

## RÉFÉRENCES

- Gimenez-Roqueplo AP, Dahia PL, Robledo M. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Horm Metab Res* 2012 ; 44 : 328-33.
- Amar L, Baudin E, Burnichon N, et al. Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 3822-8.
- Emile JF. Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 630-3.
- Letouze E, Martinelli C, Lorient C, et al. SDH Mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell* 2013 ; 23 : 739-52.
- Eisenhofer G, Pacak K, Huynh TT, et al. Catecholamine metabolomic and secretory phenotypes in pheochromocytoma. *Endocr Relat Cancer* 2011 ; 18 : 97-111.
- Lorient C, Burnichon N, Gadessaud N, et al. Epithelial to mesenchymal transition is activated in metastatic pheochromocytomas and paragangliomas caused by SDHB gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E954-62.
- Pastor WA, Aravind L, Rao A. TETonic shift : biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013 ; 14 : 341-56.
- Turcan S, Rohle D, Goenka A, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* 2012 ; 483 : 479-83.
- Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011 ; 19 : 17-30.
- Xiao M, Yang H, Xu W, et al. Inhibition of alpha-KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes Dev* 2012 ; 26 : 1326-38.
- Yang M, Soga T, Pollard PJ. Oncometabolites : linking altered metabolism with cancer. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 3652-8.

## NOUVELLE

### Apoptose et Sida, une affaire d'intégration ?

Jérôme Estaquier<sup>1,2</sup>, Vasco Rodrigues<sup>1</sup>, Ricardo Silvestre<sup>3</sup>,  
Romain Estaquier<sup>1</sup>, Bernard Krust<sup>1</sup>, Mireille Laforge<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CNRS FRE 3235, Université Paris Descartes, 45, rue des Saint-Pères, 75006 Paris, France ;  
<sup>2</sup>Université Laval, centre de recherche en infectiologie, Québec, Canada ;  
<sup>3</sup>Parasite disease group, Instituto de biologia molecular e celular, Universidade do Porto, Porto, Portugal.  
[estaquier@yahoo.fr](mailto:estaquier@yahoo.fr)  
[mirhaddad@gmail.com](mailto:mirhaddad@gmail.com)

> Depuis plus d'une vingtaine d'années, se fondant sur l'hypothèse selon laquelle la déplétion des lymphocytes T CD4 au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) résultait d'une apoptose [1], de nombreuses équipes ont cherché à identifier les mécanismes cellulaires et moléculaires. Dès 1991, les travaux des Dr D. Richman et A. Hovanessian [2, 3] montraient que le virus conduisait à l'apoptose de lignées lymphoblastoïdes T ou de cellules primaires T CD4 activées par un mitogène.

#### Intégration virale et apoptose des lymphocytes T CD4

Une étude publiée récemment par A. Cooper et al. dans la revue *Nature* [4] suggère que l'insertion de l'ADN viral dans le génome de l'hôte est responsable de cette apoptose par le biais d'une activation de la protéine p53 par la DNA-PK, protéine kinase impliquée dans la réponse aux dommages de l'ADN double brin. Les auteurs montrent que l'apoptose touche uniquement les cellules qui

n'expriment pas l'antigène p24, un marqueur direct de la multiplication du virus, suggérant que les cellules meurent avant de pouvoir répliquer le virus. Une analyse des lymphocytes T du sang périphérique isolés de trois individus infectés par le VIH, mais non traités par une thérapie anti-virale, suggère qu'après stimulation *in vitro*, 70 à 90 % des cellules n'exprimant pas l'antigène p24 meurent, mais seulement 30 à 70 % des cellules p24<sup>+</sup> qui représentent entre 0,5 et 0,1 % des cellules CD4<sup>+</sup> meurent par apoptose. Ainsi, la proportion de cellules T CD4<sup>+</sup> apoptotiques (90 %) est très supérieure à celle décrite antérieurement [5], et semble peu compatible avec le taux de CD4 observé chez les patients infectés par le VIH-1 (> 600 CD4<sup>+</sup> par mm<sup>3</sup>). De plus, l'absence de détection de l'antigène p24 pourrait refléter l'activation de protéases effectrices de l'apoptose capables de dégrader les protéines, et non l'absence de répllication comme le proposent les auteurs.

De plus, A. Cooper et al. [4] montrent qu'en bloquant l'intégration virale à

l'aide du raltegravir, un inhibiteur de l'intégrase du VIH, la mort cellulaire est diminuée non seulement dans la lignée lymphoblastoïde T/B CEMX174, mais également dans les cellules primaires T CD4<sup>+</sup> activées par la PHA (phytohé-magglutinine) et l'IL(interleukine)-2, bien que les cellules soient infectées. L'utilisation d'un virus dont l'intégrase est mutée (D64V) réduit également ce processus d'apoptose. Les auteurs proposent que l'apoptose s'accompagne d'une phosphorylation des protéines p53 et H2AX (une variante représentant entre 2 et 25 % de l'histone H2A, rapidement phosphorylée en cas de dommages à l'ADN). L'inhibition pharmacologique de l'activation de DNA-PK, la kinase responsable, prévient la phosphorylation de ces deux molécules ainsi que la mort cellulaire. Enfin, les auteurs montrent que l'inhibition de l'activation de la protéine p53 par un agent pharmacologique, la pifithrine, bloque également l'apoptose des cellules T CD4. Ainsi, les auteurs proposent que l'insertion de l'ADN viral dans le génome de



l'hôte est responsable de l'activation de la DNA-PK qui, à son tour, phosphoryle p53 et induit l'apoptose des cellules T CD4<sup>+</sup> infectées par le VIH. Les cellules mourraient donc avant même que le virus ne se réplique. On peut donc s'interroger sur l'avantage d'un tel mécanisme pour un agent pathogène.

Or, d'autres travaux, dont ceux du groupe du Dr F. Bushman [6], avaient montré que l'accumulation d'ADN viral dans le cytoplasme de la cellule, et non son intégration dans le génome, pouvait être responsable de l'apoptose des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> ; cette accumulation de l'ADN viral pouvant entraîner la mort de cellules dites *bystander* [7]. De plus, si l'activation de la protéine p53 a été décrite par plusieurs groupes, et ce, dès les années 1990, ceux-ci avaient montré que la phosphorylation de la protéine p53 et l'expression des gènes cibles ne concernaient que les cellules qui répliquaient le virus – donc celles qui expriment l'antigène p24 [8, 9].

A. Cooper *et al.* [4] n'ont pas étudié de manière précise l'expression des protéines p53 et DNA-PK dans ces différentes populations, mais laisse penser qu'il s'agit de cellules n'exprimant pas p24 (dans lesquelles le virus ne se réplique pas), ce qui est un peu contradictoire avec les résultats des travaux antérieurs sur l'expression de la protéine p53. Nous avons montré dans un travail récent que l'inactivation de la protéine p53 dans des lymphocytes T CD4 primaires à l'aide de la technique de l'ARN interférent réduit l'apoptose, et, de plus, s'accompagne d'une augmentation de la réplication virale [9]. Nous privilégions l'hypothèse selon laquelle l'activation de la protéine p53 dans les cellules infectées est en fait un senseur de stress permettant l'auto-élimination des cellules, un mécanisme altruiste de défense de l'hôte limitant la dissémination virale. Cette apoptose implique une déstabilisation lysosomale et la protéine DRAM (*damage-regulated autophagy modulator*) [9, 10]. L'expression de DRAM requiert la réplication virale puisque elle

est absente dans les cellules T CD4 exposées au virus mais qui ne le répliquent pas (*bystander cells*).

### Autres mécanismes indirects d'apoptose des lymphocytes T CD4

D'autres mécanismes indirects ont été proposés pour rendre compte de l'apoptose des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> au cours du Sida [11]. Plusieurs travaux ont montré que l'activation chronique du système immunitaire peut conduire à une apoptose de type *activation-induced cell death* (AICD) via les récepteurs de mort, en particulier la molécule Fas, impliquée dans une voie de signalisation dite extrinsèque [5]. De plus, l'interaction entre l'enveloppe du virus, la molécule CD4 et ses corécepteurs CXCR4/CCR5, accroît la sensibilité des cellules à une apoptose induite par Fas [12, 13]. Outre Fas, la protéine Bim, un membre pro-apoptotique de la famille de Bcl-2 impliqué dans une voie de signalisation dite intrinsèque, a également été proposée comme participant à l'apoptose des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> isolés à partir de macaques infectés par la souche pathogène SIVmac [14], ou de patients infectés par le VIH [15]. Bien qu'un rôle de la molécule TRAIL et de ses récepteurs TRAIL-R1/R2 ait été proposé dans la survenue de l'apoptose des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, ces travaux restent controversés [16]. De plus, contrairement aux molécules Fas ou Bim, TRAIL a peu d'impact sur l'homéostasie lymphocytaire T CD4<sup>+</sup>. Il est intéressant de noter que l'addition de facteurs exogènes comme les interleukines-2, -12 ou -15 est capable de prévenir l'apoptose *ex vivo* des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> isolés de patients VIH ou de singes infectés par la souche pathogène SIVmac, via l'induction de facteurs cellulaires anti-apoptotiques comme Bcl-2 ou Bcl-xL, antagonistes de Bim [11]. L'action de l'IL-7, quant à elle, semble dépendre du temps d'exposition à cette cytokine ou de la production de cytokines accessoires. En effet, l'IL-7 n'a pas d'effet notable sur des lymphocytes T CD4 dès lors qu'ils sont purifiés

[5], alors qu'ajoutée à des cellules totales isolées du sang périphérique, elle prévient l'apoptose des cellules après quatre jours de culture [17]. Or, du fait de son effet sur l'expression du corécepteur CXCR4, l'IL-7 pourrait s'avérer plus délétère et pro-apoptogène puisqu'elle entraîne une augmentation de l'expression de la molécule Fas [18]. D'autres travaux ont souligné un rôle facilitateur de l'IL-7 dans l'intégration virale et la réactivation de cellules latentes infectées [19]. Ainsi, de nombreuses études ont montré que les cellules non infectées mouraient majoritairement par apoptose (voir pour revue [11]), et que le niveau d'apoptose prédit l'évolution future vers un Sida.

### Quelle justification au modèle de Cooper ?

Par conséquent, si l'intégration de l'ADN viral conduit à la mort prématurée de la cellule hôte, comme le suggèrent les travaux de A. Cooper *et al.* [4], comment réconcilier cette observation avec le fait que les virus apparentés au VIH, les virus simiens (SIV) non pathogènes comme le SIVagm, le SIVsm ou le SIVmnd, qui s'intègrent et se répliquent *in vivo* de manière équivalente aux virus pathogènes comme le SIVmac239 ou SIVmac251, ne conduisent pas à une déplétion et une apoptose des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> [11] ? Dans ces observations, il existe une dissociation entre la réplication virale et la survenue de l'apoptose, et ce dès la phase de primo-infection [20].

Toutefois, il existe aujourd'hui un paradoxe non résolu. En effet, pourquoi, bien que les virus non pathogènes soient « cytolytiques » *in vitro* après activation des lymphocytes T, n'entraînent-ils pas chez leur hôte un épuisement et une déplétion rapide des lymphocytes T CD4, alors qu'ils se répliquent très bien *in vivo* ? Par conséquent, y a-t-il un intérêt pour le virus à entraîner l'activation du système si cela conduit à une mort plus rapide de son hôte ? *A contrario*, un virus non pathogène inhibe-t-il plus fortement l'acti-

tion lymphocytaire qu'un virus pathogène pour empêcher la cellule de mourir ? Le virus chercherait-il à rendre anergique la réponse CD4, voire à minimiser celle-ci afin de lui permettre une meilleure dissémination et survie ? Ainsi, la localisation du virus dans des sites où la réponse immunitaire est effectivement hautement contrôlée comme l'intestin représente-t-elle une stratégie d'échappement à la réponse immune ou bien une manière de se tapir dans des sanctuaires privilégiés à faible niveau d'activation [21, 22] ? Ainsi, tel Orphée, le virus interférerait-il avec les signaux de l'hôte pour inhiber l'activation et promouvoir sa survie ?

En conclusion, si cette nouvelle étude propose un mécanisme moléculaire d'apoptose associé à l'insertion du génome viral (intégration) dans la cellule hôte et implique les protéines p53 et DNA-PK, une stratégie d'inhibition de ces molécules pourrait conduire à faciliter non seulement la réplication virale mais également le développement de cancers du fait de leur importance dans la réparation des dommages aux molécules d'ADN. En raison de la redondance des voies biochimiques impliquées et des mécanismes décrits ci-dessus, inhiber l'apoptose *in vivo* représente un réel défi. ♦

### Apoptosis and Aids, a question of integration?

#### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### REMERCIEMENTS

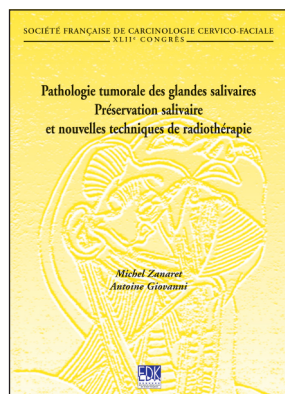
Ce travail a été financé par l'Agence nationale de recherches sur le Sida et les hépatites virales (ANRS, JE). ML a bénéficié d'une bourse de l'ANRS et VR d'une bourse du FCT code SFRH/BD/64064/2009. RS était soutenu par FCT program Ciência 2008. Je remercie le Canada Research Chair program pour son aide.

#### RÉFÉRENCES

1. Ameisen JC, Estaquier J, Idziorek T. From AIDS to parasite infection : pathogen-mediated subversion of programmed cell death as a mechanism for immune dysregulation. *Immunol Rev* 1994 ; 142 : 9-51.
2. Terai C, Kornbluth RS, Pauza CD, et al. Apoptosis as a mechanism of cell death in cultured T lymphoblasts acutely infected with HIV-1. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1710-5.
3. Laurent-Crawford AG, Krus B, Muller S, et al. The cytopathic effect of HIV is associated with apoptosis. *Virology* 1991 ; 185 : 829-39.
4. Cooper A, Garcia M, Petrovas C, et al. HIV-1 causes CD4 cell death through DNA-dependent protein kinase during viral integration. *Nature* 2013 ; 498 : 376-9.
5. Estaquier J, Tanaka M, Suda T, et al. Fas-mediated apoptosis of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells from human immunodeficiency virus-infected persons: differential *in vitro* preventive effect of cytokines and protease antagonists. *Blood* 1996 ; 87 : 4959-66.
6. Li L, Olvera JM, Yoder KE, et al. Role of the non-homologous DNA end joining pathway in the early steps of retroviral infection. *EMBO J* 2001 ; 20 : 3272-81.
7. Doitsh G, Caviros M, Lassen KG, et al. Abortive HIV infection mediates CD4 T cell depletion and inflammation in human lymphoid tissue. *Cell* 2010 ; 143 : 789-801.
8. Imbeault M, Giguere K, Ouellet M, et al. Exon level transcriptomic profiling of HIV-1-infected CD4<sup>+</sup> T cells reveals virus-induced genes and host environment favorable for viral replication. *PLoS Pathog* 2012 ; 8 : e1002861.
9. Laforge M, Limou S, Harper F, et al. DRAM triggers lysosomal membrane permeabilization and cell death in CD4<sup>+</sup> T cells infected with HIV. *PLoS Pathog* 2013 ; 9 : e1003328.
10. Laforge M, Petit F, Estaquier J, et al. Commitment to apoptosis in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes productively infected

with human immunodeficiency virus type 1 is initiated by lysosomal membrane permeabilization, itself induced by the isolated expression of the viral protein Nef. *J Virol* 2007 ; 81 : 11426-40.

11. Hurtrel B, Petit F, Arnoult D, et al. Apoptosis in SIV infection. *Cell Death Differ* 2005 ; 12 (suppl 1) : 979-90.
12. Estaquier J, Lelievre JD, Petit F, et al. Effects of antiretroviral drugs on human immunodeficiency virus type 1-induced CD4<sup>+</sup> T-cell death. *J Virol* 2002 ; 76 : 5966-73.
13. Viollet L, Monceaux V, Petit F, et al. Death of CD4<sup>+</sup> T cells from lymph nodes during primary SIVmac251 infection predicts the rate of AIDS progression. *J Immunol* 2006 ; 177 : 6685-94.
14. Arnoult D, Petit F, Lelievre JD, et al. Caspase-dependent and -independent T-cell death pathways in pathogenic simian immunodeficiency virus infection : relationship to disease progression. *Cell Death Differ* 2003 ; 10 : 1240-52.
15. van Grevenynghé J, Procopio FA, He Z, et al. Transcription factor FOXO3a controls the persistence of memory CD4<sup>+</sup> T cells during HIV infection. *Nat Med* 2008 ; 14 : 266-74.
16. Laforge M, Campillo-Gimenez L, Monceaux V, et al. HIV/SIV infection primes monocytes and dendritic cells for apoptosis. *PLoS Pathog* 2011 ; 7 : e1002087.
17. Vassena L, Proschan M, Fauci AS, et al. Interleukin 7 reduces the levels of spontaneous apoptosis in CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells from HIV-1-infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 2355-60.
18. Lelievre JD, Petit F, Arnoult D, et al. Interleukin 7 increases human immunodeficiency virus type 1 LAI-mediated Fas-induced T-cell death. *J Virol* 2005 ; 79 : 3195-9.
19. Scripture-Adams DD, Brooks DG, Korin YD, et al. Interleukin-7 induces expression of latent human immunodeficiency virus type 1 with minimal effects on T-cell phenotype. *J Virol* 2002 ; 76 : 13077-82.
20. Cumont MC, Diop O, Vaslin B, et al. Early divergence in lymphoid tissue apoptosis between pathogenic and nonpathogenic simian immunodeficiency virus infections of nonhuman primates. *J Virol* 2008 ; 82 : 1175-84.
21. Cumont MC, Monceaux V, Viollet L, et al. TGF-beta in intestinal lymphoid organs contributes to the death of armed effector CD8 T cells and is associated with the absence of virus containment in rhesus macaques infected with the simian immunodeficiency virus. *Cell Death Differ* 2007 ; 14 : 1747-58.
22. Estaquier J, Hurtrel B. Sanctuaire du virus de l'immunodéficience humaine et mécanismes d'échappement. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 1055-60.



**Bon de commande à retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris**  
Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Pathologie tumorale des glandes salivaires** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **E D K**

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |