



migration latérale des complexes virus-récepteur jusqu'aux jonctions serrées, le virus interagit avec CL-1 et OCLN. Le VHC entre alors dans les cellules par un processus d'endocytose qui fait intervenir la clathrine et migre jusqu'aux endosomes précoces où la fusion des membranes se produit. Le génome viral est ainsi libéré dans le cytoplasme de la cellule infectée. ♦

Occludin, an additional key for hepatitis C virus entry

REMERCIEMENTS

Nous remercions Sophana Ung pour la réalisation de l'illustration. Nous remercions Jean Dubuisson pour la relecture du manuscrit. Nous remercions

L'Agence nationale de recherches sur le Sida et les hépatites virales (ANRS). BAT est financée par une allocation post-doctorale de l'ANRS.

RÉFÉRENCES

1. Lemon SM, Walker C, Alter MJ, et al. Hepatitis C virus. In : Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*, vol. 1, 5th ed. Philadelphia : Lippincott-Williams and Wilkins, 2007 : 1253-304.
2. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998 ; 282 : 938-41.
3. Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 2002 ; 21 : 5017-25.
4. Evans MJ, von Hahn T, Tscherne DM, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007 ; 446 : 801-5.
5. Dubuisson J, Helle F, Cocquerel L. Early steps of the hepatitis C virus life cycle. *Cell Microbiol* 2008 ; 10 : 821-7.
6. Liu S, Yang W, Shen L, et al. Tight junction proteins claudin-1 and occludin control hepatitis C virus entry and are downregulated during infection to prevent superinfection. *J Virol* 2009 ; 83 : 2011-4.
7. Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, et al. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 2009 ; 457 : 882-6.
8. Benedicto I, Molina-Jimenez F, Barreiro O, et al. Hepatitis C virus envelope components alter localization of hepatocyte tight junction-associated proteins and promote occludin retention in the endoplasmic reticulum. *Hepatology* 2008 ; 48 : 1044-53.
9. Coyne CB, Bergelson JM. Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell* 2006 ; 124 : 119-31.
10. Coyne CB, Shen L, Turner JR, et al. Coxsackievirus entry across epithelial tight junctions requires occludin and the small GTPases Rab34 and Rab5. *Cell Host Microbe* 2007 ; 2 : 181-92.
11. Enel C, Minello A, Jooste V, et al. Dans l'hépatite chronique C, les délais entre diagnostic et traitement sont liés à la relation médecins-patients. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 519-23.

NOUVELLE

Métabolisme du NAD et contrôle de la réponse inflammatoire

Frédéric Van Gool, Mara Galli, Anthony Rongvaux, Fabienne Andris, Oberdan Leo

Laboratoire de physiologie animale, Université Libre de Bruxelles, rue des Professeurs Jeener et Brachet 12, B-6041 Gosselies, Belgique. oleo@ulb.ac.be

> Une série de travaux publiés récemment semble indiquer un rôle important pour une protéine impliquée dans la biosynthèse du NAD (nicotinamide adénine dinucléotide), la nicotinamide phosphoribosyltransférase (ou Nampt), dans le contrôle des réponses immunes inflammatoires. L'étude de cette protéine pourrait conduire à une meilleure compréhension des liens fonctionnels récemment établis entre métabolisme et inflammation.

La Nampt/PBEF/visfatine, une protéine aux multiples fonctions

Fait plutôt rare dans la brève histoire du décryptage fonctionnel de notre génome, la Nampt a été identifiée de manière indépendante par trois équipes de chercheurs qui lui ont attribué trois fonctions distinctes. Tout d'abord

décrite en 1994 comme une cytokine sécrétée par les cellules du système immunitaire, cette protéine, dénommée PBEF (*pre-B cell colony enhancing factor*) régule la croissance et la survie de cellules hématopoïétiques [1]. Son rôle extracellulaire a été confirmé en 2005 par une équipe japonaise qui l'identifie comme une nouvelle adipokine (visfatine), une hormone produite par le tissu adipeux viscéral et impliquée dans le métabolisme du glucose [2]. C'est en étudiant l'homologue murin de cette protéine en 2002 que notre équipe l'a formellement identifiée comme étant la nicotinamide phosphoribosyltransférase, une enzyme cytoplasmique impliquée dans la biosynthèse du NAD [3]. La Nampt catalyse la première réaction enzymatique qui permet la biosynthèse du NAD à partir du nicotinamide, l'un

des constituants de la vitamine B3 [4]. La fonction enzymatique de cette protéine a été depuis confirmée par plusieurs groupes et la protéine est maintenant officiellement reconnue sous le nom de Nampt [5].

Métabolisme et inflammation

De nombreuses observations, dont les nôtres, ont confirmé l'expression élevée de la Nampt par les cellules du système immunitaire, suggérant une augmentation des besoins en NAD au cours d'une réponse inflammatoire. Afin d'identifier le rôle possible du NAD dans le contrôle d'une réponse immune, nous avons utilisé une approche pharmacologique nous permettant de moduler le taux intracellulaire en NAD [6, 7]. Ces expériences nous ont permis d'établir une forte corrélation entre le taux de NAD

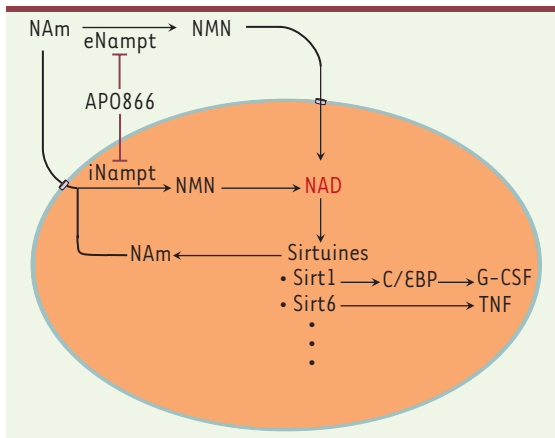


Figure 1. Interactions et fonctions principales des formes extracellulaire et intracellulaire de Nampt. Nampt : nicotinamide phosphoribosyltransférase ; NAD : nicotinamide adénine dinucléotide ; NMN : nicotinamide mononucléotide ; C/EBP : CAAT enhancing binding protein ; G-CSF : granulocyte colony-stimulating factor ; TNF : tumor necrosis factor.

(histone deacetylase) I et II, l'activité catalytique des sirtuines requiert donc un taux adéquat de NAD intracellulaire. L'étude approfondie de la production de TNF, l'une des principales cytokines

de croissance comme le G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*), et une activité accrue de SIRT1, soutenue par une concentration élevée en Nampt et NAD, favorise par exemple la granulopoïèse *in vivo* [9].

La Nampt posséderait donc des fonctions à la fois intracellulaires et extracellulaires susceptibles d'exercer un contrôle positif sur la réponse inflammatoire. Sous sa forme extracellulaire, la Nampt augmente le nombre et/ou la survie de cellules immunes et induit la synthèse de cytokines pro-inflammatoires. Au niveau intracellulaire, cette protéine contribue à la biosynthèse du NAD, permettant une meilleure activité des enzymes de la famille des sirtuines. Récemment, S. Imai et ses collaborateurs ont proposé une nouvelle explication permettant de réconcilier une grande partie des observations publiées à ce jour [10] (Figure 1). Bien que le mécanisme de sécrétion de la Nampt ne soit pas encore élucidé, ces auteurs suggèrent que la Nampt existe bien sous deux formes : une forme intracellulaire (iNampt) et une forme sécrétée (eNampt). Sous sa forme sécrétée, la eNampt permet la conversion du nicotinamide en NMN (nicotinamide mononucléotide) dans le milieu extracellulaire. Ce métabolite peut alors servir de précurseur et permettre aux cellules exprimant de faibles taux de iNampt d'accumuler du NAD. Indépendamment de sa localisation donc, la Nampt permettrait le maintien d'un taux élevé de NAD, indispensable à l'activité d'un ou plusieurs membre(s) de la famille des sirtuines. Les cellules capables de sécréter l'eNampt pourraient influencer les taux de NAD des cellules voisines et promouvoir la production soutenue de TNF. Bien que ces observations suggèrent un nouveau mode de dialogue

intracellulaire et la capacité de production de cytokines proinflammatoires. La réduction du taux intracellulaire de NAD, obtenue grâce à un puissant inhibiteur de la Nampt (APO866, également connu sous le nom de FK866), conduit à une diminution importante du taux des cytokines IL(interleukine)-1 β , IL-6 et TNF (*tumor necrosis factor*). De manière remarquable, l'injection de APO866 inhibe une réaction inflammatoire *in vivo*, comme on l'observe dans des modèles animaux d'arthrite rhumatoïde ou de péritonite aiguë [6]. Il faut souligner que le contrôle exercé par la Nampt sur la production d'une cytokine comme le TNF apparaît spécifique, puisque la production d'autres médiateurs inflammatoires (comme la chimiokine RANTES, *regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted*) n'est pas affectée par les taux intracellulaires de NAD [7].

Outre le rôle bien connu du NAD comme coenzyme intervenant dans de nombreuses réactions d'oxydoréduction, ce dinucléotide constitue également un substrat pour plusieurs familles d'enzymes. Parmi ces protéines, les sirtuines sont aujourd'hui considérées comme de véritables « senseurs » de NAD intracellulaire, tant chez la levure que chez le mammifère [8]. Les sirtuines catalysent une réaction enzymatique qui couple la dégradation d'une molécule de NAD à un événement de désacétylation. Contrairement aux désacétylases classiques de la famille des HDAC

produites par les macrophages activés et une cible privilégiée de nombreux agents anti-inflammatoires, a largement confirmé le rôle des sirtuines dans le contrôle d'une réponse immune. En effet, par des approches pharmacologiques et de génétique moléculaire, nous avons pu démontrer qu'une sirtuine, SIRT6, régule la production de TNF dans les cellules immunes. De manière inattendue, ce contrôle s'opère au niveau post-transcriptionnel, probablement en régulant l'efficacité de traduction de l'ARNm du TNF en protéine [7].

NAD, sirtuines et inflammation : une nouvelle piste pour de nouvelles thérapies anti-inflammatoires ?

Plusieurs auteurs ont aujourd'hui démontré le lien fonctionnel qui existe entre le niveau d'expression de la Nampt, le taux du NAD intracellulaire et l'activité des sirtuines [8]. Outre nos propres travaux sur SIRT6, de nombreuses expériences ont souligné le rôle important de SIRT1, le membre le plus étudié de la famille des sirtuines, dans le contrôle de l'expression de plusieurs gènes cellulaires. SIRT1 semble exercer son activité de régulation en contrôlant le niveau d'acétylation de facteurs de transcription. Une étude récente a par exemple démontré le rôle important de la Nampt, du NAD et de SIRT1 dans le contrôle de l'activité des facteurs de transcription de la famille C/EBP (*CAAT enhancing binding protein*). Ces protéines régulent positivement la production de facteurs



entre cellules inflammatoires et tissus impliqués dans le métabolisme, la très grande diversité des substrats des sirtuines ne permet pas à ce jour de prédire avec certitude les effets biologiques d'une diminution du taux de NAD dans les tissus sains. Les nombreuses observations décrivant un lien fonctionnel entre métabolisme du NAD et contrôle de la réponse immune semblent cependant constituer de nouvelles pistes thérapeutiques pour le contrôle des pathologies inflammatoires. ♦

A new inflammatory pathway linked to NAD

RÉFÉRENCES

1. Samal B, Sun Y, Stearns G, et al. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994 ; 14 : 1431-7.
2. Sommer G, Garten A, Petzold S, et al. Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine. *Clin Sci (Lond)* 2008 ; 115 : 13-23.
3. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol* 2002 ; 32 : 3225-34.
4. Rongvaux A, Andris F, Van Gool F, Leo O. Reconstructing eukaryotic NAD metabolism. *Bioessays* 2003 ; 25 : 683-90.
5. Imai S. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt): a link between NAD biology, metabolism, and diseases. *Curr Pharm Des* 2009 ; 15 : 20-8.
6. Busso N, Karababa M, Nobile M, et al. Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD. *PLoS One* 2008 ; 3 : e2267.
7. Van Gool F, Gallí M, Gueydan C, et al. Intracellular NAD levels regulate tumor necrosis factor protein synthesis in a sirtuin-dependent manner. *Nat Med* 2009 ; 15 : 206-10.
8. Taylor DM, Maxwell MM, Luthi-Carter R, Kazantsev AG. Biological and potential therapeutic roles of sirtuin deacetylases. *Cell Mol Life Sci* 2008 ; 65 : 4000-18.
9. Skokowa J, Lan D, Thakur BK, et al. NAMPT is essential for the G-CSF-induced myeloid differentiation via a NAD⁺-sirtuin-1-dependent pathway. *Nat Med* 2009 ; 15 : 151-8.
10. Revollo JR, Körner A, Mills KF, et al. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* 2007 ; 6 : 363-75.

NOUVELLE

Du bon usage des profils d'expression génique pour la thérapie des lymphomes

Sandrine Roulland, Bertrand Nadel

Centre d'immunologie de Marseille-Luminy (CIML), Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm U631), Centre national de la recherche scientifique (CNRS UMR6102), Université de la Méditerranée, Parc scientifique de Luminy, Case 906, 13288 Marseille, France. nadel@ciml.univ-mrs.fr

> On pourrait considérer que l'histoire de la classification des néoplasmes lymphoïdes débute avec la première description clinico-morphologique par Thomas Hodgkin en 1832 de ce qui est maintenant reconnu comme le lymphome de Hodgkin, et finit en 2008 avec l'application des profils d'expression génique à la stratification fine des lymphomes que propose Louis M. Staudt. Ou bien cette dernière ne fait-elle qu'inaugurer le début d'une nouvelle ère de reconnaissance et de classification des nombreuses entités pathologiques distinctes que constituent les lymphomes. L'introduction de l'outil bioinformatique associé aux études pangénomiques/transcriptomiques et la nécessité de créer de nouvelles formes d'analyse ont généré une période de confusion et de suspicion, qui s'est avérée relativement néfaste à l'application clinique. Les travaux de Louis M. Staudt, depuis l'un des articles princeps de 2002 [1] jusqu'au

récent article de G. Lenz [2], sont à la fois pionniers et *gold standard* dans ce domaine.

Lymphomes diffus à grandes cellules : évolutions thérapeutiques

Le lymphome diffus à grandes cellules (DLBCL) est le lymphome non hodgkinien le plus fréquent chez l'adulte, représentant environ un tiers des nouveaux cas diagnostiqués chaque année et plus de 80 % des lymphomes B agressifs. Les DLBCL constituent une entité très hétérogène incluant de nombreux variants histopathologiques, induisant également une grande hétérogénéité du point de vue de la réponse à la thérapie et de la survie.

Depuis les premières études de A.A. Alizadeh et al. [3] et de A. Rosenwald et al. [1], il est clairement établi que la survie des patients atteints de DLBCL après chimiothérapie est influencée par les caractéristiques moléculaires de la

tumeur et, dans ce contexte, les profils d'expression génique ont permis non seulement l'identification de nouveaux sous-types moléculaires non identifiables par les approches conventionnelles [1, 3] mais aussi le développement des modèles prédictifs en regard de la thérapie utilisée [1, 3, 4]. Au moins trois sous-groupes majeurs peuvent être définis par une signature moléculaire spécifique : le sous-type GC pour *germinal center B cell-like*, dont le profil d'expression est similaire à celui des cellules B normales du centre germinatif (CG) ; le sous-type ABC pour *activated B cell* mimant le profil de cellules B post-CG à un stade de différenciation plasmocytaire, et un troisième sous-type plus rare, défini comme *primary mediastinal B cell lymphoma* (PMBL). Si le potentiel pronostique de ces profils d'expression génique a été confirmé dans les DLBCL, les résultats s'avèrent le plus souvent conflictuels et non reproductibles. Cela est en partie lié à la nature