

Nouveaux composés antiviraux et thérapie combinée contre les virus influenza

Novel antiviral compounds and combination therapy for influenza viruses

Guy Boivin¹
Manuel Rosa-Calatrava²
Bruno Lina²

¹ Université Laval, CHUL, RC-709,
Québec, Canada, G1V 4G2

² Virpath, CIRI Inserm U1111, CNRS,
ENS de Lyon, Université Claude-
Bernard, 69372 Lyon, France

Les virus influenza A et B font partie de la famille des *Orthomyxoviridae* comprenant des virus à ARN segmenté de polarité négative. Au niveau du cycle réplcatif (*figure 1*), le virus s'attache aux récepteurs d'acides sialiques en surface de la cellule hôte *via* son hémagglutinine (HA). Par la suite, il entre dans la cellule par endocytose ou macropinocytose. Une acidification dans l'endosome transforme la HA du virus en sa forme fusogène provoquant la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de l'endosome, puis la décapsidation des acides nucléiques viraux permettant la libération du matériel génétique viral dans le cytoplasme cellulaire. L'ARN viral de polarité négative (-) entre dans le noyau cellulaire où il est converti en ARN à polarité positive (+) servant de gabarit à la synthèse d'ARN génomique (viral) et d'ARN messenger. Les ARN viraux (-) nouvellement formés migrent de manière polarisée vers la membrane de la cellule hôte où il y a assemblage des constituants viraux. Enfin, le bourgeonnement et la libération des virions à la surface de la membrane cellulaire nécessitent le clivage par la neuraminidase (NA) virale des acides sialiques des récepteurs cellulaires permettant ainsi de rompre leur liaison à la HA virale. Trois classes d'antiviraux avec une activité anti-influenza par altération de certaines de ces étapes de la réplication du virus sont maintenant disponibles ou sur le point de l'être dans plusieurs pays (*figure 1*).

Les adamantanes

Les adamantanes (amantadine et rimantadine) ont été les premières molécules approuvées dans les années 1970 et 1990, respectivement. Elles inhibent le canal ionique (protéine M2) responsable de l'étape de la décapsidation virale (appelée *uncoating* en anglais). Les virus influenza B sont naturellement insensibles aux adamantanes puisqu'ils sont dépourvus de la protéine M2. Les virus influenza A(H3N2) dans les années 2003-2004 puis les virus A(H1N1) depuis la pandémie de 2009 sont devenus universellement résistants à ces composés en raison notamment de la substitution S31N au sein de la protéine M2. Ces virus mutants se répliquent bien et se transmettent en l'absence de pression sélective avec l'antiviral de sorte que cette classe d'antiviraux n'a plus d'utilité clinique de nos jours [1].

Les inhibiteurs de la neuraminidase

Cette classe comprend quatre molécules (oseltamivir, zanamivir, peramivir et laninamivir) qui ont été, pour les deux premières, commercialisées au début des années 2000. L'effet antiviral est obtenu par l'inhibition du clivage de l'acide sialique par la NA entraînant une absence de libération des virus depuis la surface de la cellule infectée, et donc une réduction de la diffusion des virus. Toutefois, de 1 à 4 % des virus influenza développent une résistance à l'oseltamivir, la molécule la plus fréquemment utilisée. Ce pourcentage de souches résistantes est plus

Correspondance : G. Boivin
<guy.boivin@crchudequebec.ulaval.ca>

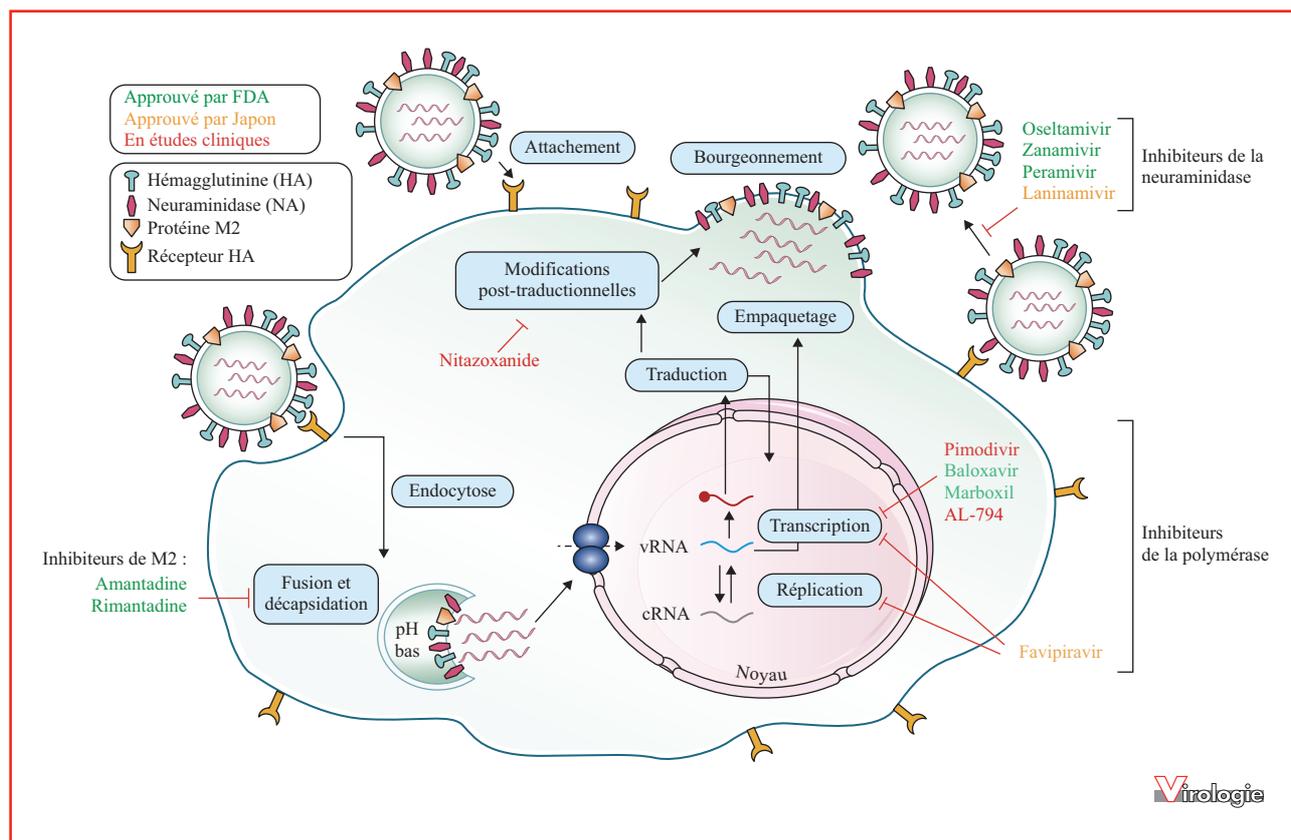


Figure 1. Cycle réplcatif des virus influenza de type A et cibles thérapeutiques.

élevé chez les enfants et les sujets immunosupprimés en raison d'une charge virale plus élevée et d'une réplcation virale prolongée chez ces derniers. Durant les saisons grippales 2007-2008 et 2008-2009, une majorité de souches A(H1N1) sont devenues résistantes à l'oseltamivir (mais conservaient leur sensibilité au zanamivir) en l'absence de traitement antiviral. Ces souches présentaient une substitution NA H275Y (numérotation N1 ou H274Y en numérotation N2) qui conférait la résistance à l'oseltamivir, accompagnée d'autres mutations dites permissives dans le gène NA permettant le rétablissement de la balance requise entre la NA et la HA virales [2]. Heureusement, ces souches A(H1N1) résistantes à l'oseltamivir ont disparu avec la survenue de la pandémie de 2009. En dépit d'une activité contre tous les sous-types de virus A et contre les virus de type B, l'efficacité clinique de l'oseltamivir est limitée et sujette à une administration précoce, soit moins de 48 heures après l'apparition des symptômes. La résistance au zanamivir a été rapportée plus rarement en raison de sa plus faible utilisation (administration par inhalateur comparée à des capsules pour l'oseltamivir) et de sa structure plus conforme à celle du substrat naturel de la NA (soit l'acide sialique).

Les inhibiteurs de la polymérase virale

Presque 20 ans après l'approbation de l'oseltamivir, une nouvelle classe de molécules inhibant la polymérase virale est maintenant disponible dans quelques pays dont les États-Unis et le Japon. La polymérase des virus influenza est composée de trois sous-unités qui interagissent entre elles, *i.e.*, PA, PB1 et PB2. Le premier composé commercialisé au sein de cette classe est le baloxavir marboxil, un inhibiteur de l'endonucléase médiée par la sous-unité PA ; cependant, d'autres inhibiteurs de PB2 (pimodivir) et PB1 (favipiravir) sont respectivement en essai clinique de phase 3 ou possèdent une approbation restreinte. Le baloxavir a le potentiel de révolutionner le traitement des infections grippales étant donné sa longue demi-vie permettant un régime thérapeutique comportant une seule dose (contrairement à cinq jours de traitement pour l'oseltamivir) et une activité antivirale majorée par rapport aux inhibiteurs de la NA. Dans une étude clinique récente de phase 3, le temps médian pour la cessation de l'excrétion virale chez les adultes avec influenza non hospitalisés était de 48 heures pour le groupe baloxavir comparé à 72 heures pour l'oseltamivir et 96 heures pour le groupe placebo, bien que la différence

dans la durée des symptômes était non significative entre les deux types de traitement [3]. Il faut toutefois noter que les données préliminaires disponibles indiquent que le risque de développer une résistance associée à une substitution PA I38T est élevé dans le cas du baloxavir. Dans l'étude de phase 3 citée précédemment, l'incidence de souches résistantes était de près de 10 %, principalement chez les virus A(H3N2) [3]. De façon plus préoccupante, le taux de résistance s'élevait à près de 20 % dans une étude pédiatrique [4]. En outre, une étude récente complémentaire sur les mutants de résistance au baloxavir (PA I38T) a montré que cette mutation entraîne un délai dans la réduction des symptômes et une prolongation de l'excrétion virale [5]. Nous avons par ailleurs démontré que le mutant PA I38T semblait conserver un bon degré de réplication basé sur des études de compétition *in vitro* et dans des modèles animaux [6]. Enfin, certains patients infectés non traités ont excrété une souche résistante, ce qui témoigne d'une bonne transmissibilité et fait craindre une possible dissémination à grande échelle de ce mutant [7].

Thérapies antivirales combinées

L'impact clinique de la résistance s'avère particulièrement problématique chez les sujets hospitalisés et chez les individus immunosupprimés. En ce sens, la disponibilité de nouvelles molécules antivirales nous laisse entrevoir la possibilité d'une thérapie combinée. Cette approche thérapeutique est déjà un standard pour le traitement des infections causées par d'autres virus à ARN rapidement évolutifs tels que le virus de l'immunodéficience humaine et le virus de l'hépatite C. Chez la souris, la combinaison baloxavir-oseltamivir a montré sa supériorité à la monothérapie lors d'une infection à dose létale avec un virus A(H1N1) [8]. Un essai clinique comparant l'administration de baloxavir combiné avec le traitement standard (habituellement l'oseltamivir) au traitement standard seul est en cours chez des sujets hospitalisés. Une autre stratégie pour diminuer la résistance et accélérer l'élimination virale consiste à combiner un antiviral à un immunomodulateur. Cette approche a déjà été utilisée chez l'humain dans le traitement de l'hépatite C (ribavirine et interféron) et chez la souris dans le cas du virus influenza A(H5N1) aviaire (combinaison zanamivir et célécoxib) [9]. Enfin, nous avons développé et validé une nouvelle stratégie d'identification et de reposicionnement de médicaments déjà sur le marché, ciblant la cellule hôte et non des déterminants viraux. Il s'agit de comparer les signatures transcriptomiques d'une cellule infectée par un virus influenza avec celles des mêmes cellules exposées à des molécules d'une banque de composés utilisés dans diverses pathologies humaines. Lorsque

les molécules donnent des signatures inverses, elles ont potentiellement une activité antivirale que nous validons dans un second temps dans des modèles d'infection *ex vivo* d'épithéliums respiratoires humains reconstitués et *in vivo* murin [10]. Parmi ces produits, le diltiazem, un inhibiteur des canaux calciques indiqué dans le traitement de l'hypertension et de l'angine de poitrine, s'est avéré très efficace contre plusieurs souches humaines et aviaires, seul et en combinaison avec l'oseltamivir. Des analyses additionnelles ont démontré que ce médicament induisait de manière inattendue, une réponse antivirale soutenue, notamment en stimulant la production endogène d'interféron de type lambda. Un essai clinique de phase 2 est actuellement en cours dans plusieurs centres hospitaliers français comparant le traitement standard (oseltamivir) à la combinaison oseltamivir et diltiazem chez des sujets admis en réanimation avec grippe sévère (FLUNEXT TRIAL PHRC #15-0442 ClinicalTrials.gov identifier NCT03212716).

Conclusion

Nous pouvons maintenant cibler différentes phases du cycle répliatif des virus influenza avec des composés antiviraux très actifs. Néanmoins, comme pour toute thérapie dirigée contre les virus à ARN, dont la polymérase ne possède pas d'activité correctrice, la résistance virale reste un problème non négligeable surtout chez l'hôte immunosupprimé. La disponibilité de nouvelles molécules à action directe (antiviraux) et indirecte (immunomodulateurs) nous permet dorénavant d'envisager des thérapies combinées chez des sujets avec une infection grippale sévère, ce qui devrait se traduire par un meilleur contrôle de la résistance et par une amélioration des paramètres cliniques.

Remerciements. G.B. est titulaire de la chaire de recherche du Canada sur l'influenza et les autres virus respiratoires.

Liens d'intérêts : B.L. est le président du Conseil scientifique d'Immuniser.Lyon, chaire de l'*Independent Scientific Committee du Global Hospital Influenza Surveillance Network*, co-chaire du *Global Influenza and RSV Initiative*. Aucune rémunération personnelle pour ces activités.

B.L. a eu une prise en charge pour participation à des congrès par Sanofi-Pasteur, Alere et Seegene.

G.B. et M.R.C. sont co-fondateurs de la startup Signia Therapeutics.

G.B. déclare un contrat de recherche pour la C^{ie} Shionogi.

Références

1. Fiore AE, Fry A, Shay D, *et al.* Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza – recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2011 ; 60(1) : 1-24.
2. Bloom JD, Gong LI, Baltimore D. Permissive secondary mutations enable the evolution of influenza oseltamivir resistance. *Science* 2010 ; 328(5983) : 1272-5.
3. Hayden FG, Sugaya N, Hirotsu N, *et al.* Baloxavir marboxil for uncomplicated influenza in adults and adolescents. *N Engl J Med* 2018 ; 379(10) : 913-23.
4. Omoto S, Speranzini V, Hashimoto T, *et al.* Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. *Sci Rep* 2018 ; 8(1) : 9633.
5. Uehara T, Hayden FG, Kawaguchi K, *et al.* Treatment-emergent influenza variant viruses with reduced baloxavir susceptibility: impact on clinical and virologic outcomes in uncomplicated influenza. *J Infect Dis* 2019 (in press).
6. Checkmahomed L, M'hamdi Z, Carbonneau J, *et al.* Impact of the baloxavir-resistant polymerase acid I38T substitution on the fitness of contemporary influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) strains. *J Infect Dis* 2019 (in press).
7. Takashita E, Kawakami C, Ogawa R, *et al.* Influenza A(H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalised child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. *Euro Surveill* 2019 ; 24(12).
8. Fukao K, Noshi T, Yamamoto A, *et al.* Combination treatment with the cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir marboxil and a neuraminidase inhibitor in a mouse model of influenza A virus infection. *J Antimicrob Chemother* 2019 ; 74(3) : 654-62.
9. Zheng BJ, Chan KW, Lin YP, *et al.* Delayed antiviral plus immunomodulator treatment still reduces mortality in mice infected by high inoculum of influenza A/H5N1 virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 ; 105(23) : 8091-6.
10. Pizzorno A, Padey B, Terrier O, Rosa-Calatrava M. Drug repurposing approaches for the treatment of influenza viral infection: reviving old drugs to fight against a long-lived enemy. *Front Immunol* 2019 ; 10 : 531.