

Une collaboration étroite et efficace : les enveloppes rétrovirales et leurs récepteurs cellulaires

Une étape cruciale dans le cycle répliatif des parasites intracellulaires, qu'il s'agisse de bactéries ou de virus, est le passage de la membrane plasmique cellulaire, donnant accès au cytosol. L'étude de la pénétration intracellulaire de pathogènes bactériens tels que *Shigella* ou *Listeria* a montré comment ceux-ci parviennent à conduire ce processus de telle façon que ce soit la cellule cible elle-même, mise sous influence, qui effectue ce travail [1]. Nos connaissances concernant la pénétration des rétrovirus sont moins avancées, mais les quelques modèles étudiés laissent à penser qu'il pourrait en aller de même. L'étude de ces phénomènes est particulièrement intéressante en ce qu'elle constitue, à proprement parler, l'une des interfaces entre la virologie et la biologie cellulaire [2].

Plusieurs molécules de la surface cellulaire, reconnues comme récepteurs par les glycoprotéines d'enveloppe rétrovirale, ont été récemment identifiées. L'élucidation des fonctions naturelles de ces protéines et la mise en évidence d'une régulation de leur activité permettent d'appréhender le passage transmembranaire de la particule comme un phénomène interactif et dynamique intimement lié à la vie cellulaire. Cette conception contraste avec les modèles qui prévalaient encore récemment, dans lesquels l'attachement du virion à la membrane plasmique conduisait à la mise en continuité des bicouches lipidiques virales et cellulaires, d'une manière comparable à ce que l'on pouvait observer avec des produits tels que le polyéthylène glycol.

La découverte du premier récepteur rétroviral, la molécule CD4, sur laquelle se fixent les glycoprotéines

d'enveloppe des VIH (virus de l'immunodéficience humaine) et des VIS (virus de l'immunodéficience simienne), convenait à ce modèle simpliste jusqu'à ce qu'il apparaisse que la fixation stable de l'enveloppe sur CD4, si elle était nécessaire, n'était certainement pas suffisante pour entraîner la fusion des membranes lipidiques. Cette observation indiquait que les phénomènes impliqués dans la pénétration de la particule comprenaient au moins deux étapes non nécessairement liées et de nature essentiellement différente – la fixation et la fusion – et que celles-ci pourraient éventuellement être assurées par des molécules différentes. Un corollaire immédiat est qu'il ne suffit pas d'insérer un ligand exogène dans une glycoprotéine d'enveloppe pour faire entrer un rétrovirus par n'importe quelle protéine de la surface cellulaire. Une distinction commune, mais probablement trop schématique, consiste aujourd'hui à opposer deux types de récepteurs rétroviraux (*Tableau I*). Les récepteurs présentant un seul domaine transmembranaire serviraient de site de fixation de forte affinité sans nécessairement déclencher la fusion. Outre CD4, ce groupe comprendrait les trois récepteurs jusqu'ici identifiés pour les rétrovirus aviaires, dont le récepteur Tva (*figure 1*) et le récepteur du BLV (*bovine leukemia virus*). Un second groupe est formé de 16 récepteurs présentant de nombreux domaines hydrophobes, vraisemblablement transmembranaires. Ces molécules permettraient non seulement la fixation, mais également le déclenchement de la fusion. Ce sont de ces dernières dont il va être question maintenant.

Plus de quinze récepteurs de rétrovirus, présentant vraisemblablement une structure polytopique (multiples domaines transmembranaires), ont été décrits à ce jour. Cinq sont des récepteurs pour des oncorétrovirus. Les autres agissent de concert avec CD4 pour permettre l'entrée des lentivirus de primate. Une fonction cellulaire a été attribuée à la plupart d'entre eux. Ces fonctions se limitent à trois types d'activité : transporteurs d'acides aminés ou transporteurs de phosphate pour les oncorétrovirus, récepteurs de chimiokines pour les lentivirus. Ces fonctions sont contrôlées par les mécanismes régulateurs de la cellule, lesquels – potentiellement – affectent également leur activité en tant que récepteurs rétroviraux. Dans certains cas, la fonction naturelle du récepteur peut être perturbée par l'interaction avec la particule virale.

Structure et fonction des récepteurs des rétrovirus de mammifères

Récepteurs des oncorétrovirus

Au-delà des propriétés antigéniques et pathogènes qui les différencient, les oncorétrovirus ont été regroupés en fonction d'expériences d'interférence qui présument du récepteur cellulaire utilisé pour leur entrée dans la cellule. Celles-ci reposent sur l'observation que l'infection d'une cellule par un oncorétrovirus empêche la surinfection par d'autres oncorétrovirus, que l'on classe dans le même groupe, mais pas par tous. On considère que les virus d'un même sous-groupe portent des glycoprotéines d'enveloppe interagissant avec le même récepteur, et que ce récepteur diffère de celui utilisé par les autres sous-groupes

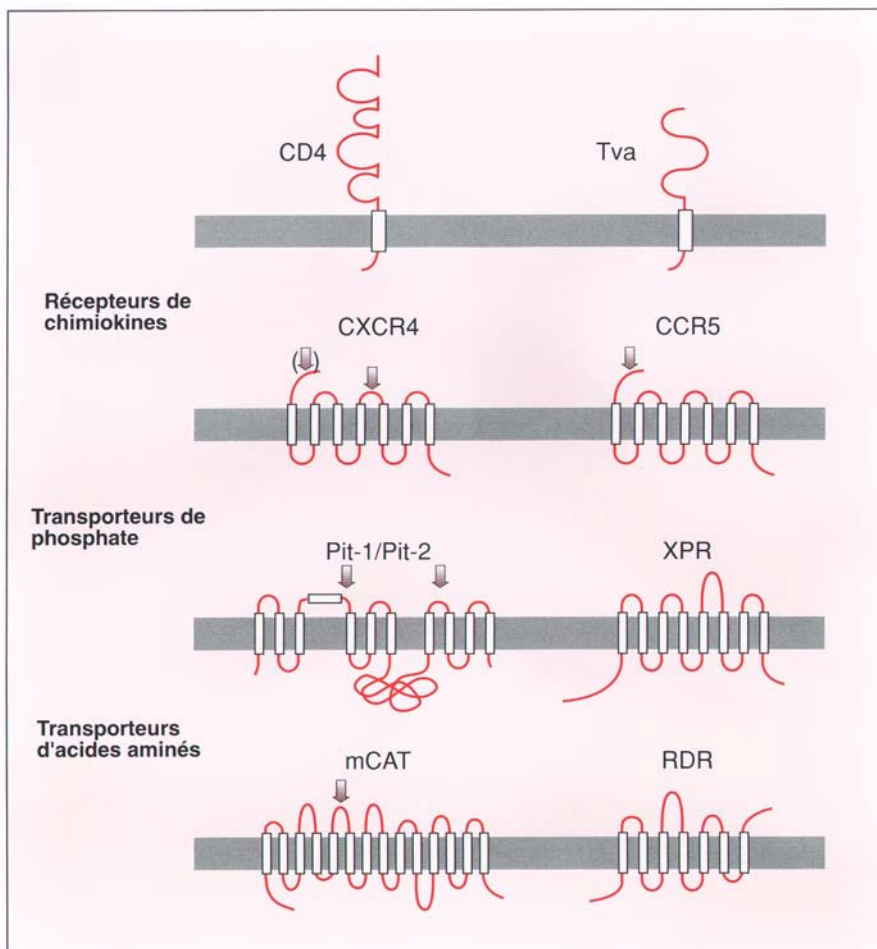


Figure 1. **Aperçu schématique des récepteurs et co-récepteurs rétroviraux connus.** À part CD4 (récepteur du virus VIH) et Tva (récepteur du virus ALV) qui ne possèdent qu'un seul domaine transmembranaire, la grande majorité des récepteurs rétroviraux sont des protéines à multiples domaines transmembranaires (polytopiques). Le virus VIH utilise des co-récepteurs appartenant à la famille des récepteurs de chimiokines (CXCR4 et CCR5 par exemple). Les récepteurs connus des oncorétrovirus se ressemblent en ce qu'ils ont tous une fonction de transporteurs et une structure apparentée. Cela suggère un mécanisme d'entrée virale semblable pour tous les rétrovirus. Les flèches indiquent les domaines ou boucles extracellulaires impliquées dans la fixation/reconnaissance des particules virales.

(Tableau I). Bien qu'il existe des phénomènes d'interférence croisée ou non réciproque entraînant quelques ambiguïtés, on a pu définir six sous-groupes pour les oncorétrovirus murins (MLV), un sous-groupe pour les oncorétrovirus simiens GalV et SSAV, deux sous-groupes pour les oncorétrovirus félins (FeLV A et B) et un sous-groupe unique pour 10 oncorétrovirus endogènes incluant les virus murins de type D, le virus félin RD114, le virus aviaire SNV et le virus simien

BaEV. Cinq molécules servent de récepteur pour 9 de ces 11 sous-groupes.

Le récepteur CAT-1 des MLV écotropes [3] et le récepteur RDR des oncorétrovirus de type D et du virus RD114, récemment identifié [4], sont des transporteurs d'acides aminés. Les prédictions de structure leur attribuent respectivement 14 et 9 domaines transmembranaires. CAT-1 transporte des acides aminés basiques indépendamment du Na⁺,

alors que RDR est à 99 % homologue de la protéine hATB⁰ qui est un transporteur pour les acides aminés neutres dépendant de Na⁺. Seuls certains allèles fixent les particules virales. Pour CAT-1, seul l'allèle murin est un récepteur viral, et seule une fraction des molécules, celles qui sont faiblement ou non glycosylées, fixe effectivement les particules écotropes. Les sites de fixation ont été déterminés pour CAT-1. A l'inverse, on a pu supprimer l'activité de transport des acides aminés de CAT-1 tout en conservant la fonction de récepteur viral. Pour les deux récepteurs, la fixation du virus affecte l'activité de transport des acides aminés.

Les récepteurs Pit-1 [5] et Pit-2 [6, 7] sont homologues à 62 %. Ce sont des transporteurs de phosphate dépendants de Na⁺, exprimés de manière ubiquitaire (NaPi de type III). Ils ne sont pas apparentés aux transporteurs précédemment décrits, qui sont spécifiques des bordures en brosse des cellules tubulaires rénales et des épithéliums digestifs (NaPi de type II). Leur topologie est discutée, les prédictions faisant état de 7 à 10 régions hydrophobes pouvant traverser la membrane. Deux boucles extracellulaires sont impliquées dans la fixation des particules virales. La boucle 2 fixe le domaine VRB de l'enveloppe, alors que la boucle 4 fixe le domaine VRA [8]. La fixation affecte la capacité de transport du phosphate. Un large domaine intracytoplasmique présente des sites potentiels de phosphorylation. Pit-2 est physiquement associé au cytosquelette d'actine [9]. Les activités de Pit-2 en tant que transporteur de phosphate et de récepteur pour les particules amphotropes sont modulées au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel en fonction de la concentration de phosphate inorganique dans le milieu extracellulaire [9].

La molécule XPR a été récemment identifiée comme un récepteur pour les particules xénotropes et polytropes [10-12]. Les différences alléliques expliquent probablement la reconnaissance préférentielle de certaines protéines par certains virus, et peut rendre compte du tropisme et des interférences. Il n'est cependant pas exclu que d'autres molécules servent

Tableau I
RÉCEPTEURS DES RÉTROVIRUS DE MAMMIFÈRES

Groupe d'interférences ou famille	Récepteur	Topologie	Fonction
MLV écotrope	CAT-1	14 TM	transporteur d'acides aminés basiques, indépendant de Na ⁺
MLV amphotrope	Pit-2	7 à 10 TM	transporteur de phosphate dépendant de Na ⁺
MLV xénotrope	XPR	7 à 9 TM	transporteur d'acides aminés neutres, dépendant de Na ⁺
MLV polytrope	XPR	7 à 9 TM	voies de contrôle du transport du phosphate
MLV 10A1	Pit-1 ou Pit-2	7 à 10 TM	transporteurs de phosphate dépendant de Na ⁺
MLV MDV	?		
GaLV	Pit-1	7 à 10 TM	transporteur de phosphate dépendant de Na ⁺
SSAV	Pit-1	7 à 10 TM	transporteur de phosphate dépendant de Na ⁺
FeLV-A	?		
FeLV-B	Pit-1	7 à 10 TM	transporteur de phosphate dépendant de Na ⁺
RD114 / type D	RDR	9 TM	transporteur d'acides aminés neutres, dépendant de Na ⁺
VIH/VIS	CXCR4, CCR5, CCR3 CCR2b, Bonzo, BOB GPR1, V28, CCR8, US28	7 TM	récepteurs des chimiokines
VIH/VIS	CD4	1 TM	reconnaissance immunitaire
FIV	CD9	4 TM	?
BLV	Blvr	1 TM	?
HTLV-1	?		

TM: sous-unité transmembranaire.

de récepteurs pour ces virus. Les analyses de séquences prédisent 7 à 9 régions hydrophobes potentiellement transmembranaires. XPR présente des homologies avec les protéines Syg1 et PHO-81 de *Saccharomyces cerevisiae*. L'extrémité amino-terminale de Syg1 fonctionne comme une sous-unité G α pour la transduction d'un signal mitogénique chez la levure. PHO81 est impliquée dans le contrôle du transport de phosphate. Des résultats préliminaires suggèrent qu'il en serait de même pour XPR.

Co-récepteurs des lentivirus de primates

Il est vraisemblable que les molécules reconnues comme « co-récepteurs » des

lentivirus de primates aient initialement servi de récepteurs à proprement parler, la fixation à CD4 étant le résultat d'une évolution récente de ces virus. La molécule CD4 n'est d'ailleurs pas strictement requise et certains facteurs non protéiques peuvent s'y substituer. Les co-récepteurs connus à ce jour sont tous des molécules présentant 7 domaines transmembranaires et sont apparentés aux récepteurs associés à des protéines G. La plupart de ces molécules ont été identifiées comme des récepteurs de chimiokines. D'abondantes revues de la littérature leurs ont été consacrées [13, 14]. Nous ne retiendrons ici que les caractéristiques directement en rap-

port avec les mécanismes de l'entrée virale.

Les co-récepteurs semblent physiquement associés au site de fixation à haute affinité de la particule virale qui est le CD4. La particule se fixe toutefois également sur le co-récepteur, et les domaines impliqués ont été reconnus. Ils varient suivant le co-récepteur, et suivant la nature de l'enveloppe qui s'y fixe, mais sont en règle portés par l'extrémité amino-terminale et/ou la seconde boucle extracellulaire. Les récepteurs des chimiokines ont des fonctions biologiques essentielles et leur présence à la surface cellulaire est strictement contrôlée en fonction du type cellu-

laire, de l'état d'activation de la cellule et de la présence du ligand naturel dans le milieu extracellulaire. L'interaction avec la particule virale dépend de ces conditions et, en retour, est susceptible d'affecter ces fonctions.

Mécanisme de l'entrée virale

La fixation de l'enveloppe rétrovirale à son récepteur induit des réarrangements conformationnels dont la conséquence est le démasquage d'épitopes fusogéniques et l'induction de la fusion. La mise en continuité des bicouches lipidiques recouvrant la particule virale et constituant la membrane plasmique ouvre la voie à la libération dans le cytosol de la capsid et de son contenu. La mécanique moléculaire qui sous-tend ces phénomènes reste largement méconnue, de même que les facteurs cellulaires qui l'autorisent ou la contraignent. Leur décryptage passe aujourd'hui non seulement par l'étude des enveloppes, mais aussi par celle des récepteurs.

Les enveloppes rétrovirales sont des hétéro-oligomères associant plusieurs – probablement trois – hétéro-dimères constitués d'une sous-unité de surface (SUs) et d'une sous-unité transmembranaire (TM). Si les déterminants fusogéniques sont précisément localisés, en règle à l'extrémité amino-terminale de la TM, des réarrangements de l'ensemble de la molécule accompagnent leur dévoilement au cours de la fixation au récepteur. Aucun modèle n'est aujourd'hui disponible qui puisse rendre compte des mécanismes par lesquels la fixation au récepteur induit des modifications aussi profondes de la conformation des oligomères d'enveloppe. L'identification de récepteurs cellulaires capables de déclencher la fusion ouvre de nouvelles voies d'investigation qui devraient apporter une compréhension nouvelle de ce phénomène.

Celles-ci concernent en un premier temps la topologie des récepteurs dans la membrane qui doit être précisée. Les données disponibles à ce jour se limitent, du moins en ce qui concerne les récepteurs des oncovirus, à des prédictions faites

d'après la séquence primaire, lesquelles apparaissent largement imprécises et erronées. L'état d'oligomérisation des récepteurs reste méconnu. Les récepteurs des chimiokines, CCR5 et CXCR4, peuvent former des oligomères, lesquels semblent affecter l'association à CD4 [15]. Des oligomères peuvent également être mis en évidence pour le récepteur Pit-2 [9]. Dans ces deux exemples, l'état d'oligomérisation est associé à des fonctionnalités différentes du récepteur. Les conséquences de la fixation de l'enveloppe rétrovirale sur l'état d'oligomérisation du récepteur sont méconnues, de même que la stoechiométrie de la réaction. La fixation de l'enveloppe du VIH sur CD4 augmente l'affinité pour le co-récepteur CCR5 [16]. Il existe également une coopérativité dans la fixation de l'enveloppe amphotrope à Pit-2 [17]. L'hypothèse d'une agrégation des récepteurs en réponse à la fixation de la particule a été souvent avancée, mais n'a pas à ce jour été directement démontrée. Il semble toutefois fortement probable que la réaction de fixation induise non seulement des réarrangements des oligomères d'enveloppe, mais également d'une ou de plusieurs molécules de récepteur. L'implication de structures du cytosquelette dans le déroulement du processus d'entrée a été suggérée pour les MLV écotropes [18], et mise en évidence pour les MLV amphotropes [9], le VIH [19] et les spumavirus [20]. Il semble plausible que la dynamique de l'entrée inclut une dynamique des molécules de récepteurs, laquelle pourrait être l'un des déterminants responsables de l'induction des réarrangements subis par les oligomères d'enveloppe fixés aux récepteurs. Conjointement au dévoilement des épitopes fusogéniques de l'enveloppe, l'agrégation et/ou la réorganisation des récepteurs pourrait être responsable de la formation de pores par lesquels la capsid virale s'introduirait. On ignore si l'internalisation des récepteurs accompagne celle de la particule.

Selon la nature de l'enveloppe, et probablement également selon le type cellulaire choisi comme cible, la

réaction de fusion peut s'effectuer soit à la surface cellulaire, soit au sein de vésicules intracytoplasmiques. S'il est assuré que la fusion dépendante du pH ne s'effectue qu'en milieu acide dans des vésicules, il semble que les réactions indépendantes du pH puissent se dérouler dans l'une et l'autre condition. Les étapes suivantes du cycle, et en particulier le déroulement de la transcription inverse et le ciblage du provirus au noyau, sont vraisemblablement conditionnées par le lieu de la fusion, qui reste dans la plupart des cas méconnu.

Des modifications fonctionnelles du récepteur, induites par la fixation de la particule virale, ont été décrites pour plusieurs récepteurs. Il peut s'agir d'un effet antagoniste, comme pour le transport des acides aminés, du phosphate ou pour la réponse des récepteurs CCR5 et CXCR4 à leur ligand [21]. Il peut également s'agir d'un effet agoniste tel que décrit pour la fixation de l'enveloppe du VIH à CD4 [22] ou aux co-récepteurs en l'absence de ligand [23]. Il est concevable que les modifications induites par la fixation de l'enveloppe puissent en retour affecter l'état du récepteur et modifier sa capacité de mettre en route le processus de fusion et/ou les étapes ultérieures du cycle ■

RÉFÉRENCES

1. Finlay BB, Cossart P. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. *Science* 1997; 276: 718-25.
2. Luciw PA, Leung NJ. Viral attachment and entry. In: Levy JA, ed. *The Retroviridae*. New York: Plenum Press, 1992: 176-84.
3. Albritton LM, Scadden D, Cunningham JM. A putative murine ecotropic retrovirus receptor gene encodes a multiple membrane-spanning protein and confers susceptibility to virus infection. *Cell* 1989; 57: 659-66.
4. Rasko JE, Battini JL, Gottschalk RJ, et al. The RD114/simian type D retrovirus receptor is a neutral amino acid transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2129-34.
5. O'Hara B, Johann SV, Klinger HP, et al. Characterization of a human gene conferring sensitivity to infection by gibbon ape leukemia virus. *Cell Growth Diff* 1990; 3: 119-27.

RÉFÉRENCES

6. Van Zeijl M, Johann SV, Closs E, *et al.* A human amphotropic retrovirus receptor is a second member of the gibbon ape leukemia virus receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1168-72.
7. Miller DG, Edwards RH, Miller AD. Cloning of the cellular receptor for amphotropic murine retroviruses reveals homology to that for gibbon ape leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 78-82.
8. Tailor CS, Kabat D. Variable regions A and B in the envelope glycoproteins of the feline leukemia virus subgroup B and amphotropic murine leukemia virus interact with discrete receptor domains. *J Virol* 1997; 71: 9383-91.
9. Rodrigues P, Heard JM. Modulation of phosphate uptake and amphotropic murine leukemia virus entry by posttranslational modifications of PIT-2. *J Virol* 1999; 73: 3789-99.
10. Tailor CS, Nouri A, Lee CG, *et al.* Cloning and characterization of a cell surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 927-32.
11. Battini JL, Rasko JEJ, Miller AD. A human cell-surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses: possible role in G protein-coupled signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1385-90.
12. Yang YL, Xu S, Holland CA, *et al.* Receptors for polytropic and xenotropic mouse leukemia viruses encoded by a single gene at RMC1. *Nat Genet* 1999; 21: 216-9.
13. Dimitrov DS. How do viruses enter cells? The HIV coreceptors teach us a lesson of complexity. *Cell* 1997; 91: 721-30.
14. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 657-700.
15. Lapham CK, Zaitseva MB, Lee S, *et al.* Fusion of monocytes and macrophages with HIV-1 correlates with biochemical properties of CXCR4 and CCR5. *Nat Med* 1999; 5: 303-8.
16. Wu L, Gerard NP, Wyatt R, *et al.* CD4-induced interaction of primary HIV-1 gp120 glycoproteins with the chemokine receptor CCR-5. *Nature* 1996; 384: 179-83.
17. Battini JL, Rodrigues P, Müller R, *et al.* Receptor-binding properties of a purified fragment of the 4070A amphotropic murine leukemia virus envelope glycoprotein. *J Virol* 1996; 70,7: 4387-93.
18. Kizhatil K, Albritton LM. Requirements for different components of the host cell cytoskeleton distinguish ecotropic murine leukemia virus entry *via* endocytosis from entry *via* surface fusion. *J Virol* 1997; 71: 7145-56.
19. Bukrinskaya A, Brichacek B, Mann A, *et al.* Establishment of a functional human immunodeficiency virus type I reverse transcription complex involves the cytoskeleton. *J Exp Med* 1998; 188: 2113-25.
20. Saïb A, Puvion-Dutilleul F, Schmid M, *et al.* Nuclear targeting of incoming human foamy virus Gag proteins involves a centrior step. *J Virol* 1997; 71: 1155-61.
21. Madani N, Kozak SL, Kavanaugh M, *et al.* Gp120 envelope glycoproteins of human immunodeficiency viruses competitively antagonize signalling by coreceptors CXCR4 and CCR5. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8005-10.
22. Ueada H, Howard OMZ, Grimm MC, *et al.* HIV-1 envelope gp41 is a potent inhibitor of chemoattractant receptor expression and function in monocytes. *J Clin Invest* 1998; 102: 804-12.
23. Davis CB, Dikic I, Unutmaz D, *et al.* Signal transduction due to HIV-1 envelope interactions with chemokine receptors CXCR4 or CCR5. *J Exp Med* 1997; 186: 1793-8.

Jean-Michel Heard

Directeur de recherche à l'Inserm, directeur d'unité.

Pierre Rodrigues

Étudiant en thèse.

Christine Salaün

Étudiante en thèse.

Cnrs URA 1157, Laboratoire rétrovirus et transfert génétique, Bâtiment rétrovirus, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

TIRÉS À PART

J.M. Heard.