

Le virus de la leucémie bovine et l'homéostasie du compartiment lymphocytaire périphérique

Arnaud Florins, Richard Kettmann, Luc Willems

Unité de Biologie cellulaire et moléculaire. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Avenue Maréchal Juin, 13. B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : florins.a@fsagx.ac.be

Reçu le 22 novembre 2006, accepté le 7 décembre 2006.

Le virus de la leucémie bovine (BLV) est l'agent étiologique d'une maladie lymphoproliférative chez le bovin. Ce rétrovirus peut également être transmis de manière expérimentale à l'espèce ovine, chez laquelle la pathologie est plus rapide et plus fréquente. Dans ce modèle, l'infection provoque une augmentation du taux de renouvellement cellulaire. Cette accélération de la dynamique lymphocytaire pourrait être liée à l'expression virale qui induit d'une part, la prolifération cellulaire et d'autre part, la destruction de la cellule hôte par le système immunitaire.

Mots-clés. BLV, mouton, lymphocyte, homéostasie, dynamique cellulaire, réponse immune.

Bovine leukaemia virus and peripheral blood lymphocytes homeostasis. Bovine leukaemia virus (BLV) is the etiological agent of a lymphoproliferative disease in cattle. This retrovirus can also be transmitted experimentally to the ovine species, in which pathology is more rapid and more frequent. In this model, infection leads to an increased cell turnover. This accelerated lymphocyte dynamics might be related to viral expression which induces cellular proliferation and host cell destruction by the immune system.

Keywords. BLV, sheep, lymphocyte, homeostasis, cell dynamics, immune response.

1. INTRODUCTION

La leucémie bovine enzootique est une maladie touchant l'espèce bovine (principalement les animaux âgés de plus de deux ans). Elle est pratiquement éradiquée en Europe, mais elle subsiste encore dans certains pays d'Amérique du Nord et d'Asie (DiGiacomo *et al.*, 1985 ; Sargeant *et al.*, 1997). L'agent responsable de cette leucose est un rétrovirus : le virus de la leucémie bovine ou BLV (Kettmann *et al.*, 1976 ; 1978).

2. STRUCTURE DU BLV

2.1. Structure du virion

Le virus de la leucémie bovine fait partie de la famille des rétrovirus et du genre deltaretrovirus. La structure d'une particule du virus BLV (ou virion) est schématisée à la **figure 1**.

Le virion se présente sous la forme d'une particule (un icosaèdre) d'environ 100 nm de diamètre. Le génome du BLV, composé de deux molécules d'ARN monocaténaire identiques, est associé à la protéine de

nucléocapside p12, ainsi qu'à plusieurs copies de l'enzyme transcriptase inverse. Ce complexe est entouré par une capsidie constituée de la protéine majeure p24 et de la protéine de matrice p15 située entre la capsidie et l'enveloppe virale. L'enveloppe qui entoure le virus est partiellement d'origine cellulaire : elle est acquise

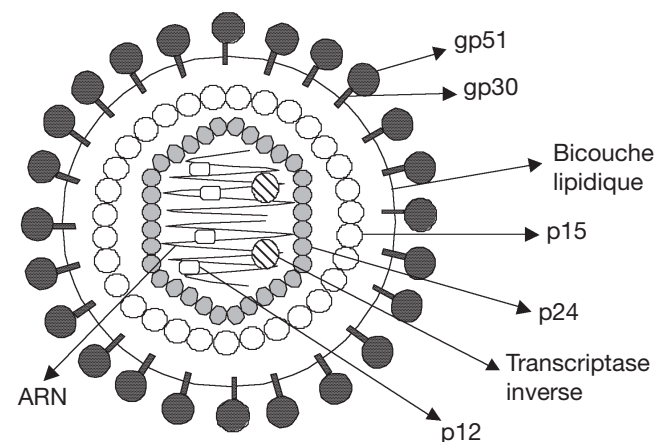


Figure 1. Structure de la particule virale BLV — Structure of BLV viral particle (Uckert *et al.*, 1984).

lors du bourgeonnement du virus à la surface de la cellule productrice. Des complexes glycoprotéiques d'origine virale (la glycoprotéine membranaire gp51 et la glycoprotéine transmembranaire gp30) sont enchâssés dans la bicouche phospholipidique. Ces complexes sont nécessaires à l'attachement du virus à la surface de la cellule cible.

2.2. Organisation génomique et protéines virales

Le génome du virus de la leucémie bovine (8,7 kb) comprend les gènes structuraux classiques des rétrovirus (*gag*, *prot*, *pol* et *env*) auxquels s'ajoute une région particulière, la région « X » (1,8 kb). Cette dernière code pour différentes protéines de régulation. L'organisation du génome du BLV est schématisée à la **figure 2a**. Une organisation similaire a également été observée chez les virus lymphotropes humains HTLV -1 et -2 (Seiki *et al.*, 1983 ; Sagata *et al.*, 1985 ; Rice *et al.*, 1987 ; Uchiyama, 1997). Il faut noter que deux nouveaux rétrovirus HTLV ont été décrits récemment :

HTLV-3 et -4 (Wolfe *et al.*, 2005 ; Calattini *et al.*, 2006 ; Switzer *et al.*, 2006).

Les LTRs. Les provirus intégrés dans le génome cellulaire sont flanqués de séquences répétées appelées LTR (*long terminal repeat* ; **figure 2b**). Ces LTRs sont composées de trois zones : U3, R et U5.

Les transcrits viraux s'initient au niveau du site « CAP », situé à l'intersection des régions U3 et R du LTR 5' et se terminent par la polyadénylation à l'extrémité 3' de la région R du LTR 3'.

La région U3 du LTR 5' comprend les séquences typiques de nombreux promoteurs « CAT » et « TATA box ». En outre, de nombreux sites localisés dans cette région régulent la transcription virale (Derse, Casey, 1986 ; Katoh *et al.*, 1989). Parmi eux, un des plus importants est une triple copie de 21 paires de bases (pb) sur lesquelles les protéines CREB, ATF-1 et ATF-2 peuvent se lier et réguler l'expression virale. Ces motifs de 21 pb présentent en leur milieu des séquences presque parfaitement conservées de l'élément

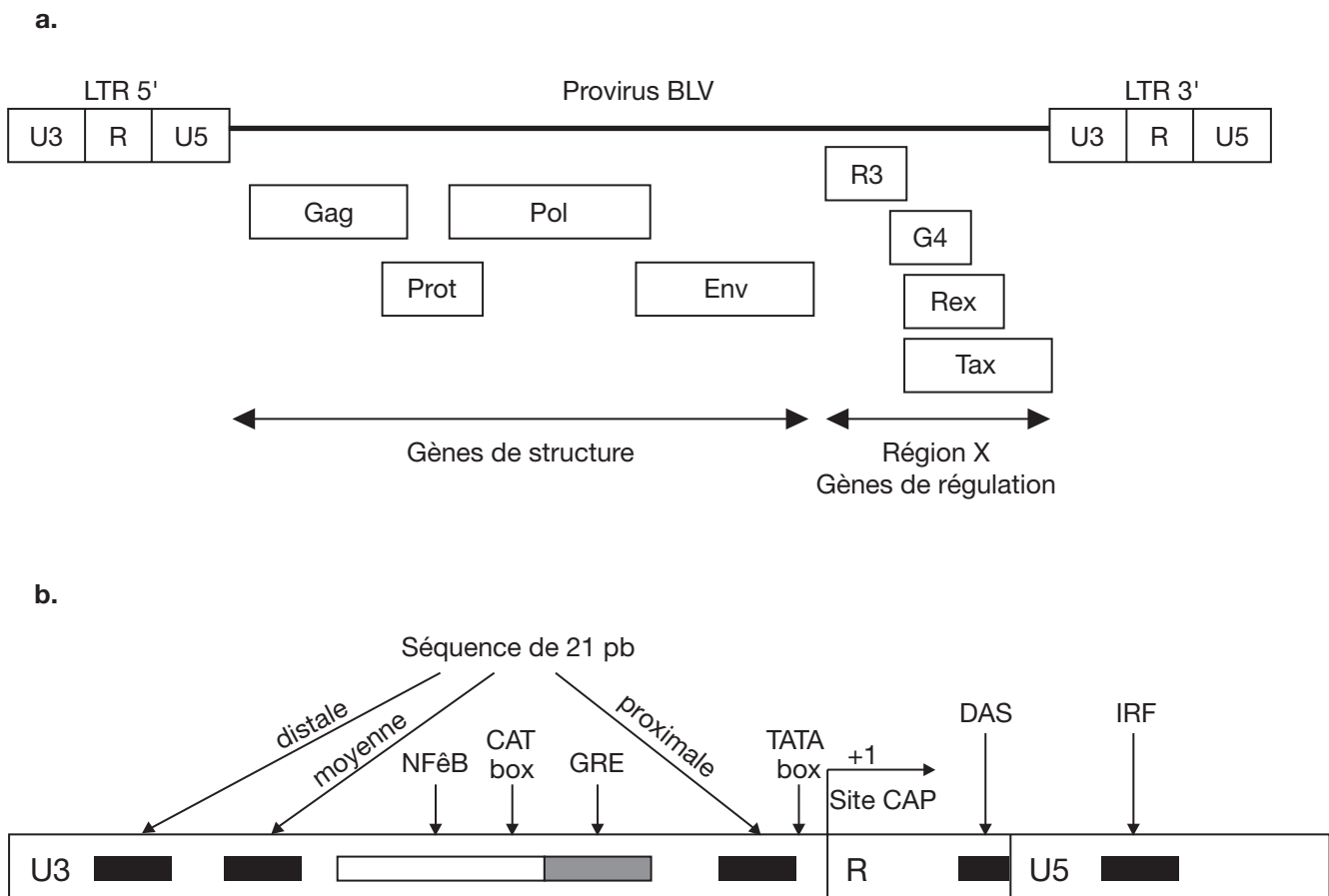


Figure 2. a. Représentation schématique du génome du virus de la leucémie bovine, intégré sous forme de provirus dans un chromosome de la cellule hôte — *Schematic representation of the bovine leukaemia virus genome, integrated as a provirus in a host cell chromosome.* **b.** Représentation schématique du LTR 5' — *Schematic representation of the 5'LTR.*

de réponse à l'AMP cyclique (CREs, de *cyclic AMP-responsive element*). *In vivo*, ces CREs suboptimaux sont essentiels à l'expansion virale mais pas à l'infectivité (Merezak *et al.*, 2001).

D'autres séquences situées au niveau du LTR 5' jouent également un rôle dans la régulation de la transcription virale :

- Une région localisée en 3' de la séquence de 21 pb centrale, semblable à un site de liaison de NF- κ B.
- Un motif de réponse aux glucocorticoïdes (GRE) situé en 5' de la séquence de 21 pb proximale.
- Les séquences DAS (*downstream activator sequences*) et IRF (*interferon regulatory factor binding site*), situées respectivement dans les régions R et U5.

Les protéines de structure. Le gène *gag* code pour le précurseur pr44. Trois protéines découlent de son clivage : p12, p15 et p24 (le composant majeur de la capsid virale). Ce clivage est réalisé par la protéase virale p14, encodée par une région située entre les gènes *gag* et *pol*.

Le gène *pol* est transcrit sous forme d'un précurseur gag-prot-pol dont le clivage par p14 induit la production de trois enzymes : la transcriptase inverse (permettant la transcription de l'ARN viral en ADN proviral), la RNase H (qui dégrade l'ARN de la molécule hybride ARN/ADN obtenue après rétrotranscription) et l'intégrase (impliquée dans l'intégration du provirus dans l'ADN cellulaire).

Le gène *env* code pour un précurseur qui génère, après clivage, les deux glycoprotéines d'enveloppe :

- la gp51, impliquée dans la reconnaissance du récepteur cellulaire et dans le déclenchement de la réponse immunitaire. Bien que le récepteur cellulaire reste inconnu jusqu'à présent pour le BLV, il a été identifié pour le virus HTLV : il s'agit du transporteur de glucose GLUT1 (Manel *et al.*, 2004). En outre, une protéine transmembranaire, la neuropiline-1, semble également jouer un rôle dans l'entrée du virus (Ghez *et al.*, 2006).
- la gp30, protéine transmembranaire permettant l'ancrage du complexe gp51-gp30 dans la membrane virale. Cette protéine assure également le contact entre l'enveloppe et la capsid en interagissant via son domaine cytoplasmique avec la protéine p15.

Les protéines de régulation. Le génome du virus BLV comprend une région « X », localisée entre le gène *env* et le LTR 3', codant pour diverses protéines de régulation : Rex, R3, G4 et Tax.

- Rex (p18) est une phosphoprotéine de 18 kda intervenant en tant que régulateur post-transcriptionnel. De par son interaction avec une séquence située près de l'extrémité 3' des ARNs

viraux appelée « *Rex responsive element* » (RRE), la protéine permet l'exportation hors du noyau et la stabilisation des ARNs messagers (ARNm) codant pour les protéines structurales Gag, Prot, Pol et Env (Derse, 1988).

- L'ARNm codant pour les protéines R3 (p5) et G4 (p11) est très faiblement exprimé *in vivo*. R3 pourrait agir en tant que répresseur de Rex (Alexandersen *et al.*, 1993). En ce qui concerne la protéine G4, de nombreux éléments indiquent qu'elle pourrait être impliquée dans la transformation cellulaire :
- l'ARNm codant pour G4 est essentiellement exprimé au stade leucémique *in vivo* ;
- G4 présente une séquence commune avec l'oncogène Myb (Alexandersen *et al.*, 1993) ;
- l'expression de G4 dans des cellules primaires induit leur immortalisation (Kerkhofs *et al.*, 1998) ;
- et enfin, G4 interagit avec la farnésyl pyrophosphate synthétase (FPPS), une enzyme intervenant dans la prénylation de l'oncogène Ras (Lefebvre *et al.*, 2002). Bien que les fonctions de ces deux protéines ne soient pas clairement établies, leur importance biologique a été démontrée. En effet, les animaux infectés par des provirus affectés au niveau des séquences R3 et G4 présentent des charges virales très réduites, malgré que ces virus recombinants aient conservé leur potentiel infectieux (Willems *et al.*, 1994 ; Kerkhofs *et al.*, 1998).
- Tax (p34) est une protéine de 34 kda localisée essentiellement dans le noyau cellulaire et pouvant être phosphorylée au niveau de deux résidus sérines (106 et 293). Elle joue un rôle d'activation de la transcription virale via des séquences activatrices présentes dans le LTR 5'. Cette transactivation nécessite la présence des trois répétitions de 21 pb présentes dans la région U3 du LTR 5' (voir **figure 2b**), appelées TxREs (*Tax responsive element*) (Derse, 1987 ; Katoh *et al.*, 1989). Tax ne se lie cependant pas directement à ces éléments, mais agit par l'intermédiaire des facteurs cellulaires CREB et ATF (Adam *et al.*, 1994). En plus de sa fonction d'activateur de la transcription, Tax est capable d'induire l'immortalisation de fibroblastes primaires d'embryon de rat (Willems *et al.*, 1990). Bien que la mutation des résidus sérines phosphorylés en positions 106 et 293 abolisse le pouvoir transformant de Tax *in vitro* (Willems *et al.*, 1998), ces virus recombinants restent infectieux et capables d'induire des leucémies et des tumeurs lymphoïdes *in vivo* chez l'espèce ovine (Twizere *et al.*, 2000).

3. LA RÉPLICATION VIRALE

Le cycle de réplication du virus de la leucémie bovine est semblable à celui des autres rétrovirus (**figure 3**).

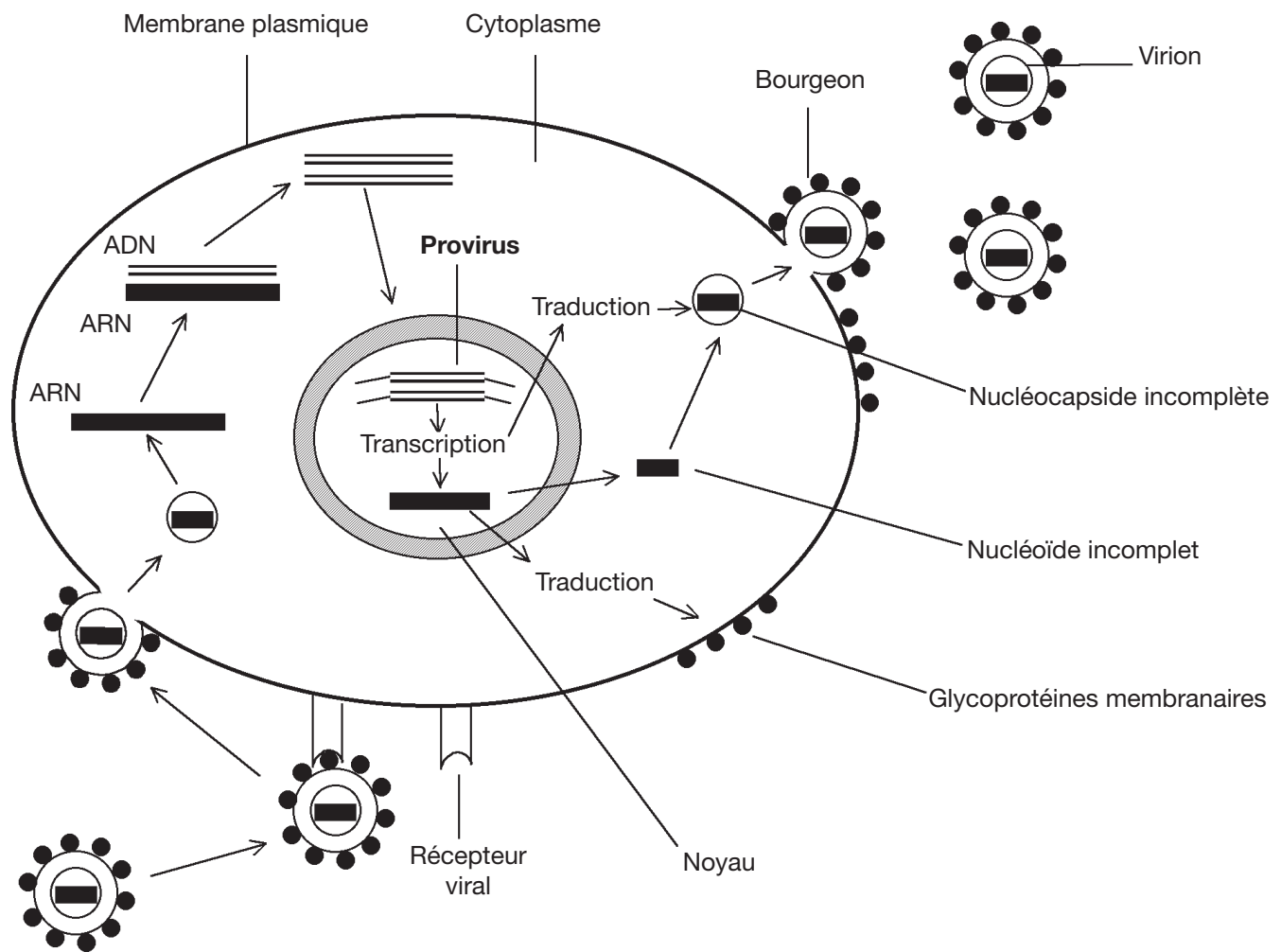


Figure 3. Représentation schématique du cycle de réplication d'un rétrovirus — *Schematic representation of the replicative cycle of a retrovirus* (Coffin *et al.*, 1997).

L'interaction entre les protéines d'enveloppe présentes à la surface du virus et leur(s) récepteur(s) cellulaire(s) spécifique(s) déclenche une série d'événements moléculaires complexes. Ceux-ci aboutissent à la fusion des bicouches lipidiques du virus et de la cellule, puis à la libération de la nucléocapside dans le cytoplasme cellulaire (Coffin *et al.*, 1997). Après décapsidation, l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN bicaténaire via la transcriptase inverse. Cette copie d'ADN proviral est ensuite transportée dans le noyau et intégrée dans le génome de la cellule hôte grâce à l'intégrase. Sous cette forme, l'ADN viral est appelé « provirus » et fait partie intégrante du génome cellulaire : il est stable, et peut être transcrit grâce à la machinerie de la cellule hôte.

La transcription du provirus aboutit à la production d'une part, d'ARN génomique nécessaire pour la formation de nouveaux virus et d'autre part, d'ARNs

messagers permettant la synthèse des différentes protéines de structure et de régulation. La traduction a lieu au niveau des ribosomes cellulaires. Après une étape de maturation au niveau du réticulum endoplasmique rugueux, les protéines d'enveloppe sont glycosylées au niveau des vésicules de l'appareil de Golgi. Ces glycoprotéines, associées en oligomères (gp51-gp30), s'insèrent alors dans la membrane cellulaire. Des protéines entourent les deux copies d'ARN génomiques pour former des nucléocapsides qui vont progressivement s'assembler avec les enveloppes virales présentes au niveau de la membrane plasmique. De nouveaux virions quittent alors la cellule hôte en bourgeonnant à travers la membrane cellulaire. Ayant acquis leur enveloppe phospholipidique, les virions ainsi libérés peuvent infecter de nouvelles cellules.

4. PATHOLOGIES ASSOCIÉES AU VIRUS BLV

4.1. Espèces et cellules cibles

L'infection naturelle par le virus BLV d'espèces autres que bovine est peu commune. Certains cas ont cependant été décrits chez le capybara (Marin *et al.*, 1982) et le buffle d'eau (Meas *et al.*, 2000). Expérimentalement, le virus peut être transmis à toute une série d'animaux tels que le mouton, la chèvre, le porc, le rat et le lapin (Mammerickx *et al.*, 1981 ; Straub, 1987). Les lymphocytes B constituent la cible essentielle du virus BLV (Levy *et al.*, 1987 ; Mirsky *et al.*, 1996).

4.2. Transmission du virus

La transmission naturelle du virus se réalise essentiellement de manière horizontale. L'infection via la particule virale seule est inefficace ; elle se réalise plutôt via des cellules infectées (Mammerickx *et al.*, 1987). Étant donné le tropisme lymphocytaire du BLV, le sang constitue une source importante de contaminations, principalement lors de pratiques vétérinaires comme l'écornage, le tatouage et l'utilisation de seringues infectées (Wilesmith, 1979). Toutefois, la transmission peut également se produire *in utero* lors de l'accouchement (passage de sang maternel vers le fœtus), ainsi que par la prise de colostrum et de lait (Hasselschwert *et al.*, 1993).

4.3. Manifestations cliniques de la maladie chez les bovins

Les bovins infectés par le BLV peuvent présenter trois stades distincts (Burny *et al.*, 1987) :

La phase asymptomatique. Il s'agit du premier stade de la maladie. Pendant cette période, qui peut être considérée comme une phase de latence, la présence d'anticorps dirigés contre les protéines virales gp51 et p24 constitue une des seules manifestations de l'infection par le BLV (Meiron *et al.*, 1985). Ces animaux séropositifs ne présentent aucun désordre hématologique. Néanmoins, certains auteurs ont observé une augmentation du nombre de lymphocytes T dans le sang circulant (Williams *et al.*, 1988), alors que d'autres rapportent une diminution, du moins transitoire, dans l'abondance de ces cellules (Taylor *et al.*, 1992). Cet état aleucémique peut persister durant toute la vie de l'animal en l'absence de tout signe clinique.

La lymphocytose persistante (LP). Ce stade de la maladie concerne 30 à 35 % des bovins infectés et peut se maintenir pendant de nombreuses années. Il se traduit par une augmentation du nombre de lymphocytes B circulants. Selon l'animal, les lymphocytes B peuvent

représenter 40 à 90 % de la population lymphocytaire totale (Burny *et al.*, 1980) (contre 15 à 20 % chez un animal sain). Environ 30 % de ces lymphocytes B contiennent le provirus intégré dans leur génome, en divers sites non préférentiels (Kettmann *et al.*, 1980). Au cours de cette période, la charge provirale reste relativement constante. L'accroissement du nombre de cellules B chez ces animaux en LP semble résulter d'une part, de la prolifération polyclonale des cellules B infectées et d'autre part, de la multiplication des cellules B non infectées en réponse à une stimulation constante par des antigènes.

La lymphocytose peut se stabiliser pendant de très longues périodes, mais peut également progresser pour atteindre des valeurs très élevées ou encore disparaître subitement.

Malgré leur prolifération excessive, les lymphocytes B d'animaux en LP ne semblent pas être des cellules transformées. Néanmoins, certaines anomalies peuvent être observées pour ces cellules : accroissement de la taille, modifications dans la glycosylation de certains composants membranaires, augmentation du nombre d'immunoglobulines de surface sIgM et du nombre d'antigènes d'histocompatibilité de classe II (Esteban *et al.*, 1985 ; Williams *et al.*, 1988 ; Fossum *et al.*, 1988).

La phase tumorale. Une fraction des bovins infectés (moins de 5 %) développe des leucémies, des lymphomes ou des lymphosarcomes. Généralement, la phase tumorale survient chez des animaux en lymphocytose persistante, mais elle peut aussi se développer chez des animaux aleucémiques ne présentant aucun signe clinique (Ferrer *et al.*, 1979). Lorsqu'une lymphocytose se développe au cours de cette phase, le nombre de lymphocytes circulants peut atteindre des valeurs extrêmement élevées (jusqu'à un million par mm³, contre trois à cinq mille chez un animal normal). En outre, des lymphoblastes peuvent apparaître dans la circulation sanguine. Les tumeurs sont toujours issues d'une cellule lymphoïde de type B (Burny *et al.*, 1980) et conduisent inexorablement à la mort de l'animal endéans l'année.

5. L'INFECTION EXPÉRIMENTALE DU MOUTON PAR LE BLV

La découverte des virus humains HTLV-1 et HTLV-2 au début des années 1980 (Poiesz *et al.*, 1980 ; Kalyanaraman *et al.*, 1982) a marqué le début de l'intérêt pour le virus BLV comme modèle *in vivo* de rétrovirus responsable de leucémies. Le fait que le virus HTLV soit apparenté au BLV (Kettmann *et al.*, 1994) et qu'il présente de nombreuses homologies avec celui-ci a conduit à étudier le virus BLV chez les

bovins. Cependant, ce modèle animal présentait deux inconvénients majeurs :

- Faible fréquence de leucémies chez les bovins infectés (environ 5 %)
- Délai de latence relativement long (4 à 10 ans)

Ces difficultés ont conduit à l'utilisation d'un hôte non naturel du BLV : le mouton.

Le choix du mouton comme modèle animal pour l'étude de la biologie du BLV repose sur deux faits majeurs : la période de latence est beaucoup plus réduite chez l'ovin (de 1 à 4 ans) et la fréquence de pathologies induites par le virus est nettement plus élevée (pratiquement 100 %) (Mammerickx *et al.*, 1987 ; Mammerickx *et al.*, 1988). En outre, le système BLV/mouton présente un avantage supplémentaire : le virus ne semble pas se transmettre naturellement entre individus (Mammerickx *et al.*, 1987). Les ovins infectés peuvent donc être maintenus en troupeau sans crainte de contaminations horizontales.

La transmission expérimentale du virus au mouton peut se réaliser soit par l'intermédiaire de sang contenant des cellules infectées, soit par injection directe d'un provirus cloné. La première technique présente deux inconvénients majeurs : le sang d'un animal infecté peut contenir plusieurs variants du BLV et les séquences virales ne peuvent pas être modifiées par ingénierie génétique. Le second mode de transmission ne présente pas ces désavantages, ce qui a amené à la recherche de différentes techniques destinées à accroître l'efficacité de la pénétration de l'ADN dans la cellule. Parmi celles-ci, un protocole expérimental est basé sur l'enrobage de l'ADN dans des particules lipidiques qui fusionnent avec la membrane cellulaire (Willems *et al.*, 1992).

6. L'HOMÉOSTASIE LYMPHOCYTAIRE

La leucémie, telle que celle induite par le virus de la leucémie bovine, se caractérise par un nombre excessif de lymphocytes dans le sang périphérique. Le maintien d'un nombre adéquat de cellules, ou homéostasie, dépend de plusieurs paramètres : la production de nouvelles cellules, la migration des cellules hors du (ou vers le) compartiment sanguin, la prolifération et la mort cellulaire. Dans ce contexte, nous allons présenter les différentes expériences qui ont été menées pour étudier la dynamique lymphocytaire lors de l'infection du mouton par le BLV.

6.1. Études *ex vivo*

En culture *ex vivo*, les cellules de moutons infectés par le BLV présentent des niveaux d'apoptose réduits (Dequiedt *et al.*, 1997 ; Schwartz-Cornil *et al.*, 1997). Cette diminution du nombre de lymphocytes apoptotiques est associée à une augmentation du nombre

de cellules en phases G0 et G1 du cycle cellulaire (Debacq *et al.*, 2002). Le virus exercerait un effet anti-apoptotique sur sa cellule hôte via la synthèse d'une protéine interférant avec la mort cellulaire programmée (Dequiedt *et al.*, 1997). En outre, il perturbe aussi l'apoptose des cellules non infectées. En effet, des cellules isolées à partir du sang périphérique d'animaux contrôles sont protégées de l'apoptose par le surnageant de culture de cellules infectées. L'effet protecteur de l'apoptose observé *ex vivo* pourrait dès lors être expliqué par la sécrétion par les cellules infectées d'un facteur d'origine cellulaire ou virale. Dans ce contexte, il a été récemment démontré que le glutathion réduit (GSH) est un facteur clé intervenant dans ce mécanisme (Sanchez *et al.*, 2004).

6.2. Études *in vivo*

Les expériences présentées au §6.1. n'ont pas permis de détecter de différences entre les taux de prolifération des lymphocytes B isolés à partir d'animaux infectés et témoins. Toutefois, ces études *ex vivo* présentent un inconvénient majeur : elles ne se déroulent pas dans les conditions physiologiques et ne reflètent pas toujours les événements qui se déroulent réellement *in vivo*. Ces expériences *ex vivo* dépendent notamment de facteurs tels que le type de milieu de culture, la densité cellulaire ou la présence de certains activateurs. Ces considérations ont conduit aux études de dynamique cellulaire réalisées directement *in vivo*. Ces expériences, basées sur l'injection intraveineuse de BrdU (5-bromo-2'-désoxyuridine) ont révélé que les taux de prolifération des lymphocytes B sont de l'ordre de deux fois plus importants chez les moutons infectés par le BLV. En outre, cette différence se marque encore davantage lors des stades plus avancés de la maladie. À l'inverse, aucune différence n'a été détectée au niveau des taux de disparition des cellules marquées (Debacq *et al.*, 2002).

Ces taux de prolifération élevés devraient conduire à une augmentation extrêmement rapide du nombre de cellules présentes dans le sang périphérique, ce qui est contraire aux observations. Ceci implique que d'autres paramètres intervenant dans l'homéostasie lymphocytaire doivent compenser cet excès de prolifération. Dans ce contexte, un des paramètres qui pourrait intervenir pour compenser cette prolifération excessive est la limitation de la migration des cellules B des organes lymphoïdes vers le compartiment sanguin. Une méthode basée sur l'injection intraveineuse de CFSE (carboxyfluorescéine diacétate succinimidyl ester) combinée à la mise en place de cathéters au niveau des vaisseaux lymphatiques a permis de tracer les cellules présentes dans le sang ainsi que leur recirculation via le système lymphatique (Debacq *et al.*, 2006). Ces expériences ont montré que la recirculation des lymphocytes B n'était

pas modifiée suite à l'infection par le BLV. Cependant, ces travaux ont mis en évidence une augmentation de la mort des lymphocytes B du sang périphérique chez les animaux infectés. Cette mort accrue des cellules semble donc compenser la prolifération excessive observée au niveau du compartiment lymphatique.

La différence de dynamique cellulaire observée chez les animaux infectés est due principalement à une certaine sous-population de lymphocytes B : les lymphocytes B porteurs de l'intégrine CD11b (Debacq *et al.*, 2006). Or, ces cellules sont localisées au niveau du sang périphérique et de la zone marginale de la rate (Gupta *et al.*, 1998). Ces considérations ont dès lors amené à l'étude du rôle de la rate dans la dynamique lymphocytaire (Florins *et al.*, 2006). Ces expériences ont montré que chez les animaux infectés splénectomisés, le taux de mort des lymphocytes B diminuait, pour atteindre des valeurs similaires à celles des animaux contrôles. La rate est donc un organe qui joue un rôle clé dans la dynamique cellulaire chez les animaux infectés.

L'infection du mouton par le BLV provoque donc une accélération du taux de renouvellement cellulaire. Une hypothèse vraisemblable pour expliquer les taux de mort élevés est qu'une réponse immune dirigée contre les protéines virales permet l'élimination des cellules infectées. Il a d'ailleurs été montré qu'une réponse immune dirigée contre le BLV persiste tout au long de la vie de l'animal (Portetelle *et al.*, 1978 ; Portetelle *et al.*, 1989 ; Radke *et al.*, 1990 ; Hislop *et al.*, 1998 ; Kabeya *et al.*, 2001). Cependant, aucune technique n'a jamais permis de détecter directement des protéines virales à partir de cellules issues du sang périphérique d'un animal infecté. Afin d'expliquer ce paradoxe et de concilier les différentes données relatives à l'infection du mouton par le BLV, un modèle global a été établi (Florins *et al.*, 2007). Le mécanisme proposé est une prolifération cellulaire induite par l'expression de l'oncogène viral Tax. Dans ce modèle, l'expression de Tax conduit à une réponse immune dirigée contre l'antigène viral, provoquant ainsi la destruction de la cellule hôte. Ceci explique que les cellules produisant des protéines virales ne sont pas détectables. Cependant, étant donné que la présence du transcrit *tax/rex* précède l'apparition des autres ARNm viraux (Powers, Radke, 1992), une hypothèse probable est que l'expression du virus s'interrompt, permettant à la cellule d'échapper à la sélection immunitaire. L'expression de Tax présenterait donc deux effets contradictoires : elle confère un avantage sélectif à la cellule hôte via l'induction de la prolifération, mais d'autre part, cette production de la protéine virale provoque la destruction des cellules par le système immunitaire. Ce mécanisme implique que le taux de renouvellement cellulaire doit être plus rapide chez les animaux infectés, ce qui a effectivement été observé dans les études de dynamique cellulaire.

7. CONCLUSION

Dans ce travail, nous avons décrit le virus de la leucémie bovine, un rétrovirus à l'origine de désordres lymphoprolifératifs. L'étude de l'homéostasie lymphocytaire a permis de montrer que le taux de renouvellement cellulaire était accru chez les ovins infectés par le virus. Ce phénomène est potentiellement lié à l'expression d'antigènes viraux *in vivo*.

Remerciements

Nous remercions le Fonds national de la recherche scientifique (FNRS) pour le support financier ainsi que toutes les personnes qui ont collaboré aux études de dynamique cellulaire : Geneviève Jean, Nicolas Gillet, Becca Asquith, Christophe Debacq, Isabelle Schwartz-Cornil, Michel Bonneau, Pierre Kerkhofs, Andre Théwis, Jack Hay, Michal Reichert et Arsène Burny.

Bibliographie

- Adam E., Kerkhofs P., Mammerickx M., Kettmann R., Burny A., Droogmans L., Willems L. (1994). Involvement of the cyclic AMP-responsive element binding protein in bovine leukemia virus expression *in vivo*. *J. Virol.* **68** (9), p. 5845–5853.
- Alexandersen S., Carpenter S., Christensen J., Storgaard T., Viuff B., Wannemuehler Y., Belousov J., Roth JA. (1993). Identification of alternatively spliced mRNAs encoding potential new regulatory proteins in cattle infected with bovine leukemia virus. *J. Virol.* **67** (1), p. 39–52.
- Burny A., Bruck C., Chantrenne H., Cleuter Y., Dekegel D., Ghysdael J., Kettmann R., Leclercq M., Leunen J., Mammerickx M., Portetelle D. (1980). Bovine leukemia virus: molecular biology and epidemiology. In Kein G. (ed). *Viral Oncology*. New York : Raven Press, p. 231–289.
- Burny A., Cleuter Y., Kettmann R., Mammerickx M., Marbaix G., Portetelle D., Van den BA., Willems L., Thomas R. (1987). Bovine leukaemia: facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. *Cancer Surv.* **6** (1), p. 139–159.
- Calattini S., Chevalier SA., Duprez R., Afonso P., Froment A., Gessain A., Mahieux R. (2006). Human T-cell lymphotropic virus type 3: complete nucleotide sequence and characterization of the human tax3 protein. *J. Virol.* **80** (19), p. 9876–9888.
- Coffin JM., Hughes SH., Varmus HE. (1997). *Retroviruses*. Woodbury, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Debacq C., Asquith B., Kerkhofs P., Portetelle D., Burny A., Kettmann R., Willems L. (2002). Increased cell

- proliferation, but not reduced cell death, induces lymphocytosis in bovine leukemia virus-infected sheep. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A* **99** (15), p. 10048–10053.
- Debacq C., Gillet N., Asquith B., Sanchez-Alcaraz MT., Florins A., Boxus M., Schwartz-Cornil I., Bonneau M., Jean G., Kerkhofs P., Hay J., Thewis A., Kettmann R., Willems L. (2006). Peripheral blood B-cell death compensates for excessive proliferation in lymphoid tissues and maintains homeostasis in bovine leukemia virus-infected sheep. *J. Virol.* **80** (19), p. 9710–9719.
- Dequiedt F., Hanon E., Kerkhofs P., Pastoret PP., Portetelle D., Burny A., Kettmann R., Willems L. (1997). Both wild-type and strongly attenuated bovine leukemia viruses protect peripheral blood mononuclear cells from apoptosis. *J. Virol.* **71** (1), p. 630–639.
- Derse D. (1987). Bovine leukemia virus transcription is controlled by a virus-encoded trans-acting factor and by cis-acting response elements. *J. Virol.* **61** (8), p. 2462–2471.
- Derse D. (1988). Trans-acting regulation of bovine leukemia virus mRNA processing. *J. Virol.* **62** (4), p. 1115–1119.
- Derse D., Casey JW. (1986). Two elements in the bovine leukemia virus long terminal repeat that regulate gene expression. *Science* **231** (4744), p. 1437–1440.
- DiGiacomo RF., Darlington RL., Evermann JF. (1985). Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy calves by dehorning. *Can. J. Comp. Med.* **49** (3), p. 340–342.
- Esteban EN., Thorn RM., Ferrer JF. (1985). Characterization of the blood lymphocyte population in cattle infected with the bovine leukemia virus. *Cancer Res.* **45** (7), p. 3225–3230.
- Ferrer JF., Marshak RR., Abt DA., Kenyon SJ. (1979). Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle: a review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **175** (7), p. 705–708.
- Florins A., Gillet N., Asquith B., Debacq C., Jean G., Schwartz-Cornil I., Bonneau M., Burny A., Reichert M., Kettmann R., Willems L. (2006). Spleen-dependent turnover of CD11b peripheral blood B lymphocytes in BLV-infected sheep. *J. Virol.* **80** (24), p. 11998–12008.
- Florins A., Gillet N., Asquith B., Boxus M., Burteau C., Twizere JC., Urbain P., Vandermeers F., Debacq C., Sanchez-Alcaraz MT., Schwartz-Cornil I., Kerkhofs P., Jean G., Thewis A., Hay J., Mortreux F., Wattel E., Reichert M., Burny A., Kettmann R., Bangham CR., Willems L. (2007). Cell dynamics and immune response to BLV infection: a unifying model. *Front. Biosci.* **12**, p. 1520–1531.
- Fossum C., Burny A., Portetelle D., Mammerickx M., Morein B. (1988). Detection of B and T cells, with lectins or antibodies, in healthy and bovine leukemia virus-infected cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **18** (3), p. 269–278.
- Ghez D., Lepelletier Y., Lambert S., Fourneau JM., Blot V., Janvier S., Arnulf B., van Endert PM., Heveker N., Pique C., Hermine O. (2006). Neuropilin-1 is involved in human T-cell lymphotropic virus type 1 entry. *J. Virol.* **80** (14), p. 6844–6854.
- Gupta VK., McConnell I., Dalziel RG., Hopkins J. (1998). Two B cell subpopulations have distinct recirculation characteristics. *Eur. J. Immunol.* **28** (5), p. 1597–1603.
- Hasselschwert DL., French DD., Hribar LJ., Luther DG., Leprince DJ., Van der Maaten MJ., Whetstone CA., Foil LD. (1993). Relative susceptibility of beef and dairy calves to infection by bovine leukemia virus via tabanid (Diptera: Tabanidae) feeding. *J. Med. Entomol.* **30** (2), p. 472–473.
- Hislop AD., Good MF., Mateo L., Gardner J., Gatei MH., Daniel RC., Meyers BV., Lavin MF., Suhrbier A. (1998). Vaccine-induced cytotoxic T lymphocytes protect against retroviral challenge. *Nat. Med.* **4** (10), p. 1193–1196.
- Kabeya H., Ohashi K., Onuma M. (2001). Host immune responses in the course of bovine leukemia virus infection. *J. Vet. Med. Sci.* **63** (7), p. 703–708.
- Kalyanaraman VS., Sarngadharan MG., Robert-Guroff M., Miyoshi I., Golde D., Gallo RC. (1982). A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* **218** (4572), p. 571–573.
- Katoh I., Yoshinaka Y., Ikawa Y. (1989). Bovine leukemia virus trans-activator p38tax activates heterologous promoters with a common sequence known as a cAMP-responsive element or the binding site of a cellular transcription factor ATF. *EMBO J.* **8** (2), p. 497–503.
- Kerkhofs P., Heremans H., Burny A., Kettmann R., Willems L. (1998). *In vitro* and *in vivo* oncogenic potential of bovine leukemia virus G4 protein. *J. Virol.* **72** (3), p. 2554–2559.
- Kettmann R., Portetelle D., Mammerickx M., Cleuter Y., Dekegel D., Galoux M., Ghysdael J., Burny A., Chantrenne H. (1976). Bovine leukemia virus: an exogenous RNA oncogenic virus. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A* **73** (4), p. 1014–1018.
- Kettmann R., Burny A., Cleuter Y., Ghysdael J., Mammerickx M. (1978). Distribution of bovine leukemia virus proviral sequences in tissues of bovine, ovine and human origin. *Ann. Rech. Vet.* **9** (4), p. 837–844.
- Kettmann R., Cleuter Y., Mammerickx M., Meunier-Rotival M., Bernardi G., Burny A., Chantrenne H. (1980). Genomic integration of bovine leukemia provirus: comparison of persistent lymphocytosis with lymph node tumor form of enzootic. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A* **77** (5), p. 2577–2581.
- Kettmann R., Burny A., Callebaut I., Droogmans L., Mammerickx M., Willems L., Portetelle D. (1994). Bovine leukemia virus. In Levy JA. (ed). *The retroviridae*. New-York : Plenum Press, p. 39–81.
- Lefebvre L., Ciminale V., Vanderplasschen A., D'Agostino D., Burny A., Willems L., Kettmann R. (2002). Subcellular localization of the bovine leukemia virus R3 and G4 accessory proteins. *J. Virol.* **76** (15), p. 7843–7854.

- Levy D., Kettmann R., Marchand P., Djilali S., Parodi AL. (1987). Selective tropism of bovine leukemia virus (BLV) for surface immunoglobulin-bearing ovine B lymphocytes. *Leukemia* **1** (5), p. 463–465.
- Mammerickx M., Portetelle D., Burny A. (1981). Experimental cross-transmissions of bovine leukemia virus (BLV) between several animal species. *Zentralbl. Veterinarmed B* **28** (1), p. 69–81.
- Mammerickx M., Portetelle D., de Clercq K., Burny A. (1987). Experimental transmission of enzootic bovine leukosis to cattle, sheep and goats: infectious doses of blood and incubation period of the disease. *Leuk. Res.* **11** (4), p. 353–358.
- Mammerickx M., Palm R., Portetelle D., Burny A. (1988). Experimental transmission of enzootic bovine leukosis to sheep: latency period of the tumoral disease. *Leukemia* **2** (2), p. 103–107.
- Manel N., Kinet S., Kim FJ., Taylor N., Sitbon M., Battini JL. (2004). GLUT-1 is the receptor of retrovirus HTLV. *Med. Sci.* **20** (3), p. 277–279.
- Marin C., de Lopez N., de Alvarez L., Castanos H., Espana W., Leon A., Bello A. (1982). Humoral spontaneous response to bovine leukemia virus infection in zebu, sheep, buffalo and capybara. *Curr. Top. Vet. Med. Anim. Sci.* **115**, p. 310–320.
- Meas S., Seto J., Sugimoto C., Bakhsh M., Riaz M., Sato T., Naem K., Ohashi K., Onuma M. (2000). Infection of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle populations in Pakistan. *J. Vet. Med. Sci.* **62** (3), p. 329–331.
- Meiron R., Brenner J., Gluckman A., Avraham R., Trainin Z. (1985). Humoral and cellular responses in calves experimentally infected with bovine leukemia virus (BLV). *Vet. Immunol. Immunopathol.* **9** (2), p. 105–114.
- Merezak C., Pierreux C., Adam E., Lemaigre F., Rousseau GG., Calomme C., Van Lint C., Christophe D., Kerkhofs P., Burny A., Kettmann R., Willems L. (2001). Suboptimal enhancer sequences are required for efficient bovine leukemia virus propagation *in vivo*: implications for viral latency. *J. Virol.* **75** (15), p. 6977–6988.
- Mirsky ML., Olmstead CA., Da Y., Lewin HA. (1996). The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection. *J. Virol.* **70** (4), p. 2178–2183.
- Poiesz BJ., Ruscetti FW., Gazdar AF., Bunn PA., Minna JD., Gallo RC. (1980). Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **77** (12), p. 7415–7419.
- Portetelle D., Bruck C., Burny A., Dekegel D., Mammerickx M., Urbain J. (1978). Detection of complement-dependent lytic antibodies in sera from bovine leukemia virus-infected animals. *Ann. Rech. Vet.* **9** (4), p. 667–674.
- Portetelle D., Mammerickx M., Burny A. (1989). Use of two monoclonal antibodies in an ELISA test for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus envelope protein gp51. *J. Virol. Methods* **23** (2), p. 211–222.
- Powers MA., Radke K. (1992). Activation of bovine leukemia virus transcription in lymphocytes from infected sheep: rapid transition through early to late gene expression. *J. Virol.* **66** (8), p. 4769–4777.
- Radke K., Grossman D., Kidd LC. (1990). Humoral immune response of experimentally infected sheep defines two early periods of bovine leukemia virus replication. *Microb. Pathog.* **9** (3), p. 159–171.
- Rice NR., Simek SL., Dubois GC., Showalter SD., Gilden RV., Stephens RM. (1987). Expression of the bovine leukemia virus X region in virus-infected cells. *J. Virol.* **61** (5), p. 1577–1585.
- Sagata N., Tsuzuku-Kawamura J., Nagayoshi-Aida M., Shimizu F., Imagawa K., Ikawa Y. (1985). Identification and some biochemical properties of the major XBL gene product of bovine leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **82** (23), p. 7879–7883.
- Sanchez AT., Kerkhofs P., Reichert M., Kettmann R., Willems L. (2004). Involvement of glutathione as a mechanism of indirect protection against spontaneous *ex vivo* apoptosis associated with bovine leukemia virus. *J. Virol.* **78** (12), p. 6180–6189.
- Sargeant JM., Lissemore KD., Martin SW., Leslie KE., McBride BW. (1997). Associations between winter herd management factors and milk protein yield in Ontario dairy herds. *J. Dairy Sci.* **80** (11), p. 2790–2802.
- Schwartz-Cornil I., Chevallier N., Belloc C., Le Rhun D., Laine V., Berthelemy M., Mateo A., Levy D. (1997). Bovine leukaemia virus-induced lymphocytosis in sheep is associated with reduction of spontaneous B cell apoptosis. *J. Gen. Virol.* **78** (1), p. 153–162.
- Seiki M., Hattori S., Hirayama Y., Yoshida M. (1983). Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **80** (12), p. 3618–3622.
- Straub OC. (1987). Natural and experimental transmissions of bovine leukaemia virus. In Burny A., Mammerickx M. (eds). *Enzootic bovine leucosis and bovine leukemia virus*. Boston, USA: Martinus Nijhoff, p. 229–249.
- Switzer WM., Qari SH., Wolfe ND., Burke DS., Folks TM., Heneine W. (2006). Ancient origin and molecular features of the novel human T-lymphotropic virus type 3 revealed by complete genome analysis. *J. Virol.* **80** (15), p. 7427–7438.
- Taylor BC., Stott JL., Thurmond MA., Picanso JP. (1992). Alteration in lymphocyte subpopulations in bovine leukosis virus-infected cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **31** (1-2), p. 35–47.
- Twizere JC., Kerkhofs P., Burny A., Portetelle D., Kettmann R., Willems L. (2000). Discordance between bovine leukemia virus tax immortalization *in vitro* and oncogenicity *in vivo*. *J. Virol.* **74** (21), p. 9895–9902.
- Uchiyama T. (1997). Human T cell leukemia virus type I

- (HTLV-I) and human diseases. *Annu. Rev. Immunol.* **15**, p. 15–37.
- Uckert W., Wunderlich V., Ghysdael J., Portetelle D., Burny A. (1984). Bovine leukemia virus (BLV) – a structural model based on chemical crosslinking studies. *Virology* **133** (2), p. 386–392.
- Wilesmith JW. (1979). Needle transmission of bovine leucosis virus. *Vet. Rec.* **104** (5), p. 107.
- Willems L., Heremans H., Chen G., Portetelle D., Billiau A., Burny A., Kettmann R. (1990). Cooperation between bovine leukaemia virus transactivator protein and Ha-ras oncogene product in cellular transformation. *EMBO J.* **9** (5), p. 1577–1581.
- Willems L., Portetelle D., Kerkhofs P., Chen G., Burny A., Mammerickx M., Kettmann R. (1992). *In vivo* transfection of bovine leukemia provirus into sheep. *Virology* **189** (2), p. 775–777.
- Willems L., Kerkhofs P., Dequiedt F., Portetelle D., Mammerickx M., Burny A., Kettmann R. (1994). Attenuation of bovine leukemia virus by deletion of R3 and G4 open reading frames. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **91** (24), p. 11532–11536.
- Willems L., Grimonpont C., Kerkhofs P., Capiou C., Gheysen D., Conrath K., Roussef R., Mamoun R., Portetelle D., Burny A., Adam E., Lefebvre L., Twizere JC., Heremans H., Kettmann R. (1998). Phosphorylation of bovine leukemia virus Tax protein is required for *in vitro* transformation but not for transactivation. *Oncogene* **16** (17), p. 2165–2176.
- Williams DL., Amborski GF., Davis WC. (1988). Enumeration of T and B lymphocytes in bovine leukemia virus-infected cattle, using monoclonal antibodies. *Am. J. Vet. Res.* **49** (7), p. 1098–1103.
- Wolfe ND., Heneine W., Carr JK., Garcia AD., Shanmugam V., Tamoufe U., Torimiro JN., Prosser AT., Lebreton M., Mpoudi-Ngole E., McCutchan FE., Birx DL., Folks TM., Burke DS., Switzer WM. (2005). Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **102** (22), p. 7994–7999.

(65 réf.)