

## Prix Renaud Mahieux 2025



*Renaud Mahieux (1968-2020)*

Créés en 2022, les prix Renaud Mahieux distinguent de jeunes chercheurs et chercheuses pour l'originalité et la qualité de leurs travaux présentés sous forme d'affiches lors des Journées Francophones de Virologie (JFV). Ces prix rendent également hommage à Renaud Mahieux, collègue et ami, disparu bien trop tôt, à l'âge de 52 ans. Professeur de virologie, chercheur à l'ENS de Lyon, éditeur en chef du journal *Virologie* et membre actif de la Société Française de Virologie, il a profondément marqué notre communauté, notamment pour sa générosité et son engagement constant auprès des jeunes chercheurs. Son souvenir continue d'accompagner les JFV, et ce prix perpétue avec émotion son nom et son héritage scientifique.

Lors de la XXVII<sup>e</sup> édition des JFV, organisée à l'École Normale Supérieure de Lyon du 23 au 25 avril 2025, quatre jeunes scientifiques ont été récompensés : Eva Brunon, Jim Zoladek, Aurianne Pelsma et Marine Faucher. Comme les années précédentes, la sélection des lauréats a reposé sur un vote en ligne ouvert à tous les participants durant les sessions posters, suivi d'une évaluation par un jury d'experts. Cette année, les prix ont été remis par Anne-Sophie Gosselin-Grenet et Henri Gruffat, au nom de la Société Française de Virologie.

Chacun des lauréats a ensuite présenté ses travaux dans le cadre d'un exposé de 180 secondes, face à l'ensemble des participants rassemblés dans l'amphithéâtre Mérieux.

Nous avons le plaisir de publier dans les pages suivantes les posters présentés par ces quatre lauréats, témoignages de la vitalité et de l'avenir prometteur de la virologie francophone.



*Les lauréats 2025 avec, de gauche à droite, Anne-Sophie Gosselin-Grenet (SFV), Aurianne Pelsma (1<sup>er</sup> prix, session 2), Jim Zoladek (2<sup>ème</sup> prix, session 1), Noël Tordo (SFV), Marine Faucher (2<sup>ème</sup> prix, session 2), Henri Gruffat (SFV) et Eva Brunon (1<sup>er</sup> prix, session 1).*

## XXVIIes Journées francophones de virologie Prix Renaud Mahieux, remis le 25 avril 2025 à l'École Nationale Supérieure de Lyon

### 1er Prix session 1 : Eva Brunon



De gauche à droite, Anne-Sophie Gosselin-Grenet (SFV), Eva Brunon et Henri Gruffat (SFV)

*" Je tiens à remercier sincèrement la SFV pour l'attribution du prix Renaud Mahieux, ainsi que pour l'opportunité de valoriser mes travaux par la publication de mon poster dans le journal Virologie."*

### Rôle des petites vésicules extracellulaires respiratoires dans l'infection par le Virus Respiratoire Syncytial

#### ***Role of respiratory small extracellular vesicles in Respiratory Syncytial Virus infection***

Eva Brunon<sup>1</sup>, Rajeswari Basu<sup>1,2</sup>, Laurent Softic<sup>1</sup>, Thibaud Jamet<sup>2</sup>, Jeanne Gaspar Lopes<sup>2</sup>, Bryan Jimenez Araya<sup>1</sup>, Rozenn Brillet<sup>1</sup>, Nazim Ahnou<sup>1</sup>, Benoit Couturaud<sup>4</sup>, Pascale Soyeux-Porte<sup>2</sup>, Virginie Fournier<sup>3</sup>, Bénédicte Duriez<sup>5</sup>, Emilie Béquignon<sup>3</sup>, Damien Destouches<sup>2</sup>, Slim Fourati<sup>1</sup>, Abdelhakim Ahmed-Belkacem<sup>1</sup>, Francis Vacherot<sup>2</sup>, Jean-Michel Pawlotsky<sup>1</sup>, Virginie Firllej<sup>2</sup>, Patrice Bruscella<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955, Team "Viruses, Hepatology, Cancer", Université Paris Est Créteil, Créteil, France.

<sup>2</sup> Team "Therapeutic Resistance in Prostate Cancer" (TRePCa), Université Paris Est Créteil, Créteil, France.

<sup>3</sup> Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955, CNRS EMR 7000, Team "Biomechanics and Respiratory System", Université Paris Est Créteil, Créteil, France.

<sup>4</sup> Institute of Chemistry and Materials (ICMPE), Université Paris Est Créteil, CNRS UMR 7182, Créteil, France.

<sup>5</sup> INSERM Unit U955 Clinical Epidemiology and Ageing (CEpiA), Université Paris Est Créteil, Créteil France.

\* Correspondance : P. Bruscella <patrice.bruscella@inserm.fr>

Les petites vésicules extracellulaires (sEVs) sont des acteurs majeurs de la communication intercellulaire. Ces particules, issues du réseau endosomal, sont sécrétées dans les fluides biologiques et modulent les fonctions de cellules proches ou distantes. Plusieurs études ont montré une altération de leur composition dans un contexte infectieux, favorisant ou limitant l'infection virale. Cependant, le rôle des sEVs produites par des cellules non infectées dans l'entrée virale reste peu exploré. Ce projet vise à caractériser les sEVs produites par les cellules épithéliales nasales humaines (CENHs) dans le mucus (mu-sEVs) et par les cellules alvéolaires de type II (iAT2s) dans le surfactant (su-sEVs) et comprendre leur rôle dans l'entrée des virus respiratoires. L'analyse protéomique des mu-sEVs et su-sEVs a permis l'identification de récepteurs de plusieurs virus respiratoires, dont ceux de la protéine de fusion (F) du Virus Respiratoire Syncytial (VRS), et de protéases impliquées dans le clivage des protéines virales de fusion. Nos résultats montrent que les mu-sEVs et les su-sEVs clivent la protéine F du VRS induisant une conformation fusion-compétente. Cette activation de F favorise l'entrée virale dans les CENHs, mais limite l'infection dans les iAT2s. EGFR, récepteur putatif de F associé à la macropinocytose, est majoritairement exprimé en iAT2s, tandis que CX3CR1 récepteur de la protéine d'attachement G du VRS est uniquement détecté en CENHs. Dans ce contexte, pour vérifier si l'effet proviral des sEVs respiratoires en CENHs est dépendant de la présence de CX3CR1 nous souhaitons utiliser un anticorps neutralisant.

Nos résultats suggèrent que le clivage de la protéine F du VRS par les sEVs respiratoires favoriserait l'entrée virale en CENHs par fusion membranaire via CX3CR1, et inhiberait l'entrée par macropinocytose via EGFR en iAT2s, influençant ainsi le tropisme viral. La présence de facteurs de l'hôte impliqués dans l'entrée d'autres virus respiratoires semble indiquer un rôle pan-viral des sEVs respiratoires.

# Rôle des petites vésicules extracellulaires respiratoires (sEVs) dans l'infection par le VRS

Eva Brunon<sup>1</sup>, Rajeswari Basu<sup>1,2</sup>, Laurent Softic<sup>1</sup>, Thibaud Jamet<sup>2</sup>, Jeanne Gaspar Lopez<sup>2</sup>, Bryan Jimenez Araya<sup>2</sup>, Rozenn Brillat<sup>1</sup>, Nazim Ahnou<sup>1</sup>, Benoit Couturaud<sup>4</sup>, Nicolas Blanchard-Gutton<sup>5</sup>, Pascale Soyex-Porte<sup>2</sup>, Virginie Fournier<sup>3</sup>, Emilie Béquignon<sup>3</sup>, Bénédicte Duriez<sup>6</sup>, Slim Fourati<sup>1</sup>, Abdelhakim Ahmed-Belkacem<sup>1</sup>, Francis Vacherot<sup>2</sup>, Jean-Michel Pawlowsky<sup>1</sup>, Virginie Firlej<sup>2</sup>, Patrice Bruscella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955, Team "Viruses, Hepatology, Cancer", Univ Paris Est Creteil, Créteil, France. <sup>2</sup>Team "Therapeutic Resistance in Prostate Cancer" (TRePc), Univ Paris Est Creteil, Créteil, France. <sup>3</sup>Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955, CNRS EMR 7000, Team "Biomechanics and Respiratory System", Univ Paris Est Creteil, Créteil, France. <sup>4</sup>Institute of Chemistry and Materials (ICMPE), Univ Paris Est Creteil, CNRS UMR7182, Créteil, France. <sup>5</sup>Institut Mondor de Recherche Biomédicale, INSERM U955.E10 BNMS - Neurobiologie, ENVA, Maisons-Alfort, France. <sup>6</sup>INSERM Unit U955 « Clinical Epidemiology and Ageing » (CEpiA, Paris-Est Créteil University, Val-de-Marne) Créteil France.

## CONTEXTE

Les **petites vésicules extracellulaires** (sEVs) sont des acteurs majeurs de la communication intercellulaire. Ces particules, d'un diamètre de 50 à 200 nm et délimitées par une bicouche lipidique, sont issues du réseau endosomal et sont sécrétées dans les fluides biologiques pour moduler les fonctions des cellules proches ou distantes. Plusieurs études ont montré une altération de leur composition dans un contexte infectieux, favorisant ou limitant l'infection virale. Cependant, le rôle des sEVs produites par des cellules non infectées dans l'entrée virale reste peu exploré.

Dans ce contexte, notre étude porte sur les sEVs sécrétées dans le **mucus** (**mu-sEVs**) et le **surfactant** (**su-sEVs**) par les cellules épithéliales nasales humaines primaires (CENHS) et les cellules alvéolaires de type II induites (iAT2), respectivement, sites primaires d'infection du Virus Respiratoire Syncytial.

Le **Virus Respiratoire Syncytial** (VRS) est un virus très commun qui affecte les voies aériennes supérieures et inférieures. Son entrée dans les cellules hôtes est médiée par 2 glycoprotéines virales :

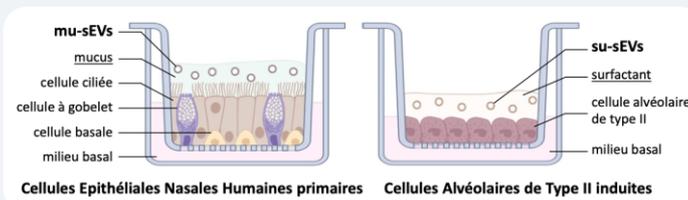
- La **glycoprotéine G**, responsable de l'attachement du virion aux molécules de surface des cellules hôtes,
- La **glycoprotéine F**, protéine de fusion virale de classe I, qui facilite également l'attachement, mais dont la fonction principale est d'induire la fusion de l'enveloppe virale avec les membranes cellulaires.

## OBJECTIFS

Les objectifs de ce projet sont de **caractériser** les sEVs produites par les épithéliums respiratoires (**mu-sEVs** et **su-sEVs**) et de **comprendre** leurs rôles dans les **étapes initiales de l'infection par le VRS**.

## MATERIELS & METHODES

### Modèles de cultures à l'interface air-liquide (ALI)

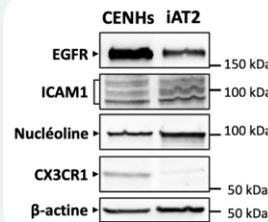


Cellules Epithéliales Nasales Humaines primaires

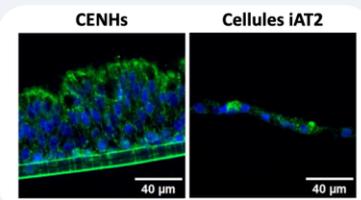
Cellules Alvéolaires de Type II induites

Les **CENHS** forment un épithélium différencié après **21 jours** de culture à l'ALI.

Les **cellules iAT2** sont différenciées pendant **35 à 41 jours** de culture à l'ALI.



Western blot des récepteurs candidats aux glycoprotéines F et G du VRS.

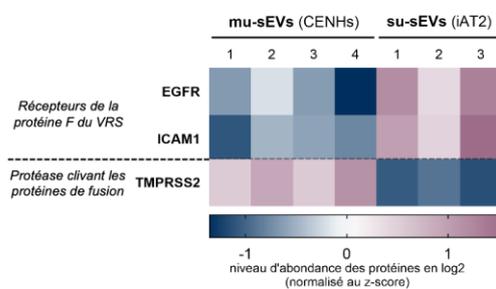


Immunomarquage de la nucléoprotéine du VRS, 12h post-infection.

## RESULTATS

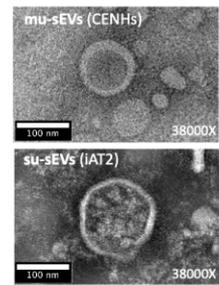
### 1 Les sEVs respiratoires contiennent des facteurs de l'hôte impliqués dans l'entrée du VRS

#### Analyse comparative du contenu des mu-sEVs et su-sEVs



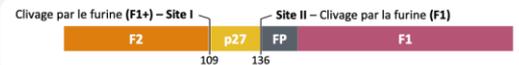
4 échantillons de mu-sEVs provenant de CENHS de patients différents et 3 échantillons de su-sEVs provenant de différentes cultures de cellules iAT2 ont été analysés par **Nano-LC-MS/MS** (Nanoscale Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry).

#### Microscopie électronique à transmission

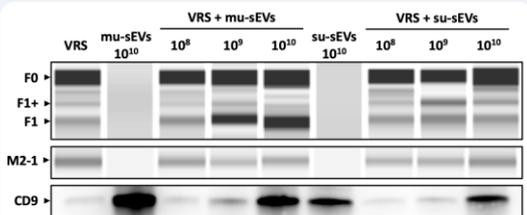


### 2 Clivage extracellulaire de la glycoprotéine F du VRS par les sEVs respiratoires

#### Structure de la glycoprotéine F0 du VRS



#### Analyse par Simple Western du clivage de F par les sEVs respiratoires



Les particules du VRS ont été incubées avec des concentrations croissantes (10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>) en mu-sEVs ou su-sEVs, la nuit à 37°C.

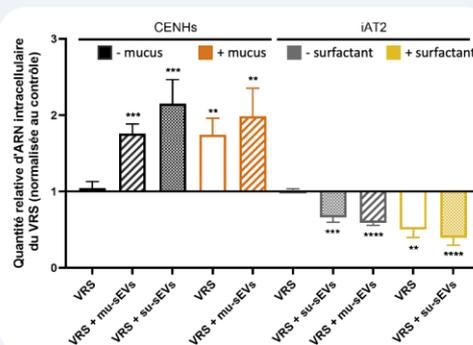
### 3 Effet des sEVs respiratoires sur l'infection par le VRS en CENHS et iAT2

Les CENHS et les cellules iAT2 ont été infectées par le VRS en présence ou en absence de **mucus** ou de **surfactant** :

- **Sans** préincubation des particules virales avec des sEVs,
- **Avec** des particules virales préincubées la nuit avec 10<sup>9</sup> su-sEVs,
- **Avec** des particules virales préincubées la nuit avec 10<sup>9</sup> mu-sEVs.

→ Les sEVs ont un effet **proviral** sur l'infection des **CENHS** par le VRS

→ Les sEVs ont un effet **antiviral** sur l'infection des **cellules iAT2** par le VRS



## CONCLUSION

Les **sEVs respiratoires**, isolées à partir de cultures de CENHS et de cellules iAT2 non infectées, portent les **récepteurs** candidats de la **protéine F** du VRS (EGFR, ICAM1), ainsi que la **protéase TMPRSS2**, impliquée dans le clivage des glycoprotéines de fusion virale de classe I. L'incubation de ces sEVs avec les particules virales du VRS favorise le **clivage de la glycoprotéine F0 en F1+ et F1**, un processus normalement initié par la furine en intracellulaire. La libération du peptide 27 permet à la protéine F d'adopter sa **conformation fusion-compétente**, ce qui se traduit par une **augmentation de l'infection dans les CENHS**, mais une **inhibition dans les cellules iAT2**.

Ces résultats suggèrent que l'effet des sEVs respiratoires sur l'infection par le VRS est dépendant du type cellulaire ciblé. Les CENHS comme les cellules iAT2 expriment les récepteurs de la protéine F, mais seules les CENHS présentent CX3CR1, récepteur de la glycoprotéine G. Nous supposons ainsi que **l'activation de la protéine F par les sEVs respiratoires rend le virus dépendant de l'interaction G-CX3CR1 pour l'entrée virale**.