

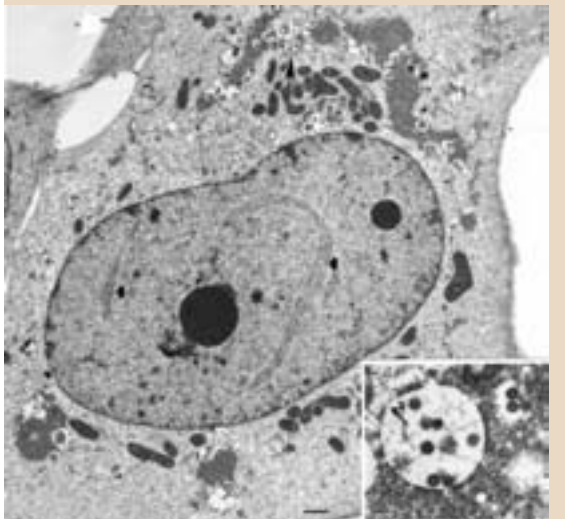
## Virologie

Les virus étudiés dans le département concernent des maladies importantes en santé publique. Les recherches portent sur les premières étapes du cycle viral, les réponses de la cellule hôte, l'immunité antivirale, les stratégies d'échappement aux défenses antivirales et les facteurs génétiques de sensibilité aux infections. Un objectif est d'identifier des molécules antivirales et de définir des approches vaccinales. Des recherches épidémiologiques sont menées par les Centres nationaux de référence et Centres collaborateurs de l'OMS essentiels à la veille et l'intervention dans le domaine des maladies émergentes.

### FIÈVRES HÉMORRAGIQUES

L'unité de **Biologie des Infections Virales Émergentes** étudie la réponse humaine à l'infection par le virus Lassa, un pathogène de niveau 4 de sécurité, et par un virus très proche mais inoffensif, Mopeia. Les cellules dendritiques et les macrophages humains sont des

*Le filament nucléaire formé de la protéine NSs dans une cellule Vero infectée par le virus de la fièvre de la vallée du Rift observée en microscopie électronique. En bas à droite, agrandissement de la région de l'appareil du Golgi d'où bourgeonnent les particules virales.*



cibles privilégiées du virus Lassa. Leur activation et les IFN de type I pourraient jouer un rôle crucial dans la pathogénicité différente des deux virus. L'étude chez le hamster de molécules antivirales actives sur le virus Nipah a montré que contrairement aux résultats d'essais cliniques humains non randomisés, la ribavirine ne prévient pas la mort des animaux. On recherche enfin des henipavirus chez les chauve-souris frugivores à Madagascar, au Cambodge et au Vietnam, en lien avec les Instituts Pasteur de ces pays. Le Cnr des Fièvres hémorragiques virales a confirmé au début de 2005 une épidémie importante de fièvre à syndrome rénal avec 253 cas confirmés. Le Cnr des Arbovirus a identifié la circulation du virus Chikungunya à La Réunion début avril 2005 ainsi qu'à Mayotte et aux Seychelles. L'unité de **Génétique Moléculaire des Bunyaviridae** étudie le virus de la fièvre de la vallée du Rift, chez les mammifères chez lesquels il est pathogène et chez les hôtes invertébrés chez lesquels il est asymptomatique. La compréhension des mécanismes impliqués pourrait permettre de produire un vaccin ou des molécules thérapeutiques. L'unité produit également des antigènes utilisés par les laboratoires de référence et les Instituts Pasteur du Réseau International pour le diagnostic de virus hautement pathogènes ou difficiles à produire. L'unité postulante **Interactions Moléculaires Flavivirus-Hôte** étudie l'origine du pouvoir pathogène des flavivirus responsables de la dengue, de la fièvre

jaune et de la fièvre du Nil occidental. Un polymorphisme génétique en position -336 du promoteur du gène DC-SIGN contrôle le risque de dengue chez les individus infectés. Une molécule de la voie interféron de type-I bloque la réplication du virus du Nil occidental en prévenant l'accumulation des ARN viraux. Enfin, l'immunisation par le virus de la rougeole ou un vecteur lentiviral recombinés pour la forme sécrétée de la glycoprotéine E du virus du Nil occidental induit une réponse immunitaire rapide et protectrice au long terme contre cette encéphalite virale.

## VIRUS RESPIRATOIRES

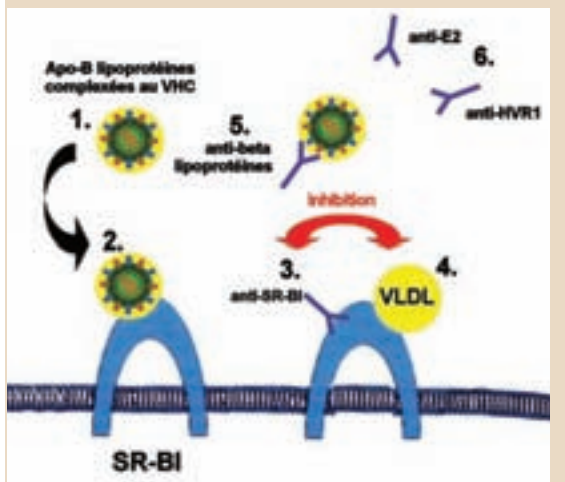
Les activités de l'unité **Génétique Moléculaire des Virus Respiratoires** portent sur les virus grippaux et en particulier sur les mécanismes de la réplication des génomes viraux et leur emploi comme vecteurs d'expression. Ces recherches ont conduit à caractériser des signaux nécessaires à l'emballage de segments génomiques. L'identification des facteurs cellulaires interagissant avec la polymérase, et celle des détermi-

nants viraux susceptibles de contribuer à la spécificité d'hôte des virus grippaux, sont en cours. La sensibilité aux anti-neuraminidases de la neuraminidase du virus de grippe aviaire H5N1 est examinée. Les études sur le coronavirus associé au SRAS, ont permis de définir les conditions d'expression des protéines structurales, notamment de la spicule, et d'évaluer le pouvoir protecteur de candidats vaccins chez la souris et le hamster. L'unité héberge le CNR Région-Nord (grippe) et le Centre collaborateur de l'OMS de référence et de recherche sur les virus grippaux et autres virus respiratoires. Dans le cadre de la grippe aviaire H5N1, le Centre a eu pour rôle de confirmer des diagnostics en collaboration avec l'Institut Pasteur du Cambodge, et contribuer au suivi de l'évolution génétique des virus. Il a poursuivi l'évaluation et le développement de techniques de détection du virus H5N1 et fourni un appui technique à de nombreux pays.

## HÉPATITE C

Un groupe de l'unité s'intéresse au virus GBV-B comme modèle du virus de l'hépatite C (VHC). Ses travaux ont permis l'identification de ressemblances supplémentaires entre ces virus, infection persistante et organisation génomique, renforçant l'intérêt de l'infection de petits primates du Nouveau Monde par le GBV-B comme modèle du VHC. Un virus chimérique GBV-B/VHC infectieux contenant la séquence d'entrée interne des ribosomes du VHC a été obtenu. Une des applications concerne l'étude de molécules à potentiel thérapeutique. L'interaction de la nucléocapside du VHC avec sa cellule-cible et les lipoprotéines de l'hôte permet de définir le rôle de ces interactions dans la physiopathologie de l'infection : on étudie les formes virales circulantes chez les sujets infectés, le rôle des lipoprotéines dans l'entrée du virus dans la cellule et la reconnaissance de récepteurs hépatiques. Une stratégie de purification de cellules infectées *ex vivo* par le VHC permet d'étudier la permissivité des cellules. Enfin, on étudie les mécanismes d'interférence du VHC avec l'induction de l'IFN, composant majeur de la réponse immune de l'hôte.

*Le VHC associé aux VLDL (1) se lie, par ces lipoprotéines à SR-BI/Clai (2). Des anticorps anti-SR-BI (3), anti-VLDL (4) et anti- $\beta$  lipoprotéines (5) inhibent l'interaction du VHC avec SR-BI/Clai, tandis que des anticorps anti-E2 ou anti-HVR1 ne l'inhibent pas (6). (From Feseb J., Février 2006).*



### **INFECTIONS VIRALES PERSISTANTES DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL**

L'unité des **Virus lents** étudie l'origine de deux maladies neurologiques dues à des infections virales persistantes du système nerveux central. Une maladie de la souris est due au virus de Theiler. Le trafic du virus dans le système nerveux, des neurones aux oligodendrocytes et aux macrophages, est étudié *in vivo* ainsi qu'*in vitro* à l'aide de cultures mixtes myélinisantes. Des gènes de sensibilité à la maladie démyélinisante ont été identifiés et le rôle dans la sclérose en plaques de leurs équivalents humains, est recherché. La deuxième maladie étudiée est due au Bornavirus. Ce virus entraîne des troubles du comportement chez les mammifères et pourrait être impliqué dans des maladies psychiatriques. Un effet de l'infection des neurones sur l'activité synaptique a été décrit.

### **SIDA**

Une équipe de l'unité des **Virus lents** étudie un vaccin anti-VIH utilisant comme vecteur une souche vaccinale du virus de la rougeole, un vaccin vivant très efficace, sûr et peu coûteux. Des virus recombinants exprimant diverses protéines du VIH ou du SIVmac ont été construits et testés chez la souris et le macaque. Des réponses neutralisant le VIH ont été obtenues. Un test de protection du macaque contre le SIV est en cours de réalisation. Une équipe de l'unité des **Virus lents** étudie les mécanismes de contrôle de la pathogenèse du sida. Il s'agit de la restriction de la réplication du VIH-1 dans les cellules permissives (lymphocytes T CD4+ d'individus résistants à l'infection et de macrophages activés par des complexes immuns) et non permissives (trophoblaste placentaire). Un second axe est celui de la régulation de l'infection et de l'activation lymphocytaire T délétère induite chez l'hôte. L'impact de l'infection sur des constituants essentiels au renouvellement ou à l'activation des cellules T est étudié chez des individus résistants et/ou capables de contrôler l'infection, des patients sous anti-rétroviraux en échec immunologique et des primates sensibles ou résis-

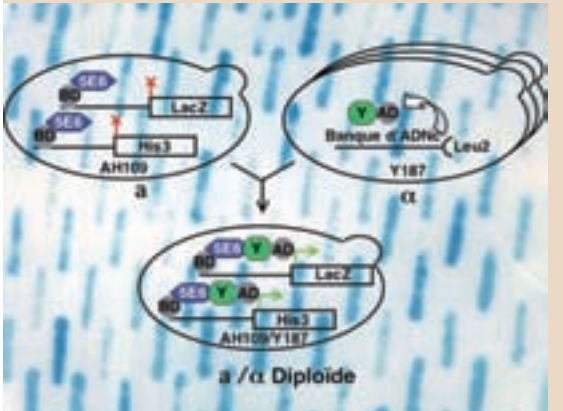
tants au sida, ou au niveau de tissus impliqués dans la transmission du virus *in utero* (placenta).

L'unité de **Physiopathologie des Infections Lentivirales** étudie le macaque infecté par un SIV pathogène (SIV-mac) comme modèle de l'infection par le VIH. On étudie : le contrôle de la réplication virale durant la primo-infection et, en particulier, le rôle de l'apoptose dans la suppression de la réponse immunitaire ; le renouvellement lymphocytaire au cours de l'infection ; les mécanismes physiopathologiques des encéphalopathies induites par le virus, un modèle du neuro-SIDA. L'un des objectifs de l'unité de **Rétrovirologie Moléculaire** est de définir des stratégies vaccinales fondées sur l'usage de souches très atténuées de SIV capables de protéger contre l'infection par un virus pathogène. Une approche originale repose sur la substitution de la région promotrice du SIV par un autre promoteur viral, ce qui a permis d'obtenir une souche protégeant contre SIVmac. La construction de SIV chimères permet d'étudier l'effet de la compartimentalisation de la réplication virale sur la pathogénicité du SIV. Un autre objectif est de comprendre le rôle que jouent des infections virales multiples des lymphocytes et les phénomènes de recombinaison, dans la variabilité du VIH *in vivo*. Le groupe **Virus et Immunité** s'intéresse aux défenses intracellulaires contre les infections virales. Les protéines cellulaires de la famille APOBEC protègent la cellule contre les infections par le VIH "exogène", et contre les rétrovirus endogènes. Ces rétrovirus endogènes sont présents à des milliers de copies dans le génome cellulaire, mais la grande majorité n'est pas fonctionnelle. Les protéines APOBEC empêchent le "mouvement" de ces rétrovirus dans le génome protégeant la cellule contre les virus endogènes et exogènes.

### **VIRUS ET CANCERS**

Les travaux de l'unité **Oncogenèse et Virologie Moléculaire** portent sur le cancer du foie humain associé aux virus des hépatites B et C. Parmi les facteurs viraux, on étudie l'activité de transactivateur transcrip-

Principe de la recherche de protéines cellulaires interagissant avec la protéine E6 du PVH5 par la technique du double hybride par croisement chez la levure.



tionnel de la protéine HBx du virus de l'hépatite B, son interaction avec les histone acétyltransférases, et les gènes du foie dont l'expression est modulée par HBx. Le rôle de la  $\beta$ -caténine dans le développement du cancer est étudié avec l'identification d'un nouveau coactivateur de la  $\beta$ -caténine dont on recherche le rôle dans des modèles murins de carcinogenèse hépatique et intestinale. De nouveaux gènes cibles de la  $\beta$ -caténine dans le contexte hépatique ont été identifiés. Un groupe étudie le transcriptome et les altérations génétiques et épigénétiques d'une tumeur embryonnaire, l'hépatoblastome.

La caractérisation de gènes de prédisposition à l'infection par les papillomavirus humains (PVH) cause de cancers chez l'homme, est un enjeu majeur. Les gènes *EVER1* et *EVER2* de sensibilité au PVH5 oncogène ont été identifiés. On cherche à comprendre la fonction des protéines *EVER* dans une cellule normale et une cellule infectée et on analyse la stratégie développée par les PVH oncogènes pour se multiplier et transformer les cellules infectées. Les protéines *EVER* forment un complexe avec une protéine transporteuse de zinc. Ce complexe inhibe la voie de signalisation des MAP kinases responsable de la synthèse de facteurs de transcription nécessaires à l'expression du génome viral. Une mutation dans les gènes *EVER* supprime cette inhibition. La protéine E6 du PVH5 bloque la voie

de signalisation du TGF- $\beta$ 1 qui joue un rôle important dans la régulation négative du cycle cellulaire : la levée de ce blocage pourrait favoriser la réplication de l'ADN viral et conduire à la transformation des cellules infectées.

## VIRUS ENTÉRIQUES

Le laboratoire des **Stratégies Antivirales** étudie les entérovirus, en particulier le poliovirus, agent de la poliomyélite paralytique, et les rotavirus, cause d'un tiers des gastroentérites graves des jeunes enfants. Il s'intéresse aux entérovirus recombinants, impliqués dans de récentes épidémies de poliomyélite à Madagascar, en collaboration avec l'Institut Pasteur de Madagascar. Parmi les stratégies antivirales de petits ARN homologues du génome viral peuvent guérir des populations cellulaires infectées de manière persistante depuis plusieurs mois par le virus de la poliomyélite. On étudie aussi les aspects de la réponse cellulaire à l'infection qui sont impliqués dans les pathologies dues à ces virus humains entérotropes. La même unité cherche à développer des molécules à large spectre inhibant la réplication des Rhabdoviridae (virus de la rage, VSV) et des Paramyxoviridae (virus de la rougeole, virus respiratoire syncytial) en ciblant les éléments du complexe de réplication. Deux approches complémentaires sont poursuivies en parallèle. Une étude des relations structure/fonction et des interactions des éléments du complexe entre eux et avec certains facteurs de l'hôte ; une approche à haut débit permettant d'isoler des molécules capables d'interférer avec la réplication. Des peptides montrant une haute affinité pour le complexe de réplication sont évalués pour leur capacité inhibitrice sur la réplication virale.