



sans qu'il n'y ait de perte cellulaire, ainsi qu'une diminution du nombre de synapses sur les neurones pyramidaux. Ils soulignent que, chez l'homme, la période cruciale pour l'élagage se situe durant l'adolescence et chez l'adulte jeune, ce qui corrèle avec l'âge de survenue de la schizophrénie. Évidemment, tout ceci demande confirmation mais

impulsera sans nul doute des recherches visant à mieux comprendre cet aspect de la maturation neuronale. ♦

### Genetics of schizophrenia: is the complement component 4 a risk factor?

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Schizophrenia working group of the psychiatric genomics consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2014 ; 511 : 421-7.
2. Sekar A, Bialas AR, de Rivera H, et al. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature* 2016 ; 530 : 177-83.

#### NOUVELLE

## Le rôle critique de la PI3-kinase dans la traversée des barrières de l'hôte par *Listeria monocytogenes*

Grégoire Gessain<sup>1-3</sup>, Olivier Disson<sup>1,2</sup>, Marc Lecuit<sup>1,2,4,5</sup>

► *Listeria monocytogenes* (*Lm*) est responsable de la listériose humaine, une infection systémique d'origine alimentaire dont le taux de mortalité atteint 30 %. Suite à l'ingestion d'aliments contaminés, *Lm* traverse l'épithélium intestinal, dissémine par voie sanguine, et atteint le système nerveux central et l'unité fœto-placentaire. *Lm* a donc la capacité de traverser les barrières intestinale, hémato-encéphalique et placentaire. Elle est à l'origine d'encéphalites et de méningites, ainsi que d'avortements et d'infections néonatales.

### Mécanismes d'invasion cellulaire : rôle d'InIA et d'InIB

*Lm* est une bactérie intracellulaire facultative<sup>1</sup>, qui est internalisée par les cellules non phagocytaires. Cette invasion est consécutive à l'interaction de deux protéines de surface bactérienne avec leurs récepteurs respectifs à la surface des cellules de l'hôte. Ces deux protéines bactériennes de surface sont l'internaline (InIA), qui interagit avec la E-cadhérine (Ecad), une protéine

permettant la formation des jonctions adhérentes entre cellules épithéliales, et InIB, qui interagit avec c-Met, le récepteur du facteur de croissance des hépatocytes (HGF) [1-4] (→).

L'interaction InIA-Ecad est associée à des réarrangements du cytosquelette d'actine nécessaires à l'entrée de

(→) Voir les Nouvelles de M. Lecuit et P. Cossart, *m/s* n° 12, décembre 2001, page 1333, et *m/s* n° 1, janvier 2005, page 17

la bactérie dans la cellule. Cette interaction est spécifique d'espèce : la Ecad humaine est reconnue par InIA, alors que la Ecad de souris ne l'est pas [5]. Pour les espèces chez lesquelles l'interaction InIA-Ecad est possible, telles que le cobaye, la gerbille, l'homme et les souris humanisées (qui expriment la Ecad humaine ou une Ecad murine humanisée par la substitution E16P<sup>2</sup>), InIA permet la traversée de l'épithélium intestinal [6, 7]. L'interaction InIB-c-Met mime la voie de signalisation cellulaire de l'HGF : elle active la PI3-K (phosphoinositide 3-kinase), qui est nécessaire à l'internalisation de *Lm* [8].

- <sup>1</sup> Institut Pasteur, unité biologique des infections, 28, rue du Docteur Roux, F-75015 Paris, France ;
- <sup>2</sup> Inserm, U1117, F-75015 Paris, France ;
- <sup>3</sup> Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, cellule Pasteur, F-75013 Paris, France ;
- <sup>4</sup> Institut Pasteur, centre national de référence et centre collaborateur de l'OMS *Listeria*, 28, rue du Docteur Roux, F-75015 Paris, France ;
- <sup>5</sup> Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, service de maladies infectieuses et tropicales, hôpital universitaire Necker-Enfants Malades, institut Imagine, F-75015 Paris, France.

[olivier.disson@pasteur.fr](mailto:olivier.disson@pasteur.fr)  
[marc.lecuit@pasteur.fr](mailto:marc.lecuit@pasteur.fr)

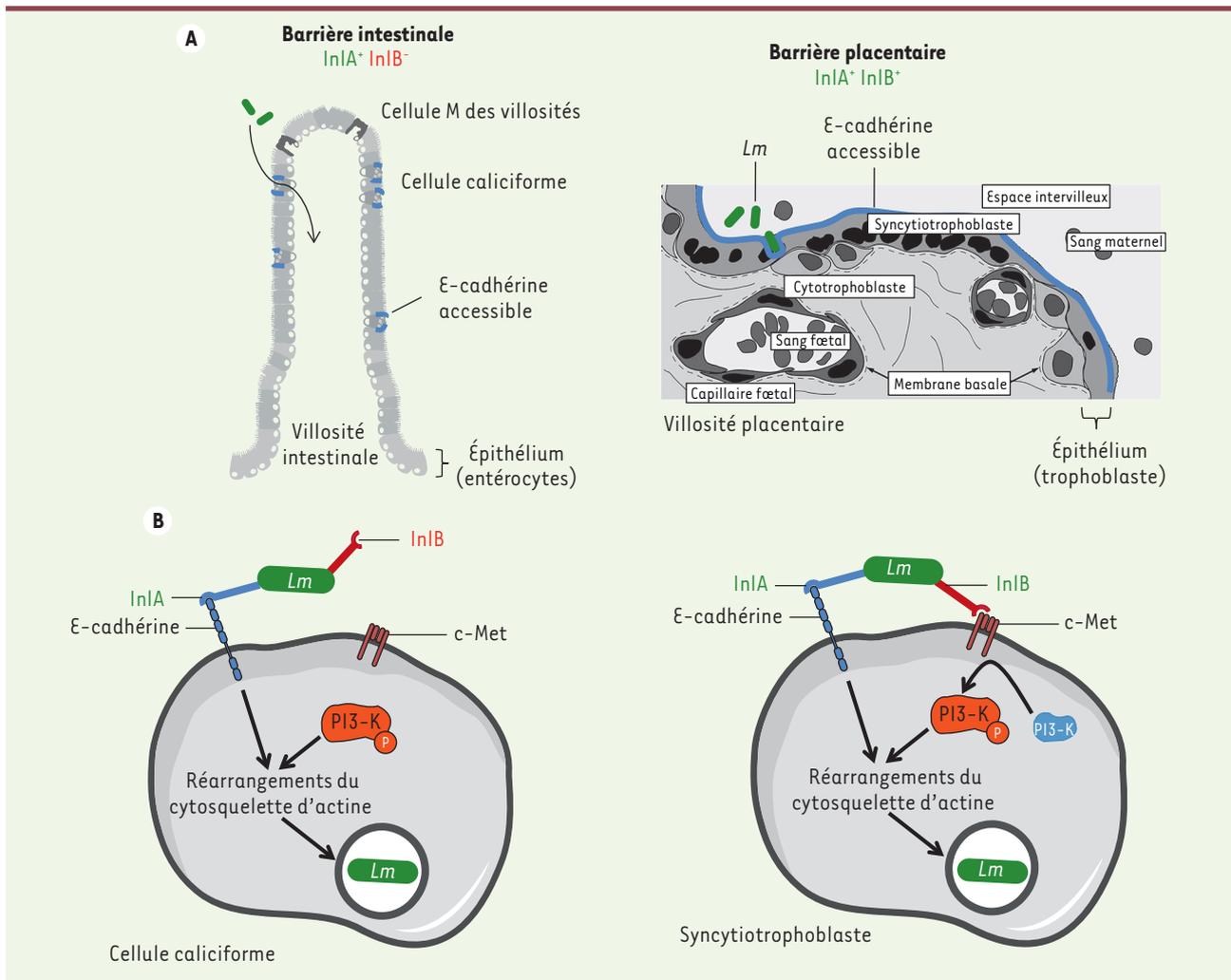
### *Lm* traverse les barrières intestinale et placentaire

InIA et InIB ont des contributions différentes lors du franchissement par *Lm* des barrières intestinale et placentaire. InIA est nécessaire et suffisante pour la traversée de l'épithélium intestinal. Elle interagit avec la Ecad située sur la face apicale des cellules caliciformes (CC) sécrétrices de mucus et accessible à leur face luminale (Figure 1A) [9]. InIB, elle, n'est pas impliquée dans la traversée de la barrière intestinale [10]. En revanche, la traversée de la barrière placentaire requiert l'action conjointe et interdépendante d'InIA et d'InIB (Figure 1A) [7, 11].

Nous avons étudié les bases moléculaires et cellulaires des rôles respectifs d'InIA et d'InIB dans la traversée par *Lm* des barrières intestinale et placentaire [12]. Notre hypothèse de travail était la suivante : l'activité de la PI3-K étant nécessaire à l'internalisation de *Lm*, cette enzyme

<sup>1</sup> Bactérie pouvant se multiplier au sein ou en dehors d'une cellule eucaryote.

<sup>2</sup> Substitution de l'acide glutamique (E) en position 16 par une proline (P).



**Figure 1. Traversée dépendante d'InlA des cellules caliciformes intestinales et traversée dépendante d'InlA et d'InlB des cellules épithéliales placentaires.** **A.** Schéma histologique simplifié d'une villosité intestinale (gauche) et d'une villosité placentaire (droite). L'épithélium de la villosité intestinale est constitué d'entérocytes, de cellules caliciformes sécrétrices de mucus et de cellules M. Les cellules caliciformes expriment de la  $\epsilon$ -cadhérine accessible à la lumière intestinale. La villosité placentaire est recouverte d'un épithélium appelé syncytiotrophoblaste, résultat de la fusion des cellules du cytotrophoblaste sous-jacentes. Le syncytiotrophoblaste exprime de la  $\epsilon$ -cadhérine accessible au sang maternel dans lequel se trouvent les bactéries. *Listeria monocytogenes* traverse les cellules caliciformes sécrétrices de mucus de l'intestin ainsi que le syncytiotrophoblaste du placenta. **B.** La PI3-kinase est constitutivement activée dans les cellules caliciformes intestinales, InlA seule est donc suffisante à l'invasion bactérienne. La PI3-kinase est faiblement activée dans le syncytiotrophoblaste, ce qui explique l'action conjointe d'InlA et d'InlB pour l'invasion cellulaire de *Lm*. Inl : internaline ; PI3-K : phospho-inositide 3-kinase ; *Lm* : *Listeria monocytogenes*.

serait activée constitutivement dans les cellules intestinales ciblées par *Lm*, expliquant l'absence de rôle d'InlB dans la traversée de l'épithélium intestinal ; en revanche au niveau placentaire, elle ne serait pas activée constitutivement, et l'interaction InlB-c-Met serait nécessaire à son activation, permettant alors l'internalisation de *Lm*.

#### Activité de la PI3-K et entrée dépendante d'InlB *in vivo* et *in vitro*

Nous avons tout d'abord étudié l'activité de la PI3-K dans les cellules caliciformes (CC) ciblées par *Lm* pour traverser l'épithélium intestinal et démontré que ces cellules expriment effectivement une activité PI3-K constitutive. À l'inverse, le syncytiotrophoblaste constituant la barrière épithéliale des

villosités placentaires, en contact direct avec le sang maternel, n'exprime qu'un faible niveau basal d'activité PI3-K. Nous avons ensuite utilisé deux lignées cellulaires humaines pour étudier les entrées dépendantes d'InlA et d'InlB *in vitro* : des cellules intestinales sécrétrices de mucus, appelées LS174T, et des cellules trophoblastiques placentaires, appelées Jar. Nous avons montré que



la PI3-K est activée constitutivement dans les cellules intestinales mais pas dans les cellules placentaires. Ces deux lignées reflètent donc bien l'activité de la PI3-K observée *in vivo*.

Nous avons effectué des tests d'invasion *in vitro* pour étudier les entrées dépendantes d'InIA et d'InIB à l'aide de souches de *Lm* isogéniques<sup>3</sup> invalidées pour InIA (*Lm-ΔinIA*) ou InIB (*Lm-ΔinIB*). Dans les cellules intestinales LS174T, l'entrée de *Lm-ΔinIA* est réduite, tandis que l'entrée de *Lm-ΔinIB* n'est pas affectée, comme observé *in vivo*. Ce résultat montre qu'InIA est impliquée dans l'invasion des cellules intestinales dont la PI3-K est activée, alors qu'InIB n'y joue donc aucun rôle. Dans les cellules placentaires Jar, les entrées de *Lm-ΔinIA* et *Lm-ΔinIB* sont toutes deux réduites, attestant de la nécessité de l'action conjointe d'InIA et InIB pour l'invasion des cellules placentaires, dépourvues d'activité PI3-K basale.

Nous avons ensuite modulé l'activité de la PI3-K dans les deux lignées cellulaires et observé l'effet de cette modulation sur l'entrée dépendante d'InIB. Dans les cellules LS174T, l'inhibition de la pré-activation de la PI3-K entraîne une réduction de l'entrée de *Lm-ΔinIB* : le rôle d'InIB est donc révélé en l'absence d'activité constitutive PI3-K. Réciproquement, dans les cellules Jar pour lesquelles la PI3-K est artificiellement activée avant l'infection, l'entrée de *Lm-ΔinIB* augmente, témoignant de la réduction du rôle d'InIB à mesure que la PI3-K est pré-activée.

### InIB n'est pas impliquée dans la traversée de la barrière intestinale *in vivo*

Des résultats publiés précédemment par une autre équipe suggéraient un rôle d'InIB dans la traversée de la barrière intestinale [13]. Nous avons démontré que ces résultats étaient consécutifs aux biais des modèles utilisés dans cette

étude, et notamment l'utilisation de souris non humanisées inoculées avec une souche de *Lm* exprimant une version murinisée de InIA (*Lm-InIA<sup>m</sup>*) capable d'interagir avec la Écad murine [14]. Nous avons montré que cette souche reconnaît également la N-cadhérine de souris, située à la surface des cellules M des villosités (Mv) qui sont ainsi ciblées de façon non physiologique par *Lm-InIA<sup>m</sup>* [15]. Les Mv expriment une faible activité PI3-K, qui pourrait rendre compte de l'implication d'InIB dans ce modèle. Nos résultats indiquent en effet que *Lm-InIA<sup>m</sup>* envahit aussi bien les CC que les Mv, tandis que la souche *Lm-InIA<sup>m</sup>* invalidée pour InIB (*Lm-InIA<sup>m</sup>-ΔinIB*) n'envahit que les CC. Par conséquent, contrairement à un modèle murin humanisé permissif à InIA, dans lequel InIB ne joue aucun rôle dans la traversée de la barrière épithéliale intestinale, l'infection des souris sauvages par *Lm-InIA<sup>m</sup>* révèle un rôle artificiel d'InIB dans l'infection des Mv.

### InIB permet la traversée de l'épithélium placentaire humain *ex vivo*

Afin d'étudier le rôle d'InIB dans la traversée de l'épithélium placentaire humain, nous avons utilisé des explants placentaires humains, obtenus lors d'accouchements au terme de grossesses sans complication [11]. Nous avons observé une faible activité PI3-K constitutive dans le syncytiotrophoblaste. Nous avons également démontré que l'adhésion et l'invasion de *Lm-ΔinIA* est réduite, et que l'invasion de *Lm-ΔinIB* est également affectée. La séquence d'entrée dans l'épithélium placentaire humain répond donc au modèle suivant : *Lm* adhère de façon dépendante d'InIA à la surface des villosités placentaires grâce à l'interaction InIA-Écad, puis InIB active la PI3-K, ce qui permet l'internalisation des bactéries ayant adhéré. Ce modèle rend ainsi compte de la complémentarité des deux protéines bactériennes InIA et InIB dans l'invasion placentaire (Figure 1B).

## Conclusions

L'utilisation de *Lm* comme modèle d'étude des interactions hôte-pathogène nous a permis de comprendre les implications respectives d'InIA et d'InIB dans la traversée des barrières intestinale et placentaire et de mettre en lumière le rôle crucial de la PI3-K dans la permisivité des barrières traversées par *Lm* (Figure 1B) [12].

Ce travail a mis en évidence que la PI3-K est constitutivement activée dans les cellules calciformes. Cette enzyme, qui phosphoryle les phospho-inositides, est impliquée dans l'internalisation de nombreux microorganismes pathogènes, bactéries, virus ou parasites, suggérant que le niveau d'activité de la PI3-K puisse être un facteur critique contrôlant la traversée des barrières de l'hôte par les pathogènes. Les cellules calciformes pourraient ainsi constituer une porte d'entrée pour les autres entéro-pathogènes invasifs, et donc être une cible privilégiée de ces pathogènes. Par ailleurs, l'absence d'activité PI3-K dans l'épithélium placentaire illustre sa fonction de barrière face aux pathogènes, à l'exception de ceux qui ont évolué pour stimuler la PI3-K, tel que *Lm*. ♦

### PI3-kinase activation is critical for host barrier permisivness to *Listeria monocytogenes*

#### LIENS D'INTÉRÊT

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

#### RÉFÉRENCES

1. Gaillard JL, Berche P, Frehel C, et al. Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. *Cell* 1991 ; 65 : 1127-41.
2. Shen Y, Naujokas M, Park M, Ireton K. InIB-dependent internalization of *Listeria* is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. *Cell* 2000 ; 103 : 501-10.
3. Lecuit M, Cossart P. Un modèle transgénique pour la listériose humaine : rôle de l'interaction entre l'internaline et la É-cadhérine dans la traversée de la barrière intestinale par *L. monocytogenes*. *Med Sci (Paris)* 2001 ; 17 : 1333-5.
4. Lecuit M, Cossart P. Bases moléculaires du tropisme fœtoplacentaire de *Listeria monocytogenes*. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 17-9.
5. Lecuit M, Dramsi S, Gottardi C, et al. A single amino acid in É-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *EMBO J* 1999 ; 18 : 3956-63.

<sup>3</sup> Souches identiques génétiquement à l'exception du gène invalidé.

## RÉFÉRENCES

- Lecuit M, Vandormael-Pournin S, Lefort J, et al. A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science* 2001 ; 292 : 1722-5.
- Disson O, Grayo S, Huillet E, et al. Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis. *Nature* 2008 ; 455 : 1114-8.
- Iretou K, Payrastra B, Chap H, et al. A role for phosphoinositide 3-kinase in bacterial invasion. *Science* 1996 ; 274 : 780-2.
- Nikitas G, Deschamps C, Disson O, et al. Transcytosis of *Listeria monocytogenes* across the intestinal barrier upon specific targeting of goblet cell accessible E-cadherin. *J Exp Med* 2011 ; 208 : 2263-77.
- Khelef N, Lecuit M, Bierre H, Cossart P. Species specificity of the *Listeria monocytogenes* InlB protein. *Cell Microbiol* 2006 ; 8 : 457-70.
- Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, et al. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 6152-7.
- Gessain G, Tsai YH, Travier L, et al. PI3-kinase activation is critical for host barrier permissiveness to *Listeria monocytogenes*. *J Exp Med* 2015 ; 212 : 165-83.
- Pentecost M, Kumaran J, Ghosh P, Amieva MR. *Listeria monocytogenes* internalin B activates junctional endocytosis to accelerate intestinal invasion. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000900.
- Wollert T, Pasche B, Rochon M, et al. Extending the host range of *Listeria monocytogenes* by rational protein design. *Cell* 2007 ; 129 : 891-902.
- Tsai YH, Disson O, Bierre H, Lecuit M. Murinization of internalin extends its receptor repertoire, altering *Listeria monocytogenes* cell tropism and host responses. *PLoS Pathog* 2013 ; 9 : e1003381.

## NOUVELLE

### La mystérieuse cible de la protéine virale Nef identifiée : les protéines SERINC3 et SERINC5

Lise Chauveau, Olivier Schwartz

Institut Pasteur, Unité Virus et Immunité, URA CNRS 3015, 28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. [schwartz@pasteur.fr](mailto:schwartz@pasteur.fr)

> Le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) contient des gènes codant pour des protéines appelées accessoires. Contrairement aux protéines structurales, ces protéines ne sont pas des constituants de la particule virale. Elles sont cependant nécessaires à l'infection *in vivo*, chez l'homme ou dans des modèles animaux. Ces protéines accessoires sont en particulier capables de contrer l'action de protéines cellulaires, appelées facteurs de restriction, qui bloquent la réplication du virus à différentes étapes. Ainsi, la protéine Vif (*viral infectivity factor*) dégrade le facteur de restriction APOBEC3G (*apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G*) qui provoque des hypermutations de l'ADN viral [1]. Le facteur de restriction Tetherin/BST-2 (*bone marrow stromal antigen 2*) est incorporé dans la membrane des particules virales et bloque le relargage de ces particules à partir de la surface de la cellule. La protéine accessoire Vpu délocalise Tetherin/BST-2 et l'exclut des zones de bourgeonnement du virus, empêchant ainsi son incorporation dans les particules virales [2].

Nef est une des protéines accessoires du VIH. Elle est associée à la face interne de

la membrane plasmique. Nef ne possède pas d'activité enzymatique mais exerce de multiples fonctions (pour une revue détaillée voir [3]), dont les principales sont liées à ses capacités d'interaction avec les machineries de trafic et de signalisation intracellulaire [4] (→).

Un des premiers effets de Nef à avoir été décrit est la diminution de l'expression, à la surface cellulaire, de CD4, le récepteur du VIH, et des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I). Il a ensuite été montré que Nef pouvait modifier l'expression membranaire de nombreuses protéines [3]. Une autre propriété importante de Nef, décrite il y a une vingtaine d'années, est sa capacité à augmenter l'infektivité des virions produits par la cellule infectée [3]. Le mécanisme d'action de Nef sur l'infektivité des particules virales est resté longtemps mal compris et de nombreuses équipes de recherche ont tenté d'identifier un potentiel facteur de restriction impliqué. Grâce aux avancées des techniques de protéomique et transcriptomique à haut débit, trois équipes indépendantes

sont récemment parvenues à identifier les protéines cellulaires cibles de Nef et impliquées dans la modulation de l'infektivité des virions : il s'agit des protéines *serine incorporator 3* et *5* (SERINC3 et SERINC5) [5-7].

#### Identification des nouveaux facteurs de restriction SERINC3 et SERINC5

La première équipe à l'origine de la découverte des facteurs de restriction cibles de Nef est partie de l'observation suivante : l'effet de Nef sur l'infektivité des virions produits varie en fonction de la cellule productrice. Les chercheurs ont donc établi le transcriptome de différentes lignées cellulaires présentant des sensibilités variables à l'effet de Nef sur l'infektivité [6] et ont mesuré les niveaux d'expression de nombreuses protéines cellulaires dans chacune de ces lignées. Cette méthode a permis d'identifier la protéine SERINC5, dont l'expression dans les différentes lignées corrèle le mieux avec l'effet de Nef [6].

La seconde équipe a utilisé une stratégie différente. Il avait été montré que l'activité de Nef sur l'infektivité des virions dépendait de la machinerie d'endocytose de la cellule productrice. Nef pourrait donc

(→) Voir la Synthèse de S. Bénichou et A. Benmerah, m/s n° 1, janvier 2003, page 100