

Vers un nouveau rôle du récepteur PPAR- γ dans le syndrome d'immunodéficience acquise et les hémopathies chez l'homme

Stéphane Prost^{1, 2, 3, 9}, Mikael Le Dantec^{1, 9}, Sylvie Augé^{4, 5}, Roger Le Grand¹, Sonia Derdouch¹, Gwenaëlle Auregan^{1, 6}, Nicole Déglon⁶, Francis Relouzat^{2, 3}, Anne-Marie Aubertin⁷, Bernard Maillere⁸, Isabelle Dusanter-Fourt^{4, 5, 10}, Marek Kirszenbaum^{1, 10}

L'infection SIV induit la perte d'expression des facteurs de transcription Stat5a et Stat5b dans les cellules CD34⁺

Les patients infectés par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) manifestent, en dehors des lymphopénies, de multiples déficiences hématologiques associées au syndrome d'immuno-déficience acquise (Sida). Ces déficiences combinées reflètent un dysfonctionnement des cellules souches hématopoïétiques (CSH) elles-mêmes. Pourtant, bien que les fonctions de ces cellules souches soient altérées, aucune séquence virale n'a pu y être détectée [1], posant la question du mode d'action du VIH dans ce contexte cellulaire. Les mêmes types de désordres hématologiques caractérisent des singes infectés par le virus apparenté SIV (*simian immunodeficiency virus*) [2]. Afin de comprendre l'origine du dérèglement de telles CSH, nous avons infecté des macaques par l'isolat viral SIV-mac251 et purifié une population de cellules médullaires contenant les CSH et les progéniteurs hématopoïétiques multipotents, sur la base de l'expression du marqueur CD34 [3]. Nous avons observé que la capacité caractéristique de ces cellules à former des clones de différentes cellules hématopoïétiques se trouve diminuée d'environ 50 à 60 % par rapport à la même population issue de singes non infectés.

L'analyse comparée des niveaux d'expression de divers facteurs transcriptionnels actifs dans cette population cellulaire CD34⁺ a révélé la perte sélective d'expression des facteurs Stat5a et Stat5b dans les progéniteurs hématopoïétiques des animaux infectés. Cette perte est décelable très tôt après l'administration de virus aux animaux et se maintient tout au long de l'infection (Figure 1). La simple introduction dans les CSH des singes malades d'un vecteur permettant l'expression du transgène Stat5b, conduit au rétablissement de leurs propriétés clonogéniques [3]. Ces facteurs Stat5a/b sont des molécules de signalisation ubiquitaires, fréquemment activées par des cytokines et facteurs

Institut des Maladies Émergentes et des Thérapies Innovantes,

¹ Service d'Immuno-Virologie et

² Service des Thérapies Innovantes, CEA, Fontenay-aux-Roses, France.

³ UMR U733 Inserm-CEA-Paris XI, CEA, Fontenay-aux-Roses, France.

⁴ Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR8104), Paris, France.

⁵ Inserm, U567, Paris, France.

⁶ CEA, I2BM et programme MIRcen, Orsay, France.

⁷ Laboratoire de Virologie, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France.

⁸ CEA, Département d'Ingénierie et d'Étude des Protéines, Saclay, France.

^{9, 10} Ces auteurs ont respectivement contribué de façon identique à ce travail stephane.prost@cea.fr

de croissance, qui peuvent directement convertir le message d'une cytokine/facteur de croissance en une régulation de l'expression de gènes particuliers grâce à leur double propriété de circuler du cytoplasme au noyau et d'agir comme facteurs de transcription. L'absence de ces facteurs chez la souris *knock-out* avait déjà révélé le rôle de Stat5a/b dans le maintien de CSH fonctionnelles capables de reconstituer l'hématopoïèse de souris irradiées [4, 5]. Le fait que la seule réintroduction

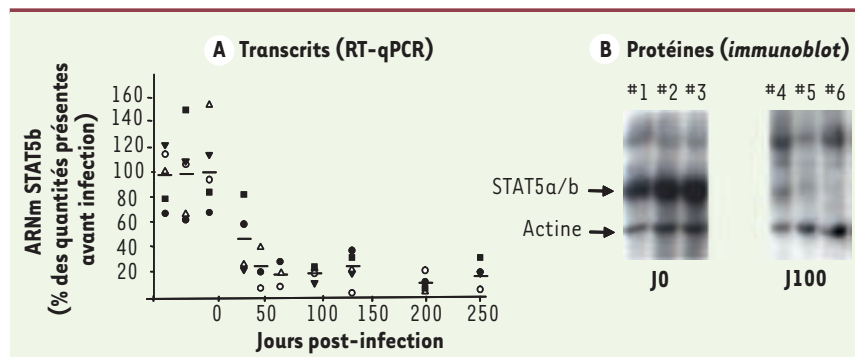


Figure 1. Expression de STAT5a et STAT5b dans les progéniteurs hématopoïétiques issus d'animaux infectés. L'infection de macaques par le virus SIV induit une diminution massive de l'expression des transcrits et des protéines Stat5a et Stat5b dans les progéniteurs hématopoïétiques médullaires CD34⁺. Les prélèvements d'animaux différents sont indiqués par des symboles (A) ou des numéros (B) différents.

de Stat5b dans des CSH de singes infectés suffit à rétablir les propriétés biologiques de ces cellules démontre que les mêmes facteurs Stat5 sont également des régulateurs importants des CSH de primates.

Responsabilité de PPAR- γ dans la perte d'expression des protéines Stat5 provoquée par Nef

Nous avons ensuite utilisé diverses approches pour identifier les déterminants viraux responsables de telles altérations [3]. En l'absence d'infection directe des CSH, les plasmas des animaux infectés ont été testés pour leur capacité à altérer les propriétés clonogéniques des CSH : ces plasmas se sont avérés inhibiteurs. La sélection des protéines virales présentes rapidement et en grande quantité dans le plasma des individus infectés nous a conduit à nous intéresser à la protéine Nef. Cette protéine codée par le génome viral participe à la pathologie SIDA à plusieurs niveaux : elle est nécessaire à une intense production

de virions par les cellules infectées, elle augmente les capacités du virus à échapper au système de défense immunitaire et favorise la progression vers le SIDA des individus infectés [6]. Plusieurs approches complémentaires nous ont conduit à mettre en évidence la responsabilité directe de Nef dans l'altération des propriétés des CSH. En effet, les plasmas d'animaux infectés dépourvus de leur contenu en protéine Nef perdent leur pouvoir inhibiteur sur les CSH. De même, des souches de virus SIV mutantes, présentant un déficit d'expression de la protéine Nef, ont perdu toute action sur les CSH. Enfin, l'addition au milieu de culture des CSH de protéines Nef recombinantes issues du génome de SIVmac251, mais également de VIH, suffit à elle seule à induire une diminution de la fonctionnalité des CSH.

Bien que Nef existe sous une forme ancrée à la membrane (myrNef) et sous une forme cytosolique, l'analyse des diverses propriétés de Nef indique que cette protéine

peut également être localisée dans le noyau et même pénétrer spontanément dans des cellules non infectées, sans que l'on comprenne les bases moléculaires de cette propriété [6-8]. Différents domaines fonctionnels de la protéine ont été identifiés, dont un domaine central, riche en Proline, particulièrement bien conservé entre les formes humaines et simiennes [9]. L'analyse fonctionnelle de ces domaines nous a permis de montrer qu'un peptide couvrant le domaine central reproduit les effets de la protéine Nef entière sur les CSH, et que le motif riche en Proline est essentiel à cette activité. Des travaux antérieurs ont par ailleurs montré que Nef modifiait massivement l'expression de récepteurs nucléaires et les activités transcriptionnelles du récepteur orphelin PPAR- γ [10]. PPAR- γ est un régulateur essentiel du métabolisme des lipides ; il participe à l'homéostasie du glucose et aux processus de différenciation cellulaire, et divers agonistes sont utilisés comme agents anti-diabétiques [11]. Nous avons donc fait l'hypothèse d'une intervention de PPAR- γ dans les actions de Nef sur les CSH. De fait, un antagoniste pharmacologique de PPAR- γ ou l'inhibition de l'expression de PPAR- γ par interférence ARN, bloque totalement les effets inhibiteurs de Nef sur des CSH/progénéiteurs en culture (Figure 2, encadré). De plus, nous avons montré que la simple addition d'agonistes de PPAR- γ à des cultures de progénéiteurs *ex vivo* (Figure 2), ou leur administration à des animaux sains - singes ou souris -, reproduit les effets observés lors de l'infection virale, c'est-à-dire l'inhibition des propriétés clonogéniques et la diminution de l'expression des facteurs Stat5a et Stat5b dans ces cellules CD34⁺ [3].

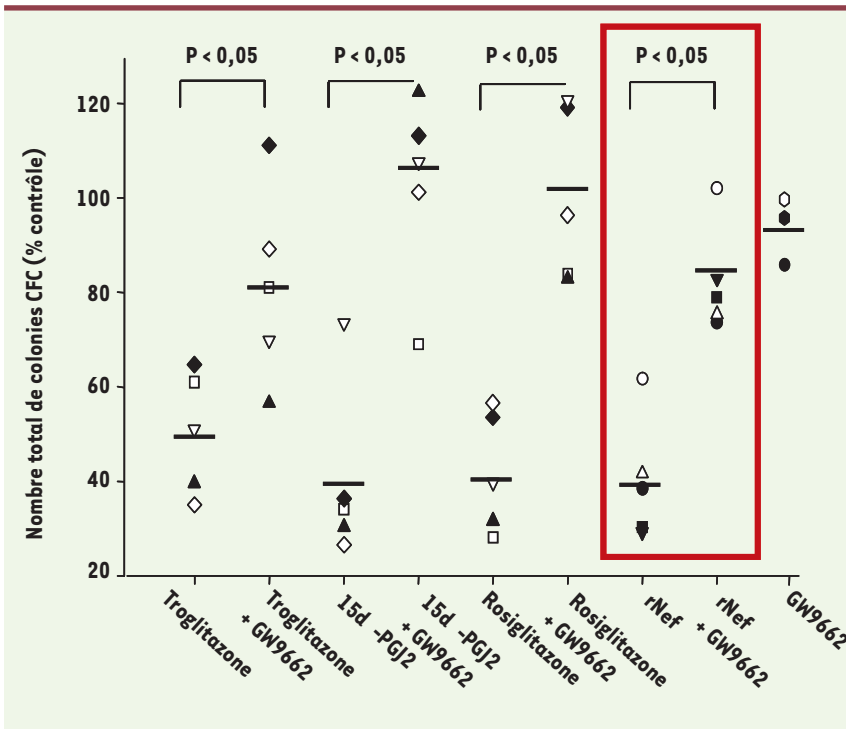


Figure 2. Actions des agonistes de PPAR- γ sur l'hématopoïèse. Les agonistes de PPAR- γ Troglitazone, Rosiglitazone ou 15 deoxy-D^{12,14}-Prostaglandin J2 (15d-PGJ2) miment l'action de Nef et diminuent les capacités clonogéniques des progénéiteurs hématopoïétiques CD34⁺. Cet effet est levé en présence de l'antagoniste GW9662. Chaque symbole correspond au prélèvement issu d'un animal défini ; le nombre de colonies est rapporté à celui obtenu à partir de cellules maintenues en l'absence de drogues/Nef.

Conclusion et perspectives

L'ensemble de ces données élargit la responsabilité de la protéine Nef dans la physiopathologie du Sida et les manifestations cliniques associées. Ce travail confirme en effet la capacité de Nef à altérer des cellules en dehors d'une infection virale directe. Il révèle de plus qu'une partie des actions de Nef est relayée par le récepteur



orphelin PPAR- γ (Figure 3). Ces résultats soulèvent la question de la responsabilité de PPAR- γ dans d'autres activités de Nef, notamment au niveau des cellules lymphoïdes T elles-mêmes. Ils suggèrent que des molécules antagonistes de ce type de récepteur nucléaire, qui ont déjà fait l'objet de multiples recherches des laboratoires pharmaceutiques dans le cadre d'autres pathologies (diabète, maladies cardiovasculaires, obésité), puissent représenter une nouvelle approche pour le traitement du Sida ou de certaines des complications qui lui sont associées. Ces travaux soulèvent

également la question d'un rôle de PPAR- γ dans le développement d'hémopathies chez l'homme et posent clairement le problème de l'innocuité des drogues agonistes de PPAR- γ prescrites comme anti-diabétiques. \diamond

Nef and PPAR- γ interact to suppress Stat5 expression in CD34⁺ progenitors from infected macaques

RÉFÉRENCES

1. Koka PS, Jamieson BD, Brooks DG, Zack JA. Human immunodeficiency virus type 1-induced hematopoietic inhibition is independent of productive infection of progenitor cells *in vivo*. *J Virol* 1999 ; 73 : 9089-97.

- Thiebot H, Louache F, Vaslin B, et al. Early and persistent bone marrow hematopoiesis defect in simian/human immunodeficiency virus-infected macaques despite efficient reduction of viremia by highly active antiretroviral therapy during primary infection. *J Virol* 2001 ; 75 : 11594-602.
- Prost S, Le Dantec M, Augé S, et al. Human and simian immunodeficiency viruses de-regulate early hematopoiesis through a Nef /PAR- γ / STAT5 signaling pathway in macaques. *J Clin Invest* 2008 (sous presse).
- Bradley HL, Coudrey C, Bunting KD. Hematopoietic-repopulating defects from STAT5-deficient bone marrow are not fully accounted for by loss of thrombopoietin responsiveness. *Blood* 2004 ; 103 : 2965-72.
- Snow JW, Abraham N, Ma MC, et al. STAT5 promotes multilineage hematolymphoid development *in vivo* through effects on early hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2002 ; 99 : 95-101.
- Peterlin BM. Nef: out and in? *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 229-30.
- Okabe S, Tauchi T, Morita H, et al. Thrombopoietin induces an SH2-containing protein, CIS1, which binds to Mpl: involvement of the ubiquitin proteasome pathway. *Exp Hematol* 1999 ; 27 : 1542-7.
- Qiao X, He B, Chiu A, et al. Human immunodeficiency virus 1 Nef suppresses CD40-dependent immunoglobulin class switching in bystander B cells. *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 302-10.
- Geyer M, Fackler OT, Peterlin BM. Structure-function relationships in HIV-1 Nef. *EMBO Rep* 2001 ; 2 : 580-5.
- Otake K, Omoto S, Yamamoto T, et al. HIV-1 Nef protein in the nucleus influences adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors. *AIDS* 2004 ; 18 : 189-98.
- Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000 ; 405 : 421-4.

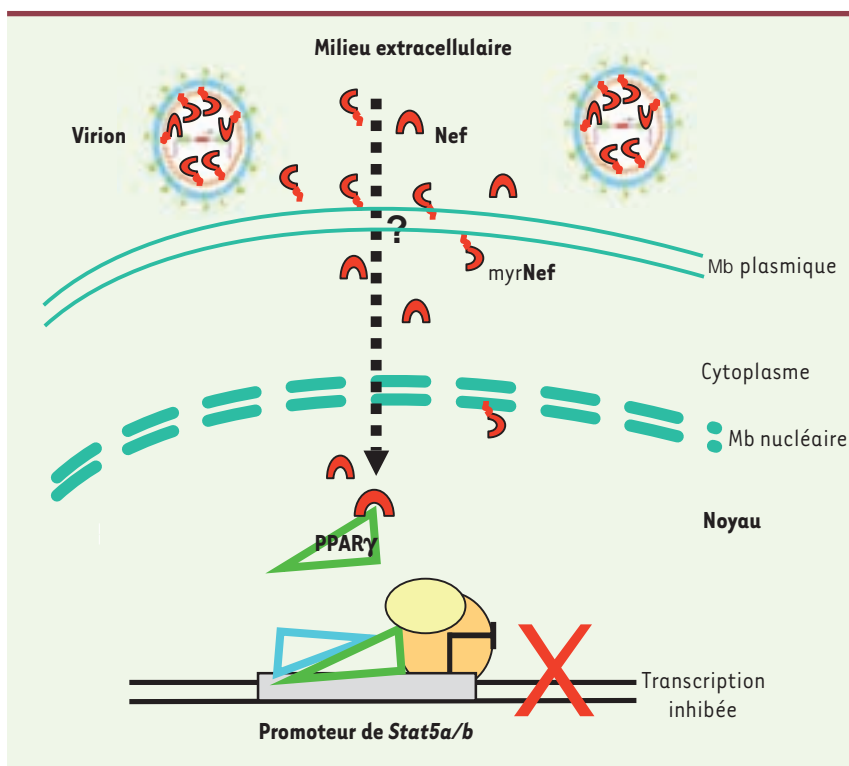


Figure 3. Représentation hypothétique de la voie d'action de Nef conduisant à l'inhibition de l'expression des gènes Stat5a ou Stat5b. Triangle bleu : partenaire de PPAR- γ .

TIRÉS À PART

Stéphane Prost est le senior auteur de l'article de *J Clin Invest* [3]. Les correspondances pour cette Dernière Heure peuvent être adressées à Stéphane Prost ou Isabelle Dusanter-Fourt. stephane.prost@cea.fr dusanter@cochin.inserm.fr



Tarifs d'abonnement M/S - 2008

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 554 dans ce numéro de m/s





> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales



Chaque mois, avec les articles de référence de M/S

Chaque jour, sur www.medecinesciences.org



Médecine/Sciences

est indexé dans PubMed/Medline

Current Contents, série Life Sciences
EMBASE/Excerpta Medica
PASCAL
CABS
BIOSIS

- > Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- > Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- > La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.

- > Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.



Tarifs d'abonnement M/S - 2008 Mensuel - 10 numéros/an

Abonnez-vous à Médecine/Sciences

Mon règlement :

Par mail edk@edk.fr

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

Par fax en envoyant ce bulletin au 01 55 64 13 94

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

N°

Date d'expiration Signature :

N° de contrôle au dos de la carte

Par chèque à l'ordre de Médecine/Sciences, en envoyant ce bulletin à :

Éditions EDK

2, rue Troyon

92316 Sèvres Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case

Je souhaite m'abonner à M/S :

Nom : Prénom :

Adresse :

Code postal Ville :

Pays :

E-mail-obligatoire :

Je choisis l'abonnement :

	Particuliers		Institutions			Étudiants*			
	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Papier seul	Papier seul	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier	
France	<input type="checkbox"/> 170 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 160 €	<input type="checkbox"/> 385 €	<input type="checkbox"/> 235 €	<input type="checkbox"/> 375 €	<input type="checkbox"/> 90 €	<input type="checkbox"/> 62 €	<input type="checkbox"/> 80 €
UE + autres	<input type="checkbox"/> 214 €	<input type="checkbox"/> 118 €	<input type="checkbox"/> 204 €	<input type="checkbox"/> 455 €	<input type="checkbox"/> 235 €	<input type="checkbox"/> 433 €	<input type="checkbox"/> 112 €	<input type="checkbox"/> 62 €	<input type="checkbox"/> 102 €

* Joindre un justificatif