

## TRANSGÉNÈSE ET MALADIES VIRALES

Pascale Briand  
Catherine Cavard  
Alain Zider  
Gisèle Grimber

### RÉFÉRENCES

1. Babinet C, Morello D. Animaux transgéniques : une voie nouvelle pour l'étude du développement. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 253-9.
2. Adams TE, Alpert S, Hanahan D. Non tolerance and autoantibodies to a transgenic self antigen expressed in pancreatic B cells. *Nature* 1987 ; 325, 223-8.
3. Leonard JM, Abramczuk JW, Pezen DS, et al. Development of disease and virus recovery in transgenic mice containing HIV proviral DNA. *Science* 1988 ; 242, 1665-70.
4. Vogel J, Hinrichs SH, Reynolds RK, Luciw PA, Jay G. The HIV tat gene induces dermal lesions resembling Kaposi's sarcoma in transgenic mice. *Nature* 1988 ; 335 : 606-11.
5. Neremberg M, Hinrichs SH, Reynolds RK, Khoury G, Jay G. The tat gene of human T-lymphotropic virus type 1 induces mesenchymal tumors in transgenic mice. *Science* 1987 ; 237, 1324-9.
6. Green JE, Hinrichs SH, Vogel J, Jay G. Exocrinopathy resembling Sjögren's syndrome in HTLV-1 tax transgenic mice. *Nature* 1989 ; 341, 72-4.
7. Small JA, Scangos GA, Cork L, Jay G, Khoury G. The early region of human papovavirus JC induces dysmyelination in transgenic mice. *Cell* 1986 ; 46, 13-8.
8. Small JA, Khoury G, Jay G, Howley PM, Scangos GA. Early regions of JC and BK virus induce distinct and tissue-specific tumors in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83, 8288-92.
9. Sippola-Thiele M, Hanahan D, Howley PM. Cell-heritable stages of tumor progression in transgenic mice harboring the bovine papillomavirus type 1 genome. *Mol Cell Biol* 1989 ; 9, 925-934.
10. Sharpe AH, Hunter JJ, Ruprecht RM, Jaenich R. Maternal transmission of retroviral disease: transgenic mice as a rapid test system for evaluating perinatal and transplant antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 9792-6.

**D**éveloppée au cours de cette décennie, abondamment utilisée pour étudier la régulation de l'expression de gènes eucaryotiques et les conséquences d'anomalies qualitatives ou quantitatives de l'expression de certains gènes au cours du développement, la technologie des souris transgéniques [1] offre aussi la possibilité de créer des modèles animaux susceptibles d'éclairer la physiopathologie des infections virales et de mettre au point de nouveaux types de thérapeutiques antivirales. Pour obtenir ces modèles, le génome viral ou une fraction de celui-ci est introduit dans la lignée germinale de souris. Les animaux transgéniques qui résultent de ces manipulations du *germen*, portent, intégré dans leur génome et se comportant désormais comme l'un de leur gène, la séquence génomique virale introduite. On conçoit bien alors qu'il soit possible d'étudier les conséquences de l'expression d'un gène du virus dans un contexte cellulaire déterminé ou, si l'ensemble du génome viral est présent, toutes les étapes du cycle viral qui sont postérieures à son intégration dans le génome de l'hôte. Ainsi, alors même que les cellules de souris ne possèdent pas les récepteurs capables d'assurer la reconnaissance et la fixation des virus de l'hépatite B ou du SIDA, est-il possible d'analyser le potentiel pathogénique de leurs gènes et les facteurs intervenant dans la régulation de leur expression. En outre, on peut dissocier ce qui résulte directement de l'expression des gènes viraux, des effets secondaires aux réactions immunitaires. En effet, le génome viral, intégré dans les chromosomes des lignées de souris transgéniques, code pour des protéines certes virales mais qui, du fait d'une expression précoce au cours du développement, ne sont généralement pas considérées comme étrangères. De ce fait, la symptomatologie observée peut être directement rattachée à l'expression des gènes viraux. Un modèle comportant, au contraire, une réponse immunitaire, peut en principe être produit car il semble que la tolérance vis-à-vis des « protéines transgéniques » soit, au moins dans certains cas, conditionnée par la précocité de l'expression du transgène, caractère contrôlé par la séquence régulatrice utilisée [2]. En choisissant une séquence provoquant une expression tardive, on peut alors espérer voir apparaître une réaction immunitaire dirigée contre les protéines virales codées par le transgène. Ces modèles sont particulièrement importants pour l'étude des conséquences de l'infection par le virus de l'hépatite, de nombreuses observations cliniques suggérant le rôle prépondérant de la réponse immune dans l'apparition des lésions hépatiques liées à cette infection virale. Dans ce numéro (page 626), Christine Pourcel illustre plus généralement l'intérêt de la transgénèse pour l'étude de la multiplication du virus de l'hépatite B et montre comment les différentes phases allant de la réplication dans le cytoplasme à la production de virions, deviennent accessibles à l'analyse. On voit aussi très bien d'après les résultats rapportés dans ce même article que le rôle de facteurs liés à l'hôte, en l'occurrence le rôle activateur des hormones sexuelles sur l'expression des gènes viraux, peut être confirmé par ce type d'approche. Divers modèles d'étude des rétrovirus humains HIV ou HTLV ont aussi été récemment obtenus. Leur objectif a parfois été de créer chez la souris une symptomatologie qui soit la plus proche possible de celle observée chez l'homme, et pour ce faire le génome viral a été intégralement ajouté, par transgénèse, au génome murin [3]. D'autres fois, il s'agissait de disséquer les mécanismes physiopathologiques liés à l'expression de l'un des gènes viraux, et c'est alors seulement la séquence virale correspondant à ce gène qui a été introduite [4-5]. Ainsi, on a pu démontrer que l'expression du gène

*tat* du virus HTLV1 entraîne une neurofibromatose et une anomalie des glandes salivaires et lacrymales analogues à celle du syndrome de Sjögren observé chez certains malades infectés par le virus HTLV1 [5-6]. Ce résultat suggère que ce virus a un tropisme pour les cellules épithéliales des glandes salivaires et lacrymales et qu'il intervient directement dans le développement de cette symptomatologie que l'on attribuait classiquement à une étiologie auto-immune. Le possible caractère oncogénique du gène *tat* du virus HIV-1 et son implication dans l'apparition de lésions cutanées s'apparentant à celles du syndrome de Kaposi, ont de la même façon été suggérés par certains auteurs [4]. Enfin, dans un autre modèle de souris transgéniques, l'expression et la réplication de l'ensemble du génome viral sont à l'origine d'une symptomatologie plus complexe [3] associant un retard de croissance, des infiltrats lymphocytaires péricapillaires pulmonaires, une lymphadénopathie et un syndrome cutané de type psoriasis, éléments assez proches de la symptomatologie humaine pour que l'on puisse considérer qu'il s'agit là d'un modèle intéressant, notamment pour tester des médicaments destinés à bloquer la réplication virale ou à s'opposer aux effets pathogènes de l'expression du génome viral. Une autre étape clé des maladies à virus lent, et en particulier du SIDA, est celle de l'activation virale qui survient après une période de latence plus ou moins longue. La détermination des facteurs influençant cette réactivation et l'apparition des symptômes, peut être facilitée par la création de modèles dans lesquels l'élément clé de la régulation du génome viral contrôle un gène dont l'expression est aisément détectable, celui de la chloramphénicol acétyltransférase (CAT) ou de la  $\beta$ -galactosidase (Lac Z). Des souris portant un transgène chimérique constitué des séquences régulatrices du virus HIV-1 et du gène traceur *Lac Z* permettent ainsi d'affirmer l'effet activateur sur le LTR (*long terminal repeat*) viral, de l'exposition de la peau aux rayons ultraviolets (résultats personnels non publiés).

L'analyse des étapes initiales de l'infection par un virus humain peut aussi être envisagée en ajoutant par transgénèse au génome murin les gènes humains codant pour les protéines membranaires qui servent de récepteur au virus. Des souris exprimant la protéine CD4, récepteur du virus du SIDA, ont ainsi été obtenues. A ce jour, aucune infection de ces souris transgéniques par le virus n'a été rapportée suggérant l'intervention d'autres molécules humaines dans ce processus et la nécessité de créer des modèles dans lesquels l'ensemble des transgènes nécessaires seraient co-exprimés. Il est clair que l'avantage de ces modèles murins par rapport aux modèles de primates, si tant est que les symptomatologies soient proches, est leur maniement beaucoup plus aisé, leur puissance de dissection des mécanismes physiopathologiques et leur coût considérablement inférieur.

Les modèles obtenus par transgénèse sont aussi particulièrement adaptés à l'étude des infections virales dites opportunistes. Par exemple, les papovavirus humains de type JC sont à l'origine de leuco-encéphalopathies multifocales progressives chez des patients dont les résistances immunitaires sont, pour diverses raisons, altérées. Cette intrication rend difficile la caractérisation des effets propres à l'infection. Cependant, des anomalies des oligodendrocytes et des astrocytes, l'apparition de tumeurs gliales et la présence dans le cerveau de particules virales, laissent penser que le virus joue un rôle direct dans cette symptomatologie. De fait, des souris transgéniques exprimant les régions précoces de ce virus ont un déficit en myéline dans le système nerveux central, déficit corrélé à l'expression dans le cerveau, et plus précisément dans les oligodendrocytes, de l'antigène T du virus [7]. La spécificité cellulaire de l'expression peut être attribuée aux séquences régulatrices virales puisque le transgène est présent dans toutes les cellules, ce qui permet de confirmer la liaison entre la symptomatologie observée chez les souris et l'expression des gènes viraux. De telles informations, et en particulier une similitude entre le profil d'ex-

pression du transgène et le tropisme habituellement observé chez l'homme, a aussi été rapportée pour le virus BK [8], un autre papovavirus à l'origine de tumeurs rénales et hépatiques.

Citons encore l'exemple des modèles de maladies causées par les papillomavirus qui dans diverses espèces et chez l'homme en particulier, sont impliquées dans le développement de tumeurs à partir de lésions bénignes dans lesquelles une active expression des protéines virales est observée. La caractérisation des étapes de cette transformation peut permettre de prévoir les facteurs favorisants et de tester des thérapeutiques susceptibles de retarder ou d'enrayer le processus tumoral. Pour ce faire, des souris transgéniques portant le prototype bovin de ces virus ont été créées [9]. Le type de tumeurs observées chez ces animaux (carcinomes cutanés et anogénitaux) et leur progression rappellent la symptomatologie humaine, ce qui constitue par conséquent un précieux modèle pour analyser les facteurs intervenant dans la progression tumorale.

Citons pour terminer les lignées d'animaux transgéniques exprimant la totalité du génome du virus de Moloney, soit avant soit quelques jours après la naissance, qui ont été utilisées comme modèle, respectivement d'infection virale *in utero* et post-natale, pour tester l'effet de l'AZT sur la virémie [10].

Ainsi, qu'il s'agisse de comprendre les mécanismes pathogéniques d'une infection virale ou de créer des modèles animaux permettant de tester les traitements antiviraux, la technologie des souris transgéniques s'affirme comme un outil entièrement nouveau et puissant au service des virologues ■

#### ADRESSE

P. Briand : directeur de recherche à l'Inserm.  
C. Cavard : boursière post-doctorale ANRS. A. Zider : boursier M.R.T. G. Grimber : Ingénieur à l'Inserm. Laboratoire de biochimie génétique, URA 1335, hôpital Necker-Enfants-Malades, 75743 Paris Cedex 15, France.

#### TIRÉS A PART

P. Briand.