus de l'hépatite B

PATIENT R ^(a), HOURIOUX C ^(a), SIZARET P-Y ^(a), TRASSARD S ^(a), SUREAU C ^(b), ROINGEARD P ^(a).

^a INSERM ERI19 & PFTI RIO Microscopie Electronique, Université François Rabelais, 37032 TOURS

^b Virologie Moléculaire, INTS, 75739 PARIS

Le virus de l'hépatite B possède l'étonnante propriété d'être toujours accompagné de particules sous-virales d'enveloppe. Ces particules sous-virales constituent d'ailleurs la base du vaccin contre l'hépatite B. Cependant, malgré la présence de ce vaccin, ce virus reste encore un problème majeur en santé publique, avec plus de 350 millions de porteurs chroniques dans le monde. Un grand nombre de travaux ont permis de mieux comprendre les mécanismes de réplication du virus, mais les étapes de sa morphogenèse restent encore obscures. Dans ce contexte, notre étude permet d'apporter des informations originales sur la morphogenèse des particules sous virale d'enveloppe par rapport au modèle présumé actuel. Une meilleure connaissance de cette morphogenèse pourrait permettre d'envisager de nouvelles stratégies antivirales et de mieux comprendre les mécanismes de la pathogénicité de ce virus.

1. Le virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) est un petit virus hépatotrope enveloppé, de 42 nm de diamètre, possédant un génome de type ADN, et constituant le virus prototype de la famille des *Hepadnaviridae*. Son génome à ADN partiellement double brin est contenu dans une capsidie de symétrie icosaédrique d'environ 30 nm de diamètre. Cette dernière est entourée d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les 3 protéines de surface du virus, qui interviennent dans la morphogenèse de la particule virale et dans l'infectivité du virus circulant.

Malgré l'existence d'un vaccin efficace depuis plus de 20 ans, le VHB reste encore un problème majeur de santé publique. Environ 350 millions de personnes dans le monde sont chroniquement infectées par le VHB, et présentent un risque élevé de développer une cirrhose hépatique voire un hépatocarcinome. Une meilleure compréhension des mécanismes de morphogenèse de ce virus pourrait permettre le développement de nouveaux traitements anti-viraux.

2. Travaux réalisés

Comparé à d'autre virus, une des particularités du virus de l'hépatite B (VHB) est que ses protéines de surface (S, M et L pour Small, Medium et Large) incorporées dans l'enveloppe du virion sont aussi capables de bourgeonner sous forme de particules d'enveloppe vides, qui prennent la forme de billes et de filaments. Ces particules sous-virales sont d'ailleurs produites et secrétées en très large excès par rapport au virion infectieux. Les mécanismes de morphogenèse de ces particules sous-virales d'enveloppe restent encore actuellement mal connus, mais la protéine S a été clairement montrée comme représentant l'élément nécessaire et suffisant pour leur bourgeonnement. La protéine M semble dispensable pour ce phénomène, tandis qu'il est généralement admis que la coexpression de S et de L tend à former des particules de forme filamenteuse.

Utilisant un système d'expression ayant été validé pour l'étude de la morphogenèse du virus de l'hépatite C [1, 2] nous montrons dans cette étude [3] par des méthodes d'imagerie cellulaire en microscopie confocale et électronique que les particules sous-virales d'enveloppe formées par la seule protéine S s'auto-assemblent en longs filaments branchés, au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique (RE). Ces résultats contrastent avec le modèle présumé actuel de la morphogenèse de ces particules. Ces longs filaments sont ensuite repliés et pontés entre-eux pour être compactés en structures para cristallines (Figure 1-A), afin d'être transportés par des vésicules dérivées du RE vers un compartiment intermédiaire entre le RE et l'appareil de Golgi (ERGIC). Une fois adressés dans le ERGIC par ces vésicules de transport intracellulaire, ces filaments sont ensuite progressivement relâchés (Figure 1-B). Leur longue taille représente cependant probablement une limite à leur progression par la voie de sécrétion constitutive de la cellule. Cet événement semble en effet requérir leur conversion en particules sphériques, un phénomène spontané qui a pu être observé lors de la purification de ces filaments d'enveloppe par chromatographie d'affinité et leur observation en microscopie électronique par coloration négative.

Des filaments branchés plus petits sont également formés par l'assemblage de la grande protéine L au niveau de la lumière du RE, mais ces particules ne semblent pas être compactées dans les vésicules de transport. Leur transport vers le ERGIC semble beaucoup moins efficace et ceci pourrait expliquer la rétention dans la cellule de la protéine L.

Ces résultats apportent de nouveaux éléments sur une étape importante du cycle infectieux du VHB, d'autant que l'accumulation intracellulaire des filaments d'enveloppe du VHB semble jouer un rôle important dans la pathogenèse virale.

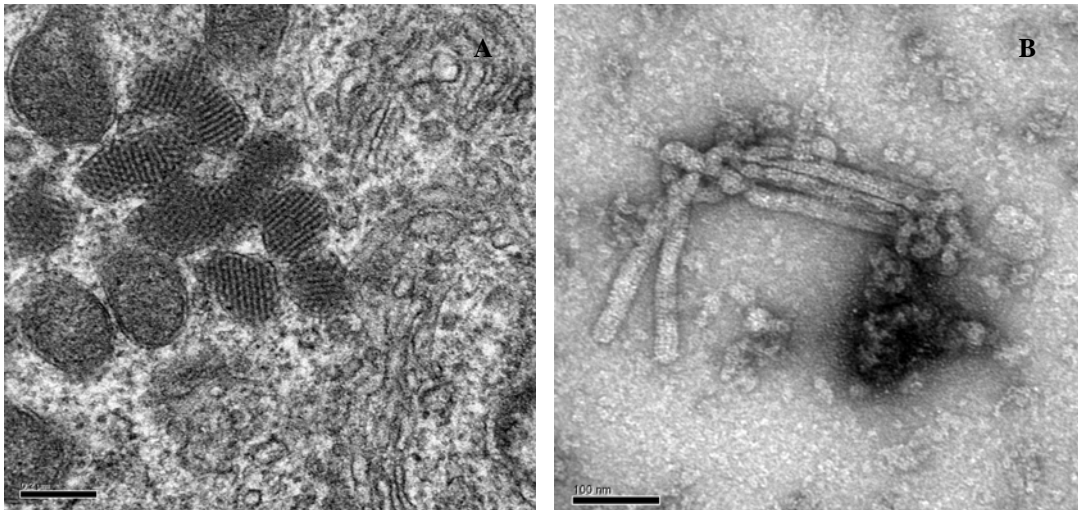


Figure 1 – Observation en microscopie électronique à transmission de particules d'enveloppe filamenteuses du virus de l'hépatite B avant et après purification. **A** : coupe cellulaire montrant l'accumulation de vésicules péri-nucléaires contenant des filaments S compactés en structure cristalline. **B** : coloration négative d'un amas de particules sous-virales d'enveloppe filamenteuses purifiées à partir de cellules produisant la protéine S seule. Barre en A, 0,2 μ m. Barre en B, 100 nm.

3. Références

- [1] Blanchard, E., D. Brand, S. Trassard, A. Goudeau, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle morphogenesis*. *J Virol* **76** (2002) 4073-4079
- [2] Blanchard, E., C. Hourieux, D. Brand, M. Ait-Goughoulte, A. Moreau, S. Trassard, P. Y. Sizaret, F. Dubois, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle budding: role of the core protein and importance of its Asp111*. *J Virol* **77** (2003) 10131-10138
- [3] Patient, R., C. Hourieux, P-Y. Sizaret, S. Trassard, C. Sureau and P Roingeard. 2007. *Hepatitis B subviral envelope particle morphogenesis and intracellular trafficking*. *J Virol*, **81** (2007), in press (Epub Jan 31, 2007)