



par les interneurons CRF/GABA de la strie terminale [11] (Figure 1) et favorisent leur activation. Cette activation des interneurons CRF/GABA, suite à celle des récepteurs 5-HT<sub>2C</sub> par un agoniste (mCPP, méta-chlorophénylpipérazine) ou par la libération locale de 5-HT (par optogénétique), conduit à l'inhibition des neurones de la strie terminale vers lesquels ils projettent (Figure 1). Il est ainsi possible d'enregistrer des potentiels inhibiteurs (IPSP) dans ces neurones GABAergiques projetant vers la VTA [11]. Or, comme nous l'avons déjà vu, l'activation de ces neurones est anxiolytique [10]. Leur inhibition par les neurones CRF/GABA activés par les récepteurs 5-HT<sub>2C</sub> est donc logiquement anxiogène [11] (Figure 1).

Les auteurs ont alors testé si les inhibiteurs des récepteurs CRF1 bloquaient les effets anxiogènes des ISRS. L'expérience fut positive [11]. La localisation des récepteurs CRF1 impliqués dans cet effet n'est pas encore certaine. Mais ces récepteurs pourraient être exprimés par

les neurones GABA projetant vers la VTA car l'augmentation des IPSP, enregistrée dans ces neurones suite à la stimulation par la 5-HT, est bloquée par les antagonistes des récepteurs CRF1 [11].

Les antagonistes des récepteurs CRF1 pourraient-ils être associés aux ISRS dans les premières semaines d'un traitement contre les anxiétés généralisées et les attaques de panique ? Une piste à suivre. ♦

### The anxiogenic effects of SSRI are mediated by 5-HT<sub>2C</sub> receptors of the stria terminalis

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Guimarães FS, Zangrossi Jr H, Del Ben CM, Graeff FG. Serotonin in panic and anxiety disorders. In : Müller CP, Jacobs BL, eds. *Handbook of the behavioral neurobiology of serotonin*. London : Academic Press, 2010 : 667-85.
2. Rainer Q, Gardier AM, Hen R, David DJ. Mécanismes des effets comportementaux de type anxiolytique/antidépresseur de la fluoxétine (Prozac®) : implication de la neurogenèse hippocampique. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 795-8.
3. Gorman JM, Liebowitz MR, Fyer AJ, et al. An open trial of fluoxetine in the treatment of panic attacks. *J Clin Psychopharmacol* 1987 ; 7 : 329-32.
4. Burghardt NS, Bush DE, McEwen BS, LeDoux JE. Acute selective serotonin reuptake inhibitors increase conditioned fear expression: blockade with a 5-HT(2C) receptor antagonist. *Biol Psychiatry* 2007 ; 62 : 1111-8.
5. Bockaert J, Claeysen S, Dumuis A, Marin P. Classification and signaling characteristics of 5-HT receptors. In : Müller CP, Jacobs BL, eds. *Handbook of the behavioral neurobiology of serotonin*. London : Academic Press, 2010 : 103-21.
6. Videtic A, Peternej TT, Zupanc T, et al. Promoter and functional polymorphisms of HTR2C and suicide victims. *Genes Brain Behav* 2009 ; 8 : 541-5.
7. Labasque M, Meffre J, Carrat G, et al. Constitutive activity of serotonin 2C receptors at G protein-independent signaling: modulation by RNA editing and antidepressants. *Mol Pharmacol* 2010 ; 78 : 818-26.
8. Heisler LK, Zhou L, Bajwa P, et al. Serotonin 5-HT(2C) receptors regulate anxiety-like behavior. *Genes Brain Behav* 2007 ; 6 : 491-6.
9. Lebow MA, Chen A. Overshadowed by the amygdala: the bed nucleus of the stria terminalis emerges as key to psychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 2016 ; 21 : 450-63.
10. Jennings JH, Sparta DR, Stamatakis AM, et al. Distinct extended amygdala circuits for divergent motivational states. *Nature* 2013 ; 496 : 224-8.
11. Marcinkiewicz CA, Mazzone CM, D'Agostino G, et al. Serotonin engages an anxiety and fear-promoting circuit in the extended amygdala. *Nature* 2016 ; 537 : 97-101.

## NOUVELLE

### Le récepteur des adénovirus et des coxsackievirus (CAR) est impliqué dans les processus cognitifs

Charleine Zussy<sup>1,2</sup>, Fabien Loustalot<sup>1,2</sup>, Felix Junyent<sup>1,2</sup>, Eric J. Kremer<sup>1,2</sup>, Sara Salinas<sup>3</sup>

#### La plasticité neuronale

Lors du développement du système nerveux, les neurones s'organisent en réseaux permettant notre fonctionnement moteur, sensoriel et cognitif. Ces réseaux ne sont cependant pas figés. La plasticité neuronale permet à notre cerveau, via des modifications au niveau synaptique et/ou cellulaire, de s'adapter à l'environnement. La découverte de la génération de nou-

veaux neurones chez l'adulte (processus appelé neurogenèse adulte) [1] (→) a provoqué de nombreux débats. Il est désormais démontré que ce processus participe à la plasticité neuronale. La neurogenèse adulte joue notamment un rôle crucial dans la régulation de nou-

(→) Voir la Nouvelle de M. Lemasson et P.M. Lledo, m/s n° 6-7, juin-juillet 2003, page 664

<sup>1</sup> Institut de génétique moléculaire de Montpellier, CNRS 5535, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France.

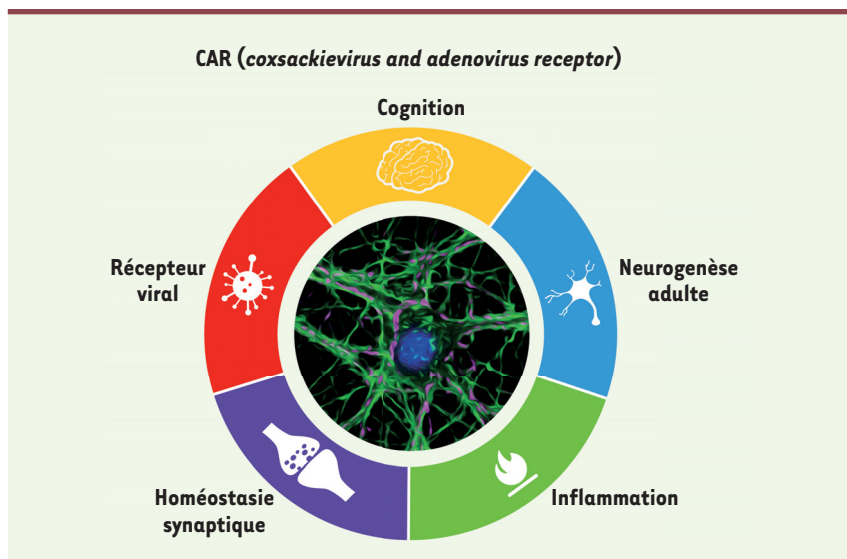
<sup>2</sup> Université de Montpellier, 4, boulevard Henry IV, 34967 Montpellier Cedex 2, France.

<sup>3</sup> UMR 1058, Inserm, Université de Montpellier, Établissement français du sang, Pathogenèse et contrôle des infections chroniques, 60, rue de Navacelles, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

[sara.salinas@inserm.fr](mailto:sara.salinas@inserm.fr)

breux processus cognitifs comme la mémoire ou dans certains désordres psychiatriques tels que la dépression et le stress post-traumatique [1]. Chez l'être humain, la région sous-granaire (SGZ, *subgranular zone*) de l'hippocampe<sup>1</sup> est

<sup>1</sup> L'hippocampe est une structure cérébrale impliquée dans la régulation des processus d'apprentissage et de mémorisation, ainsi que dans la représentation de cartes spatiales.



**Figure 1. Rôle de CAR dans le SNC mature.** CAR (*coxsackievirus and adenovirus receptor*) est fortement exprimée dans le système nerveux central (SNC) en développement et mature. L'invalidation de son expression, spécifiquement dans les cellules d'origine neurale au cours du développement, n'a pas d'effet drastique sur l'organisation architecturale du cerveau. Cependant, au niveau cellulaire, l'absence de CAR au niveau des neurones nouveau-nés issus de la neurogenèse adulte et des synapses, où elle est trouvée en condition normale, déclenche des déficits cognitifs. De plus, un environnement pro-inflammatoire tel qu'on peut le trouver dans la maladie d'Alzheimer mène à une baisse de CAR, ce qui pourrait être cohérent avec un rôle de CAR dans l'homéostasie de l'hippocampe, structure clé impliquée dans la régulation de processus cognitifs tels que l'apprentissage et la mémoire.

un des lieux privilégiés de la neurogenèse adulte où environ 700 nouveaux neurones par jour sont générés [2]. L'hippocampe contient des précurseurs qui peuvent soit se diviser pour maintenir leur population, soit, en fonction de signaux spécifiques, se différencier en neurones. Après un stade de neurone immature, le neurone « nouveau-né » sera intégré dans les réseaux hippocampiques et participera à la régulation de l'activité neuronale de cette structure.

Un dysfonctionnement des réseaux neuronaux suite à la dérégulation d'un mécanisme moléculaire ou à une mort cellulaire, est à l'origine de nombreuses maladies neurodégénératives. Parmi celles-ci, la maladie d'Alzheimer (MA) est la première cause de démence dans le monde. Cette maladie est caractérisée par l'apparition de plaques composées d'oligomères de peptide A $\beta$ , générés par un clivage anormal de la protéine APP (*amyloid precursor protein*), et par l'ac-

cumulation de filaments intracellulaires constitués de la protéine Tau. Si l'étiologie de cette pathologie reste peu claire, les processus inflammatoires semblent exacerber, voire provoquer, les dérégulations des mécanismes neuronaux touchés dans cette maladie [3].

### CAR et le système nerveux central

La protéine CAR (*coxsackievirus and adenovirus receptor*) fait partie de la superfamille des immunoglobulines et, comme son nom le suggère, a été initialement identifiée comme récepteur viral [4]. Des études sur son rôle cellulaire ont ensuite démontré qu'elle possède une fonction d'adhérence au sein des jonctions serrées au niveau des épithéliums. Les domaines extracellulaires de CAR y forment des homodimères en *trans* et renforcent l'interaction cellule-cellule [4]. CAR est de plus fortement exprimée dans le système nerveux central (SNC) au cours du développement, ce qui a mené

à la proposition d'un rôle de cette molécule dans l'établissement des réseaux neuronaux [5].

Nos résultats antérieurs ont montré, dans les neurones moteurs, que CAR était impliquée dans le tropisme neuronal et le transport axonal rétrograde<sup>2</sup> de vecteurs dérivés de CAV-2 (*canine adenovirus type 2*) [6, 7]. CAR est en effet exprimée par les neurones moteurs et se localise à la jonction neuromusculaire. Suite à la fixation de CAV-2, CAR est internalisée et transportée dans les axones [6].

Ces observations ont soulevé des questions quant à la fonction de CAR dans les neurones matures, c'est-à-dire dans le cerveau adulte. En tant que molécule d'adhérence, CAR pourrait réguler des processus neuronaux tels que la pousse neuritique, la formation des synapses (synaptogenèse) ou la neurogenèse adulte, comme d'autres protéines appartenant à la même famille, par exemple NCAM (*neuronal cell adhesion molecule*).

### Étude du rôle de CAR dans le SNC

Afin de caractériser le rôle de CAR dans le cerveau, nous avons utilisé une combinaison d'approches moléculaires, biochimiques, cellulaires, électrophysiologiques et comportementales. Nous avons ainsi montré que CAR se trouve à la synapse, une sous-structure neuronale clé permettant la neurotransmission [8]. Nos études histologiques sur cerveau de souris ont montré une expression importante de CAR dans l'hippocampe, en particulier au niveau de la zone sous-granulaire. Grâce à l'utilisation de marqueurs spécifiques des différentes étapes de la neurogenèse adulte, nous avons mis en évidence l'expression préférentielle de CAR dans les neurones « nouveau-nés » immatures. Après avoir isolé biochimiquement les synapses de cerveaux adultes (synaptosomes<sup>3</sup>), nous avons pu également démontrer que CAR est une

<sup>2</sup> Transport de molécules le long de l'axone, de la synapse du neurone vers son corps cellulaire.

<sup>3</sup> Terminaison synaptique isolée d'un neurone.



protéine synaptique plus particulièrement localisée à la pré-synapse<sup>4</sup>. Ces observations ont ensuite été confirmées sur des neurones hippocampiques murins mis en culture : dans ces neurones, CAR est localisée dans des structures contenant des protéines régulant l'activité synaptique telle que la synaptophysine<sup>5</sup>. Ces données sur la localisation de CAR suggèrent que cette protéine pourrait influencer la neurogenèse adulte et/ou la plasticité synaptique.

Afin d'avoir une vision plus globale du rôle de CAR dans le SNC, nous avons créé une lignée de souris dans laquelle le gène codant pour CAR, *Cxadr*, a été invalidé spécifiquement dans les cellules d'origine neurale, grâce à la technique de la recombinaison Cre<sup>6</sup> [9]. Les souris KO (*knock-out*) pour CAR dans le SNC (CAR-SNC<sup>KO</sup>) ne présentent pas d'anomalies dans l'architecture cérébrale [8]. Nous avons ensuite évalué plus précisément la neurogenèse adulte hippocampique grâce à l'utilisation d'un analogue nucléotidique (ÉdU, 5-éthynyl-2'-désoxyuridine), qui s'insère spécifiquement dans les cellules en division (comme les cellules souches neurales), et de marqueurs spécifiques des neurones immatures (exprimant la forme polysialisée de NCAM, PSA-NCAM) ou mature (exprimant le facteur de transcription NeuN [*neuronal nuclei*]). Nous avons ensuite attendu 1, 7 et 28 jours après l'injection d'ÉdU et quantifié le nombre de nouveaux neurones immatures et matures chez les souris contrôles et CAR-SNC<sup>KO</sup>. Nous avons mis en évidence une augmentation des neurones immatures et une diminution des neurones matures chez les souris n'exprimant pas CAR dans le SNC, suggérant un défaut de neurogenèse adulte en l'absence de cette molécule d'adhérence. Lorsque nous avons mesuré la neurotransmission sur des tranches<sup>7</sup> d'hippocampes, nous avons également observé un défaut de transmission synaptique chez les souris CAR-SNC<sup>KO</sup> femelles. En utilisant un ensemble de tests comportementaux, nous avons pu démontrer que ces défauts fonctionnels se traduisaient par des problèmes cognitifs puisque les souris CAR-SNC<sup>KO</sup> présentent des problèmes de mémoire spatiale à court et à long terme<sup>8</sup>, mais également un comportement anxieux (Figure 1).

**CAR et maladie d'Alzheimer**  
Compte-tenu de l'effet potentiel de l'absence de CAR dans le SNC sur les processus cognitifs, nous nous sommes interrogés sur le rôle de CAR dans des pathologies neuronales présentant des déficits cognitifs, et pour lesquelles la fonction synaptique et la neurogenèse adulte sont affectées. Nous nous sommes donc concentrés sur la MA, dans laquelle des défauts de ces processus participeraient à la progression de la pathologie. Ce choix a été conforté par le fait que CAR pouvait être modulée par des sécrétases, enzymes également impliquées dans la MA. Nous avons dans un premier temps évalué le niveau de CAR dans un modèle animal de la MA, les souris 3xTgAD [10]. Nous avons pu observer une diminution de l'expression de CAR à des stades précoces et tardifs de la maladie [8]. Puis, nous avons également observé une baisse de CAR dans des échantillons d'hippocampes de patients atteints de la MA (à un stade précoce), démontrant que le niveau de CAR est dérégulé dans cette pathologie.

Nous nous sommes alors intéressés au(x) mécanisme(s) impliqué(s) dans la diminution de CAR dans le SNC pathologique. Pour cela, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle la neuro-inflammation pouvait moduler la stabilité de CAR. Nous avons observé l'effet direct de cytokines pro-inflammatoires (le facteur de nécrose tumorale TNF- $\alpha$  et l'interféron [IFN]- $\gamma$ ) sur le niveau de CAR dans des neurones hippocampiques murins en culture. De manière intéressante, ces cytokines provoquent une baisse de CAR (Figure 1). Nous avons ensuite montré que l'injection de LPS (lipopolysaccharide), une molécule pro-inflammatoire, menait à une diminution, potentiellement sélective, du niveau de CAR au niveau des neurones immatures de l'hippocampe murin.

### En conclusion

Notre étude montre que CAR joue un rôle clé dans l'homéostasie de l'hippocampe et que, dans un environnement pro-inflammatoire tel qu'observé dans la MA, sa stabilité est modulée. Il est donc possible que cette molécule participe, en concomitance avec d'autres acteurs cellulaires et moléculaires, à l'établissement de dysfonctionnements neuronaux qui, ultimement, mèneront à des troubles cognitifs (Figure 1).  $\diamond$

### The coxsackievirus and adenovirus receptor is involved in cognitive processes

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Lemasson M, Lledo PM. Le cerveau adulte : un perpétuel chantier ! *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 664-6.
2. Lepousez G, Nissant A, Lledo PM. Adult neurogenesis and the future of the rejuvenating brain circuits. *Neuron* 2015 ; 86 : 387-401.
3. Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, et al. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 2013 ; 153 : 1219-27.
4. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2015 ; 14 : 388-405.
5. Loustalot F, Kremer EJ, Salinas S. Membrane dynamics and signaling of coxsackievirus and adenovirus receptor. *Int Rev Cell Mol Biol* 2016 ; 322 : 331-62.

<sup>4</sup> Une synapse est composée d'un élément pré-synaptique, la terminaison synaptique d'un neurone libérant des neurotransmetteurs, et d'un élément post-synaptique, les dendrites d'un second neurone présentant des récepteurs de neurotransmetteurs. L'espace entre la pré-synapse et la post-synapse est appelé la fente synaptique.

<sup>5</sup> Glycoprotéine présente dans la membrane des vésicules contenant les neurotransmetteurs.

<sup>6</sup> Le système de recombinaison Cre-lox utilise l'enzyme recombinaison Cre, une tyrosine recombinaison issue du bactériophage P1, afin de cibler des séquences loxP (également issues du bactériophage P1), permettant ainsi d'exciser les séquences nucléotidiques situées entre les séquences lox.

<sup>7</sup> L'électrophysiologie sur tranche consiste en l'enregistrement de l'activité des cellules présentes dans une tranche de tissu, préparée de façon aiguë.

<sup>8</sup> La mémoire à court terme est un processus qui permet de retenir et réutiliser très rapidement de l'information, qui n'est stockée que quelques secondes. La mémoire à long terme, au contraire, désigne un processus de mémorisation, de stockage de l'information, qui pourra être rappelée à n'importe quel moment. Nos connaissances, nos souvenirs et nos savoir-faire font partie de cette mémoire à long terme.

## RÉFÉRENCES

6. Patzke C, Max KE, Behlke J, et al. The coxsackievirus-adenovirus receptor reveals complex homophilic and heterophilic interactions on neural cells. *J Neurosci* 2010 ; 30 : 2897-910.
7. Salinas S, Bilisland LG, Henaff D, et al. CAR-associated vesicular transport of an adenovirus in motor neuron axons. *PLoS Pathog* 2009 ; 5 : e1000442.
8. Junyent F, Kremer EJ. CAV-2: why a canine virus is a neurobiologist's best friend. *Curr Opin Pharmacol* 2015 ; 24 : 86-93.
9. Zussy C, Loustalot F, Junyent F, et al. Coxsackievirus adenovirus receptor loss impairs adult neurogenesis, synapse content and hippocampus plasticity. *J Neurosci* 2016 ; 36 : 9558-71.
10. Tronche F, Kellendonk C, Kretz O, et al. Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet* 1999 ; 23 : 99-103.
11. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A $\beta$  and synaptic dysfunction. *Neuron* 2003 ; 39 : 409-21.

## NOUVELLE

### Analyse des événements virologiques intrahépatiques d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B

Maëlle Locatelli<sup>1-3</sup>, Barbara Testoni<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup> Inserm U1052, 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France ;

<sup>2</sup> Centre de recherche en cancérologie de Lyon (CRCL), 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France ;

<sup>3</sup> Université de Lyon, UMR-S1052, UCBL, 151, cours Albert Thomas, 69003 Lyon, France.

[barbara.testoni@inserm.fr](mailto:barbara.testoni@inserm.fr)

> Le virus de l'hépatite B (VHB) est un virus à ADN hépatotropique. Malgré l'existence d'un vaccin, plus de 240 millions de personnes dans le monde sont, aujourd'hui, chroniquement infectées par le VHB et présentent un risque accru de développer un carcinome hépatocellulaire lié à cette infection [1]. Les traitements actuels contre l'hépatite B chronique (CHB) ne permettent pas d'éliminer complètement l'infection du fait de la persistance de l'ADNccc (ADN circulaire clos covalent). L'ADNccc est la forme moléculaire essentielle de l'ADN viral. Il forme un mini-chromosome viral responsable de la persistance de l'infection au niveau du seul hépatocyte. L'histoire naturelle de la CHB passe par plusieurs phases qui reflètent l'interaction entre le virus et le système immunitaire de l'hôte [2] (Figure 1). De nombreux facteurs viraux ou de l'hôte régulent l'abondance et la demi-vie de l'ADNccc dans le foie des patients infectés aux différents stades de la maladie. L'étude de ces facteurs est cependant entravée par un manque de techniques appropriées.

Une étude récente de Zhang *et al.* du Shanghai Public Health Clinical Center [3] s'est fixée l'objectif d'étudier de manière approfondie, avec une réso-

lution unicellulaire, la distribution des antigènes viraux et des acides nucléiques dans le foie des patients atteints de CHB. Cette caractérisation a permis d'améliorer notre compréhension de la biologie de ce virus et de la maladie.

Ce groupe de chercheurs a mis au point une technique innovante d'hybridation *in situ*, spécifique de tous les intermédiaires nucléiques (ARN, ADN et ADNccc) du virus de l'hépatite B. En effet, lors de son cycle viral, l'ADN encapsidé (ADNrc, ADN circulaire relâché) va être complété pour former l'ADNccc. Cet ADN servira de matrice aux différents ARN viraux que sont l'ARN pré-génomique (ARNpg) [4] et les ARN codant les différentes protéines virales (Figure 2). Les auteurs ont ainsi pu analyser la distribution de l'ADNccc ainsi que des différents intermédiaires nucléiques du VHB, mais aussi des antigènes viraux de surface (HBs, *hepatitis B surface antigen*) et de core (Hbc, *hepatitis B core antigen*) au sein de patients atteints de CHB à différents stades de la maladie et ce, avec ou sans traitement.

#### Technique d'observation des intermédiaires nucléiques viraux

La technique mise au point [3] consiste en une méthode d'hybridation *in situ* permettant d'observer les différents

intermédiaires nucléiques viraux grâce à l'utilisation de 3 sondes : (a) une première sonde permettant l'observation de l'ARNpg ainsi que de l'ADN viral total ; (b) une deuxième permettant l'observation de l'ADN viral total ; et (c) une dernière permettant l'observation de l'ADNccc, ainsi que de l'ARNpg et des ARN subgénomiques.

Le virus de l'hépatite B possède 4 ORF (*open reading frame*, cadre ouvert de lecture) chevauchants et de même direction [5]. Il est donc impossible d'observer spécifiquement les différents intermédiaires sans digestion enzymatique préalable. Afin de permettre l'observation spécifique de l'ADNccc, les échantillons ont donc subi deux traitements : un utilisant les ribonucléases A et H, afin d'éliminer les différents ARN viraux, ainsi qu'un traitement avec une désoxyribonucléase (Plasmid-Safe™), permettant la dégradation des ADN non circulaires. Un dernier traitement à la désoxyribonucléase I (DNaseI), enzyme dégradant tous les types d'ADN, a été effectué avant toute observation des ARN viraux.

Afin de valider cette technique, Zhang *et al.* [3] ont utilisé des biopsies réalisées chez des témoins sains et chez des patients atteints de CHB. Une lignée