

## Un nouvel acteur dans la neutralisation intracellulaire des adénovirus par les anticorps

Karim Benihoud

Vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, CNRS, Université Paris-Sud, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, 114 rue Édouard Vaillant, 94805 Villejuif, France.  
[karim.benihoud@gustaveroussy.fr](mailto:karim.benihoud@gustaveroussy.fr)



> Les adénovirus (Ad) sont des virus à ADN, à capsid non enveloppée, responsables chez l'homme d'infections souvent asymptomatiques. Dans le cas de l'Ad de sérotype 5 (Ad5), l'infection des cellules hôtes débute par l'attachement d'une protéine de capsid, la fibre, sur le *coxsackie and adenovirus receptor* (CAR), suivi d'une seconde interaction entre une autre protéine de capsid, la base du penton, et les intégrines, qui conduit à l'internalisation de la particule virale. Très rapidement, le virus perd ses fibres, expose une protéine interne de capsid, la protéine VI (pVI), capable de lyser la membrane des endosomes ; la particule virale en partie désassemblée va alors migrer *via* le réseau de microtubules jusqu'au noyau. L'Ad5 peut être modifié par génie génétique en un vecteur capable de transférer des gènes à visée anti-tumorale ou vaccinale. Cependant, l'efficacité de ces vecteurs est limitée par la forte prévalence des anticorps (Ac) anti-Ad chez l'homme. Ceux-ci sont dirigés contre les protéines majeures de capsid : fibre, base du penton et hexon, les Ac anti-hexon étant majoritaires [1]. Les Ac anti-Ad peuvent neutraliser les particules virales dans le milieu extracellulaire, mais agissent également au niveau intracellulaire [2]. L'équipe de Léo C. James a révélé que les complexes Ac-Ad activent, *via* la région constante (Fc) des Ac (Figure 1A), le récepteur cytosolique TRIM21 (*tri-partite motif-containing protein 21*), conduisant à la dégradation de l'Ad par le protéasome [3].

### Neutralisation des adénovirus par les anticorps associés aux composés C1 et C4 du complément

Récemment, l'équipe de Léo C. James a cherché à mieux comprendre les mécanismes à l'origine de la neutralisation intracellulaire des Ad par les Ac en analysant la contribution du complément [4], un ensemble de protéines sériques qui s'activent en cascade selon différentes voies. En particulier, l'activation de la voie classique est déclenchée par les complexes immuns qui recrutent le complexe C1 (constitué par les sous-unités C1q, C1r et C1s), aboutissant à l'activation de la protéine C4. Celle-ci, après interaction avec le composant C2, conduit à la production d'une C3 convertase (C4bC2a), puis à l'activation de différents composés (C5-C9), déclenchant les fonctions effectrices du complément (Figure 1B).

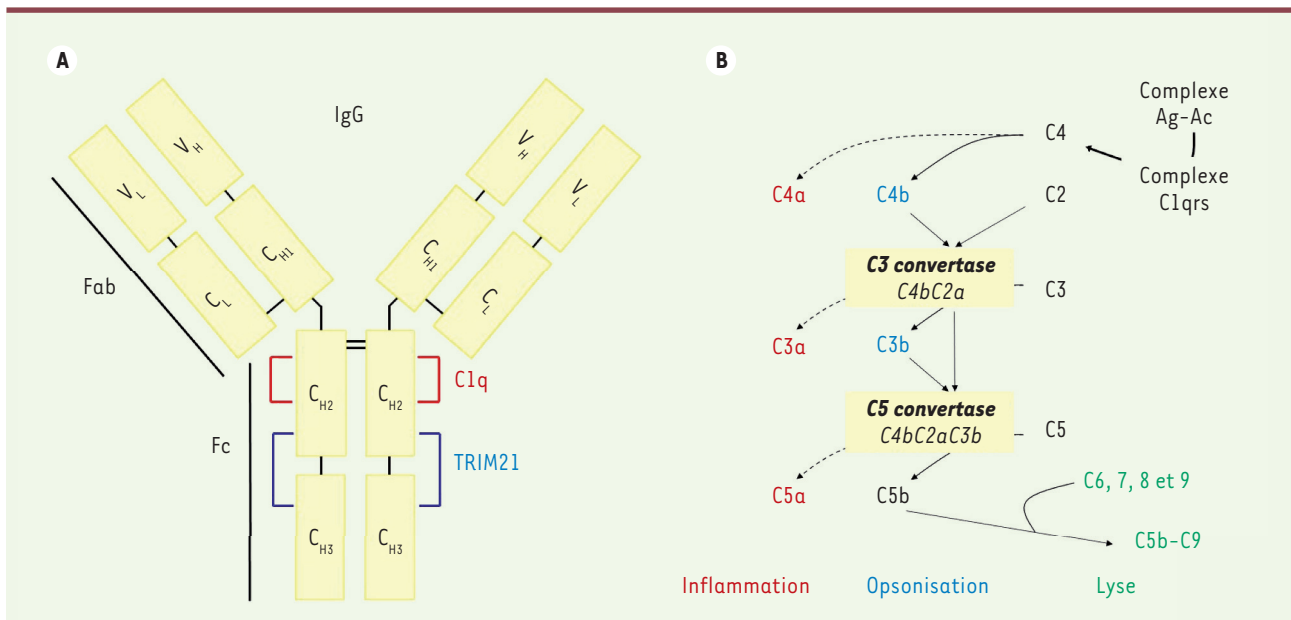
Dans un premier temps, l'équipe de chercheurs a analysé comment un Ac monoclonal dirigé contre l'hexon (composant principal de la capsid) neutralisait l'Ad5 en présence de sérum humain<sup>1</sup>. En accord avec leurs résultats précédents [3], les chercheurs ont montré que l'Ad5 était bien neutralisé par les Ac dans les cellules exprimant TRIM21, mais qu'il l'était également dans des cellules déficientes en TRIM21, ce qui suggérait l'existence d'un autre mécanisme de neutralisation. Ils ont donc évalué le rôle de la voie classique du complément en s'intéressant à l'étape initiale de cette voie, l'interaction des Ac avec C1q. Les Ac anti-hexon mis en présence

d'un sérum humain déficient en C1q sont apparus incapables de neutraliser l'Ad5. De même, un Ac anti-hexon incapable d'interagir avec C1q s'est avéré également incapable de neutraliser l'Ad5. Ayant démontré le rôle de C1q dans la neutralisation des Ad, les chercheurs ont analysé si d'autres acteurs moléculaires de la voie classique étaient impliqués dans la neutralisation de l'Ad par les Ac. Des expériences de déplétion de sérum humain en différents facteurs du complément ont non seulement confirmé que C1q mais aussi révélé que C4 étaient tous deux indispensables à la neutralisation des Ad par les Ac, contrairement au composé C2, situé en aval du C4 dans la cascade de la voie classique (Figure 1B). Ces résultats démontrent l'existence d'un nouveau mécanisme de neutralisation par les Ac, indépendant de TRIM21, et impliquant C1q et C4 indépendamment de leur rôle dans la formation de la C3 convertase.

### Déshabillage interdit pour l'adénovirus, un rôle inattendu du C4 !

Ayant observé que l'incubation de l'Ad avec l'Ac anti-hexon en présence de sérum humain conduisait à un clivage de C4 en C4a et C4b, les chercheurs ont évalué si la neutralisation des Ad par le complément découlait d'un effet de C4a sur les cellules cibles ou résultait de la fixation de C4b sur l'Ad. L'analyse de l'expression de transgènes après co-incubation des cellules avec un Ad codant un transgène et un Ad recouvert de C4b codant un autre transgène a montré que seul l'Ad recouvert de C4b était neutralisé. Ceci permettait

<sup>1</sup> Pour rappel, le sérum contient les composants du complément.



**Figure 1. Domaines d'interaction des anticorps et voie classique d'activation du complément.** **A.** Le schéma indique les domaines variables (V) et constants (C) des chaînes lourdes (H) et légères (L) d'un anticorps de type immunoglobuline (IgG). La région Fc contient les zones d'interaction avec les protéines C1q et TRIM21. **B.** L'interaction des complexes Ag-Ac avec le complexe C1qrs déclenche l'activation en cascade de différents composants du complément et la production de différentes molécules impliquées dans l'inflammation (en rouge), jouant un rôle d'opsonines (en bleu) ou impliquées dans la lyse des microorganismes pathogènes (en vert).

d'éliminer l'hypothèse d'une modification des cellules cibles et suggérait un rôle de C4b dans le processus de neutralisation. Après incubation des Ad avec des Ac en présence de sérum humain (ou de C1q et C4 purifiés), les chercheurs ont observé que le C4 était associé aux particules virales, ce qui suggérait que le fragment C4b se fixait aux particules adénovirales et que cette fixation permettait leur neutralisation. Les étapes de fixation aux cellules cibles et d'internalisation des particules virales ne sont pas affectées par la fixation de C4b, mais les particules virales opsonisées par C4b deviennent incapables de libérer les fibres, une étape du désassemblage de la capsid qui a lieu au cours de l'infection virale. L'étude du trafic intracellulaire par microscopie confocale montre que les particules virales opsonisées par C4b et présentes dans les endosomes n'exposent pas la protéine adénovirale pVI à la surface de leur capsid. Il en résulte un défaut de lyse de la membrane de l'endosome,

qui bloque la libération des particules virales dans le cytosol.

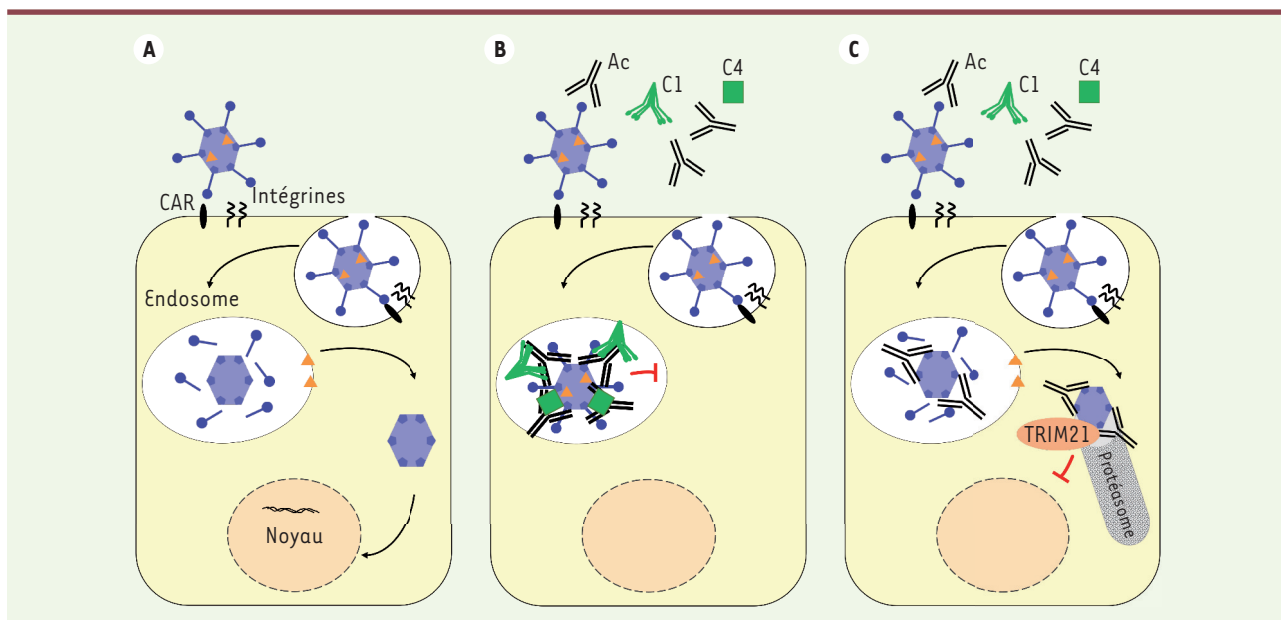
#### Action synergique du composant C4 et du récepteur TRIM21 dans la neutralisation intracellulaire des adénovirus par les anticorps

Après avoir montré le rôle de C4 dans la neutralisation des Ad à l'aide de modèles cellulaires, l'équipe de Léo C. James a analysé l'importance physiologique de ce mécanisme en administrant, par voie intraveineuse, des vecteurs adénoviraux à des souris ayant des Ac anti-hexon. Les chercheurs ont ainsi montré que le transfert de gènes par un vecteur adénoviral est plus efficace chez les souris génétiquement déficientes en C4 que chez les souris témoins, ce qui confirme le rôle de C4 dans la neutralisation intracellulaire des Ad *in vivo*. Le rôle de C1q dans ce phénomène est également étayé, puisque le transfert de gènes chez les souris témoins est augmenté si la région Fc de l'Ac anti-hexon est mutée pour empêcher son interaction avec le C1q. En se fondant sur leurs

travaux précédents montrant la neutralisation intracellulaire des Ad recouverts d'Ac suite à l'interaction de ces derniers avec le récepteur TRIM21 *via* leur région Fc [5], les chercheurs ont montré que l'administration de l'Ac anti-hexon muté pour empêcher son interaction avec le C1q à des souris déficientes en TRIM21 aboutissait à un transfert de gènes comparable à celui observé chez des souris dépourvues d'Ac anti-hexon. Ces résultats indiquent que TRIM21 et C1q/C4 mettent en jeu des mécanismes indépendants de neutralisation intracellulaire par les Ac, ce qui est en accord avec le fait que C1q et TRIM21 interagissent avec différentes régions de la région Fc des Ac (Figure 1A).

#### Vers une inhibition des fonctions neutralisantes du complément et de TRIM21

Ainsi, alors que l'infection des cellules par l'Ad en absence d'Ac conduit à un échappement de l'endosome et au transfert du génome viral dans le noyau (Figure 2A), l'infection en présence d'Ac



**Figure 2. Mécanismes de neutralisation intracellulaire des adénovirus par les anticorps.** A. Étapes de l'infection des cellules par les Ad, en l'absence d'Ac. B.C. Rôle de C4 (B) ou de TRIM21 (C) lors de l'infection des cellules par les Ad en présence d'Ac. CAR : coxsackie and adenovirus receptor.

conduit à une neutralisation intracellulaire des Ad par le composé C4, capable d'inhiber le désassemblage de la capsid virale et l'échappement de l'endosome (Figure 2B) par un mécanisme très proche de celui décrit précédemment pour certaines défensines [6]. Cette neutralisation intracellulaire des Ad par les Ac a lieu à une étape plus précoce que celle enclenchée par TRIM21, reposant sur la détection et la dégradation des complexes Ad-Ac dans le cytosol (Figure 2C). Les travaux de Bottermann *et al.* ont révélé un seuil différent de mise en œuvre de ces mécanismes, le virus étant neutralisé par le complément lorsque de fortes concentrations d'Ac anti-Ad sont présentes, et par le récepteur TRIM21 pour de faibles concentrations d'Ac. Le fait que l'Ad préincubé avec un Ac anti-hexon dépourvu de sa région Fc (*i.e.*, comportant uniquement la région Fab) ou muté dans sa région

Fc afin d'empêcher son interaction avec C1q et TRIM21 échappe à la neutralisation intracellulaire par les Ac ouvre de nouvelles perspectives pour le transfert de gènes par Ad. Ainsi, des Ac de type *single chain fragment variable* (scFv) ou des protéines à domaines ankyrine [7] pourraient être utilisés pour masquer les sites antigéniques de la capsid virale, prévenant ainsi la fixation d'Ac anti-Ad et la neutralisation intracellulaire dépendant de C4 et TRIM21. Des modifications ciblées de la capsid capables de bloquer l'interaction avec les Ac pourraient également être envisagées [8]. ♦

#### A new actor involved in antibody-dependent intracellular neutralization of adenovirus

#### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Sumida SM, Truitt DM, Lemckert AA, *et al.* Neutralizing antibodies to adenovirus serotype 5 vaccine vectors are directed primarily against the adenovirus hexon protein. *J Immunol* 2005 ; 174 : 7179-85.
2. Wohlfart C. Neutralization of adenoviruses: kinetics, stoichiometry, and mechanisms. *J Virol* 1988 ; 62 : 2321-28.
3. Mallery DL, McEwan WA, Bidgood SR, *et al.* Antibodies mediate intracellular immunity through tripartite motif-containing 21 (TRIM21). *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 19985-90.
4. Bottermann M, Foss S, Caddy SL, *et al.* Complement C4 prevents viral infection through capsid inactivation. *Cell Host Microbe* 2019 ; 25 : 617-29.
5. Bottermann M, Foss S, Tienen LM van, *et al.* TRIM21 mediates antibody inhibition of adenovirus-based gene delivery and vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 10440-45.
6. Smith JG, Silvestry M, Lindert S, *et al.* Insight into the mechanisms of adenovirus capsid disassembly from studies of defensin neutralization. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000959.
7. Schmid M, Ernst P, Honegger A, *et al.* Adenoviral vector with shield and adapter increases tumor specificity and escapes liver and immune control. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 450.
8. Rojas LA, Condezo GN, Moreno R, *et al.* Albumin-binding adenoviruses circumvent pre-existing neutralizing antibodies upon systemic delivery. *J Control Release* 2016 ; 237 : 78-88.

Retrouvez toutes les Actualités de la Myologie sur les sites de :

la Société Française de Myologie  
www.sfmyologie.org



la filière de santé neuromusculaire FILNEMUS  
www.filmemus.fr

