

Poliovirus et Apoptose

Bruno Blondel, Arnaud Autret, Sandra Martin-Latil, Laurence Mousson,
Isabelle Pelletier, T. Couderc, Florence Colbère-Garapin

► **To cite this version:**

Bruno Blondel, Arnaud Autret, Sandra Martin-Latil, Laurence Mousson, Isabelle Pelletier, et al..
Poliovirus et Apoptose. Virologie, John Libbey Eurotext 2006, 10 (1), pp.7-20. pasteur-00167563

HAL Id: pasteur-00167563

<https://hal-pasteur.archives-ouvertes.fr/pasteur-00167563>

Submitted on 22 Aug 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Poliovirus et apoptose

Virologie. Volume 10, Numéro 1, 7-20, Janvier-Février
2006, Revue

Résumé Summary

Auteur(s) : B Blondel, A Autret, S Martin-Latil, L Mousson, I Pelletier, T Couderc, F Colbère-Garapin ,
Laboratoire des virus entérotropes et stratégies antivirales, Unité postulante de neuroimmunologie virale, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15.

Résumé : Le poliovirus est l'agent responsable de la poliomyélite paralytique aiguë. Les paralysies flasques caractéristiques de la poliomyélite résultent de la destruction des neurones moteurs, les cellules cibles spécifiques du poliovirus dans le système nerveux central (SNC). Le développement de nouveaux modèles animaux et cellulaires a permis d'étudier les étapes clés de la pathogenèse de la poliomyélite à un niveau moléculaire. En particulier, il a été montré chez la souris que l'induction de l'apoptose est un élément important de l'atteinte du SNC des animaux paralysés suite à l'infection par le poliovirus. Dans cette revue, la biologie moléculaire du poliovirus et la pathogenèse de la poliomyélite paralytique seront décrites brièvement et plusieurs modèles d'apoptose induite par le poliovirus seront présentés ; le rôle des interactions du poliovirus avec son récepteur cellulaire dans l'apoptose sera également considéré.

Mots-clés : poliovirus, apoptose, CD155

Illustrations

ARTICLE

Auteur(s) : B Blondel¹, A Autret¹, S Martin-Latil¹, L Mousson¹, I Pelletier¹, T Couderc², F Colbère-Garapin¹

¹Laboratoire des virus entérotropes et stratégies antivirales

²Unité postulante de neuroimmunologie virale, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15

Le poliovirus, le prototype de la famille des Picornaviridae, est l'agent étiologique de la poliomyélite paralytique, une maladie aiguë du SNC caractérisée par des paralysies flasques [1]. Plusieurs années après la phase aiguë de la maladie, certains patients développent une pathologie neuromusculaire, appelée syndrome post-polio [2]. La prophylaxie de la poliomyélite paralytique est assurée depuis les années 1950 par deux types de vaccin : un vaccin polio inactivé et injectable (VPI) mis au point par Salk, et un vaccin polio oral atténué (VPO) développé par Sabin [3]. Les vaccinations massives ont permis d'éradiquer les souches sauvages de poliovirus dans les pays industrialisés et de diminuer fortement la fréquence et l'amplitude des épidémies de poliomyélite dans les pays en voie de développement. Néanmoins, l'utilisation du VPO peut engendrer des souches neuropathogènes du fait de la réversion des mutations d'atténuation [3]. De plus, des souches de poliovirus d'origine vaccinale peuvent circuler pendant plusieurs années avant que leur pathogénicité ne se révèle. Enfin, de récentes épidémies dans les Caraïbes (2001-2001), aux Philippines (2001), à Madagascar (2002), en Chine (2004) ainsi qu'au Laos (2004-2005) ont révélé l'émergence de souches de poliovirus recombinantes entre des souches dérivées des souches vaccinales Sabin et d'autres entérovirus non poliovirus [3]. Ces données indiquent que l'éradication de la poliomyélite demandera beaucoup plus de temps que prévu et nécessitera, non seulement la prolongation des campagnes de vaccination, mais peut-être aussi la mise au point de nouveaux vaccins antipoliomyélitiques. Le poliovirus est un entérovirus de la famille des Picornaviridae qui représente l'un des plus grands groupes d'agents pathogènes humains et animaux. Cette famille comprend notamment le virus humain de l'hépatite A, les rhinovirus humains (agents infectieux responsables du rhume) et le virus de la fièvre aphteuse. Les entérovirus sont à présent divisés en quatre groupes (A à D) selon leur génotype. Le poliovirus, classé en trois sérotypes (PV1, PV2 et PV3), appartient au groupe C. Du fait de sa structure très simple, il a été utilisé comme modèle pour étudier les virus à ARN non rétroviraux et il est ainsi devenu l'un des virus les mieux caractérisés. Le développement de nouveaux modèles animaux et cellulaires ainsi que l'identification du récepteur viral (CD155) ont permis d'étudier la pathogenèse de la poliomyélite à un niveau moléculaire [4]. L'implication de l'apoptose dans l'atteinte du SNC a notamment été étudiée. L'apoptose est un mécanisme de mort cellulaire en

réponse à de nombreux stimuli, incluant les infections virales [5]. Ce processus implique un nombre distinct de modifications biochimiques et morphologiques telles que le bourgeonnement des membranes cellulaires et nucléaires, la translocation de la phosphatidylsérine de la membrane cellulaire interne vers la membrane cellulaire externe, la condensation de la chromatine à la périphérie du noyau et la fragmentation de l'ADN nucléaire en oligonucléosomes (fragments multiples d'environ 180 paires de bases). Ces changements sont médiés en particulier par une famille d'endoprotéases à cystéine appelées caspases qui clivent leurs substrats après des résidus aspartiques. Les voies apoptotiques conduisant à la mort cellulaire peuvent être généralement divisées en deux cascades de signalisation non exclusives, l'une impliquant les récepteurs de mort (voie extrinsèque) et l'autre impliquant la mitochondrie (voie intrinsèque) ((figure 1)) [6]. La voie des récepteurs de mort est activée par la fixation d'un ligand tel que le facteur nécrotique des tumeurs α , (TNF α , tumor necrosis factor) ou le ligand de Fas sur leurs récepteurs respectifs, TNFR (TNF receptor) et Fas. Cette fixation entraîne la formation d'un complexe multiprotéique de signalisation de la mort cellulaire, appelé DISC (death-inducing signaling complex), qui induit l'activation autocatalytique de la caspase 8 et/ou de la caspase 10 suivie de l'activation de la caspase 3. L'activation de la caspase 3 entraîne à la fois le clivage d'enzymes critiques pour la réparation de l'ADN tel que PARP (poly-ADP ribose polymerase) et l'activation d'endonucléases spécifiques. La fragmentation de la chromatine cellulaire en oligonucléosomes est le stade ultime de l'apoptose. L'apoptose via la voie mitochondriale résulte de stress cellulaires spécifiques comme certaines infections virales, qui conduisent notamment à une chute du potentiel membranaire des mitochondries et à la libération dans le cytosol de molécules proapoptotiques, comme le cytochrome c. Ce dernier forme un complexe activateur par son interaction avec Apaf1 (apoptosis protease-activating factor-1) et la procaspase 9. Cet événement déclenche l'activation de la caspase 9 et la cascade apoptotique en activant la caspase 3 exécutive. Cependant, la voie mitochondriale ne nécessite pas obligatoirement l'activation des caspases. En effet, des facteurs tel que l'AIF (apoptosis inducing factor) peuvent induire l'apoptose sans nécessiter leur activation. La voie mitochondriale de l'apoptose est régulée par les membres de la famille de Bcl2. Certains, tels que Bcl2 et

Bcl-XL, inhibent l'apoptose, tandis que d'autres, dont Bax, Bak et Bid, induisent l'apoptose.

Le poliovirus

Structure du virion

Le poliovirus possède une capsidie icosaédrique non enveloppée d'environ 30 nm de diamètre, constituée de 60 copies de chacune des 4 protéines structurales VP1, VP2, VP3 et VP4 ((figure 2)A). La structure tridimensionnelle de la capsidie a été déterminée par cristallographie aux rayons X [7]. La surface de la capsidie virale comporte une dépression, appelée canyon, qui entoure les axes de symétrie d'ordre 5 et qui contient le site d'attachement du virus à son récepteur cellulaire ((figure 2)B). Le génome du poliovirus est une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive, non coiffée et polyadénylée, d'environ 7,4 kb ((figure 2)C) [8]. Il est composé d'une seule phase de lecture ouverte (ORF, open reading frame), encadrée par deux régions non codantes (RNC). L'ORF code une polyprotéine dont les clivages successifs, par des protéases virales, génèrent l'ensemble des protéines structurales et non structurales.

Le récepteur du poliovirus

Les trois sérotypes de poliovirus reconnaissent un récepteur commun (CD155) qui est présent uniquement à la surface des cellules de primates ((figure 2)B) [9, 10]. Ce récepteur est une glycoprotéine appartenant à la superfamille des immunoglobulines et apparentée à la famille des nectines qui sont des molécules d'adhésion participant à l'organisation des jonctions adhérentes intercellulaires [11]. CD155 comporte trois domaines extracellulaires de type immunoglobuline (D1, D2, D3) en configuration V-C2-C2, suivis par une région transmembranaire et un domaine intracellulaire. Il a été démontré que la particule virale interagit directement avec le domaine N-terminal de CD155 (D1).

Il existe quatre isoformes de CD155 obtenues par épissage alternatif : deux formes membranaires (α et δ), qui diffèrent par la longueur de leur domaine intracytoplasmique, et deux formes secrétées, amputées du domaine transmembranaire (β et γ). Le rôle de ces différentes isoformes n'est pas connu ; seules les deux formes membranaires sont fonctionnelles pour l'infection par le poliovirus.

Des homologues de CD155, simiens [12] et murins [13], ont été identifiés, mais seuls les premiers peuvent servir de récepteurs pour le poliovirus. L'expression de CD155 dans des cellules murines non sensibles leur confère la sensibilité au poliovirus [10]. De même, les souris transgéniques pour CD155 (souris Tg-CD155) sont sensibles au poliovirus [14, 15]. L'expression spécifique de CD155 dans un tissu dépend du promoteur à partir duquel son gène est transcrit [16].

Bien que de nombreuses données concernant CD155 aient été accumulées ces dernières années, la fonction physiologique de cette molécule n'est pas encore clairement définie. CD155 pourrait, comme évoqué précédemment, jouer un rôle dans l'adhésion cellulaire. Cela est en accord avec le fait que CD155 interagit spécifiquement avec la vitronectine, un constituant de la matrice extracellulaire [17]. De plus, CD155 α est exprimé préférentiellement à la membrane basolatérale des cellules épithéliales polarisées en culture [18]. Cette localisation est due à l'interaction du domaine intracytoplasmique de CD155 α avec la sous-unité mu1B du complexe adaptateur de la clathrine. En revanche, l'isoforme CD155 δ , qui n'a pas le motif d'interaction avec la sous-unité mu1B, est localisée sur les faces basolatérales et apicales.

Dans le SNC, l'expression de CD155, activée par le facteur morphogène Sonic Hedgehog (Shh) [19], est associée, comme la vitronectine, aux structures impliquées dans la différenciation des neurones moteurs au cours du développement embryonnaire humain [20, 21]. Il a également été montré que la région intracytoplasmique de CD155 pouvait interagir avec la chaîne légère Tctex1 du complexe moteur de la dynéine [22, 23]. Le rôle de cette interaction dans la pathogenèse de la poliomyélite sera discuté ultérieurement.

CD155 est également décrit comme un antigène tumoral, puisqu'il est surexprimé dans les cancers neuroectodermes, tels que les glioblastomes [24] et les carcinomes colorectaux [25]. CD155 pourrait également jouer un rôle clé dans l'invasion et la migration des cellules tumorales [26].

Par ailleurs, CD155 induit spécifiquement l'activation des cellules tueuses naturelles NK (natural killer) en interagissant avec la molécule d'adhésion leucocytaire DNAM1 (DNAX accessory molecule-1) (CD226), et avec CD96, encore dénommé Tactile (T cell-activated increased late expression) [27].

Le cycle viral

In vitro, le poliovirus ne se multiplie que dans des cellules de primates (humaines ou simiennes) ou des cellules murines génétiquement modifiées pour exprimer le récepteur du virus, CD155. Le cycle viral, entièrement cytoplasmique, dure environ 8 heures en cultures cellulaires à 37°C ((figure 3)) [8]. L'événement initial du cycle viral est l'attachement des particules virales au récepteur, CD155, de la membrane cellulaire.

L'interaction du poliovirus avec CD155 s'accompagne d'importants changements de conformation de la particule virale nécessaires à la libération de l'ARN dans le cytoplasme des cellules infectées (décapsidation) [7]. Certains intermédiaires de décapsidation sont des particules, nommées particules A, caractérisées par la perte de la protéine VP4 et par l'externalisation de l'extrémité N-terminale de la protéine VP1 entourant les axes de symétrie 5. Suite à ce changement de conformation, les extrémités N-terminales de la protéine VP1 forment des hélices amphipathiques qui s'insèrent dans la membrane cellulaire pour former un pore par lequel l'ARN viral est injecté dans la cellule. L'étude des interactions de poliovirus mutés avec des cellules humaines ou avec une forme soluble purifiée de CD155 a permis de proposer l'existence d'autres intermédiaires de décapsidation ayant conservé VP4 [28-30].

Contrairement aux ARN messagers eucaryotes, le génome du poliovirus ne contient pas de coiffe (cap) méthylée à son extrémité 5'. Après libération de l'ARN viral dans le cytoplasme, la traduction débute par la fixation de la sous-unité 40S du ribosome au niveau d'un segment hautement structuré, nommé IRES (internal ribosome entry site), localisé dans la région 5'NC du génome du poliovirus [8]. L'efficacité de l'induction de la traduction IRES-dépendante nécessite des facteurs cellulaires spécifiques qui pourraient jouer le rôle de protéines chaperons pour stabiliser les structures secondaires et tertiaires de l'IRES. Le génome du

poliovirus est traduit en une polyprotéine qui est clivée durant la traduction par les protéases virales pour donner les protéines de capsid et les protéines non structurales responsables des activités protéolytiques (protéases 2A, 3C et 3CD), des synthèses d'ARN et des modifications cellulaires observées dans les cellules infectées.

La réplication du génome du poliovirus a lieu à la surface externe de vésicules organisées en rosettes qui bourgeonnent à partir d'organelles cellulaires tels que le réticulum endoplasmique. Ces vésicules sont induites par la protéine virale 2C et son précurseur 2BC. Les synthèses d'ARN viral sont assurées par la polymérase virale ARN-dépendante 3D en association avec la plupart des protéines non structurales et plusieurs facteurs cellulaires. Dans une première étape, le génome viral sert de matrice pour la synthèse d'une molécule d'ARN de polarité complémentaire (négative) et, dans un second temps, le brin négatif néosynthétisé sert lui-même de matrice pour la synthèse de nombreuses molécules d'ARN de polarité génomique (positive).

La formation des virions semble être un processus couplé à la réplication de l'ARN, en association avec la membrane des vésicules induites au cours de l'infection virale. Les protéines de capsid VP0 (précurseurs de VP2 et VP4), VP1 et VP3 s'agrègent avec l'ARN viral pour former tout d'abord le provirion. Au cours de la dernière étape de la morphogénèse, la protéine VP0 est clivée pour donner VP2 et VP4. Aucune protéase virale ou cellulaire ne semblant être impliquée dans ce clivage, il pourrait s'agir d'un mécanisme autocatalytique impliquant l'ARN viral. Les virions néoformés s'accumulent dans le cytoplasme des cellules infectées sous forme d'inclusions cristallines, puis sont libérés par éclatement de vacuoles à la surface des cellules. Une libération vectorielle a été décrite dans les cellules humaines intestinales polarisées. La libération massive des virions néosynthétisés est concomitante à la lyse des cellules.

Effet de la réplication du poliovirus sur la cellule hôte
Au cours de l'infection par le poliovirus, un nombre important de changements morphologiques et métaboliques appelés « effets cytopathogènes » (ECP) interviennent dans la cellule hôte [8].

Les changements morphologiques incluent la condensation du noyau, l'accumulation de vésicules membranaires dans le

cytoplasme ainsi que des réarrangements du cytosquelette. Au stade tardif de l'infection, la cellule s'arrondit et se détache du substrat.

D'un point de vue biochimique, l'infection des cellules est accompagnée par une inhibition rapide des synthèses cellulaires, appelée shut-off. Elle a pour origine l'inhibition de la transcription et de la traduction. Le taux de transcription cellulaire est réduit consécutivement à l'inhibition des ARN polymérase I, II et III. La protéase virale 3C pourrait jouer un rôle important dans l'inhibition des ARN polymérase cellulaires, en altérant, soit directement, soit indirectement, les facteurs d'induction de la transcription des trois polymérase. Quant à la traduction cellulaire, les protéases 2A et 3C cliveraient directement ou indirectement des facteurs impliqués dans l'induction de la traduction des ARN messagers coiffés tels que l'eIF4G et PABP (poly(A)-binding protein).

Les protéines non structurales ont également un effet important sur la structure et la fonction des membranes intracellulaires de l'hôte. Comme décrit ci-dessus, les protéines 2BC et 2C induisent la formation des vésicules membranaires, dérivées du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi, nécessaires à la réplication virale. De plus, les protéines 2BC, 2B et 3A inhibent le transport vésiculaire du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi [31]. La perturbation des voies de trafic intracellulaire des protéines inhibe notamment la sécrétion des interleukines 6 (IL6) et 8 (IL8) et de l'interféron [32] ainsi que la présentation des antigènes par le complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1 (CMH1) [33] et l'expression du récepteur du TNF (tumor necrosis factor) [34] à la surface des cellules infectées. Cela contribuerait à la réduction des réponses inflammatoires et immunitaires dirigées contre le poliovirus.

Par ailleurs, l'infection par le poliovirus modifie le transport nucléocytoplasmique conduisant à l'accumulation de protéines nucléaires, comme la protéine La, dans le cytoplasme. La protéine La est impliquée notamment dans la maturation des ARN de transfert et dans l'arrêt de la transcription des ARN par la polymérase III. L'infection par le poliovirus entraîne une redistribution de cette

protéine vers le cytoplasme où elle va stimuler l'induction de la traduction IRES-dépendante.

Les réarrangements du cytosquelette pourraient être dus au clivage de la protéine 4 associée aux microtubules (MAP4). Ce clivage serait médié par la protéase virale 3C.

Enfin, des études récentes ont permis de montrer que le poliovirus peut être impliqué dans des mécanismes de mort cellulaire par apoptose (voir ci-dessous).
Pathogénèse de la poliomyélite et syndrome post-polio
L'homme est le seul hôte naturel du poliovirus.
L'infection est le plus souvent inapparente ou abortive puisque seuls 1 à 2 % des sujets infectés développent une poliomyélite (en grec, polios : gris et myelos : moelle) paralytique aiguë caractérisée par des paralysies flasques consécutives à l'atteinte des neurones moteurs de la moelle épinière [1]. Le tropisme du poliovirus est lié à l'expression de CD155 ; cependant, d'autres facteurs doivent être impliqués tels que notamment la traduction IRES-dépendante [35] et la réponse interféron [36].

La transmission du poliovirus se fait par voie féco-orale ((figure 4)). Après avoir infecté l'oropharynx et franchi la barrière stomacale grâce à sa résistance au pH acide, le poliovirus atteint le tractus intestinal. Il se multiplie dans l'oropharynx et l'intestin grêle, en particulier dans les tissus lymphoïdes (amygdales et plaques de Peyer) [37]. La nature des cellules productrices de virus dans ces muqueuses n'est pas encore définie. À cette étape, le virus est excrété dans les selles pendant plusieurs semaines. À partir des sites primaires de multiplication, il migre vers les ganglions lymphatiques régionaux (cervicaux et mésentériques), puis rejoint la circulation sanguine. Il pourrait franchir la barrière de l'épithélium intestinal par transcytose à travers les cellules M (microfold) qui recouvrent les plaques de Peyer et qui sont spécialisées dans le transport des macromolécules [38, 39]. Dans une minorité de cas, le poliovirus présent dans le sang infecte des tissus extraneuraux, probablement les ganglions lymphatiques systémiques, amplifiant ainsi la virémie. Le poliovirus atteint le SNC en franchissant la barrière hémato-encéphalique ; des cellules mononucléées infectées pourraient servir de transporteur [40]. Il a été suggéré depuis de nombreuses années qu'il pourrait également atteindre le SNC par un transport rétrograde suite à un

traumatisme musculaire durant la phase virémique (chutes, injections intramusculaires, etc.) [1, 37]. En accord avec cette hypothèse, il a été montré récemment que la partie intracytoplasmique du récepteur du poliovirus, CD155, interagit spécifiquement avec la chaîne légère Tctex1 de la dynéine, complexe moteur associé aux microtubules [1, 23]. Les auteurs ont ainsi proposé que les vésicules endoplasmiques contenant les complexes poliovirus-CD155 pourraient être, grâce à cette interaction, transportées le long des microtubules de l'axone vers le corps cellulaire des neurones ((figure 5)). Les cellules cibles privilégiées du poliovirus dans le SNC sont les neurones moteurs localisés dans les cornes ventrales des régions cervicales et lombaires de la moelle épinière. Le poliovirus peut également infecter les neurones de la formation réticulaire et certains noyaux moteurs au niveau du tronc cérébral. La destruction des neurones moteurs infectés est responsable des paralysies flasques des membres correspondants et conduit à l'atrophie des muscles concernés.

Suite à un épisode de poliomyélite paralytique aiguë, 20 à 40 % des malades peuvent développer une pathologie neuromusculaire tardive appelée syndrome post-polio (SPP) après plusieurs années de stabilité clinique [2]. Le SPP est caractérisé notamment par de nouvelles atrophies musculaires lentement progressives [2]. La présence de séquences d'ARN de poliovirus ou apparentées à celles du poliovirus [41] et celle d'IgM anti-poliovirus spécifiques [42] dans le liquide céphalorachidien des patients, suggère que l'étiologie de ce syndrome pourrait être la persistance du poliovirus dans le SNC. En accord avec cette hypothèse, notre groupe a montré que le poliovirus peut établir des infections persistantes dans des cultures de cellules neuronales humaines in vitro et ex vivo [43-45].

La poliomyélite paralytique peut être reproduite expérimentalement chez le singe et la souris transgénique qui expriment CD155 (souris Tg-CD155) après inoculation par voie intraneurale des souches sauvages des trois sérotypes de poliovirus [14, 15]. Chez la souris Tg-CD155 [14, 15], la sensibilité cellulaire au poliovirus dans le SNC est restreinte aux neurones moteurs ; cependant, l'infection est habituellement extensive et résulte le plus souvent en une poliomyélite fatale. Chez les souris non transgéniques, seules quelques souches adaptées à la

souris peuvent induire une poliomyélite. Nous avons isolé et caractérisé une souche mutante de poliovirus (PV-1/Mah-T1022I) pathogène pour la souris [46, 47]. Ce mutant induit une poliomyélite paralytique chez la souris, qui, comme chez l'homme, n'est pas toujours mortelle. En utilisant ce modèle, nous avons pu montrer que le poliovirus persiste dans le système nerveux de la souris tout au long de la vie de l'animal [48] et que la persistance du poliovirus pouvait être due, au moins en partie, à une inhibition de la synthèse du génome viral dans le SNC [49].

Les modèles animaux simien et murin ont été utilisés pour étudier principalement la phase neurologique de la poliomyélite. Les souris ne sont pas sensibles après une infection orale, ce qui ne permet donc pas d'étudier la phase digestive de la maladie. En revanche, l'excrétion du poliovirus dans les selles des souris a été décrite après inoculation intrapéritonéale du poliovirus chez la souris Tg-CD155 [50]. Récemment, un nouveau modèle de souris Tg-CD155 développant des paralysies après inoculation intranasale de poliovirus virulent a été décrit [51].

Poliovirus et apoptose

Les dommages cellulaires observés dans le système nerveux en réponse à de nombreuses infections virales peuvent impliquer un processus apoptotique [52-54]. Cela a été illustré in vivo avec un grand nombre de virus humains et murins neurotropes à ARN, incluant le VIH (virus de l'immunodéficience humaine), le HTLV1 (human T cell leukemia virus type 1), le réovirus, le virus de la rage, le virus de la rougeole, le virus de la dengue, le virus Sindbis et le virus de l'encéphalomyélite murine de Theiler, un autre membre de la famille des picornavirus. L'induction de l'apoptose par le coxsackievirus B3 et l'entérovirus 71, appartenant comme le poliovirus au genre des entérovirus, a été montrée in vitro en culture cellulaire.

Apoptose induite par le poliovirus dans les cellules nerveuses in vivo et ex vivo

Comme énoncé précédemment, les paralysies induites par le poliovirus résultent de la destruction des neurones moteurs suite à la multiplication virale. Cependant, le mécanisme conduisant à la mort des neurones n'était jusqu'à récemment pas connu. Des travaux réalisés dans des modèles murins de poliomyélite paralytique (souris Tg-CD155 et non transgéniques) suite à l'infection par le poliovirus ont montré, d'une part, que la majorité des

neurones infectés dans la moelle épinière des souris paralysées meurent par apoptose ((figure 6)) et, d'autre part, que l'apoptose est corrélée avec la charge virale et l'apparition des paralysies [55]. De plus, l'apoptose a été observée au voisinage des neurones infectés dans des cellules non infectées [55]. Ces cellules, qui ne sont pas des neurones, sont probablement de type gliale ou inflammatoire. Ainsi, le poliovirus serait capable d'induire l'apoptose, par un mécanisme direct dans les neurones infectés et par un mécanisme indirect (effet bystander) dans des cellules non infectées, comme c'est d'ailleurs le cas pour d'autres infections virales. L'ensemble de ces résultats indique que la multiplication du poliovirus et les lésions du SNC observées au cours de la poliomyélite paralytique sont associées à un processus apoptotique.

Afin de caractériser l'apoptose induite par le poliovirus dans les cellules nerveuses, un modèle *ex vivo* de cultures mixtes de cellules nerveuses sensibles au poliovirus a été développé [56]. Ces cultures primaires de cellules nerveuses préparées à partir du cortex de souriceaux nouveau-nés Tg-CD155 contiennent les principaux types cellulaires du SNC, à savoir les neurones et les cellules gliales, astrocytes et oligodendrocytes. Ces cultures peuvent être infectées de façon productive par le poliovirus [56]. De plus, chacun des trois types cellulaires est sensible à l'infection par le poliovirus et présente, suite à l'infection, une fragmentation de l'ADN nucléaire caractéristique de l'apoptose. L'addition d'un inhibiteur irréversible des caspases, le zVAD-fmk, dans le milieu de culture des cellules infectées, inhibe l'apoptose. Ce résultat indique que le processus apoptotique déclenché par le poliovirus dans les cellules nerveuses implique l'activation des caspases.

Ces cultures primaires préparées à partir du cortex de souriceaux nouveau-nés Tg-CD155 constituent un nouveau modèle *in vitro* pour étudier les voies biochimiques conduisant à l'apoptose induite par le poliovirus dans les cellules nerveuses. Dans ce modèle, contrairement à ce qui est observé *in vivo*, les cellules gliales sont sensibles, en plus des neurones, à l'infection par le poliovirus. Ce résultat confirme ceux obtenus précédemment avec des cultures primaires de cellules de cerveau fœtal humain [45]. Cette différence de sensibilité des cellules gliales *ex vivo* en comparaison du modèle *in vivo* pourrait être due

à une dérégulation de l'expression génique de CD155 consécutive à la mise en culture des cellules nerveuses, comme cela est observé pour la plupart des tissus humains qui développent une sensibilité à l'infection par le poliovirus après leur mise en culture. Par ailleurs, il a été montré in vivo que des cellules gliales et épendymaires exprimant le récepteur du poliovirus dans un nouveau modèle de souris Tg-CD155 étaient sensibles à l'infection par le poliovirus [16].

Apoptose induite par le poliovirus in vitro

In vitro, l'infection par le poliovirus peut induire l'apoptose dans des cellules intestinales CaCo-2 provenant d'un carcinome du côlon [57], des cellules promonocytaires U937 [58], des cellules dendritiques et des macrophages [59].

Un cas particulier d'induction suivie d'inhibition du processus apoptotique a été étudié en détails par le groupe de V. Agol. En effet, dans un clone dérivé de cellules épithéliales humaines (HeLa), Toliskaya et al. [60] ont montré qu'aucune réaction apoptotique n'a lieu au cours d'une infection productive par le poliovirus. De plus, dans ce modèle, le poliovirus est capable d'inhiber l'apoptose induite par des inhibiteurs métaboliques [60]. En revanche, un processus apoptotique se développe après une infection non permissive avec différents mutants du poliovirus (guanidine-sensibles, guanidine-dépendants ou thermosensibles) [60]. Le poliovirus coderait donc deux fonctions séparées ayant des effets opposés : l'une induisant l'apoptose et l'autre l'inhibant. Ces mêmes auteurs ont récemment proposé l'existence d'un effet de balancier entre l'apoptose, l'inhibition de l'apoptose et l'effet cytopathogène au cours du cycle de réplication du poliovirus : l'infection par le poliovirus induirait tout d'abord un processus apoptotique précoce, suivi par la mise en place d'un état anti-apoptotique et, en fin de cycle, par l'engagement des cellules infectées vers l'effet cytopathogène [61]. L'analyse des voies spécifiques de l'apoptose mises en jeu dans ce modèle suggère que l'apoptose précoce implique la voie mitochondriale [62]. L'inhibition plus tardive du programme apoptotique pourrait quant à lui être dû, au moins en partie, à une dégradation de la procaspase 9 [62].

Plusieurs travaux ont été réalisés afin de mettre en évidence d'éventuels facteurs viraux responsables de

l'apoptose induite dans les cellules infectées par le poliovirus. Il a été montré que l'expression des protéases virales 2A ou 3C est suffisante pour induire l'apoptose, suggérant que les protéases virales du poliovirus peuvent activer un programme de suicide cellulaire endogène [63, 64]. L'apoptose induite par la protéase 3C est dépendante de l'activation des caspases [63] alors que celle induite par la protéase 2A est caspase-indépendante [64]. De même, les protéases 2A et 3C codées par un autre entérovirus neurotrope, l'entérovirus 71, induisent l'apoptose [65, 66]. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer le rôle de ces protéases dans l'apoptose induite par le poliovirus. Il est connu que la protéase 2A est impliquée dans le clivage des facteurs cellulaires eIF4G impliqués dans la traduction. Ainsi, elle pourrait induire l'apoptose en bloquant la traduction des messagers coiffés nécessaires pour maintenir la viabilité cellulaire. La protéase 3C, quant à elle, est impliquée dans le clivage d'un grand nombre de protéines cellulaires incluant des facteurs de transcription ainsi que la protéine du cytosquelette MAP4. De plus, la 3C est aussi impliquée dans le clivage d'un facteur impliqué dans la traduction des ARN messagers coiffés, le facteur PABP. Les protéines 2A et 3C pourraient également induire l'apoptose en clivant d'autres protéines cellulaires encore non identifiées. Les ARN double brin générés durant la réplication du génome viral pourraient aussi induire l'apoptose en activant les voies de signalisation de l'interféron [67]. Enfin, comme décrit ci-dessous, les interactions poliovirus-CD155 pourraient également être impliquées dans l'apoptose induite par le poliovirus.

L'inhibition de l'apoptose induite par le poliovirus pourrait, quant à elle, impliquer d'autres mécanismes en plus de la dégradation de la procaspase 9 mentionnée précédemment. L'expression de la protéine 3A inhibe spécifiquement la voie de sécrétion des protéines cellulaires, ce qui entraîne notamment la perte de l'expression du récepteur au TNF et celle d'autres récepteurs de cytokines à la surface des cellules infectées [32, 34]. La suppression de ces récepteurs pourrait causer une diminution de la sensibilité cellulaire aux cytokines et ainsi prévenir indirectement l'apoptose. De plus, bien que la protéase 3C puisse induire l'apoptose [63], elle pourrait également être capable de la retarder ou de l'empêcher du fait de son

implication dans la dégradation du facteur de transcription suppresseur des tumeurs p53 [68].

CD155 et apoptose

Le poliovirus peut établir des infections persistantes dans des cellules humaines d'origine neurale (cellules de neuroblastome) et des cultures de cellules de cerveau foetal humain [43-45]. Dans les cellules de neuroblastome IMR32 infectées de façon persistante, des mutations sont spécifiquement sélectionnées dans le domaine d'interaction de CD155 avec la particule virale (domaine 1) [69]. L'une de ces mutations, la substitution Ala67→Thr, correspond à un changement d'une forme allélique de CD155 vers une autre forme qui avait été décrite précédemment, mais qui est absente dans les cellules IMR32 non infectées.

Afin d'étudier le rôle du récepteur du poliovirus dans la persistance virale, la forme mutée de CD155, CD155Thr67, et la forme non mutée exprimée par les cellules IMR32, CD155IMR, ont été exprimées indépendamment dans les cellules LM de souris, naturellement dépourvues de CD155. De façon intéressante, bien que l'adsorption du virus et la production virale soient identiques dans les deux lignées cellulaires, les cellules exprimant la forme mutée CD155Thr67 (cellules LM-CD155Thr67) sont plus résistantes à la mort cellulaire que celles exprimant la forme non mutée, CD155IMR (cellules LM-CD155IMR) [69].

L'analyse de la mort cellulaire induite par le poliovirus dans les cellules LM-CD155Thr67 et LM-CD155IMR montre que l'infection par le poliovirus induit une fragmentation de l'ADN caractéristique de l'apoptose dans les deux types cellulaires mais à un taux plus faible dans les cellules LM-CD155Thr67 que dans les cellules LM-CD155IMR [70]. Les deux voies apoptotiques principales ont été étudiées dans les deux lignées cellulaires : la voie intrinsèque (dysfonctionnement mitochondrial) en analysant le relargage du cytochrome c de la mitochondrie vers le cytosol et l'activation de la caspase 9 qui active la caspase 3 effectrice, la voie extrinsèque (médiée par les récepteurs de mort) en analysant l'activation des caspases initiatrices 8 et 10 qui, elles aussi, induisent l'activation de la caspase 3. Les résultats obtenus avec ces différents marqueurs de l'apoptose indiquent que les deux voies sont activées dans les cellules infectées par le poliovirus. En revanche, l'activation des caspases et le dysfonctionnement mitochondrial sont réduits dans les

cellules LM-CD155Thr67, comparativement aux cellules LM-CD155IMR[70].

Le fait que les deux voies apoptotiques principales soient induites suite à l'infection par le poliovirus pourrait s'expliquer par une éventuelle connexion entre elles. En effet, ces deux voies ne sont pas totalement indépendantes l'une de l'autre : la caspase 8 activée peut effectivement induire le clivage de Bid dont la forme tronquée peut être transloquée à la mitochondrie et induire la voie mitochondriale ((figure 1)) ; certaines caspases activées par la voie mitochondriale peuvent à leur tour activer la caspase 8 inductrice par une boucle rétroactive. Il sera donc intéressant d'utiliser des inhibiteurs spécifiques des caspases 3, 8 et 9 (dominants négatifs ou inhibiteurs catalytiques), seuls ou en combinaison, pour préciser la cascade d'activation des différentes caspases et déterminer la contribution de chacune dans l'apoptose induite par le poliovirus.

Tous ces résultats indiquent que l'apoptose induite par le poliovirus est réduite dans les cellules exprimant le récepteur muté sélectionné au cours de l'infection persistante du poliovirus et suggèrent donc l'implication de CD155 dans l'apoptose induite par le poliovirus [70]. Ainsi, la modulation de l'apoptose induite par les interactions poliovirus-CD155 pourrait jouer un rôle dans l'établissement et/ou le maintien de l'infection persistante du poliovirus dans les cellules IMR32. Comme nous l'avons vu précédemment, l'expression des protéases du poliovirus est suffisante pour induire l'apoptose. CD155 serait donc un facteur cellulaire supplémentaire impliqué dans l'apoptose induite par le poliovirus.

Plusieurs mécanismes peuvent être proposés pour expliquer la modulation, par CD155, de l'apoptose induite par le poliovirus. Un mécanisme attractif serait la transduction d'un signal apoptotique induit par l'interaction du poliovirus avec CD155. L'induction de l'apoptose suite à la fixation d'un virus sur son récepteur ou au cours d'une étape précoce post-fixation, a été décrite pour de nombreux virus, comme les réovirus de mammifères [71], le virus Sindbis [72], le VIH [73], le virus de l'herpès bovin [74] et l'ASFV (african swine fever virus) [75]. Pour tous ces virus, l'induction de l'apoptose ne nécessite pas l'expression des protéines virales. Le fait que CD155 puisse jouer un rôle dans la mort des cellules

infectées par le poliovirus avait été précédemment suggéré. En effet, Morrison et al. [76] ont observé que les cellules exprimant des mutants de CD155 générés par mutagenèse dirigée au niveau du domaine 1 (domaine qui interagit avec la particule virale) ne présentaient pas d'effet cytopathogène suite à l'infection par le poliovirus. L'ensemble de ces résultats suggère que les interactions poliovirus-récepteur peuvent contrôler le devenir de la cellule infectée. En effet, l'interaction du poliovirus avec CD155 pourrait déclencher une cascade de signaux conduisant à la mort des cellules par un processus apoptotique et les mutations sélectionnées au cours de l'infection persistante pourraient inhiber ou retarder ce processus, contribuant ainsi au mécanisme de la persistance.

CD155 est une protéine apparentée à la famille des nectines, molécules d'adhésion exprimées au niveau des jonctions intercellulaires, qui sont impliquées dans la régulation de l'adhésion cellulaire mais également dans de nombreux processus de signalisation au sein de la cellule [77]. En effet, les nectines interagissent avec le cytosquelette d'actine par l'intermédiaire d'une molécule de liaison, l'afadine [78] qui elle-même est à l'origine de transduction de signaux. Il n'y a pas à ce jour d'évidence que CD155 puisse transduire directement un signal. Néanmoins, un signal pourrait être transduit par une autre molécule, interagissant avec CD155. Un candidat possible pourrait être la molécule CD44 [40, 79], le récepteur majeur de l'acide hyaluronique. En effet, bien que CD44 ne soit pas nécessaire pour l'attachement et la réplication du poliovirus, plusieurs travaux ont montré une association physique entre CD155 et CD44 [40, 79]. En outre, il a été montré que CD44 était impliqué dans la transduction de nombreuses signalisations, et notamment dans l'apoptose [80].

Un autre mécanisme pour la modulation de l'apoptose induite par le poliovirus qui ne peut être exclu est une interaction entre CD155 et des facteurs cellulaires impliqués dans les voies apoptotiques. Un tel facteur pourrait être la protéine Bim (Bcl2 interacting mediator of cell death), qui peut induire l'apoptose en interagissant avec le facteur anti-apoptotique Bcl2 [81]. Bim a été récemment décrite comme un facteur pro-apoptotique critique impliqué dans l'apoptose neuronale [82]. De façon intéressante, le domaine intracytoplasmique

de CD155 interagit avec le complexe dynéine [1, 23], lequel maintient Bim inactif au niveau du cytosquelette [83]. Ainsi, suite à l'interaction du poliovirus avec CD155, Bim pourrait être libérée, puis neutraliser Bcl2, et ainsi induire l'apoptose. La libération de Bim des microtubules suivie de l'induction d'un processus apoptotique a été récemment décrite lors de l'infection de cellules de rein de singe par le virus ASFV [84]. Un autre candidat pourrait être la protéine pro-apoptotique Bmf (Bcl2 modifying factor), qui est également séquestrée au niveau du cytosquelette par son interaction avec la dynéine [85] et pourrait donc jouer le même rôle que Bim.

Conclusion

Le mécanisme apoptotique conduisant à la mort des neurones moteurs semble être un facteur important dans la pathogenèse de la poliomyélite, comme cela a été démontré dans un modèle murin. Les études *in vitro*, à l'aide de modèles cellulaires variés, ont montré que le poliovirus pouvait soit induire soit au contraire inhiber le développement de l'apoptose, selon les conditions d'infection. Le sort des cellules infectées par le poliovirus pourrait dépendre d'un équilibre entre les facteurs viraux pro et anti-apoptotiques et les facteurs de l'hôte. Cet équilibre pourrait jouer un rôle déterminant dans la pathogenèse de la poliomyélite.

Plusieurs protéines virales semblent être impliquées dans les processus apoptotiques induits par le poliovirus. La protéase 2A peut induire l'apoptose, tandis que la protéase 3A peut l'inhiber. La protéase 3C, quant à elle, a une fonction pro-apoptotique mais également anti-apoptotique. Cependant, la plupart de ces données ont été obtenues avec l'expression de protéines individualisées et la situation est plus complexe dans le contexte d'une infection virale. Les interactions du poliovirus avec son récepteur, CD155, pourraient aussi induire l'apoptose par un signal transmis par CD155 lui-même ou plus probablement par une autre molécule interagissant avec CD155. Cependant, les détails moléculaires des voies conduisant à l'apoptose suite aux interactions du poliovirus avec son récepteur restent à déterminer. L'apoptose induite par le poliovirus est moins extensive dans les cellules exprimant le récepteur muté CD155Thr67 sélectionné au cours d'une infection persistante dans les cellules de neuroblastome IMR32 par rapport aux cellules exprimant le récepteur non muté CD155. Ainsi, CD155 pourrait être un des facteurs

impliqués dans la modulation de l'apoptose induite par le poliovirus.

De récents travaux ont montré que la fréquence du récepteur CD155Thr67 est significativement plus importante chez des patients souffrant de sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou d'atrophies musculaires progressives, que chez des témoins [86]. Il serait donc intéressant de déterminer si les formes alléliques de CD155 exprimées chez les patients ayant développé une poliomyélite ou un SPP sont susceptibles d'être associées ou non à une modulation de l'apoptose. Par ailleurs, les travaux sur les voies de signalisation induites par le poliovirus pourraient permettre de mettre en évidence des voies spécifiques impliquées dans l'apoptose neuronale.

Remerciements

Nous remercions vivement Laurent Blondel pour son aide précieuse dans la réalisation des figures qui illustrent ce manuscrit. Les travaux décrits dans cette revue ont été effectués grâce notamment à des subventions de l'Institut Pasteur et de l'Association française contre les myopathies (contrats no 6932 et 7290).

Références

- 1 Mueller S, Wimmer E, Cello J. Poliovirus and poliomyelitis : a tale of guts, brains, and an accidental event. *Virus Res* 2005 ; 111 : 175-93.
- 2 Dalakas MC. The post-polio syndrome as an evolved clinical entity. Definition and clinical description. In : Dalakas MC, Bartfeld H, Kurland LT, eds. *The post-polio syndrome*. New York : The New York Academy of Sciences, 1995 ; (vol. 753).
- 3 Kew OM, Sutter RW, de Gourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA. Vaccine-Derived Polioviruses and the Endgame Strategy for Global Polio Eradication. *Annu Rev Microbiol* 2005 ; 59 : 587-635.
- 4 Blondel B, Duncan G, Couderc T, Delpeyroux F, Pavio N, Colbère-Garapin F. Molecular aspects of poliovirus biology with a special focus on the interactions with nerve cells. *J Neurovirol* 1998 ; 4 : 1-26.
- 5 Roulston A, Marcellus R, Branton PE. Virus and apoptosis. *Annu Rev Microbiol* 1999 ; 53 : 577-628.

6 Gupta S. Molecular signaling in death receptor and mitochondrial pathways of apoptosis. *Int J Oncol* 2003 ; 22 : 15-20.

7 Hogle JM. Poliovirus cell entry : common structural themes in viral cell entry pathways. *Annu Rev Microbiol* 2002 ; 56 : 677-702.

8 Racaniello VR. Picornaviridae : the viruses and their replication. In : Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2001 ; (vol. 1).

9 Koike S, Horie H, Ise I, et al. The poliovirus receptor protein is produced both as membrane-bound and secreted forms. *EMBO J* 1990 ; 9 : 3217-24.

10 Mendelsohn CL, Wimmer E, Racaniello VR. Cellular receptor for poliovirus : molecular cloning, nucleotide sequence and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell* 1989 ; 56 : 855-65.

11 Reymond N, Garrido-Urbani S, Borg JP, Dubreuil P, Lopez M. PICK-1 : a scaffold protein that interacts with Nectins and JAMs at cell junctions. *FEBS Lett* 2005 ; 579 : 2243-9.

12 Koike S, Ise I, Sato Y, Yonekawa H, Gotoh O, Nomoto A. A 2nd gene for the African green monkey poliovirus receptor that has no putative N-glycosylation site in the functional N-terminal immunoglobulin-like domain. *J Virol* 1992 ; 66 : 7059-66.

13 Ravens I, Seth S, Forster R, Bernhardt G. Characterization and identification of Tage4 as the murine orthologue of human poliovirus receptor/CD155. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 ; 312 : 1364-71.

14 Koike S, Taya C, Kurata T, et al. Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 951-5.

15 Ren RB, Costantini F, Gorgacz EJ, Lee JJ, Racaniello VR. Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor : a new model for poliomyelitis. *Cell* 1990 ; 63 : 353-62.

16 Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Taya C, et al. Comparison of neuropathogenicity of poliovirus in two transgenic mouse

strains expressing human poliovirus receptor with different distribution patterns. *J Gen Virol* 2002 ; 83 : 1095-105.

17 Lange R, Peng X, Wimmer E, Lipp M, Bernhard G. The poliovirus receptor CD155 mediates cell-to-matrix contacts by specifically binding to vitronectin. *Virology* 2001 ; 285 : 218-27.

18 Ohka S, Ohno H, Tohyama K, Nomoto A. Basolateral sorting of human poliovirus receptor alpha involves an interaction with the mu1B subunit of the clathrin adaptor complex in polarized epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 287 : 941-8.

19 Solecki DJ, Gromeier M, Mueller S, Bernhardt G, Wimmer E. Expression of the human poliovirus Receptor/CD155 gene is activated by sonic-hedgehog. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 25697-702.

20 Gromeier M, Solecki D, Patel DD, Wimmer E. Expression of the human poliovirus receptor/CD155 gene during development of the central nervous system : Implications for the pathogenesis of poliomyelitis. *Virology* 2000 ; 273 : 248-57.

21 Martinez-Morales JR, Barbas JA, Marti E, Bovolenta P, Edgar D, Rodriguez-Tébar A. Vitronectin is expressed in the ventral region of the neural tube and promotes the differentiation of motor neurons. *Development* 1997 ; 124 : 5139-47.

22 Mueller S, Cao X, Welker R, Wimmer E. Interaction of the Poliovirus Receptor CD155 with the Dynein Light Chain Tctex-1 and Its Implication for Poliovirus Pathogenesis. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 7897-904.

23 Ohka S, Matsuda N, Tohyama K, et al. Receptor (CD155)-Dependent Endocytosis of Poliovirus and Retrograde Axonal Transport of the Endosome. *J Virol* 2004 ; 78 : 7186-98.

24 Gromeier M, Lachmann S, Rosenfeld MR, Gutin PH, Wimmer E. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 6803-8.

25 Masson D, Jarry A, Bauray B, et al. Overexpression of the CD155 gene in human colorectal carcinoma. Gut 2001 ; 49 : 236-40.

26 Sloan KE, Stewart JK, Treloar AF, Matthews RT, Jay DG. CD155/PVR enhances glioma cell dispersal by regulating adhesion signaling and focal adhesion dynamics. Cancer Res 2005 ; 65 : 10930-7.

27 Lanier LL. NK cell recognition. Annu Rev Immunol 2005 ; 23 : 225-74.

28 Duncan G, Colbère-Garapin F. Two determinants in the capsid of a persistent type 3 poliovirus exert different effects on mutant virus uncoating. J Gen Virol 1999 ; 80(Pt 10) : 2601-5.

29 Duncan G, Pelletier I, Colbère-Garapin F. Two amino acid substitutions in the type 3 poliovirus capsid contribute to the establishment of persistent infection in HEp-2c cells by modifying virus-receptor interactions. Virology 1998 ; 241 : 14-29.

30 Pelletier I, Ouzilou L, Arita M, Nomoto A, Colbère-Garapin F. Characterization of the poliovirus 147S particle : new insights into poliovirus uncoating. Virology 2003 ; 305 : 55-65.

31 Doedens JR, Kirkegaard K. Inhibition of cellular protein secretion by poliovirus proteins 2B and 3A. EMBO J 1995 ; 14 : 894-907.

32 Dodd DA, Giddings TH, Kirkegaard K. Poliovirus 3A protein limits interleukin-6 (IL-6), IL-8, and beta interferon secretion during viral infection. J Virol 2001 ; 75 : 8158-65.

33 Deitz SB, Dodd DA, Cooper S, Parham P, Kirkegaard K. MHC I-dependent antigen presentation is inhibited by poliovirus protein 3A. Proc Natl Acad Sci USA 2000 ; 97 : 13790-5.

34 Neznanov N, Kondratova A, Chumakov KM, et al. Poliovirus protein 3A inhibits tumor necrosis factor (TNF)-induced apoptosis by eliminating the TNF receptor from the cell surface. J Virol 2001 ; 75 : 10409-20.

- 35 Kauder SE, Racaniello VR. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J Clin Invest* 2004 ; 113 : 1743-53.
- 36 Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, et al. The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 2005 ; 79 : 4460-9.
- 37 Bodian D. Viremia, invasiveness, and the influence of injections. *Ann N Y Acad Sci* 1955 ; 61 : 877-82.
- 38 Ouzilou L, Caliot E, Pelletier I, Prevost MC, Pringault E, Colbère-Garapin F. Poliovirus transcytosis through M-like cells. *J Gen Virol* 2002 ; 83 : 2177-82.
- 39 Sicinski P, Rowinski J, Warchol JB, Jarzet al. Poliovirus type 1 enters the human host through intestinal M cells. *Gastroenterology* 1990 ; 98 : 56-8.
- 40 Freistadt MS, Fleit HB, Wimmer E. Poliovirus receptor on human blood cells : a possible extraneural site of poliovirus replication. *Virology* 1993 ; 195 : 798-803.
- 41 Leparç-Goffart I, Julien J, Fuchs F, Janatova I, Aymard M, Kopecka H. Evidence of presence of poliovirus genomic sequences in cerebrospinal fluid from patients with postpolio syndrome. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34 : 2023-6.
- 42 Sharief MK, Hentges MR, Ciardi M. Intrathecal immune response in patients with the post-polio syndrome. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 749-55.
- 43 Colbère-Garapin F, Christodoulou C, Crainic R, Pelletier I. Persistent poliovirus infection of human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 7590-4.
- 44 Colbère-Garapin F, Pelletier I, Ouzilou L. Persistent infection by poliovirus. In : Semler BL, Wimmer E, eds. *Molecular biology of picornaviruses*. Washington DC : ASM Press, 2002 : 437-48.
- 45 Pavio N, Buc-Caron MH, Colbère-Garapin F. Persistent poliovirus infection of human fetal brain cells. *J Virol* 1996 ; 70 : 6395-401.

46 Couderc T, Delpeyroux J, Le Blay H, Blondel B. Mouse adaptation determinants of poliovirus type 1 enhance viral uncoating. J Virol 1996 ; 70 : 305-12.

47 Couderc T, Hogle J, Le Blay H, Horaud F, Blondel B. Molecular characterization of mouse-virulent poliovirus type 1 Mahoney mutants : involvement of residues of polypeptides VP1 and VP2 located on the inner surface of the capsid protein shell. J Virol 1993 ; 67 : 3808-17.

48 Destombes J, Couderc T, Thiesson D, Girard S, Wilt SG, Blondel B. Persistent poliovirus infection in mouse motoneurons. J Virol 1997 ; 71 : 1621-8.

49 Girard S, Gosselin AS, Pelletier I, Colbère-Garapin F, Couderc T, Blondel B. Restriction of poliovirus RNA replication in persistently infected nerve cells. J Gen Virol 2002 ; 83 : 1087-93.

50 Boot HJ, Kasteel DT, Buisman AM, Kimman TG. Excretion of wild-type and vaccine-derived poliovirus in the feces of poliovirus receptor-transgenic mice. J Virol 2003 ; 77 : 6541-5.

51 Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, et al. A poliomyelitis model through mucosal infection in transgenic mice bearing human poliovirus receptor, TgPVR21. Virology 2004 ; 321 : 87-100.

52 Catteau A, Courageot MP, Despres P. Flaviviruses and apoptosis regulation. Prog Mol Subcell Biol 2004 ; 36 : 171-89.

53 Griffin DE, Hardwick JM. Perspective : virus infections and the death of neurons. Trends Microbiol 1999 ; 7 : 155-60.

54 Lafon M. Modulation of the immune response in the nervous system by rabies virus. Curr Top Microbiol Immunol 2005 ; 289 : 239-58.

55 Girard S, Couderc T, Destombes J, Thiesson D, Delpeyroux F, Blondel B. Poliovirus induces apoptosis in the mouse central nervous system. J Virol 1999 ; 73 : 6066-72.

56 Couderc T, Guivel-Benhassine F, Calaora V, Gosselin AS, Blondel B. An ex vivo murine model to study poliovirus-induced apoptosis in nerve cells. J Gen Virol 2002 ; 83 : 1925-30.

57 Ammendolia MG, Tinari A, Calcabrini A, Superti F. Poliovirus infection induces apoptosis in CaCo-2 cells. J Med Virol 1999 ; 59 : 122-9.

58 Lopez-Guerrero JA, Alonso M, Martin-Belmonte F, Carrasco L. Poliovirus induces apoptosis in the human U937 promonocytic cell line. Virology 2000 ; 272 : 250-6.

59 Wahid R, Cannon MJ, Chow M. Dendritic cells and macrophages are productively infected by poliovirus. J Virol 2005 ; 79 : 401-9.

60 Tolskaya EA, Romanova L, Kolesnikova MS, et al. Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliovirus. J Virol 1995 ; 69 : 1181-9.

61 Agol VI, Belov GA, Bienz K, et al. Competing death programs in poliovirus-infected cells : commitment switch in the middle of the infectious cycle. J Virol 2000 ; 74 : 5534-41.

62 Belov GA, Romanova LI, Tolskaya EA, Kolesnikova MS, Lazebnik YA, Agol VI. The major apoptotic pathway activated and suppressed by poliovirus. J Virol 2003 ; 77 : 45-56.

63 Barco A, Feduchi E, Carrasco L. Poliovirus Protease 3Cpro Kills Cells by Apoptosis. Virology 2000 ; 266 : 352-60.

64 Goldstaub D, Gradi A, Bercovitch Z, et al. Poliovirus 2A Protease Induces Apoptotic Cell Death. Mol Cell Biol 2000 ; 20 : 1271-7.

65 Kuo RL, Kung SH, Hsu YY, Liu WT. Infection with enterovirus 71 or expression of its 2A protease induces apoptotic cell death. J Gen Virol 2002 ; 83 : 1367-76.

66 Li ML, Hsu TA, Chen TC, et al. The 3C protease activity of enterovirus 71 induces human neural cell apoptosis. Virology 2002 ; 293 : 386-95.

67 Iordanov MS, Kirsch JD, Ryabinina OP, et al. Recruitment of TRADD, FADD, and caspase 8 to double-stranded RNA-triggered death inducing signaling complexes (dsRNA-DISCs). *Apoptosis* 2005 ; 10 : 167-76.

68 Weidman MK, Yalamanchili P, Ng B, Tsai W, Dasgupta A. Poliovirus 3C protease-mediated degradation of transcriptional activator p53 requires a cellular activity. *Virology* 2001 ; 291 : 260-71.

69 Pavo N, Couderc T, Girard S, Sgro JY, Blondel B, Colbère-Garapin F. Expression of mutated receptors in human neuroblastoma cells persistently infected with poliovirus. *Virology* 2000 ; 274 : 331-42.

70 Gosselin AS, Simonin Y, Guivel-Benhassine F, et al. Poliovirus-induced apoptosis is reduced in cells expressing a mutant CD155 selected during persistent poliovirus infection in neuroblastoma cells. *J Virol* 2003 ; 77 : 790-8.

71 Tyler KL, Clarke P, DeBiasi RL, Kominsky D, Poggioli GJ. Reoviruses and the host cell. *Trends Microbiol* 2001 ; 9 : 560-4.

72 Jan J-T, Griffin DE. Induction of apoptosis by Sindbis virus occurs at cell entry and does not require virus replication. *J Virol* 1999 ; 73 : 10296-302.

73 Banda NK, Bernier J, Kurahara DK, et al. Crosslinking CD4 by human immunodeficiency virus gp120 primes T cells for activation-induced apoptosis. *J Exp Med* 1992 ; 176 : 1099-106.

74 Hanon E, Meyer G, Vanderplasschen A, Dessy-Doize C, Thiry E, Pastoret PP. Attachment but not penetration of bovine herpesvirus 1 is necessary to induce apoptosis in target cells. *J Virol* 1998 ; 72 : 7638-41.

75 Carrascosa AL, Bustos MJ, Nogal ML, Gonzalez de Buitrago G, Revilla Y. Apoptosis induced in an early step of African swine fever virus entry into vero cells does not require virus replication. *Virology* 2002 ; 294 : 372-82.

76 Morrison ME, He YJ, Wien MW, Hogle JM, Racaniello VR. Homolog-scanning mutagenesis reveals poliovirus receptor

residues important for virus binding and replication. J Virol 1994 ; 68 : 2578-88.

77 Aplin AE, Howe AK, Juliano RL. Cell adhesion molecules, signal transduction and cell growth. Curr Opin Cell Biol 1999 ; 11 : 737-44.

78 Takahashi K, Nakanishi H, Miyahara M, et al. Nectin/PRR : an immunoglobulin-like cell adhesion molecule recruited to cadherin-based adherens junctions through interaction with Afadin, a PDZ domain-containing protein. J Cell Biol 1999 ; 145 : 539-49.

79 Shepley MP, Racaniello VR. A monoclonal antibody that blocks poliovirus attachment recognizes the lymphocyte homing receptor CD44. J Virol 1994 ; 68 : 1301-8.

80 Foger N, Marhaba R, Zoller M. CD44 supports T cell proliferation and apoptosis by apposition of protein kinases. Eur J Immunol 2000 ; 30 : 2888-99.

81 Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family : arbiters of cell survival. Science 1998 ; 281 : 1322-6.

82 Putcha GV, Moulder KL, Golden JP, et al. Induction of BIM, a proapoptotic BH3-only BCL-2 family member, is critical for neuronal apoptosis. Neuron 2001 ; 29 : 615-28.

83 Puthalakath H, Huang DC, O'Reilly LA, King SM, Strasser A. The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim is regulated by interaction with the dynein motor complex. Mol Cell 1999 ; 3 : 287-96.

84 Hernaez B, Diaz-Gil G, Garcia-Gallo M, et al. The African swine fever virus dynein-binding protein p54 induces infected cell apoptosis. FEBS Lett 2004 ; 569 : 224-8.

85 Day CL, Puthalakath H, Skea G, et al. Localization of dynein light chains 1 and 2 and their pro-apoptotic ligands. Biochem J 2004 ; 377 : 597-605.

86 Saunderson R, Yu B, Trent RJ, Pamphlett R. A polymorphism in the poliovirus receptor gene differs in motor neuron disease. Neuroreport 2004 ; 15 : 383-6.

87 Petit F, Arnoult D, Viollet L, Estaquier J. Intrinsic and extrinsic pathways signaling during HIV-1 mediated cell death. *Biochimie* 2003 ; 85 : 795-811.

Illustrations

Figure 1 Voies extrinsèque et intrinsèque d'induction de l'apoptose. La voie extrinsèque ou voie des récepteurs de mort, tels que Fas et TNFR (tumor necrosis factor receptor), est activée après fixation de leurs ligands respectifs (FasL et TNF α) et formation du complexe DISC (death inducing signalling complex). Ce dernier induit l'activation des procaspases initiateuses 8 et/ou 10. La voie intrinsèque ou voie mitochondriale, activée suite à des stress spécifiques comme certaines infections virales, est caractérisée notamment par une dépolarisation de la membrane mitochondriale externe ($\downarrow\Delta\psi_m$) et la libération du cytochrome c (Cyt-c) dans le cytosol. Ce dernier s'associe avec la protéine adaptatrice Apaf1 (apoptotic protease-activating factor-1) et la procaspase 9, pour former l'apoptosome. La procaspase 9, après clivage de son prodomaine N-terminal, est alors activée en caspase 9 inductrice. Par ailleurs, d'autres protéines pro-apoptogènes peuvent être libérées de la mitochondrie vers le cytosol : l'AIF (apoptosis-inducing factor) et l'EndoG (endonuclease G) qui induisent le clivage de l'ADN ; Smac/Diablo (second mitochondria-derived activator of caspases/direct IAP-binding protein with low pI) et Omi/HtrA2 (high temperature requirement protein A2), quant à elles, lèvent l'inhibition des caspases 9 et 3 médiée par les IAP (inhibitors of apoptosis proteins). La voie mitochondriale est finement régulée par les protéines de la famille de Bcl2 (B cell lymphoma-2) : les protéines de type Bax/Bak (Bcl2 associated x protein/Bcl2 antagonist killer) ou celles dites à BH3-seulement comme Bim (Bcl2 interacting mediator of cell death) et Bad (Bcl2 antagonist of cell death) ont des fonctions pro-apoptotiques, tandis que d'autres protéines, comme Bcl2 et Bcl-XL, ont des fonctions anti-apoptotiques. Les deux voies aboutissent à l'activation de la procaspase 3 en caspase 3 exécutive, responsable de l'activation d'enzymes qui induisent le clivage nucléotidique. Ces deux voies apparaissent non exclusives. En effet, la protéine BH3-seulement Bid (BH3-interacting-domain death agonist), clivée en tBid (truncated Bid) par la caspase 8 active,

est susceptible d'induire l'activation des protéines pro-apoptotiques de type Bax/Bak, TNF α (tumor necrosis factor- α), FADD (Fas-associated death domain), TRADD (TNF-receptor associated death domain). D'après Petit et al. [87].

Figure 2 A) Structure schématique de la capside du poliovirus. Les axes de symétrie 2, 3 et 5, et la position des protéines de capside VP1, VP2 et VP3, sont représentés pour un protomère. Les protéines VP1 sont réparties autour des axes de symétrie 5, tandis que VP2 et VP3 alternent autour des axes de symétrie 3. Les protéines VP4, qui n'apparaissent pas sur ce schéma, sont exclusivement internes. La dépression, nommée canyon, qui entoure les axes de symétrie 5, contient le site de fixation du poliovirus à son récepteur cellulaire (CD155). B) Structure schématique du récepteur du poliovirus, CD155. Le récepteur du poliovirus présente trois domaines extracellulaires (D1-D3), un domaine transmembranaire et un domaine intracytoplasmique. La particule virale interagit avec le domaine N-terminal D1. C) Organisation génétique du génome du poliovirus de type 1 (PV-1/Mahoney). Deux régions non codantes (RNC) en 5' et 3' encadrent une unique phase ouverte de lecture qui code pour une polyprotéine dont les clivages protéolytiques successifs, assurés par les protéases virales 2A, 3C et 3CD, génèrent l'ensemble des protéines virales. La région P1 code les protéines de capside et les régions P2 et P3 codent les protéines non structurales. La protéine virale VPg est liée à l'extrémité 5'-terminale du génome par une liaison covalente. Les clivages protéolytiques ont lieu entre les paires d'acides aminés Asn-Ser, Gln-Gly et Tyr-Gly, comme indiqués respectivement par les têtes de flèche vides, pleines et hachurées. Les sites de clivage des protéases 2A, 3CD et 3C sont indiqués. Le mécanisme de clivage du précurseur VP0 qui génère VP4 et VP2 n'est pas encore déterminé.

Figure 3 Cycle de multiplication du poliovirus.

Figure 4 Schéma de la pathogenèse de la poliomyélite.

Figure 5 Modèle du transport rétrograde axonal du poliovirus. Le domaine intracytoplasmique du récepteur du poliovirus (CD155) interagit avec la chaîne légère Tctex-1 (en gris) du complexe moteur de la dynéine. Le virus,

renfermé dans des vésicules d'endocytose, est transporté le long des microtubules, par un transport axonal rétrograde rapide, vers le corps cellulaire du neurone [1, 23].

Figure 6 Colocalisation de l'apoptose et des antigènes viraux dans la moelle épinière de souris Tg-CD155 infectées pas le poliovirus. L'immunomarquage des antigènes du poliovirus (vert) et de la fragmentation de l'ADN (méthode Tunel ou terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP nick end labeling) (rouge) a été réalisée, au jour de l'apparition des paralysies. Plusieurs motoneurones infectés présentent une condensation nucléaire ainsi qu'une fragmentation de l'ADN caractéristique de l'apoptose.