

Épithélium intestinal et VIH

Parmi les affections associées au syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), les perturbations de la fonction intestinale sont relativement fréquentes : atrophie villositaire, défaut d'absorption, entérites, diarrhées [1, 2]. Paradoxalement, il est souvent impossible de détecter, dans l'intestin des patients, un agent infectieux pouvant rendre compte de ces dysfonctionnements. Cette situation a conduit certains auteurs à postuler que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) lui-même pouvait être à l'origine de ce syndrome entéropathique. Cette hypothèse s'est trouvée renforcée dès lors que la présence du virus dans certaines cellules de l'épithélium intestinal a pu être démontrée par la technique d'hybridation *in situ* des ARN viraux [3]. Des études *in vitro* ont, par ailleurs, montré la susceptibilité des cellules épithéliales coliques, d'origine normale ou tumorale, à l'infection par le VIH [4, 5]. Parmi ces cellules, la lignée HT29 est un modèle particulièrement attractif puisque sa différenciation entérocytaire peut être facilement induite *in vitro*, par exemple à la suite d'une carence en glucose [6].

L'infection des cellules HT29 par différents isolats du VIH a permis à Fantini *et al.* [7] de classer les isolats viraux en trois catégories :

- (1) les virus qui n'infectent pas les cellules HT29 ;
- (2) les virus qui infectent les cellules HT29 mais qui ne se répliquent pas spontanément dans ces cellules ;
- (3) les virus capables d'infecter les cellules HT29 et de s'y répliquer.

Les virus capables d'infecter les cellules HT29 sans se répliquer (VIH-1 LAV ou VIH-2 ROD, par exemple) ne modifient ni la croissance, ni la morphologie de ces cellules. Le virus peut rester intégré et non exprimé pendant plusieurs mois. Aucun antigène viral n'est détecté, alors que l'ADN proviral est toujours présent dans le

génomme cellulaire, comme en témoigne une étude d'amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) [8]. Cependant, après une co-culture avec des lymphocytes T humains, le virus est démasqué et on le détecte dans le milieu de culture par mesure de l'activité transcriptase inverse.

Dans certains cas (notamment la souche zairoise VIH-1 NDK, mais aussi certains isolats VIH-2), le virus peut se répliquer activement dans les cellules HT29. Trois mois après l'infection, la majorité des cellules produisent le virus (résultats d'une étude d'hybridation *in situ* des ARN viraux) et expriment des antigènes viraux (immunofluorescence). La croissance des cellules n'est pas modifiée mais une étude ultrastructurale par microscopie électronique de transmission a montré que ces cellules ont un appareil de Golgi hypertrophié qui fabrique de nombreux grains de sécrétion. Sous l'effet conjugué de deux sécrétagogues (le peptide vasoactif intestinal et le carbachol), un certain nombre de protéines sont alors libérées dans le milieu de culture [7]. Par ailleurs, une sous-population de cellules différenciées produisant le VIH a pu être sélectionnée en carence de glucose [8]. Morphologiquement, ces cellules sont caractérisées par une accumulation de vésicules présentant des microvillosités irrégulières, ce qui suggère un processus de différenciation abortif de la membrane apicale. Néanmoins, elles forment sur support perméable un épithélium étanche, ce qui a permis d'étudier la polarité de la réplication du virus. Les résultats obtenus montrent que 75 % du virus est produit au pôle basal, tandis que 25 % l'est au pôle apical. Il est probable que cette répartition inhabituelle (la production virale est en général restreinte à un seul pôle de la cellule) reflète l'anomalie de différenciation induite par le VIH.

La même technique de culture dans

des chambres à fond perméable a permis d'étudier la polarité de l'infection des cellules HT29 (en l'occurrence le clone HT29-D4) par le VIH [9]. Il ressort que le virus est capable d'infecter les deux pôles (c'est-à-dire la bordure en brosse apicale et la membrane basolatérale) de la cellule HT29-D4. Dans les deux cas, le virus s'intègre au génomme cellulaire et peut ou non (selon l'isolat) se répliquer spontanément dans cette cellule.

Bien que les cellules HT29 possèdent un antigène membranaire immunologiquement relié à la molécule CD4 [9, 10], l'infection de ces cellules n'est inhibée par aucun anticorps anti-CD4, ce qui suggère un mécanisme d'entrée indépendant du CD4 comme c'est le cas dans les cellules nerveuses. L'identification du récepteur du VIH au niveau des cellules intestinales permettra sans doute de mieux comprendre le tropisme de certains isolats viraux pour ces cellules.

Le rôle exact joué par l'épithélium de la muqueuse intestinale au cours de la transmission horizontale du VIH est loin d'être compris. A la lumière des travaux réalisés *in vitro* sur le modèle que constitue la cellule HT29, il est probable que certains virus « entérotropiques » aient la faculté d'infecter les cellules épithéliales intestinales à partir de la lumière intestinale (par exemple au cours de rapports sexuels par voie anale) ou bien à partir des lymphocytes, macrophages voire éosinophiles infectés présents dans la muqueuse intestinale. La cellule épithéliale infectée serait alors capable de répliquer le virus spontanément ou après stimulation par un lymphocyte T. La réplication du virus pourrait entraîner des perturbations des fonctions de sécrétion et de différenciation des cellules, à l'origine d'un syndrome diarrhéique associé à une diminution des capacités d'absorption. Enfin, la réplication bi-directionnelle du virus

pourrait assurer la persistance de l'infection de l'épithélium en dépit de son taux de renouvellement extrêmement rapide (de l'ordre de quelques jours). La récente caractérisation du VIH dans des biopsies intestinales de patients infectés [11] s'accorde bien avec cette hypothèse.

J. F.

1. Kotler DP, Gaetz HP, Lange M, Klein EB, Holt PR. Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1984 ; 101 : 421-8.
2. Ullrich R, Zeitz M, Heise W, L'Age M, Höflken G, Riecken EO. Small intestinal structure and function in patients infected with human immunodeficiency virus (HIV): evidence for HIV-induced enteropathy. *Ann Intern Med* 1989 ; 111 : 15-21.
3. Nelson JA, Reynolds-Kohler C, Margaretten W, Wiley CA, Reese CE, Levy JA. Human immunodeficiency virus detected in bowel epithelium from patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet* 1988 ; 1 : 259-62.
4. Adachi A, Koening S, Gendelman HE, et al. Productive, persistent infection of human colorectal cell lines with human immunodeficiency virus. *J Virol* 1987 ; 61 : 209-13.
5. Moyer MP, Huot RI, Ramirez A, Joe S, Meltzer MS, Gendelman HE. Infection of human gastrointestinal cells by HIV-1. *AIDS Res Hum Retrovir* 1990 ; 6 : 1409-15.
6. Rousset M. The human colon carcinoma cell lines HT-29 and Caco-2 : two *in vitro* models for the study of intestinal differentiation. *Biochimie* 1986 ; 68 : 1035-40.
7. Fantini J, Yahi N, Baghdigui S, Chermann JC. Human colon epithelial cells productively infected with human immunodeficiency virus show impaired differentiation and altered secretion. *J Virol* 1992 ; 66 (sous presse).
8. Fantini J, Baghdigui S, Yahi N, Chermann JC. Selected human immunodeficiency virus replicates preferentially through the basolateral surface of differentiated human colon epithelial cells. *Virology* 1991 ; 185 : 904-7.
9. Fantini J, Yahi N, Chermann JC. Human immunodeficiency virus can infect the apical and basolateral surfaces of human colonic epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9297-301.
10. Rabenandrasana C, Baghdigui S, Marvaldi J, Fantini J. CD4 molecules are restricted to the basolateral domain of *in vitro* differentiated human colon cancer cells (HT29-D4). *FEBS Lett* 1990 ; 265 : 75-9.
11. Kotler DP, Reka S, Borcich A, Chronim WJ. Detection, localization and quantitation of HIV-associated antigens in intestinal biopsies from patients with HIV. *Am J Pathol* 1991 ; 139 : 823-30.

m/s n° 2, vol. 8, février 92

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ Arthrites provoquées par l'expression de TNF (*tumor necrosis factor*) dans les articulations de souris transgéniques. Après avoir démontré que l'injection d'un fragment de 3,6 kb du gène *TNF* humain, normalement exprimé dans les macrophages au cours des processus inflammatoires, conduisait à un contrôle normal de l'expression du transgène et n'entraînait l'apparition d'aucun phénotype particulier, J. Keffer et al. de l'Institut Pasteur Hellénique (Athènes, Grèce) ont introduit par transgénèse une forme modifiée dans sa partie 3' terminale, du gène *TNF* [1]. Comme c'était le cas pour le gène non modifié, une faible expression fut observée dans un grand nombre de tissus, dont les articulations. En revanche, les régulations transcriptionnelle et/ou post-transcriptionnelle du TNF par les lipopolysaccharides étaient perdues, suggérant qu'elles nécessitent la présence des séquences 3' du gène. Cette dérégulation de l'expression est corrélée à l'apparition d'arthrites chez 100 % des animaux d'une lignée de souris transgéniques. Le traitement de ces souris par un anticorps anti-TNF prévient complètement l'apparition des arthrites prouvant l'intervention directe du TNF dans l'apparition de cette symptomatologie. Les auteurs démontrent ainsi qu'une expression de cette cytokine, quelle qu'en soit la cause, peut entraîner l'apparition d'arthrites et fournit un modèle permettant de tester l'efficacité thérapeutique d'inhibiteurs spécifiques du TNF. Rappelons qu'un autre modèle murin d'arthrite fut obtenu chez des souris exprimant un transgène codant pour Tax, Rex et Env du virus HTLV-1 [2], et que l'expression de la molécule HLA-B27, asymptotique chez la souris, provoque l'apparition de spondylarthrite ankylosante chez le rat transgénique (*m/s* n° 2, vol. 7, p. 188).

[1. Keffer J, et al. *EMBO J* 1991 ; 10 : 4025-31.]

[2. Iwakura Y, et al. *Science* 1991 ; 253 : 1026-8.]

■■■■ Réponse immune et hépatite chez des rats après transfert *in vivo* d'ADN du virus de l'hépatite B. Plusieurs types de systèmes permettant un transfert d'ADN dans le foie ont été décrits. L'un d'entre eux comporte la fabrication de liposomes contenant l'ADN et une protéine non histone, HMG1 (*high mobility group proteins 1*) ; la fusion de ces liposomes avec les cellules, et donc le transfert de l'ADN, est facilité par une incubation, avant l'injection, en présence de virus de Sendaï inactivé. Le rôle de la protéine HMG est de faciliter la migration intranucléaire de l'ADN transféré dans la cellule et, par conséquent, d'améliorer l'expression du ou des gènes qu'il contient. Une équipe japonaise d'Osaka (Japon) [1] a transféré par ce moyen un plasmide d'expression commandant la synthèse des grandes protéines d'enveloppe du virus de l'hépatite B (VHB) : ce vecteur contient en effet les séquences codant pour l'antigène HBs et les régions pré-S1 et pré-S2. Après plusieurs injections, l'expression de ces protéines d'enveloppe dans les hépatocytes de jeunes rats adultes provoque l'apparition d'anticorps anti-HBs corrélé à la disparition de l'HBs humain circulant observé au cours de la première semaine suivant le transfert d'ADN. Le foie de ces animaux ayant des anticorps anti-HBs est le siège d'altérations hépatocytaires et d'infiltrats inflammatoires évoquant une réaction immune de type hépatitique. Ces résultats confirment qu'une réaction immune anti-HBs peut, à elle seule, entraîner une hépatite, comme l'avait suggéré antérieurement des expériences utilisant des souris transgéniques (*m/s* n° 6, vol. 6, p. 590).

[1. Kato K, et al. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 2071-4.]

■■■ **Étiologie de la maladie d'Alzheimer : les pelotons neurofibrillaires semblent un phénomène secondaire à l'apparition des plaques amyloïdes.** Nous terminions une *nouvelle* récente, consacrée aux modèles de maladie d'Alzheimer chez des souris transgéniques, en indiquant que l'évolution des lésions anatomo-pathologiques, des désordres neurobiologiques et de la symptomatologie devrait permettre de préciser le rôle de la substance β -amyloïde et la pertinence des mécanismes proposés de production des dépôts amyloïdes. Il sera ainsi possible de déterminer si, tardivement dans l'évolution de ces modèles, des pelotons neurofibrillaires apparaissent, ou alors si cette lésion procède de phénomènes complètement différents de l'accumulation de substances amyloïdes. La réponse à la question posée vient maintenant d'être apportée par une équipe américano-japonaise de New York, Baltimore (MD) et Tokyo [1]. Ces auteurs ont créé des souris transgéniques exprimant la partie carboxyterminale de la protéine APP (*amyloid precursor protein*), incluant le peptide β -amyloïde, la région transmembranaire et l'extrémité carboxy-terminale intracytoplasmique. Ce fragment de la protéine APP a été démontré en 1989 être neurotoxique pour des cellules en culture [2]. La transcription du transgène est commandée par les séquences régulatrices du gène *Thy-1*, un marqueur des neurones et des cellules lymphocytaires T. A l'âge de 4 mois, les souris transgéniques ont un dépôt extracellulaire de substance amyloïde, principalement au niveau de l'hippocampe. Au 8^e mois, une lignée exprimant le transgène à un niveau particulièrement élevé présente des anomalies neuro-anatomopathologiques très nettes : outre les plaques de substances amyloïdes, des pelotons neuro-fibrillaires et une dystrophie neuritique sont bien détectables dans l'hippocampe, le complexe amygdaloïde et le néocortex. Ces lésions sont associées à une importante perte neuronale, qui peut atteindre 40 % des cellules dans certaines régions. La

caractérisation du matériel déposé au niveau des plaques amyloïdes n'est que partielle mais semble en faveur de la seule présence du peptide β -amyloïde, comme dans les plaques caractéristiques de la maladie d'Alzheimer. S'il en est bien ainsi, ces résultats seraient fondamentaux en ce qu'ils démontreraient que la seule expression anormale dans les neurones de la protéine APP, ou plutôt ici de sa partie carboxyterminale, suffit à entraîner le dépôt de plaques amyloïdes constituées du peptide β -amyloïde, puis des pelotons neurofibrillaires associés à des anomalies des neurites et à une mort cellulaire. Ces animaux seront des modèles d'un considérable intérêt pour tester toutes les conditions destinées à retarder l'apparition des lésions neuro-anatomopathologiques.

[1. Kawabatas, *et al. Nature* 1991 ; 354 : 476-8.]

[2. Yankner BA, *et al. Science* 1989 ; 245 : 417-20.]

■■■ **La protéine CFTR de la mucoviscidose : un canal à chlore nécessitant une activation par l'AMP cyclique et une utilisation d'ATP.** On sait maintenant que la protéine CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) est un canal à chlore phosphorylable sous l'action d'une protéine kinase stimulée par l'AMP cyclique (*m/s n° 8, vol. 7, p. 872 et 874*). L'équipe de M. J. Welsh (Iowa City, Iowa, USA), en collaboration avec la firme privée Genzyme (Framingham, Massachusetts, USA) démontre maintenant que l'ouverture du canal à chlore phosphorylé après l'action de l'AMP cyclique exige également la présence de concentrations physiologiques d'ATP, et que celui-ci est très probablement hydrolysé parallèlement à l'activation du canal. Le mouvement de chlore se faisant dans le sens du gradient de concentration, cette hydrolyse de l'ATP pourrait être expliquée par le fait que la conforma-

tion ouverte du canal est thermodynamiquement défavorisée et que son maintien exige par conséquent de l'énergie [1]. Ce nouveau résultat explique aisément pourquoi les mutations accompagnées de mucoviscidose intéressent très majoritairement les domaines NBD (*nucleotide binding domains*) ([2] et *mini-synthèse de P. Barbry, p. 160 de ce numéro*).

[1. Anderson MP, *et al. Cell* 1991 ; 67 : 775-84.]

[2. Goossens M, *et al. médecine/sciences* 1991 ; 7 : 1048-51.]

■■■ **Localisation d'un syndrome de retard mental lié à l'X différent du locus habituel.** Les syndromes de retard mental liés à l'X ne dérivent pas tous de l'atteinte du locus FRAXA décrit récemment dans *m/s (n° 4, vol. 7, p. 378)*. La moitié environ ont d'autres origines [1]. L'une d'elles vient d'être précisée par une équipe de Houston (TX, USA) et Bethesda (MD, USA) [2]. Elle a étudié une famille d'origine néerlandaise, comptant parmi ses 26 membres neuf hommes atteints et cinq porteuses obligatoires. Les symptômes comportaient, outre le retard mental, des troubles du tonus, une hypoplasie cérébelleuse et des altérations neurodégénératives des ganglions de la base. Une méthode nouvelle a été employée, utilisant des répétitions courtes (de deux à quatre nucléotides) en tandem à nombre très variable, ce qui entraîne un polymorphisme considérable (*short tandem repeats, STR*). Le gène responsable a pu être localisé en Xq26. Comme aucun recombinant n'a observé entre le locus de la maladie et un marqueur STR situé à l'intérieur du locus HPR1, les deux loci, retard mental et hypoxanthine phosphoribosyltransférase se confondent en l'état actuel du travail.

[1. Arena JF, Lubs HA. *Am J Med Genet* 1991 ; 38 : 190-9.]

[2. Huang THM, *et al Am J Hum Genet* 1991 ; 49 : 1312-9.]