

Virus de l'Hépatite C - Physiopathologie -

Pierre-Marie Roger
Service d'Infectiologie,
Centre Hospitalier Universitaire de Nice
Mai 2004

Quel est le problème ?

- pathologie fréquente
- gravité potentielle
- **hétérogénéité d'évolution inter-patient**
 - « plusieurs » VHC
 - hôtes ne se ressemblent pas
 - effets secondaires thérapeutiques fréquents et potentiellement graves

Problème de santé publique
=
consensus

opposition Santé Publique / Soins individualisés ?

INTERET DE LA PHYSIOPATHOLOGIE

Approche du problème

- Nature des virus VHC
- Histoire naturelle de la maladie VHC
 - que fait notre immunité ?
- Impact des traitements
 - quels résultats ?
- Physiopathologie des hépatites chroniques C
- Quelles perspectives ?

Structure du VHC

- Virus enveloppé, ARN+ simple brin de la famille *Flaviviridae*
- génome de 9600 nucléotides, codant pour 1 polyprotéine
- simple... mais importantes variations génétiques

Les variations génétiques du VHC

- Taux de mutations nucléotidiques : 10^{-3} /an
 - Production virale: 10^{12} /jour
 - taux de mutations variable
 - interactions protéines virales / humaines variables
 - notion de quasi-espèces
- Plus de 90 génotypes répertoriés, 6 groupes principaux
 - Répartition inégale sur le globe

Le cycle viral

- ❖ Cibles cellulaires: hépatocytes, cellules B et monocytes... et cellules biliaires ?
- ❖ Récepteurs: CD81, récepteurs aux VLDL et glycoaminoglycans
- ❖ protéases virales et cellulaires:
 - polyprotéine \rightarrow 10 protéines
 - Structurale: core, E1, E2
 - Non-structurale: de NS2 à NS5B
 - Interactions génome / protéines structurales \rightarrow virions
- ❖ Diamètre de 30 à 50 nm, mais variabilité potentielle
- ❖ Beaucoup d'incertitude par quasi-absence de culture cellulaire

Modèles existants de cultures de VHC (1)

- Structures et fonctions de la plupart des protéines connues
- Mais interactions protéine / protéine et interactions virus / cellule hôte méconnues
- Objectifs: trouver de nouvelles cibles thérapeutiques...et donc de nouveaux traitements
- Echecs des cultures sur lignées cellulaires; production faible et non reproductible
- Modèle animal réduit à l'utilisation du chimpanzé...

Modèles existants de cultures de VHC (2)

Depuis 1999, 2 modèles sont potentiellement utilisables

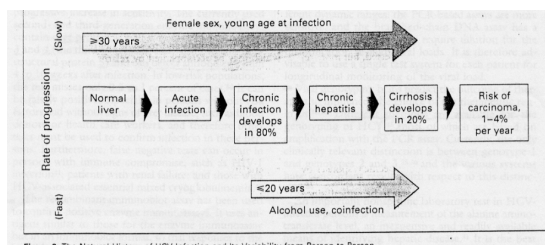
- Culture primaires d'hépatocytes
 - mais résultats encore dépendants des donneurs et des souches infectantes
- Souris transgéniques avec foie humain
- Technique des « réplicons »
 - modification génomique avec délétion des régions structurales, insertion d'une amorce de virus de réplication aisée
 - culture exclusivement dans lignée Huh 7, mais pas de virions complets...

l'ensemble des travaux portant sur les modèles cellulaires / tissulaires/ animaux de culture du VHC conduisent au constat de l'absence de pouvoir pathogène évident...

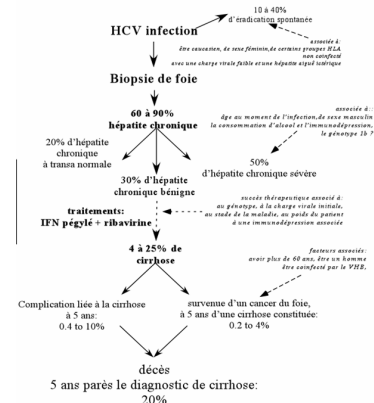
Approche du problème

- Nature des virus VHC
- Histoire naturelle de la maladie VHC
 - que fait notre immunité ?
- Impact des traitements
 - quels résultats ?
- Physiopathologie des hépatites chroniques C
- Quelles perspectives ?

Modalités évolutives de l'hépatite C



Laurer G.M., Walker B.D., N Eng J Med 2001



Mécanismes d'action non démontrés:
les données convergent pour évoquer une efficacité indirecte, par l'amélioration des défenses immunes...

Immunité anti-VHC

- **VHC immunostimulants et pouvoir transformant**
- **Données épidémiologiques**
 - Immunité innée en grande partie inconnue
 - variabilité inter individuelle +++ non liée à la souche virale
 - immunité humorale spécifique non protectrice
 - Immunité s'altérant dans le temps, quelque soit les modalités évolutives
- **Données bio-cliniques**
 - Ac détectables en fin de 2^{ème} mois après contamination
 - IgM non spécifique de la primo infection
 - 0.001% infecté sans anticorps
 - ces Ac spécifiques n'empêchent pas la réinfection par la même souche virale

Immunité cellulaire spécifique

La majorité des travaux se sont intéressés aux facteurs d'éradication virologique

- Intensité de la réponse T CD4⁺ associée à l'éradication virale
 - Interactions favorables entre T CD4⁺ et T CD8⁺
- Rechute virologique associée à l'altération de cette réponse T
 - Échappement virologique possiblement par mutants résistants
 - Induction d'une apoptose des cellules T
- Amélioration de cette réponse T sous interféron...
mais un seul travail en ce sens

Rechute infection à VHC après perte des T CD4 spécifiques

- 38 patients avec hépatite C aiguë, suivi longitudinal
- analyse activité T : prolifération après exposition Ag VHC, synthèse IFN- γ et IL-4, relation disparition T spécifique et rebond CV
- évolution favorable:
 - > 70% réponse Ag viraux versus < 34% si rechute
 - concernent +++ les T CD4+
 - sécrétion IFN- γ +++ et pas d' IL-4; maintient profil cytokinique TH1 en longitudinal

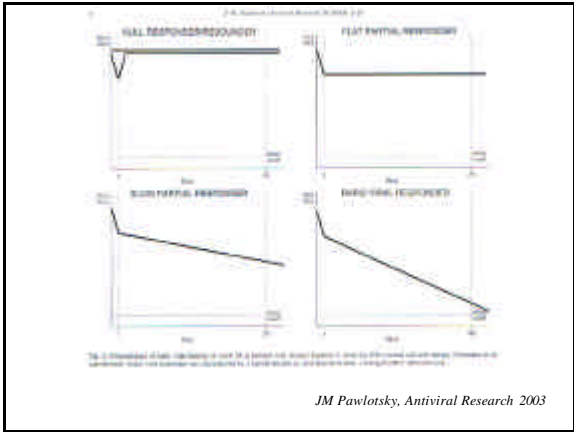
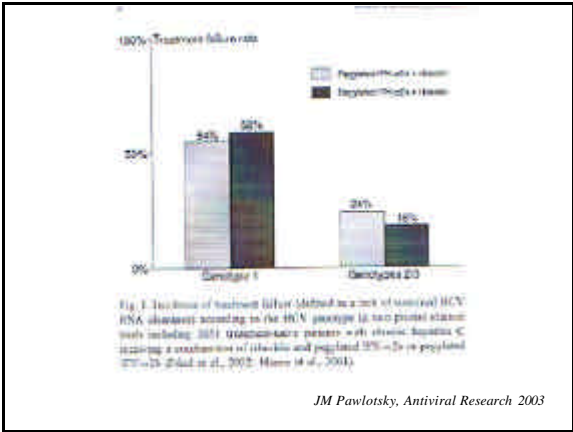
Gerlach et al, Gastroenterology 1999

Approche du problème

- Nature des virus VHC
- **Histoire naturelle de la maladie VHC**
 - **que fait notre immunité ?**
- Impact des traitements
 - quels résultats ?
- Physiopathologie des hépatites chroniques C
- Quelles perspectives ?

Impact du virus sur la voie IFN- α

- VHC interfère avec la signalisation IFN- α
- NS5A interfère avec la PKR (*RNA-stimulated protein kinase*)
 - Par inhibition de sa dimérisation
 - Si mutations: efficacité thérapeutique, documentée pour génotype 1b
- Une région déterminée de NS5A (ISDR = *Interferon Sensitive Determining Region*), lieu de mutations, interfère directement avec cette signalisation
- E2 pourrait également interférer avec la signalisation via IFN- α
 - Par phosphorylation de PKR



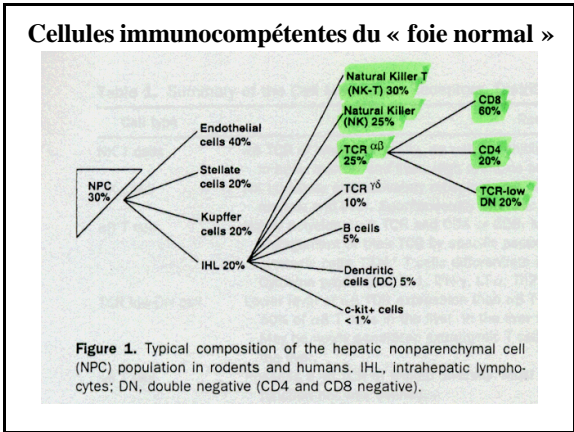
Mécanismes d'action non démontrés:
les données convergent pour évoquer une efficacité indirecte, par l'amélioration des défenses immunes...

- ### Approche du problème
- Nature des virus VHC
 - Histoire naturelle de la maladie VHC
 - que fait notre immunité ?
 - Impact des traitements
 - quels résultats ?
 - Physiopathologie des hépatites chroniques C
 - Quelles perspectives ?

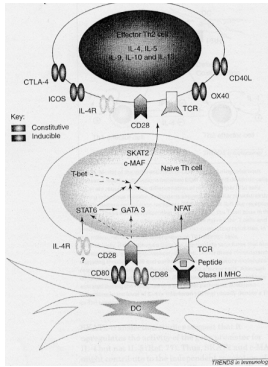
Immunité / Charge Virale au cours des hépatites chroniques C

Evolution vers l'hépatite chronique = règle usuelle

- Pas de données immunologique sur 20 ans...
- Raréfaction des clones T CD4⁺ anti-protéines non structurales
- Quasi-absence des clones T CD8⁺ spécifiques
 - relation entre ces T CD8⁺ spécifiques et le taux de transaminases
- Dissociation CV et quantité de cellules T spécifiques
 - dissociation entre CV plasmatique et CV tissulaire



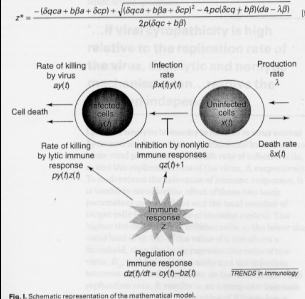
Pourquoi des différences de réponses immunes entre individus ?



Quelques molécules impliquées dans la coopération cellulaire...

Jankovic D., Zhuogong L., Gause W.C. et al, Trends in Immunology, 2001

Dynamique et homéostasie cellules T au cours des infections virales ?

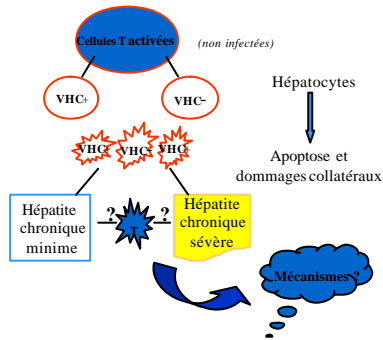


modèles mathématiques...

- Dépendantes des antigènes
- Recrutement lymphoïde
- via IFN α
- Recrutement sous populations T variable dans le temps
 - d'abord T CD4
 - puis T CD8
 - cellules B « viro-dépendantes »
- ✳️ recrutement \pm spécifique
- ✳️ cytokines
- ✳️ superantigènes
- ✳️ interactions cellules T- APC
- ✳️ production thymique

régulation par apoptose

Lien homéostasie cellules T et évolution hépatite chronique C ?



Raisons théoriques/expérimentales pour un rôle de l'apoptose des cellules T dans la physiopathologie de l'hépatite chronique C

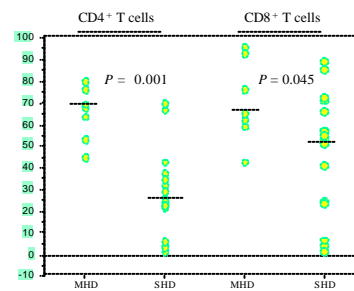
- Rôle des B mineurs, rôle des T CD4⁺ majeur
- Infection chronique = inflammation chronique
- Ag viraux = afflux de cellules immunocompétentes
- Activation « chronique » des cellules T
 - Hépatocytes: présentation Ag mais stimulation T imparfaite
- Expression de la voie Fas/Fas-L
 - Induite physiologiquement
 - Induite par des protéines virales
- « Perturbation » chronique du réseau des cytokines
 - Excès de TNF, défaut d'IL-2, balance IL-10 / IL-12 ?
- T CD8 cytotoxiques par induction d'apoptose...

REALITES DU PHENOMENE APOPTOTIQUE (1)

Analyse au Hoechst

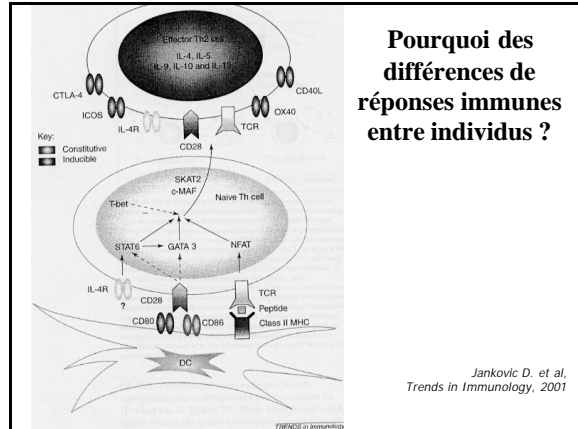
Intensité fluorescente

Apoptose cellules T et Score METAVIR



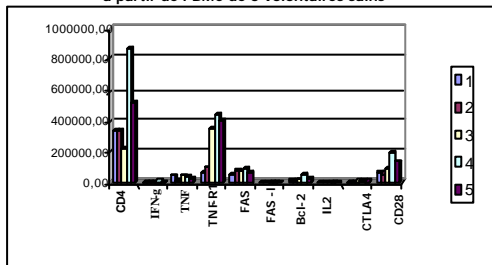
Premières constatations

- Compartmentalisation immunitaire
 - intérêt étude des lympho périphériques ?
- Différence apoptose contrôles / VHC
- Apoptose cellules T : seul paramètre biologique corrélé à l'histo-pathologie
 - non liée à la charge virale
 - % apoptose >> % cellules spécifiques
 - > interactions virus - hôte délétères

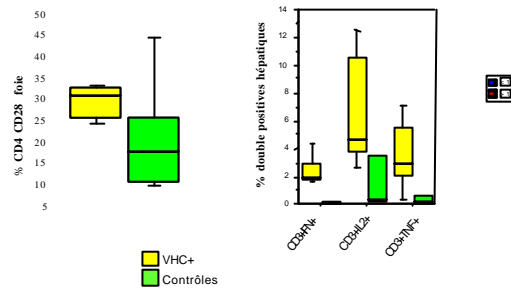


Approche Moléculaire Voies d'activation / apoptose

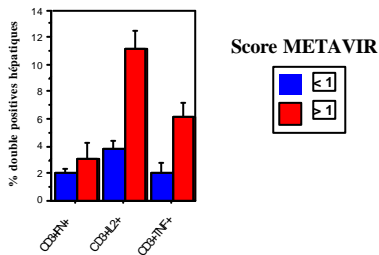
Etude d'expression multigénique par PCR en temps réel à partir de PBMC de 5 volontaires sains



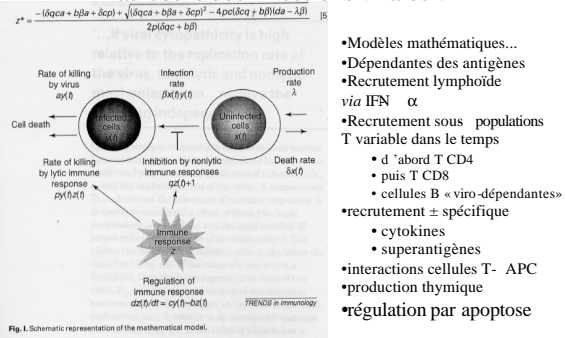
Variabilité d'expression de molécules participant à l'activation T



Cytokines et données anatomopathologiques

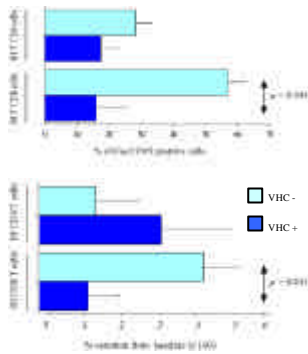


Dynamique et homéostasie cellules T au cours des infections virales ?

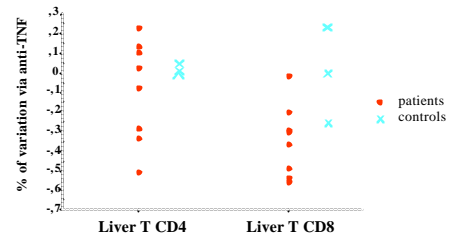


- Modèles mathématiques...
- Dépendantes des antigènes
- Recrutement lymphoïde via IFN α
- Recrutement sous populations T variable dans le temps
 - d'abord T CD4
 - puis T CD8
 - cellules B « viro-dépendantes »
- recrutement \pm spécifique
 - cytokines
 - superantigènes
- interactions cellules T- APC
- production thymique
- régulation par apoptose

VOIE Fas/Fas- Ligand



Impact d'un anti-TNF-a



2 groupes selon l'atteinte histologique cirrrose et HCA (n = 23) versus HCP (n = 28)

- durée maladie identique (8 ans en moyenne)
- même facteurs de risque d'acquisition des virus
- même âge (33 ans en moyenne), même sex ratio
- Intox OH présente de manière comparable
- différences:
 - de statut immunitaire
 - T CD4: 364 versus 110
 - T CD8: 705 versus 360
 - ATCD infection opportuniste
 - 9/23 (39%) versus 22/28 (78%)

Roger PM et al, Press Med 1998.

Impact de l'individu sur l'évolution de la co-infection ?

Perspectives

- Intégrer dans les potentialités évolutives l'hétérogénéité inter-individuelle
 - Polymorphisme des cytokines
 - Polymorphisme gènes de régulation de l'apoptose ?
- Prendre en compte l'évolutivité de l'hépatite chronique
 - réplication virale ?
 - Anergie T ou au contraire activation ?
 - Dissociation inflammation / fibrose: pas les mêmes cellules ?
- Proposer une immunothérapie associée ou non au traitement anti-viral
 - Anti-TNF ?
 - Corticoïdes ?
 - Autres ?