



intérêt clinique compte tenu de l'utilité discutée d'un traitement par NAC chez des sujets fumeurs, bronchitiques chroniques, ou porteurs d'une BPCO, à risque de développer un cancer pulmonaire. En effet, nous avons montré le rôle majeur joué par la sénescence cellulaire dans la pathogenèse de maladies pulmonaires telles que la BPCO [10]. Les poumons de ces patients sont le siège d'une accumulation de cellules sénescents, génératrice d'emphysème, de fibrose, et d'inflammation pulmonaire. Bloquer la sénescence cellulaire représente donc une réelle option thérapeutique, qui fait actuellement l'objet d'une intense activité de recherche. L'utilisation des antioxydants est souvent citée comme l'une des approches thérapeutiques possibles. Nos résultats, à l'inverse,

suggèrent que le traitement par les antioxydants peut être nocif, et serait donc à proscrire, dans ces maladies. ♦

Antioxydant treatment promotes lung cancer while protecting against lung emphysema

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Matera MG, Calzetta L, Cazzola M. Oxidation pathway and exacerbations in COPD: the role of NAC. *Exp Rev Respir Med* 2016 ; 10 : 89-97.
2. Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, et al. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med* 2005 ; 11 : 1306-13.
3. The effect of vitamin E and β -carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The α -tocopherol, β -carotene cancer prevention study group. *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 1029-35.

4. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, et al. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007 ; 297 : 842-57.
5. Sayin VI, Ibrahim MX, Larsson E, et al. Antioxidants accelerate lung cancer progression in mice. *Sci Transl Med* 2014 ; 6 : 221ra15.
6. Tsuji T, Aoshiba K and Nagai A. Cigarette smoke induces senescence in alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004 ; 31 : 643-9.
7. Mathon NF, Lloyd AC. Cell senescence and cancer. *Nat Rev Cancer* 2001 ; 1 : 203-13.
8. Weitzman JB, Fiette L, Matsuo K, Yaniv M. JunD protects cells from p53-dependent senescence and apoptosis. *Mol Cell* 2000 ; 6 : 1109-19.
9. Breau M, Houssaini M, Lipskaia L, et al. The antioxidant N-acetylcysteine protects from lung emphysema but induces lung adenocarcinoma in mice. *JCI Insight* 2019 ; 4. doi: 10.1172.
10. Adnot S, Amsellem V, Boyer L, et al. Telomere dysfunction and cell senescence in chronic lung diseases: therapeutic potential. *Pharmacol Ther* 2015 ; 153 : 125-34.

NOUVELLE

Coordination de la décapsidation et de l'import nucléaire de VIH-1 par la transportine-1

Juliette Fernandez, Nathalie J. Arhel

Institut de recherche en infectiologie de Montpellier (IRIM),
Université de Montpellier, CNRS, 1919 route de Mende,
34293 Montpellier, France.
nathalie.arhel@irim.cnrs.fr

► Chez les eucaryotes, le noyau est entouré d'une enveloppe nucléaire constituée d'une double couche lipidique qui le sépare du cytoplasme. Les échanges entre le compartiment nucléaire et le cytoplasme se font par l'intermédiaire des pores nucléaires (*nuclear pore complexes*, ou NPC), des structures macromoléculaires complexes enchâssées dans l'enveloppe nucléaire et qui contrôlent le transport nucléo-cytoplasmique [1]. Si la diffusion passive de petites molécules (< 40 kDa) à travers les NPC est possible sans reconnaissance spécifique, le passage de molécules plus grandes requiert la participation de facteurs de transport nucléaire (*nuclear*

transport factors, ou NTF) qui font partie de la famille des caryophérines [2]. Parmi celles-ci, on distingue les importines, qui assurent un transport vers le noyau, et les exportines qui permettent la sortie vers le cytoplasme. Leur fonction de transporteur est assurée par leur capacité unique à interagir avec des substrats comportant des signaux d'adressage spécifiques (signal de localisation nucléaire, NLS, ou signal d'export nucléaire, NES), et avec les composants protéiques du NPC appelés nucléoporines. C'est en couplant le transport à une réaction énergétique assurée par un gradient de concentration de la protéine RanGTP entre le cytoplasme et le noyau,

que les NTF parviennent à imposer des localisations différentielles à leur substrat. Le transport nucléo-cytoplasmique est essentiel à l'homéostasie de la cellule, et sa dérégulation est impliquée dans différents cancers, dans des maladies auto-immunes, et dans le vieillissement [3].

Parmi la multitude de virus qui menacent l'intégrité des cellules eucaryotes, certains doivent accéder au compartiment nucléaire pour se répliquer. Par exemple, les herpèsvirus, le virus de la grippe, les adénovirus, et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) détournent à leur profit la machinerie cellulaire des NPC pour atteindre le noyau [4, 5]. Les

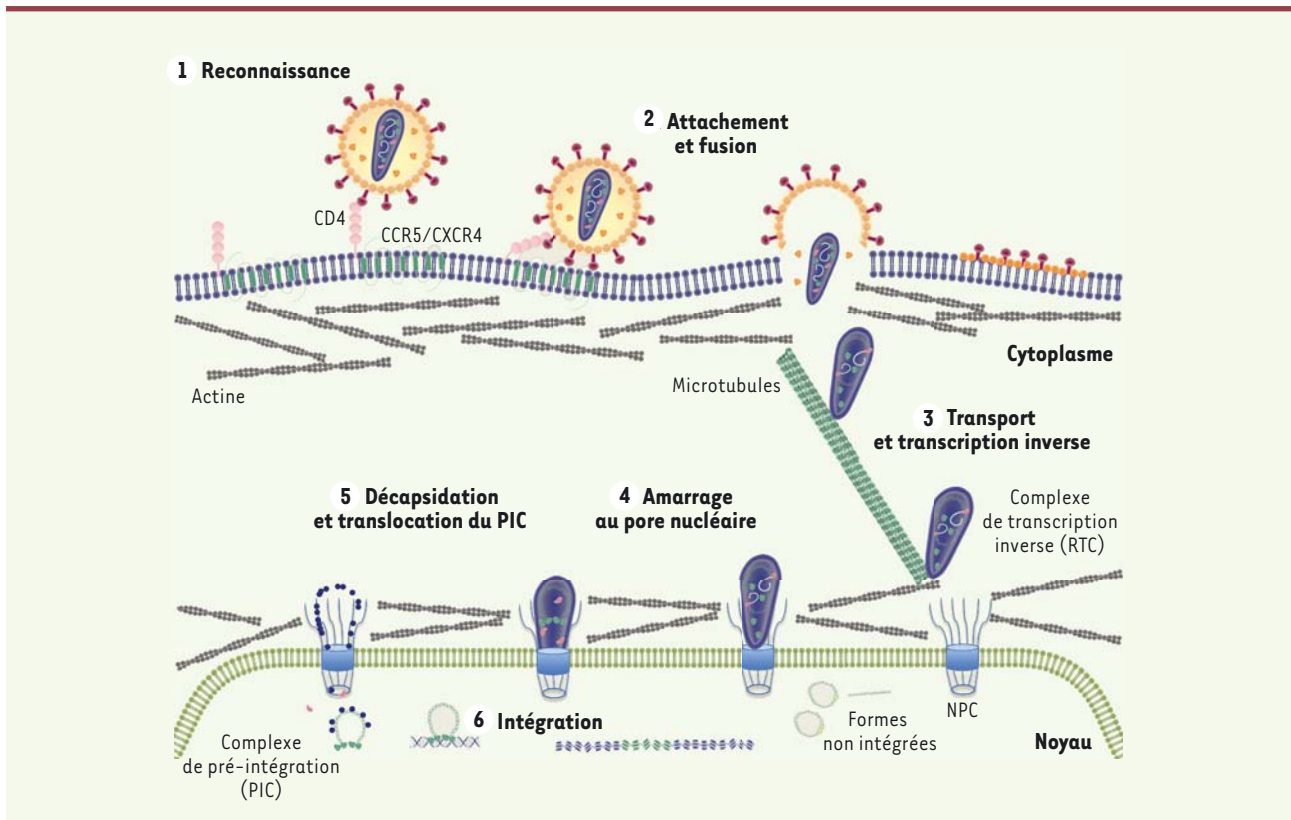


Figure 1. Étapes précoces de l'infection par le VIH-1. Le virus entre dans la cellule par reconnaissance de son récepteur CD4 et de corécepteurs CCR5 ou CXCR4. Une fois la fusion des membranes virale et plasmique effectuée, la cage de capside est relarguée dans le cytoplasme et transportée le long des réseaux d'actine et de tubuline. La transcription inverse, qui convertit l'ARN viral en ADN double brin, débute dès l'entrée dans la cellule et se poursuit après amarrage au pore nucléaire (NPC). Le maintien de la capside durant les étapes précoces de l'infection permet au virus d'interagir avec le cytosquelette et les filaments cytoplasmiques du NPC, tout en dissimulant le génome viral vis-à-vis des récepteurs cytosoliques de l'immunité innée. Le désassemblage de la capside au NPC après synthèse de l'ADN viral est indiqué à titre représentatif d'un consensus actuel entre chercheurs, mais il est à noter que certains travaux favorisent la notion d'un désassemblage progressif durant le transport vers le NPC, ou au contraire d'une décapsidation tardive pendant la translocation par le NPC. Après la translocation dans le noyau, l'ADN viral associé à des protéines virales et cellulaires s'intègre dans l'ADN de la cellule hôte pour permettre la production de nouveaux virions.

mécanismes impliqués sont différents d'un virus à l'autre, ce qui souligne sans doute la plasticité et la redondance fonctionnelle des importines et des nucléoporines dans le transport nucléocytoplasmique. Dans le cas du VIH, plus de 600 articles ont déjà été publiés avec les mots clés « VIH » et « import nucléaire » depuis le papier princeps démontrant que l'entrée du VIH dans le noyau se fait par l'intermédiaire des NPC et requiert de l'énergie [6].

Après son entrée dans la cellule, le VIH traverse le cytoplasme rapidement (quelques minutes) pour atteindre l'enveloppe nucléaire, où il se positionne sur un NPC, encore « habillé » de sa

capside [7, 8] (Figure 1). Le maintien d'une capside intègre dans le cytoplasme et lorsque le VIH se trouve au NPC permet notamment au virus de dissimuler son génome viral, empêchant ainsi sa reconnaissance par les récepteurs cytosoliques de l'immunité innée [9]. Il semblerait que le VIH soit alors contraint d'attendre plusieurs heures (entre 4 et 8 heures) au niveau du NPC afin de permettre à son génome ARN d'être rétro-transcrit en ADN double-brin (étape indispensable à l'intégration dans la chromatine), et à sa capside de subir les modifications structurales nécessaires à son passage par le NPC. Le complexe de pré-intégration (PIC) du

VIH traverse le NPC en interagissant avec de nombreuses molécules de l'enveloppe nucléaire et du NPC [10, 11] (Figure 2). Une fois dans le noyau, le génome viral s'intègre dans le génome de la cellule, et l'infection devient alors irréversible. Plusieurs importines pourraient participer à l'entrée du VIH par les NPC. Historiquement, de nombreuses études ont montré que des protéines virales comportant des NLS (matrice, protéine virale R, intégrase) pouvaient interagir avec une importine- β , soit par l'intermédiaire d'une importine- α (voie d'importation classique), soit directement (e.g., importine 7, transportine 3/TNPO3) [12]. Toutefois, il

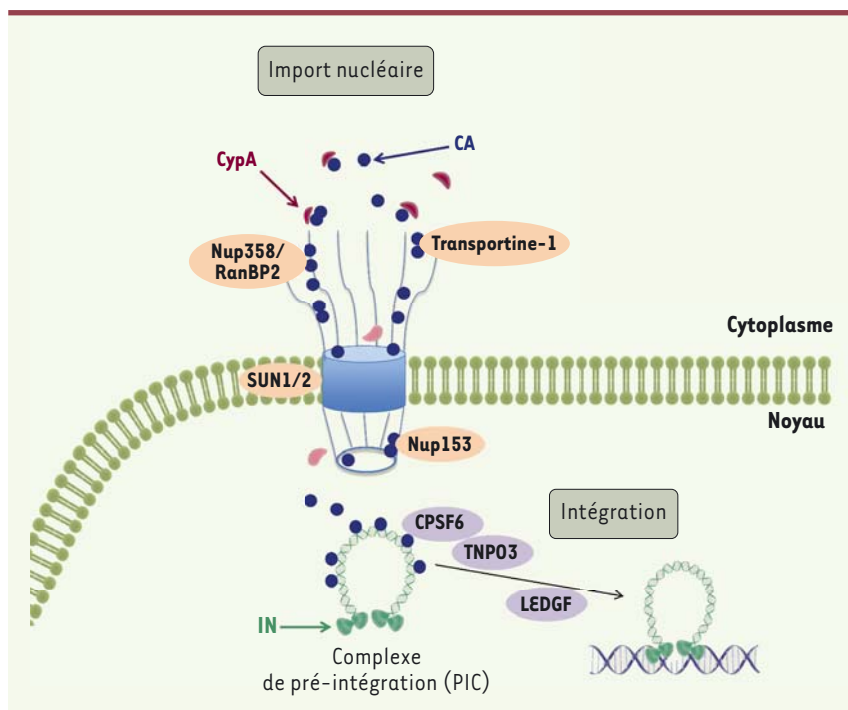


Figure 2. Co-facteurs du NPC, de l'enveloppe nucléaire, et de la famille des caryophérines qui contribuent à l'import nucléaire de VIH-1. Le schéma distingue les facteurs cellulaires participant à l'import nucléaire (en rose) de ceux impliqués dans l'intégration (en violet), même si la plupart ont des effets sur plusieurs étapes précoces de l'infection, notamment sur la stabilité de la capsid, l'amarrage des complexes au NPC, l'import nucléaire du PIC, et l'intégration. CA, protéine de capsid ; IN, intégrase virale.

n'est pas admis que l'import de ces protéines virales, souvent observé hors du contexte d'une infection virale, soit nécessaire ni même concomitant à l'entrée du génome viral dans le noyau. Par ailleurs, la participation directe d'importines- β dans la translocation du PIC proprement dite reste controversée puisqu'elles peuvent par ailleurs contrôler la localisation de facteurs cellulaires essentiels à l'infection. Récemment, plusieurs études ont montré que le maintien de l'intégrité de la capsid virale est essentiel à l'efficacité d'import nucléaire du PIC, et au choix de sites d'intégration dans le génome de la cellule infectée après translocation nucléaire [13, 14] (Figure 2). Nous avons alors fait l'hypothèse que la caryophérine responsable de l'entrée du VIH dans le noyau devait se lier à la fois à la capsid et à la machinerie du pore nucléaire, connectant ainsi décapsidation et import nucléaire.

Dans un travail récemment publié dans la revue *Nature Microbiology* [15], nous avons montré que l'import nucléaire de VIH-1 s'effectue grâce à une interaction directe entre la capsid du virus et l'importine- β 2 (aussi appelée transportine-1, TRN-1 ou TNPO1). Tout d'abord, nous avons observé que la diminution des niveaux de la transportine-1 par ARN interférence induisait une baisse de l'infection par VIH-1 dans plusieurs types cellulaires, y compris dans les principales cellules cibles du virus, les lymphocytes T CD4⁺. Des ARN interférents dirigés contre d'autres importines- β , telles que la transportine-2, TNPO3 ou l'importine 7, ont un effet moindre voire nul sur l'infection. Par ailleurs, une analyse protéomique des fractions cytosolique et nucléaire n'a pas révélé d'accumulation de co-facteurs importants pour la stabilité de la capsid virale, excluant ainsi un effet indirect éventuel.

Nous avons par la suite montré que la transportine-1 interagit avec la capsid de VIH-1 dans des cellules infectées, ainsi qu'*in vitro* en l'absence de tout autre intermédiaire protéique, démontrant ainsi une interaction directe. La reconnaissance de la capsid se fait par un NLS atypique présent sur une boucle exposée de la protéine de capsid (correspondant aux acides aminés en positions 84 à 100), et similaire aux NLS identifiés pour les autres substrats décrits pour la transportine-1. Ce NLS, lorsqu'il est greffé à une protéine fluorescente normalement cytoplasmique, confère à cette protéine une localisation nucléaire. Par ailleurs, nous avons identifié la glycine en position 89 de la protéine de capsid comme étant critique pour la reconnaissance par la transportine-1 et la localisation nucléaire. En ce qui concerne le VIH-2, qui est moins pathogène et moins transmissible que VIH-1, cette glycine n'occupe pas la même position sur la capsid et le virus semble ne pas dépendre de la transportine-1 pour l'infection. Toutefois, un repositionnement expérimental de la glycine sur la boucle exposée de la protéine de capsid de VIH-2 rend l'infection par ce virus dépendante de la transportine-1 [15]. L'interaction de la transportine-1 avec la capsid de VIH-1 conduit à des réarrangements structuraux importants, qui peuvent être observés *in vitro* par microscopie à force atomique en présence de transportine-1 recombinante. Dans des cellules infectées, la transportine-1 favorise la décapsidation de VIH-1, et ainsi l'entrée du génome viral dans le noyau. La transportine-1 transporte également la capsid dans le noyau, vraisemblablement sous forme désassemblée. Ainsi, la transportine-1 pourrait importer l'ensemble du PIC viral en reconnaissant la protéine de capsid, qui emporterait avec elle le génome viral. Ces travaux ont montré que la perte de la capsid virale et l'import nucléaire du génome de VIH-1 sont coordonnés

par un transporteur du pore nucléaire, la transportine-1, et ont ainsi permis de mieux comprendre les étapes qui contrôlent l'entrée du VIH dans le noyau des cellules cibles. Étonnamment, la transportine-1 a aussi été identifiée comme favorisant le désassemblage et l'import nucléaire de l'adénovirus [16] et du virus de la grippe [17], ce qui permet d'envisager le développement de médicaments antiviraux à large spectre qui cibleraient l'entrée de virus dans le noyau. ♦

Transportin-1 orchestrates HIV-1 uncoating and nuclear entry

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié d'une aide du Labex EpiGenMed au titre du programme Investissements d'avenir (référence ANR-10-LABX-12-01), du programme ATIP-Avenir, de l'ANRS (Agence nationale de recherche sur le SIDA), et du Sidaction.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Raices M, D'Angelo MA. Nuclear pore complex composition: a new regulator of tissue-specific and developmental functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13 : 687-99.
2. Chook YM, Suel KE. Nuclear import by karyopherin-betas: recognition and inhibition. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813 : 1593-606.
3. Mor A, White MA, Fontoura BM. Nuclear trafficking in health and disease. *Curr Opin Cell Biol* 2014; 28 : 28-35.
4. Cohen S, Au S, Pante N. How viruses access the nucleus. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813 : 1634-45.
5. Kobiler O, Drayman N, Butin-Israeli V, Oppenheim A. Virus strategies for passing the nuclear envelope barrier. *Nucleus* 2012; 3 : 526-39.
6. Bukrinsky MI, Sharova N, Dempsey MP, et al. Active nuclear import of human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89 : 6580-4.
7. Arhel N, Genovesio A, Kim KA, et al. Quantitative four-dimensional tracking of cytoplasmic and nuclear HIV-1 complexes. *Nat Methods* 2006; 3 : 817-24.
8. Arhel NJ, Souquere-Besse S, Munier S, et al. HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration complex at the nuclear pore. *EMBO J* 2007; 26 : 3025-37.
9. Hilditch L, Towers GJ. A model for cofactor use during HIV-1 reverse transcription and nuclear entry. *Curr Opin Virol* 2014; 4 : 32-6.
10. Matreyek KA, Engelman A. Viral and cellular requirements for the nuclear entry of retroviral preintegration nucleoprotein complexes. *Viruses* 2013; 5 : 2483-511.
11. Bhargava A, Lahaye X, Manel N. Let me in: Control of HIV nuclear entry at the nuclear envelope. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018; 40 : 59-67.
12. Levin A, Loyter A, Bukrinsky M. Strategies to inhibit viral protein nuclear import: HIV-1 as a target. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813 : 1646-53.
13. Achuthan V, Perreira JM, Ahn JJ, et al. Capsid-CPSF6 interaction: master regulator of nuclear HIV-1 positioning and integration. *J Life Sci* 2019; 1 : 39-45.
14. Campbell EM, Hope TJ. HIV-1 capsid: the multifaceted key player in HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol* 2015; 13 : 471-83.
15. Fernandez J, Machado AK, Lyonais S, et al. Transportin-1 binds to the HIV-1 capsid via a nuclear localization signal and triggers uncoating. *Nat Microbiol* 2019; 4 : 1840-50.
16. Hindley CE, Lawrence FJ, Matthews DA. A role for transportin in the nuclear import of adenovirus core proteins and DNA. *Traffic* 2007; 8 : 1313-22.
17. Miyake Y, Keusch JJ, Decamps L, et al. Influenza virus uses transportin 1 for vRNP debundling during cell entry. *Nat Microbiol* 2019; 4 : 578-86.

NOUVELLE

La réponse interféron Un grand pouvoir implique de grandes responsabilités

Ghizlane Maarifi¹, Nikaïa Smith², Sébastien Nisole¹

La réponse interféron

Lorsque des cellules sont infectées par un virus, elles produisent des interférons (IFN), de puissantes molécules antivirales qui protègent les cellules avoisinantes de l'infection et permettent ainsi de limiter la propagation du virus dans l'organisme. Il existe trois types d'IFN : I (IFN- α et IFN- β principalement), II (IFN- γ), et III (IFN- λ). Les IFN de type I sont les principaux IFN produits au cours d'une infection virale. Ils induisent, dans les cellules infectées et les cellules avoisinantes, l'expression de certaines de gènes (*interferon-stimulated genes*,

ISG), ce qui va permettre l'établissement d'un état antiviral [1].

La réponse IFN de type I débute par la reconnaissance des génomes viraux par des détecteurs cellulaires connus sous le nom de *pattern-recognition receptors* (PRR), parmi lesquels les *toll-like receptors* (TLR), localisés à la surface des cellules ou dans les endosomes, et les *retinoic acid-inducible gene-1-like (RIG-I-like) receptors* (RLR), localisés dans le cytoplasme. Cette reconnaissance déclenche des cascades de signalisation propres à chaque PRR,

¹Institut de recherche en infectiologie de Montpellier (IRIM), CNRS UMR9004, université de Montpellier, 1919 route de Mende, 34090 Montpellier, France.

²Immunobiologie des cellules dendritiques, Inserm U1223, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France. sebastien.nisole@irim.cnrs.fr

mais qui aboutissent toutes à la phosphorylation du facteur de transcription IRF3 (*interferon regulatory factor 3*). Après sa translocation dans le noyau cellulaire, IRF3 phosphorylé déclenche la transcription du gène codant l'IFN- β [2] (Figure 1). La synthèse d'IFN- α nécessite, quant à elle, l'expression du facteur de transcription IRF7, qui est induite par l'IFN- β via une boucle autocrine ou paracrine. Contrairement à l'IFN- β , codé par un gène unique, les différents sous-types d'IFN- α induits par IRF7 sont codés par 13 gènes. Cette production séquentielle d'IFN (IRF3/IFN-