

la survie cellulaire en réponse à différents types de stress. Cependant le rôle de cette voie et des kinases qui la contrôlent, dans le développement ou l'adaptation à différentes situations physiopathologiques, est complexe et reste encore mal connu. Nos résultats démontrent que la souris CARE-LUC constitue un bon outil pour mieux comprendre la spécificité tissulaire d'induction et la fonction de cette voie. Si l'on envisage d'utiliser la voie eIF2 $\alpha$ -ATF4 comme cible thérapeutique, la souris CARE-LUC pourra également permettre de tester l'efficacité de nouvelles drogues pharmacologiques capables de moduler son activation.  $\diamond$

**Activation of the eIF2 $\alpha$ -ATF4 pathway: an adaptive response to cellular stress**

## REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus par des financements de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR-12-EMMA-0024, ANR-12-BSV2-0025-03) et de l'INRA (ANSSD AlimH).

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Donnelly N, Gorman AM, Gupta S, Samali A. The eIF2alpha kinases: their structures and functions. *Cell Mol Life Sci* 2013 ; 70 : 3493-511.
2. Holcik M, Sonenberg N. Translational control in stress and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005 ; 6 : 318-27.
3. Harding HP, Novoa II, Zhang Y, et al. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol Cell* 2000 ; 6 : 1099-108.
4. Kilberg MS, Shan J, Su N. ATF4-dependent transcription mediates signaling of amino acid limitation. *Trends Endocrinol Metab* 2009 ; 20 : 436-43.

5. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell* 2003 ; 11 : 619-33.
6. B'Chir W, Maurin AC, Carraro V, et al. The eIF2alpha/ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res* 2013 ; 41 : 7683-99.
7. Chaveroux C, Carraro V, Canaple L, et al. In vivo imaging of the spatiotemporal activity of the eIF2alpha-ATF4 signaling pathway: Insights into stress and related disorders. *Sci Signal* 2015 ; 8 : rs5.
8. Baird TD, Wek RC. Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism. *Adv Nutr* 2012 ; 3 : 307-21.
9. Tattoli I, Sorbara MT, Vuckovic D, et al. Amino acid starvation induced by invasive bacterial pathogens triggers an innate host defense program. *Cell Host Microbe* 2012 ; 11 : 563-75.
10. Ohno M. Roles of eIF2alpha kinases in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci* 2014 ; 7 : 22.

## NOUVELLE

### La phosphoprotéine P du virus de la maladie de Borna altère le développement des neurones GABAergiques humains

Chloé Scordel<sup>1</sup>, Muriel Couplier<sup>2-4</sup>

➤ Suite à l'entrée d'un virus dans le cerveau, l'organisme met en place une réponse immunitaire ayant pour but de limiter la dissémination du virus et de résorber l'infection. Ceci se traduit par une encéphalite aiguë, l'inflammation entraînant alors des lésions du tissu nerveux. Il arrive cependant que certains virus ne soient que peu ou pas reconnus par le système immunitaire et n'induisent ni encéphalite, ni lésions majeures. Dans ce cas, le virus peut se répliquer de façon continue et persister dans le cerveau de l'individu infecté pendant toute sa vie. Sa présence n'est toutefois pas sans danger pour les cellules infectées. Il peut en effet interférer avec des fonctions cellulaires

ce qui, sans altérer la survie de la cellule, va être à l'origine de dysfonctionnements et éventuellement de maladies. Ce mécanisme viral a été mis en évidence pour la première fois pour le virus de la chorioméningite lymphocytaire, dans le début des années 1980, par le groupe du Dr Oldstone [1]. Depuis, un certain nombre d'études épidémiologiques, chez l'homme, et expérimentales, chez l'animal, ont suggéré que des virus mettant en place ce type de mécanisme pourraient être responsables de maladies chroniques du système nerveux central. Ils pourraient ainsi être à l'origine de certaines maladies psychiatriques ou neurologiques dont l'étiologie n'est pas encore connue [2].

<sup>1</sup> Max von Pettenkofer Institute and GeneCenter, Feodor-Lynen Strasse 25, Munich, Allemagne ;

<sup>2</sup> INRA, UMR 1161 Virologie, 7, avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France ;

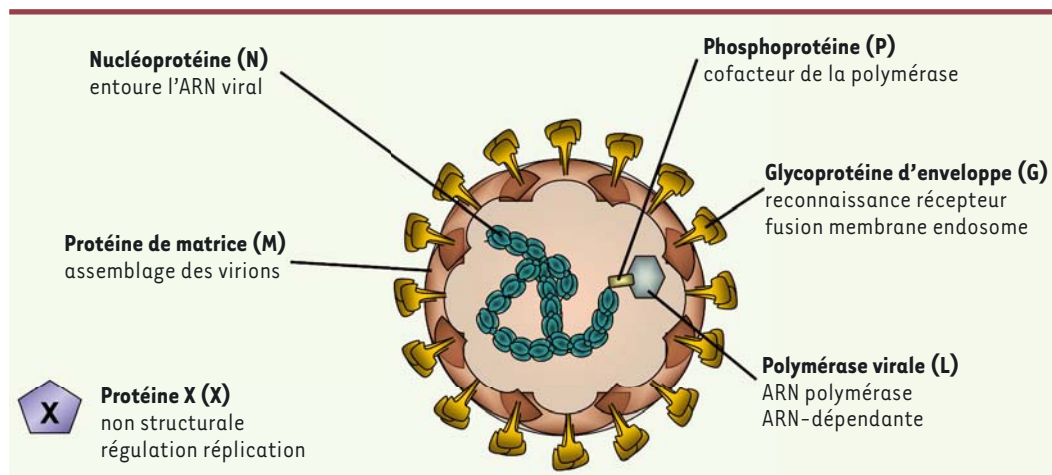
<sup>3</sup> ANSES, UMR 1161 Virologie, 7, avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France ;

<sup>4</sup> Université Paris-Est, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR 1161 Virologie, 7, avenue du Gal de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France.

[mcouplier@vet-alfort.fr](mailto:mcouplier@vet-alfort.fr)

Le virus de la maladie de Borna est un exemple de ce type de virus. Il induit, chez diverses espèces animales, des désordres comportementaux rappelant ceux observés chez les patients schizophrènes ou bipolaires. C'est un virus enveloppé<sup>1</sup> dont le génome est constitué d'un ARN simple brin, non-segmenté, de

<sup>1</sup> Certains virus sont capables de s'entourer d'une enveloppe membranaire, issue de la cellule hôte, qui peut présenter des protéines produites par le virus ou par l'hôte. Par exemple, le virus de la grippe et celui de l'immunodéficience humaine font partie de cette famille de virus.



**Figure 1. Représentation schématique du virus de la maladie de Borna.** Les protéines virales (structurales et non structurales) sont décrites ainsi que leur fonction majeure dans le cycle viral.

polarité négative<sup>2</sup>, qui appartient à la famille des *Bornaviridae* dans l'ordre des *Mononegavirales* (Figure 1). Son génome est de petite taille (8,9 kb) et code pour 6 protéines virales : la nucléoprotéine (N), la phosphoprotéine (P), la protéine X (X), la protéine de matrice (M), la glycoprotéine d'enveloppe (G) et la polymérase (L). Pendant très longtemps, le virus de la maladie de Borna a été l'unique représentant des *Bornaviridae*. Mais les récentes avancées technologiques en matière de séquençage à haut débit (*next-generation sequencing*) ont permis la découverte de nouveaux membres de cette famille. L'*avian-Borna virus*, une forme aviaire du virus, a ainsi été découvert chez des psittacidés<sup>3</sup> atteints de proventriculite<sup>4</sup>, une maladie des systèmes nerveux et digestif [3]. Tout récemment, le *variagated-squirrel 1 Borna virus* a été découvert chez des écureuils multicolores (*Sciurus variagatoïdes*) et chez des patients humains décédés à la suite d'une encéphalite aiguë [4]. Cette dernière découverte suggère très fortement que ce membre de la famille des *Bornaviridae* est à

classer dans les virus zoonotiques (les virus transmis de l'animal à l'homme et pathogènes pour l'homme) [11] (→). Dans le cas du virus de la maladie de Borna, la question de la zoonose est débattue depuis la fin des années 1980, moment où l'infection a été associée au développement de maladies psychiatriques. Cependant, il n'existe pas, à l'heure actuelle, de preuves formelles de son pouvoir pathogène pour l'homme [5]. Il n'en constitue pas moins un excellent modèle pour étudier les mécanismes par lesquels un virus persistant peut entraîner des dysfonctionnements dans le cerveau.

Différents groupes se sont ainsi attachés à comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires par lesquels ce virus perturbe les fonctions cérébrales des animaux et éventuellement de l'homme. Plusieurs études montrent qu'il altère les fonctions de cellules hautement spécialisées, les neurones et les astrocytes. Dans les neurones, il limite la croissance des neurites<sup>5</sup> et la formation des synapses induite par un facteur neurotrophique (le *brain-derived neurotrophic factor*), et il perturbe la transmission synaptique. Dans les astrocytes, l'expression sélective d'une de ses protéines, la phosphoprotéine, induit des remaniements moléculaires qui

conduisent à l'apparition de troubles du comportement chez la souris modifiée par transgénèse [6]. Nos travaux ont porté sur un troisième type de cellules du système nerveux central : les cellules souches [12, 13] (→). Ces cellules non différenciées, qui sont à l'origine des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes, sont présentes à la fois dans le cerveau embryonnaire, où elles participent à la formation du cerveau, et dans le cerveau adulte, dans des zones spécifiques appelées zones neurogéniques. Un dérèglement de la capacité de ces cellules à générer des neurones fonctionnels a été mis en cause dans les maladies neuro-développementales, mais aussi dans des maladies comportementales comme la dépression, la démence ou les psychoses [7, 8]. On sait maintenant que des virus peuvent être à l'origine de ces dérèglements de l'activité des cellules souches. C'est le cas par exemple du cytomégalovirus et du virus de l'immunodéficience humaine [9].

Le virus de la maladie de Borna peut-il également perturber le développement des neurones humains ? Et si oui, par quels mécanismes ? Ce sont les questions auxquelles nous avons cherché à répondre. Pour réaliser cette étude, il était important de se doter d'un modèle qui soit au plus près de la réalité physiologique. Nous avons donc isolé et cultivé des cel-

(→) Voir l'Éditorial de A. Salvetti et S. Baize, page 1055 de ce numéro

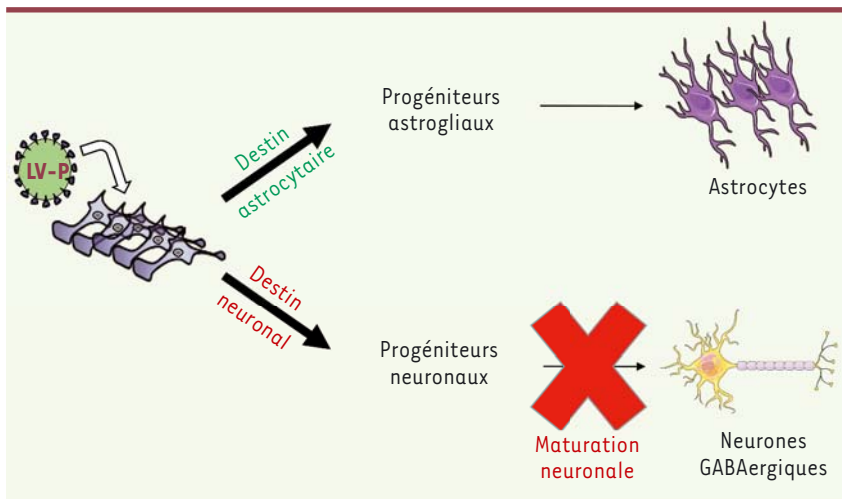
(→) Voir les Synthèses de J. Renaud *et al.*, m/s n° 11, novembre 2015, page 979, et de E. Traiffort et J. Ferent, page 1115 de ce numéro

<sup>2</sup> L'ARN à polarité négative est antisens (complémentaire de l'ARN messager) : il doit d'abord être converti en ARN sens avant de pouvoir être traduit en protéine.

<sup>3</sup> La famille des psittacidés regroupe des espèces d'oiseaux telles que les perroquets et les perruches.

<sup>4</sup> La proventriculite est une maladie touchant particulièrement les psittacidés, caractérisée par une inflammation du système nerveux (central, périphérique et autonome) associée à un dysfonctionnement gastro-intestinal (dilatation du proventricule, la partie du tube digestif située avant le gésier) et à des signes neurologiques.

<sup>5</sup> Les neurites sont les prolongements du corps cellulaire d'un neurone : axone ou dendrite.



**Figure 2.** Représentation schématique du stade de différenciation auquel la phosphoprotéine du virus de la maladie de Borna altère le développement des neurones GABAergiques. L'astrogliogenèse et la neurogenèse à un stade précoce (acquisition de la spécification neuronale) ne sont pas perturbées par la phosphoprotéine P. L'acquisition d'un phénotype GABAergique est, en revanche, partiellement inhibée. LV-P : vecteur lentiviral exprimant le gène codant pour la phosphoprotéine P.

lules souches neurales primaires d'origine humaine. Nous avons infecté ces cellules avec le virus de la maladie de Borna et montré que le virus affecte spécifiquement la formation des neurones (neurogenèse) sans perturber celle des astrocytes (astrogliogenèse) [10]. Ces premiers résultats mettaient donc en évidence que le virus de la maladie de Borna est capable d'induire des dysfonctionnements dans le développement des neurones. Nous avons ensuite exprimé des gènes du virus de la maladie de Borna individuellement dans les cellules, au moyen de vecteurs lentiviraux, et identifié une protéine virale capable de perturber la neurogenèse, la phosphoprotéine P (Figure 2). Nous avons montré que cette protéine induit une altération du programme moléculaire qui contrôle la formation des neurones. Elle module notamment plusieurs facteurs moléculaires (apolipoprotéine E, Noggin<sup>6</sup>, TNR<sup>7</sup>, etc.) par des mécanismes qui restent à identifier.

<sup>6</sup> Noggin (ou NOG) est une protéine de signalisation impliquée dans le développement embryonnaire de plusieurs types de tissus, notamment le tissu nerveux.

<sup>7</sup> TNR (Tenascin-R) est une protéine de la matrice extracellulaire exprimée principalement dans le système nerveux central au cours du développement.

Nous nous sommes ensuite intéressés à une autre question. Quels sous-types neuronaux sont affectés par la phosphoprotéine virale P, et à quel stade de leur différenciation ? Chacun des sous-types de neurones a un rôle spécifique dans le système nerveux central et peut réagir différemment à une infection virale. Il était donc important de résoudre cette question. Nous avons alors observé que les cellules souches de nos cultures produisent en grande majorité des neurones GABAergiques. La phosphoprotéine virale P perturbe la genèse de ces neurones, non en inhibant le processus précoce d'entrée des cellules dans une voie neuronale (la spécification neuronale), mais plutôt en limitant la maturation des neurones et l'acquisition du phénotype GABAergique (Figure 2). Il nous reste à déterminer si la protéine virale perturbe la genèse d'autres sous-types neuronaux (glutamatergiques, dopaminergiques, cholinergiques, etc.) ou si elle agit de façon spécifique sur le système GABAergique.

Les connaissances actuelles suggèrent l'existence, dans les maladies psychiatriques, d'un dysfonctionnement des neurones et d'une rupture de l'équilibre

entre les systèmes excitateurs et inhibiteurs. Ces phénomènes seraient dus à une altération du développement des neurones. Dans le cas de la schizophrénie, une altération du développement des neurones GABAergiques est particulièrement mise en avant [8]. Nos travaux, montrant qu'une protéine virale perturbe le développement des neurones GABAergiques, sont à replacer dans ce contexte. Ils soutiennent l'hypothèse selon laquelle des virus pourraient être impliqués dans le développement des maladies psychiatriques. Pour autant, à l'heure actuelle, il est impossible d'associer le virus de la maladie de Borna lui-même à l'une de ces maladies. Les données épidémiologiques manquent et les difficultés de diagnostic, liées à la biologie du virus et au caractère chronique de ces maladies, rendent la tâche extrêmement difficile.

### En conclusion

Nos travaux permettent une meilleure compréhension du pouvoir pathogène du virus de la maladie de Borna. En soutenant la théorie de l'origine virale des maladies du comportement, ils prouvent l'intérêt de continuer à développer la recherche dans cette direction. De plus, la phosphoprotéine virale P, en perturbant la neurogenèse GABAergique, fournit un nouvel outil pour mieux comprendre, au niveau moléculaire, le développement des neurones GABAergiques. Ceci pourrait avoir des conséquences importantes sur le traitement des maladies dans lesquelles ces neurones sont affectés, comme les maladies psychiatriques et l'épilepsie. ♦

### The Borna disease virus phosphoprotein alters the development of human GABAergic neurons

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Oldstone MB, Rodriguez M, Daughaday WH, Lampert PW. Viral perturbation of endocrine function: disordered cell function leads to disturbed homeostasis and disease. *Nature* 1984 ; 307 : 278-81.



## RÉFÉRENCES

- Van den Pol AN. Viral infection leading to brain dysfunction: more prevalent than appreciated? *Neuron* 2009 ; 64 : 17-20.
- Honkavuori KS, Shivaprasad HL, Williams BL, et al. Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg Infect Dis* 2008 ; 14 : 1883-6.
- Hoffmann B, Tappe D, Höper D, et al. A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. *N Engl J Med* 2015 ; 373 : 154-62.
- Hornig M, Briese T, Licinio J, et al. Absence of evidence for bornavirus infection in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2012 ; 17 : 486-93.
- Planz O, Pleschka S, Wolff T. Borna disease virus: a unique pathogen and its interaction with intracellular signalling pathways. *Cell Microbiol* 2009 ; 11 : 872-9.
- Inta D, Lima-Djeda JM, Gass P, Fusar-Poli P. Postnatal neurogenesis and dopamine alterations in early psychosis. *Recent Pat CNS Drug Discov* 2012 ; 7 : 236-42.
- Kelsom C, Lu W. Development and specification of GABAergic cortical interneurons. *Cell Biosci* 2013 ; 3 : 19.
- Das S, Basu A. Viral infection and neural stem/progenitor cell's fate: implications in brain development and neurological disorders. *Neurochem Int* 2011 ; 59 : 357-66.
- Brnic D, Stevanovic V, Cochet M, et al. Borna disease virus infects human neural progenitor cells and impairs neurogenesis. *J Virol* 2012 ; 86 : 2512-22.
- Salveti A, Baize S. Zoonoses virales et émergence : la recherche ne fait que commencer. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 1055-6.
- Renaud J, Thérien HM, Plouffe M, Martinoli MG. La neuro-inflammation : Dr Jekyll ou Mr Hyde ? *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 979-88.
- Traiffort E, Ferent J. Cellules souches neurales et signalisation Notch. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 1115-25.

## NOUVELLE

### Modification à façon des propriétés physiques du mucus

#### Preuve de concept et applications potentielles

Jean-Luc Desseyn, Valérie Gouyer, Frédéric Gottrand

Centre de recherche sur les maladies inflammatoires ;  
UMR 995 Inserm ; Université de Lille ; CHU de Lille,  
Place de Verdun, 59045 Lille, France.  
[jean-luc.desseyn@inserm.fr](mailto:jean-luc.desseyn@inserm.fr)

➤ Dans le monde, des millions de personnes souffrent d'infections microbiennes avec, pour conséquences, des morbidité et mortalité élevées, particulièrement chez les sujets à risque et les personnes les plus vulnérables comme les enfants et les personnes âgées. Les cellules épithéliales représentent la voie d'entrée principale pour de nombreux agents pathogènes. La plupart du temps ceux-ci doivent cependant, lorsqu'ils sont présents dans la lumière d'un organe, d'abord traverser un gel de mucus qui masque la surface des cellules épithéliales. Ceci est particulièrement vrai dans le vagin et dans les tractus respiratoire et digestif.

#### Composition et organisation du mucus

Le mucus est une sécrétion épaisse, collante, gluante et dynamique, qui est essentielle pour de nombreuses fonctions biologiques. Les fonctions les plus communes attribuées au mucus incluent la lubrification des tissus et l'hydratation et la protection des épithéliums sous-jacents. Le mucus est constitué d'eau (environ 95 % de sa composition) et de

nombreux composants dont des sels, des lipides et des protéines. Les propriétés physico-chimiques et visco-élastiques du mucus sont en grande partie régies par les O-glycoprotéines<sup>1</sup> qu'il contient, encore appelées mucines gélifiantes. Les caractéristiques principales de ces mucines résultent de deux composantes : (1) leur grande région très fortement O-glycosylée ; la partie sucrée de ces protéines, qui représente typiquement jusqu'à 80 % de leur masse sèche, retient l'eau ; et (2) la présence de liaisons covalentes établies entre les monomères de mucine afin de former des multimères. La forte composante aqueuse du mucus rend difficile son étude par les techniques d'imagerie reposant sur l'utilisation d'anticorps ou de lectines. En effet, ces technologies nécessitent des préparations qui dessèchent plus ou moins le mucus, et donc le modifient. Des artefacts, qui représentent autant de biais dans les interprétations des

<sup>1</sup> Les O-glycoprotéines sont des protéines qui sont glycosylées au niveau des groupements OH présentés par les acides aminés hydroxylés, la sérine et la thréonine.

images obtenues, sont ainsi introduits. Les travaux des dix dernières années permettent de mieux appréhender l'organisation du mucus, en particulier les mucus pulmonaire et intestinal. Dans l'intestin, ce mucus est constitué de deux couches. Une couche adhérente (encore appelée couche interne), collée à l'épithélium et qui, par définition, est très difficile à éliminer. Cette première couche est recouverte d'une couche non-adhérente (couche externe) qui est plus difficile à conserver pour l'observation par les techniques classiques d'histologie. Ces deux couches sont composées de plusieurs feuilletts très organisés [1].

#### Mucus et bactéries pathogènes

La muqueuse de la barrière intestinale est un écosystème unique et complexe. Il héberge des milliards de bactéries commensales, majoritairement au niveau du côlon. Cette barrière semi-perméable protège l'épithélium sous-jacent contre les bactéries pathogènes. Il existe un gradient de la population bactérienne décroissant entre la lumière intestinale et la limite entre le mucus non-adhérent