



Newsletter 25 – janvier 2017

« Parti pris pour un maintien des recherches fondamentales, translationnelles, et cliniques sur le virus de l'hépatite C humaine (VHC) »

Docteur David Durantel, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (CRCL), INSERM U1052

Il est encore très difficile de mesurer toute la portée historique dans le domaine de la santé publique des récents progrès de la prise en charge thérapeutique des hépatites chroniques de type C. Si l'expression « révolution thérapeutique » a souvent été utilisée pour la qualifier, on peut penser que l'impact réel de cette dernière ne pourra être vraiment mesuré qu'après plusieurs années d'implémentation et une large diffusion de ces solutions thérapeutiques, notamment aux pays à faibles ressources. En revanche, nous pouvons d'ores et déjà dire qu'en termes de « Recherche & Développement » *sensus stricto*, et s'agissant de la découverte de nouveaux antiviraux, le VHC représente un cas d'école. En effet, il me semble que l'interaction productive entre les domaines de la chimie médicinale et la virologie cellulaire/moléculaire a atteint ici un paroxysme et devrait servir d'exemple, voire d'idéal à atteindre, s'agissant des autres hépatites virales chroniques.

Pour autant, est-ce que ce succès indéniable signifie qu'il faut arrêter progressivement, ou même soudainement, les efforts de recherche de notre communauté sur le VHC et les maladies associées ? Certainement pas ! Mais cette affirmation résiste-t-elle à une analyse méthodique et rétrospective ? Pour s'en assurer, je vais me livrer à une séance de questions/réponses. L'idée n'étant pas l'exhaustivité, mais de donner quelques exemples précis pour étayer un point de vue, mon point de vue...

Est-ce qu'il faut poursuivre les travaux de recherche de nouveaux anti-VHC ?

S'il y a un champ d'investigation qui va *de facto* subir un coup d'arrêt, c'est bien la recherche de nouveaux agents antiviraux directs (AAD). En effet, vu le nombre et la qualité des molécules déjà existantes et ciblant presque toutes les activités enzymatiques et fonctions virales, on voit mal comment la recherche pourrait rester dynamique dans ce domaine. Les molécules dans les « tuyaux » de développement par les industriels vont encore permettre de développer quelques médicaments, mais tout cela va bien normalement se tarir. La vie des médicaments se poursuivra en fonction de l'efficacité de chacun dans la vie réelle et d'autres considérations qui dépassent le cadre de ce commentaire.

En revanche, la R&D autour des antiviraux indirects, c'est-à-dire les molécules qui ne ciblent pas directement le virus (= agents ciblant l'hôte ; ACH), mais plutôt des fonctions cellulaires provirales, il y a sans doute encore beaucoup à faire, et il faut savoir que ce type d'agents peut être actif contre plusieurs pathogènes, rentabilisant ainsi les efforts de recherche. Dans ce domaine, le VHC est particulièrement adapté comme un modèle de « virus ARN à polarité positive ». Citons par exemple la découverte et le développement, certes incomplets d'un point de vue clinique, mais somme toute encourageants, d'une molécule antisens (Miravirsén ou SPC3649) ciblant le microRNA-122 qui est important pour la réplication du VHC ^{1,2} ; ou bien encore, la découverte que l'activité de la phosphatidylinositol-4-kinase est cruciale pour

la réplication du VHC, mais aussi d'autres virus ARN (ex : virus de la Dengue) qui utilisent des membranes intracellulaires pour se répliquer, et donc une cible potentielle pour des ACH à large spectre.

Citons enfin la très belle étude du groupe du Pr Baumert (Univ. Strasbourg/INSERM) qui a montré que des anticorps monoclonaux contre le récepteur d'entrée « Claudin-1 » (c.-à-d. inhibiteurs d'entrée) pouvaient conduire, contre toute attente, à la clairance d'une infection déjà établie en modèle murin ³. Ces travaux pourraient bien être source d'inspiration pour le développement d'inhibiteurs d'entrée (ex : Myrcludex ciblant le récepteur NTCP) pour les infections de types B et D.

La poursuite de ces travaux sur les interactions VHC/cellules pourrait permettre de faire d'autres découvertes donnant lieu au développement d'autres ACH, utiles pour combattre d'autres infections virales ⁴⁻⁶.

Est-ce qu'il faut continuer à travailler sur les molécules qui sont devenues des médicaments ?

C'est une évidence ! Au-delà des aspects de résistance *in vivo* que j'évoquerai après, il faut savoir qu'il y a des AAD dont le(s) mécanisme(s) d'action(s) précis n'est (ne sont) pas encore complètement connu(s). C'est le cas notamment des inhibiteurs de NS5A. Citons à ce titre la belle étude de Boson et collègues (CIRI/INSERM), à paraître dans *Gastroenterology*, qui a montré que le daclastavir, en plus d'inhiber la formation des complexes de réplication du VHC ⁷, permet aussi de bloquer le recrutement de l'ARN viral au site d'assemblage des virions ⁸, expliquant ainsi les cinétiques d'action de ces inhibiteurs : d'abord, ils inhibent la néo-production de virions et ensuite, ils inhibent la réplication *sensus stricto*. Cette diversité d'action des inhibiteurs de NS5A pourrait sans doute expliquer le fait que la combinaison de deux d'entre eux semble permettre la restauration de l'efficacité antivirale sur une souche virale résistante par un mécanisme de resensibilisation via un changement allostérique de la conformation de NS5A ⁹.

Un autre exemple qui permet de répondre par l'affirmative à la question initiale est la ribavirine. Si elle n'est pas un AAD pour le VHC, son utilité dans les régimes anti-VHC a pendant longtemps été incontestable. Cette drogue, qui est également utile contre d'autres infections virales (notamment VHE ^{10,11}), n'a pas encore révélé tous ces secrets s'agissant de ses mécanismes d'action. Une étude récente a permis, avec le modèle d'étude du VHC, de montrer que la ribavirine permettait de potentialiser l'action de l'interféron en agissant comme un régulateur épigénétique capable de remettre à zéro l'expression des ISGs (gènes induits par l'IFN) ¹².

Il semble donc important de poursuivre les travaux de recherche sur les molécules déjà utilisées en clinique, car il se pourrait bien qu'ils apportent des informations s'agissant de la supériorité potentielle de certaines molécules vis-à-vis d'autres, même si les molécules sont dans la même classe thérapeutique.

Est-ce que la résistance virale et/ou la non-réponse aux traitements est un problème nécessitant la poursuite des efforts de recherche ?

Avec le développement de stratégies combinatoires mettant en jeu des cocktails de 2-3 molécules ciblant 2-3 fonctions virales différentes, l'ensemble de la communauté pense, et les premiers résultats cliniques (essais POLARIS, MAGELLAN, C-EDGE CO-STAR...) semblent le montrer, qu'il ne devrait plus y avoir de problèmes de non-réponse ou rechute qui étaient auparavant liés aux génotypes ou/et à l'avancement de la maladie. Est-ce que l'émergence de souches virales résistantes, qui existe avec les traitements actuels et qui peut être associée à la non-réponse ou rechute sous traitement ¹³, disparaîtra pour autant avec ces nouveaux traitements ? Il serait bien présomptueux, sur la base des données tangibles actuelles, de penser que le virus ne trouvera pas son chemin vers la résistance ! Bien sûr ce problème deviendra sans doute très vite anecdotique, si tant est que les meilleurs traitements soient donnés à tous (nous reviendrons sur cette

notion d'universalité des traitements plus tard); mais néanmoins faut-il considérer que toute activité de recherche de résistance en virologie médicale et dans le cadre de travaux translationnels ne servirait à rien ? Personnellement, je pense qu'il serait souhaitable de garder une telle activité dans quelques centres experts !

***Est-ce que le succès thérapeutique permet d'enrayer la progression vers le carcinome hépatocellulaire ?
Et question sous-jacente : est que les AAD favorisent la récurrence des CHC ?***

Il s'agit de questions très importantes qui ne doivent pas être traitées à la légère. Les données précoces qui ont émergé de l'utilisation clinique dans le cadre des essais thérapeutiques ou en « vie réelle » des nouvelles options thérapeutiques ont souvent été obtenues avec des cohortes de taille modeste, des patients qui étaient déjà avancés dans la maladie hépatique (F3/F4), et aussi avec un faible recul. La question qui se pose est : à partir de quel moment l'avancement dans la maladie fait que le bénéfice de l'éradication virale est compromis par « l'empreinte pathologique » déjà établie au cours des dizaines d'années d'infection chronique ? Un travail remarquable, avec un long suivi (6,4 à 11,4 années) après clairance virale par traitement à base d'IFN, avait déjà montré que toutes les causes de mortalité étaient réduites après un succès thérapeutique ¹⁴. Avec les traitements récents, le temps fera son œuvre et des données très robustes émergeront. En France, la mise en place des grandes cohortes nationales (Hepather, Cirvir, Cupilt) devrait permettre d'obtenir de telles données. Deux études s'appuyant sur ces cohortes ont récemment été publiées et montrent toutes deux le bénéfice de la clairance virale s'agissant de la réduction du risque de progression vers le CHC ^{15,16}. Mais un recul encore plus important sera nécessaire pour définitivement trancher la question, et le financement et le maintien de ces cohortes sont donc une priorité.

Pour la deuxième question, il est bon de (re)dire ici qu'il faut, en sciences comme en médecine, être prudent et ne pas traiter à la légère des questions de ce type pour faire « le buzz ». Il y a eu cette année (2016) plusieurs publications qui ont avancé le fait que les AAD pourraient favoriser la réémergence du CHC chez les patients traités ^{17,18}. Si l'inquiétude et les observations peuvent être réelles, il serait de bon ton d'avoir une « approche collective et intégrée » s'appuyant sur de très larges cohortes (à l'échelle européenne ?) de patients. Le débat va continuer à être très vif sur cette question, sachant que les données émanant des cohortes françaises ne confirment pas cette tendance à l'augmentation de la récurrence du CHC après traitements avec des AAD ^{19,20}. Il va sans dire que la raison doit prendre le pas sur la passion. Nous attendons avec impatience qu'une réponse claire soit apportée à cette question, et pour se faire, mais vous me voyez déjà venir, il ne faut pas baisser la garde et poursuivre les efforts de recherche translationnelle et médicale.

Faut-il stopper tout effort de compréhension des mécanismes de la pathogenèse induite par le VHC ?

S'il est maintenant irréfutablement admis que les infections par le VHC peuvent conduire au CHC, les mécanismes fins de la pathogenèse viro-induite ne sont à ce jour que partiellement connus. Ceci est au moins partiellement dû au manque de modèles animaux (autre que l'humain lui-même) pour réaliser des travaux de recherche pertinents, mais aussi à la complexité des mécanismes mis en jeu allant des dérégulations métaboliques aux dérégulations des voies de signalisation conduisant à la transformation cellulaire, en passant par des mécanismes complexes de régulation épigénétique. Il faut cependant savoir que les modèles disponibles (cellulaires et murins), ainsi que l'accès à des échantillons humains, ont permis, et permettront encore demain, de faire progresser nos connaissances sur le sujet. Et pour reprendre un argument déjà utilisé plus tôt, ce savoir ne sera pas utile que dans le domaine du VHC ; il le sera de manière

plus générale dans les domaines de recherche aussi variés que ceux de la NAFLD/NASH, de la fibrose, des dérégulations métaboliques, et bien sûr de la carcinogenèse hépatique en général. Dans les faits notables sur ce sujet, notons par exemple cette excellente publication, parue dans *Cell*, montrant que le VHC était capable de séquestrer le microARN-122 (qui est crucial pour garder un phénotype différencié aux hépatocytes et dont l'expression est perdue pendant la carcinogenèse²¹) via son génome, impactant ainsi de manière importante sur le circuit de régulation génique médié par ce microARN²². Dans un registre plus métabolique, deux études importantes ont très récemment montré que le VHC était capable de changer très précocement le métabolisme cellulaire normal vers un métabolisme tumoral (« warburg-like » pour schématiser) dépendant notamment de la glutamine²³, et des inhibiteurs des voies de régulation principales impliquant que les récepteurs nucléaires PPARα et FXR non seulement avaient un effet antiviral, mais aussi permettaient de contrer les effets néfastes de ces changements métaboliques viro-induits²⁴.

Et pour finir, le développement d'un vaccin contre le VHC reste-t-il un enjeu important à l'ère des antiviraux victorieux et à l'orée d'une potentielle utilisation universelle ?

Dans l'histoire de la médecine, aucune maladie infectieuse n'a été éradiquée par la seule utilisation d'antiviraux. Seul un vaccin a réussi ce tour de force. Mais certains paradigmes ont changé récemment. Ainsi, des antiviraux sont utilisés afin de prévenir les infections par le VIH, et le principe, voir l'intérêt, de la vaccination est parfois remis en question, y compris dans les pays les plus développés. Le cas du virus de l'hépatite B est emblématique. L'effet bénéfique de la vaccination contre le VHB, notamment en termes de prévention du CHC, a été incontestablement démontré avec les grandes cohortes taiwanaises²⁵. Et pourtant, quand on regarde en France, cette vaccination est toute sauf universelle ! Dans ce contexte, le développement d'un vaccin contre le VHC ne se fera pas sans difficulté, la principale étant purement scientifique, puisque à l'instar de la situation qui existe pour le VIH, la grande variabilité du virus et sa propension à muter et à échapper à une réponse par anticorps neutralisants empêche une réponse systématique. Mais l'enjeu en vaut la peine²⁶. Si en France, le dépistage des infections par le VHC se fait plutôt bien, ce n'est pas le cas dans bien des pays y compris les pays les plus industrialisés (ex : USA). Par conséquent, il est difficile d'imaginer que les AAD vont permettre d'enrayer l'épidémie. Je ne vais pas ici faire un état des lieux exhaustif des travaux qui sont fait de par le monde pour développer un vaccin contre le VHC, mais j'ose espérer que la France participera à cet effort collectif. Dans les travaux des équipes nationales, saluons notamment les efforts de l'équipe du Pr Roingard (Univ. Tours) pour développer un vaccin bivalent VHB/VHC en utilisant la structure des virions du VHB pour porter les antigènes du VHC²⁷, ou encore les travaux récents sur le mapping détaillé des épitopes au sein des glycoprotéines d'enveloppe et leur masquage par l'apolipoprotéine E^{28,29}. Encore une fois, ce travail sera de longue haleine, et les moyens humains et financiers seront au cœur des enjeux.

Le mot de la fin...

La liste des domaines de recherche qui ont été et seront encore impactés par des travaux sur le VHC est comme vous l'avez maintenant compris très longue. Si je voulais prendre un dernier exemple, je citerai ce travail d'une équipe israélienne qui, tout en ayant un centre d'intérêt sur le VHC, a réussi à montrer que l'on pouvait faire proliférer des hépatocytes primaires *in vitro*, ce qui pourrait avoir des conséquences très bénéfiques en médecine régénérative ou en thérapie cellulaire³⁰.

C'est pourquoi, après ce long plaidoyer et en ces temps de campagne électorale, je prends personnellement parti pour un soutien maintenu à la recherche sur le VHC, sans pour autant, bien sûr, que cela n'impacte l'effort croissant et nécessaire de recherche sur tous les autres virus hépatotropes d'importance clinique (virus des hépatites B, D, et E). Il ne reste plus qu'à espérer que nous ayons les moyens financiers et humains pour le faire. Bonne année à tous les chercheurs de tous horizons !

Références (la plupart des références citées ci-après provient de laboratoires Français !) :

1. Janssen, H. L. et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *New England Journal of Medicine* 368, 1685-1694, (2013).
2. Ottosen, S. et al. In vitro antiviral activity and preclinical and clinical resistance profile of miravirsin, a novel anti-hepatitis C virus therapeutic targeting the human factor miR-122. *Antimicrob Agents Chemother* 59, 599-608, (2015).
3. Mailly, L. et al. Clearance of persistent hepatitis C virus infection in humanized mice using a claudin-1-targeting monoclonal antibody. *Nature biotechnology* 33, 549-554, (2015).
4. Bianco, A. et al. Metabolism of phosphatidylinositol 4-kinase IIIalpha-dependent PI4P Is subverted by HCV and is targeted by a 4-anilino quinazoline with antiviral activity. *PLoS pathogens* 8, e1002576, (2012).
5. Leivers, A. L. et al. Discovery of selective small molecule type III phosphatidylinositol 4-kinase alpha (PI4KIIIalpha) inhibitors as anti hepatitis C (HCV) agents. *Journal of medicinal chemistry* 57, 2091-2106, (2014).
6. Reiss, S. et al. Recruitment and activation of a lipid kinase by hepatitis C virus NS5A is essential for integrity of the membranous replication compartment. *Cell host & microbe* 9, 32-45, (2011).
7. Berger, C. et al. Daclatasvir-Like Inhibitors of NS5A Block Early Biogenesis of Hepatitis C Virus-Induced Membranous Replication Factories, Independent of RNA Replication. *Gastroenterology* 147, 1094-1105.e1025, (2014).
8. Boson, B. et al. Daclatasvir Prevents Hepatitis C Virus by Blocking Transfer of Viral Genome to Assembly Sites. *Gastroenterology*, in press.
9. Sun, J.-H. et al. Resensitizing daclatasvir-resistant hepatitis C variants by allosteric modulation of NS5A. *Nature* 527, 245-248, (2015).
10. Kamar, N. et al. Ribavirin for Chronic Hepatitis E Virus Infection in Transplant Recipients. *New England Journal of Medicine* 370, 1111-1120, (2014).
11. Kamar, N. et al. Ribavirin Therapy Inhibits Viral Replication on Patients With Chronic Hepatitis E Virus Infection. *Gastroenterology* 139, 1612-1618, (2010).
12. Testoni, B. et al. Ribavirin restores IFNalpha responsiveness in HCV-infected livers by epigenetic remodeling at interferon stimulated genes. *Gut* 65, 672-682, (2016).
13. Pawlotsky, J. M. Hepatitis C Virus Resistance to Direct-Acting Antiviral Drugs in Interferon-Free Regimens. *Gastroenterology* 151, 70-86, (2016).
14. van der Meer, A. J. et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *Jama* 308, 2584-2593, (2012).
15. Ganne-Carrié, N. et al. Nomogram for individualized prediction of hepatocellular carcinoma occurrence in hepatitis C virus cirrhosis (ANRS CO12 CirVir). *Hepatology* 64, 1136-1147, (2016).
16. Nahon, P. et al. Eradication of Hepatitis C Virus Infection in Patients With Cirrhosis Reduces Risk of Liver and Non-Liver Complications. *Gastroenterology* 152, 142-156.e142, (2017).
17. Conti, F. et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *Journal of Hepatology* 65, 727-733, (2016).
18. Reig, M. et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *Journal of Hepatology* 65, 719-726, (2016).
19. Carrat, F. et al. Reply to "A strong message is needed to address the issue of HCC recurrence after DAA therapy". *Journal of Hepatology* 65, 1269-1270, (2016).
20. CirVir, C. O. & Co23 Cupilt cohorts, T. A. c. s. g. o. h. c. Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: Data from three ANRS cohorts. *Journal of Hepatology* 65, 734-740, (2016).
21. Bandiera, S., Pfeffer, S., Baumert, T. F. & Zeisel, M. B. miR-122 – A key factor and therapeutic target in liver disease. *Journal of Hepatology* 62, 448-457, (2015).
22. Luna, Joseph M. et al. Hepatitis C Virus RNA Functionally Sequesters miR-122. *Cell* 160, 1099-1110, (2015).
23. Lévy, P. L. et al. Hepatitis C virus infection triggers a tumor-like glutamine metabolism. *Hepatology*, (2016).
24. Levy, G. et al. Nuclear receptors control pro-viral and antiviral metabolic responses to hepatitis C virus infection. *Nat Chem Biol* 12, 1037-1045, (2016).
25. Chang, M.-H. et al. Long-term Effects of Hepatitis B Immunization of Infants in Preventing Liver Cancer. *Gastroenterology* 151, 472-480.e471, (2016).
26. Baumert, T. F., Fauvelle, C., Chen, D. Y. & Lauer, G. M. A prophylactic hepatitis C virus vaccine: A distant peak still worth climbing. *Journal of Hepatology* 61, S34-S44, (2014).
27. Beaumont, E., Patient, R., Hourieux, C., Dimier-Poisson, I. & Roingeard, P. Chimeric hepatitis B virus/hepatitis C virus envelope proteins elicit broadly neutralizing antibodies and constitute a potential bivalent prophylactic vaccine. *Hepatology* 57, 1303-1313, (2013).
28. Fauvelle, C. et al. Apolipoprotein E Mediates Evasion From Hepatitis C Virus Neutralizing Antibodies. *Gastroenterology* 150, 206-217.e204, (2016).
29. Pierce, B. G. et al. Global mapping of antibody recognition of the hepatitis C virus E2 glycoprotein: Implications for vaccine design. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, E6946-E6954, (2016).
30. Levy, G. et al. Long-term culture and expansion of primary human hepatocytes. *Nat Biotech* 33, 1264-1271, (2015).