

acides aminés du domaine *forkhead* qui seraient impliqués dans la solubilité. Ces 18 acides aminés font partie de la première hélice de ce domaine. Nous avons ensuite cherché à déterminer les régions protéiques responsables de l'agrégation de la protéine dépourvue de sa région amino-terminale. Nous avons d'abord montré que la GFP n'induisait pas l'agrégation. Des expériences de délétions de différentes régions nous ont permis de montrer que : (1) le *forkhead* seul tronqué de ces 18 premiers acides aminés ne s'agrège pas, ce qui suggère l'implication d'autres régions de la protéine dans l'agrégation ; (2) la polyalanine et la région carboxy-terminale ne sont pas impliquées dans l'agrégation. Il semble donc que c'est la région située entre le domaine *forkhead* et la polyalanine qui est réellement déterminante pour l'agrégation.

En conclusion, nous avons montré qu'une mutation stop dans *FOXL2*, en fonction de sa position, peut entraîner un phénomène de ré-initiation traductionnelle et conduire à la synthèse d'une protéine fortement agrégée. De plus, nous avons

montré que la protéine ainsi produite est capable de retenir une fraction de la protéine normale dans les agrégats nucléaires, suggérant un possible effet dominant négatif de la protéine tronquée [9]. Pour l'instant, l'absence de mutations stop identifiées en amont du codon 31 chez des patients BPES ne permet pas de vérifier cette hypothèse. Ces résultats élargissent le spectre des mutations pouvant conduire à des agrégats protéiques. L'agrégation avait précédemment été montrée pour des expansions de polyglutamine et de polyalanine ainsi que pour des substitutions d'acides aminés [7, 8]. Par ailleurs, ces résultats pointent l'importance du phénomène de ré-initiation et ses conséquences. En effet, dans certains cas, une reprise de la traduction peut sauver un phénotype. Dans d'autres cas, elle pourrait conduire à la synthèse de protéines toxiques ou ayant un effet dominant négatif. Dans les cas de mutations stop précoces associées à des phénotypes inattendus, il apparaît fondamental d'explorer la possibilité d'une ré-initiation traductionnelle. ♦

## Translational restart downstream of a premature stop codon and protein aggregation

### RÉFÉRENCES

1. Maquat LE. Nonsense-mediated mRNA decay. *Curr Biol* 2002 ; 12 : R196-7.
2. Howard MT, Malik N, Anderson CB, et al. Attenuation of an amino-terminal premature stop codon mutation in the *ATRX* gene by an alternative mode of translational initiation. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 951-6.
3. Zhang J, Maquat LE. Evidence that translation reinitiation abrogates nonsense-mediated mRNA decay in mammalian cells. *EMBO J* 1997 ; 16 : 826-33.
4. Crisponi L, Deiana M, Loi A, et al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 159-66.
5. De Baere E, Beysen D, Oley C, et al. FOXL2 and BPES : mutational hotspots, phenotypic variability, and revision of the genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2003 ; 72 : 478-87.
6. Caburet S, Demarez A, Moumné L, et al. A recurrent polyalanine expansion in the transcription factor FOXL2 induces extensive nuclear and cytoplasmic protein aggregation. *J Med Genet* 2004 ; 41 : 932-6.
7. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 2004 ; 10(suppl) : S10-7.
8. Albrecht A, Mundlos S. The other trinucleotide repeat : polyalanine expansion disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2005 ; 15 : 285-93.
9. Moumné L, Fellous M, Veitia RA. Deletions in the polyAlanine-containing transcription factor FOXL2 lead to intranuclear aggregation. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 3557-64.

## NOUVELLE

### Découverte d'un nouveau mécanisme de résistance innée contre le cytomégalovirus L'union fait la force

Agnieszka Kielczewska, Nassima Fodil, Silvia M. Vidal

Centre de recherche sur la résistance de l'hôte et Département de génétique humaine, Université McGill, Duff Medical Building, 3775, rue University, Montréal (Québec), H3A 2B4 Canada. [silvia.vidal@mcgill.ca](mailto:silvia.vidal@mcgill.ca)

> L'infection par le cytomégalovirus (CMV) demeure un risque important de malformations congénitales pour les nouveau-nés ; elle constitue aussi une cause de maladies graves chez des patients présentant des déficits immunitaires des cellules T cytotoxiques, en particulier les receveurs de greffes ou les individus infectés

par le VIH [1]. Une vulnérabilité à l'infection par le CMV se manifeste aussi chez des patients souffrant de déficiences des cellules *natural killer* (NK) [2, 3], attestant l'importance de ces cellules dans l'opposition au CMV. En tant que lymphocytes cytotoxiques de l'immunité innée, les cellules NK constituent le premier

front de résistance contre l'infection virale [3]. Elles font la différence entre cellules normales et anormales grâce à des récepteurs inhibiteurs et activateurs qui modulent aussi leur activité cytotoxique. Les ligands des récepteurs NK inhibiteurs sont des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH, *HLA* chez



l'homme et *H2* chez la souris) de classe I. Comme le CMV empêche l'expression du CMH de classe I, on considérait que les cellules infectées devenaient vulnérables à l'activité cytolytique des cellules NK [4]. Or, l'étude d'un modèle expérimental de résistance naturelle au CMV a apporté de nouvelles preuves en faveur du rôle central des récepteurs NK activateurs dans la reconnaissance spécifique de l'infection et, par la suite, dans son élimination [5].

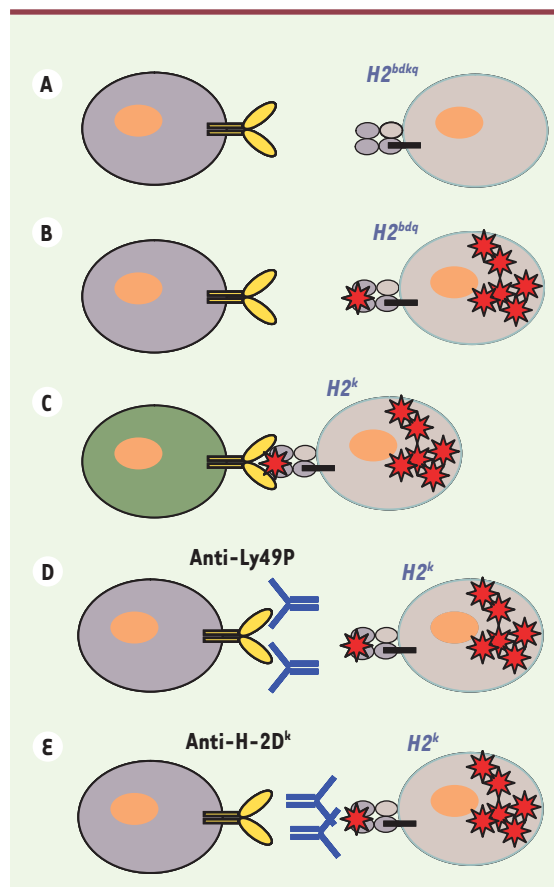
En effet, lors de l'infection par le CMV, certaines lignées de souris sont relativement « résistantes » et limitent rapidement l'infection par un faible inoculum ; d'autres lignées de souris vulnérables, « sensibles », celles-là, permettent une croissance effrénée du virus et succombent à l'infection [6]. La résistance ou la vulnérabilité dépend d'un locus majeur codant pour les récepteurs NK aux molécules du CMH de classe I appelés LY49 chez la souris [7, 8]. Les gènes *Ly49* sont génétiquement liés et présentent des haplotypes très variables en fonction du type et du nombre de gènes [9]. Certains haplotypes *Ly49* sont associés à la résistance et d'autres à la susceptibilité au CMV [10]. Il s'avère que le récepteur activateur LY49H est le responsable de la résistance dans certaines lignées de souris [11-13]. LY49H doit se lier à une protéine virale exprimée à la surface des cellules infectées par le CMV [14, 15]. Cette interaction hôte-pathogène mène à l'activation et à la prolifération des cellules NK permettant une élimination rapide de la charge virale dans les 72 heures suivant l'infection. C'était le premier exemple de l'isolement d'une fonction spécifique des cellules NK dans l'infection ; il allait de pair avec l'identification d'un nouveau récepteur de l'immunité innée, Ly49H.

Le travail de Desrosiers *et al.* [5] a établi l'existence d'un nouveau mécanisme de résistance au CMV impliquant

les NK en l'absence de *Ly49h*. L'étude de ce chercheur et de son équipe met en lumière trois points importants : (1) la souris de laboratoire MA/My est résistante à l'infection par le CMV bien qu'elle porte un haplotype *Ly49* semblable à celui des souris vulnérables ; (2) le phénotype de résistance n'est observé que lors d'une combinaison particulière entre les haplotypes *Ly49* (chromosome 6) et du CMH de classe I (chromosome 17) ; (3) le récepteur activateur LY49P reconnaît spécifique-

ment la cellule infectée par CMV dans un contexte CMH de classe I donné. Expérimentalement, l'activité des récepteurs a été testée en utilisant un système rapporteur cellulaire où les récepteurs activateurs sont clonés individuellement ; leur fonction est révélée par l'expression du gène rapporteur de la *green fluorescent protein* (GFP). Ainsi, lorsque les cellules reporters sont incubées en présence des cellules cibles, la fluorescence de la GFP signale la liaison du récepteur activateur par un ligand sur la cellule cible (Figure 1). Seules les cellules portant le récepteur LY49P ont réussi à reconnaître les cellules infectées par le CMV. Cette reconnaissance est en outre dépendante de la présence de l'haplotype *H2<sup>k</sup>* dans les cellules infectées (Figure 1, A-C). Afin de valider ces résultats et de caractériser plus finement quel produit des gènes *H2* joue un rôle dans cette interaction, les mêmes expériences ont été menées en pré-

sence d'anticorps monoclonaux dirigés contre les molécules de classe I afin d'inhiber spécifiquement une possible interaction avec Ly49P. En effet, une inhibition de cette interaction a été repérée en présence d'anticorps dirigés contre le produit du gène *H2-D<sup>k</sup>*, et non d'anticorps dirigés contre *H2-K<sup>k</sup>*, (Figure 1, D, E). Ces résultats suggèrent que, dans le contexte d'une infection par le CMV, l'interaction conjointe du récepteur activateur Ly49P et de *H2-D<sup>k</sup>* conduit à l'élimination rapide du virus



**Figure 1.** Interaction entre les récepteurs activateurs des cellules NK de MA/My et les molécules de classe I du CMH durant l'infection par le CMV en utilisant le système rapporteur cellulaire. L'émission de la fluorescence verte de la GFP est visible à la lumière ultraviolette. Co-culture des cellules reportrices (A) avec les cellules cibles non infectées : absence de sécrétion de la GFP (B) avec les cellules *H2bdq* infectées par le CMV : absence de sécrétion de la GFP (C) exprimant Ly49P avec les cellules *H2k* infectées par le CMV : les cellules acquièrent la couleur verte par sécrétion de la GFP. Inhibition de l'interaction entre Ly49P et *H2k* par un anticorps (D) anti-Ly49P ou (E) anti-*H-2Dk* : inhibition de la synthèse de la GFP.

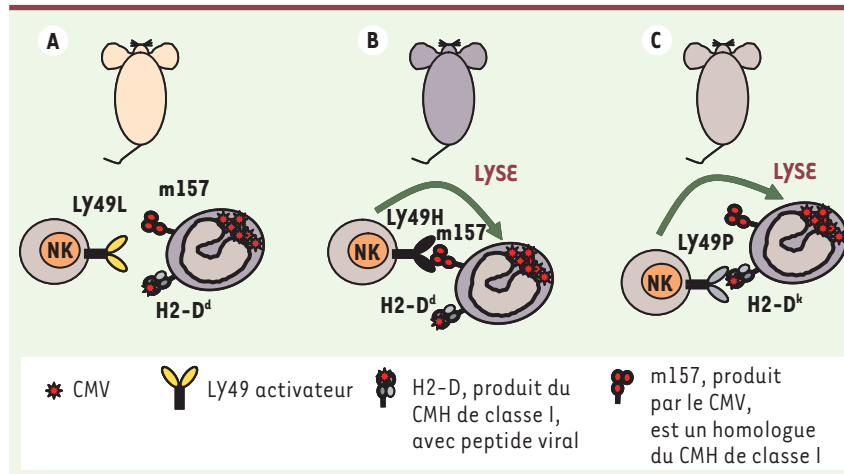
et détermine la résistance de la souris MA/My à l'infection. Ce travail montre que l'interaction entre un récepteur activateur Ly49 et une molécule du CMH-I dépend de l'infection de la cellule cible par le CMV. Il sera important de clarifier si la spécificité de cette liaison dépend d'une protéine virale associée à la molécule du CMH-1, ou si elle relève de la présentation spécifique d'un peptide viral par cette molécule du CMH-1. Il est également surprenant, compte tenu du nombre limité des récepteurs activateurs des cellules NK, qu'au moins deux récepteurs, LY49P et LY49H, soient consacrés à la reconnaissance de l'infection par CMV par des mécanismes différents (Figure 2). Il n'est pas exclu que les récepteurs NK activateurs participent à la reconnaissance d'autres pathogènes. En effet, l'existence d'autres locus de susceptibilité liés à la région Ly49, tels que la susceptibilité au

virus herpès simplex 1 ou au virus ectromelia, conforte cette hypothèse. Le travail de Desrosiers et de ses collaborateurs ouvre également de nouvelles perspectives pour des études chez l'homme. En effet, les LY49 sont les homologues des *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR) humains. Comme pour les LY49, les KIR se divisent en inhibiteurs et en activateurs et peuvent se lier aux molécules de classe I du CMH. Des études épidémiologiques ont mis en relief des associations entre des combinaisons KIR activateurs/CMH de classe I et certaines pathologies [16, 17]. Ainsi, l'étude de Desrosiers fournit de nouvelles pistes pour l'identification des ligands des KIR activateurs. L'étude de la réponse au CMV humain devra enfin tenir compte des études qui, chez la souris, annoncent l'existence d'un avantage sélectif lié à la présence de multiples génotypes des récepteurs activateurs NK contre l'infection. ♦

## Two to tango: novel innate resistance mechanism against cytomegalovirus

### RÉFÉRENCES

- Gandhi MK, Khanna R. Human cytomegalovirus : clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis* 2004 ; 4 : 725-38.
- Biron CA, Byron KS, Sullivan JL. Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 1731-5.
- Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, et al. Natural killer cells in antiviral defense : function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999 ; 17 : 189-220.
- Karre K, Ljunggren HG, Piontek G, Kiessling R. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature* 1986 ; 319 : 675-8.
- Desrosiers MP, Kielczewska A, Loredio-Osti JC, et al. Epistasis between mouse Klra and major histocompatibility complex class I loci is associated with a new mechanism of natural killer cell-mediated innate resistance to cytomegalovirus infection. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 593-9.
- Scalzo AA, Fitzgerald NA, Simmons A, et al. *Cmv-1*, a genetic locus that controls murine cytomegalovirus replication in the spleen. *J Exp Med* 1990 ; 171 : 1469-83.
- DePatie C, Chalifour A, Pare C, et al. Assessment of *Cmv1* candidates by genetic mapping and *in vivo* antibody depletion of NK cell subsets. *Int Immunol* 1999 ; 11 : 1541-51.
- Scalzo AA, Fitzgerald NA, Wallace CR, et al. The effect of the *Cmv-1* resistance gene, which is linked to the natural killer cell gene complex, is mediated by natural killer cells. *J Immunol* 1992 ; 149 : 581-9.
- Kane KP, Silver ET, Hazes B. Specificity and function of activating Ly-49 receptors. *Immunol Rev* 2001 ; 181 : 104-14.
- Lee SH, Gitas J, Zafer A, et al. Haplotype mapping indicates two independent origins for the *Cmv1s* susceptibility allele to cytomegalovirus infection and refines its localization within the Ly49 cluster. *Immunogenetics* 2001 ; 53 : 501-5.
- Brown MG, Dokun AO, Heusel JW, et al. Vital involvement of a natural killer cell activation receptor in resistance to viral infection. *Science* 2001 ; 292 : 934-7.
- Daniels KA, Devora G, Lai WC, et al. Murine cytomegalovirus is regulated by a discrete subset of natural killer cells reactive with monoclonal antibody to Ly49H. *J Exp Med* 2001 ; 194 : 29-44.
- Lee SH, Girard S, Macina D, et al. Susceptibility to mouse cytomegalovirus is associated with deletion of an activating natural killer cell receptor of the C-type lectin superfamily. *Nat Genet* 2001 ; 28 : 42-5.
- Arase H, Mocarski ES, Campbell AE, et al. Direct recognition of cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. *Science* 2002 ; 296 : 1323-6.
- Smith HR, Heusel JW, Mehta IK, et al. Recognition of a virus-encoded ligand by a natural killer cell activation receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 8826-31.
- Martin MP, Gao X, Lee JH, et al. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 2002 ; 31 : 429-34.
- Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med* 2005 ; 201 : 1025-9.



**Figure 2. Modèles de reconnaissance des cellules infectées par le CMV médiée par les récepteurs Ly49 des cellules NK chez la souris.** Les lignées de souris consanguines, dessinées en jaune, gris foncé et gris clair, possèdent des répertoires Ly49 et H2 particuliers. Le virus CMV et ses produits sont indiqués en rouge. **A.** Chez les souris sensibles au CMV, le manque de reconnaissance de la cellule infectée par les récepteurs LY49 activateurs permet la progression de l'infection. **B.** Chez certaines souris résistantes au CMV, la reconnaissance spécifique de la molécule virale m157 par le récepteur activateur Ly49H induit la lyse des cellules infectées et, en conséquence, la restriction de l'infection. **C.** Chez la souris résistante MA/My, l'interaction spécifique entre le récepteur activateur LY49P et la molécule H2-Dk sur la cellule infectée induit la lyse de la cellule et la restriction de l'infection chez la souris.