

VIRUS DE LA ROUGEOLE ET IMMUNOSUPPRESSION

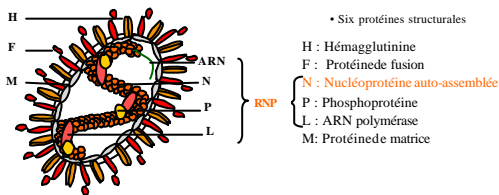
LA ROUGEOLE : PROBLEME DE SANTE PUBLIQUE

- **36.5 millions de personnes infectées en 1996**
 - . Vaccin inefficace à cause des anticorps maternels
 - . Vaccin non protecteur à 100%
- **responsable de plus de 1 million de décès par an.** Cette mortalité est due à des infections secondaires et des encéphalites et concerne surtout les pays en voie de développement.
- **nécessité d'améliorer**
 - . La couverture vaccinale
 - . L'efficacité des vaccins

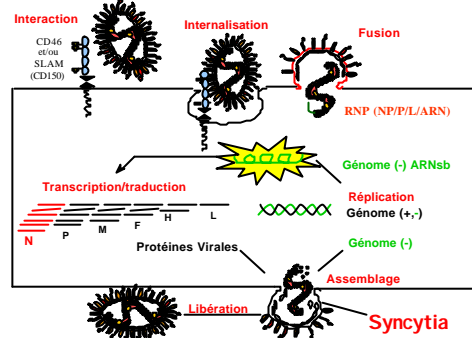
Structure du virus de la rougeole (VR)

Ordre des MONONEGAVIRALE
Famille des Paramyxovirinae
Genre Morbillivirus

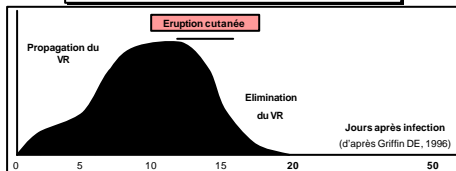
- Virus enveloppé à symétrie hélicoïdale
- ARN génomique simple brin, non segmenté, de polarité négative



Cycle cellulaire



Paradoxe du VR



Réponse Immunitaire → Immunité à vie

- Activation des NK
 - Réponse humorale: N >>> H > F > M
 - Réponse cellulaire: Activation des lymphocytes T CD4⁺/CD8⁺
- Immunosuppression
- Résultante de plusieurs mécanismes:
- Réplication virale
 - Protéines virales (H/F et N)

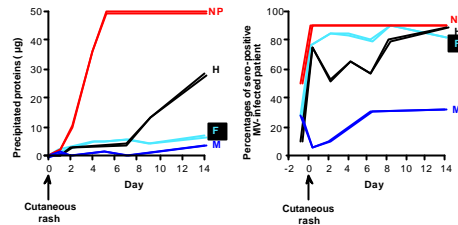
CARACTERISTIQUES DE L'IMMUNOSUPPRESSION

- Transitoire (1 à 6 semaines)
- Inhibition des tests à la tuberculine (Von Pirquet, 1908)
- Inhibition de la prolifération lymphocytaire induite par des mitogènes (Joffé 1981, Hirsh 1984)
- Réponse humorale diminuée après immunisation par un vaccin typo-paratyphique (Whittle 1973)
- Lymphopénie B et T: 90% de mortalité de lymphocytes, alors que seulement 0.01% des BMC sont infectés (Finkel 1973, Okada 2000)
- Sévère atrophie thymique (White 1973)

MV-induced immunosuppression

- inhibition of T lymphocyte proliferation: role of NP

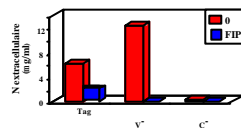
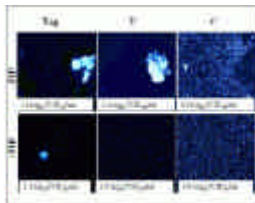
IN VIVO MV-SPECIFIC ANTIBODY RESPONSE



Libération extracellulaire de N après apoptose des CET infectées par le VR

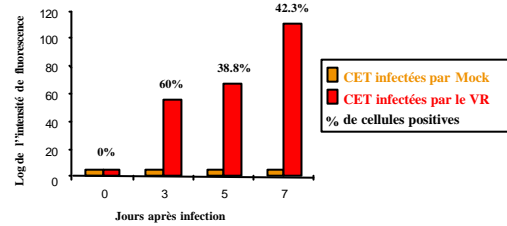
FIP inhibe la formation de syncytia, l'apoptose mais par la libération de particules virales

FIP inhibe la libération extracellulaire de N

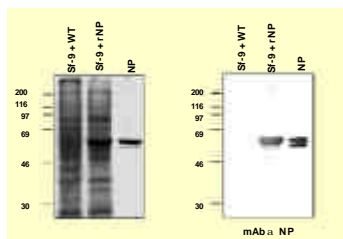


Liaison de la N extracellulaire à la surface de CET vivante infectées par le VR

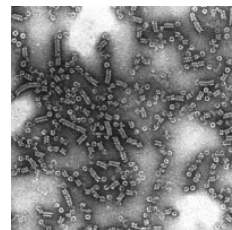
Détection par cytométrie de flux:



Purification de NP recombinante



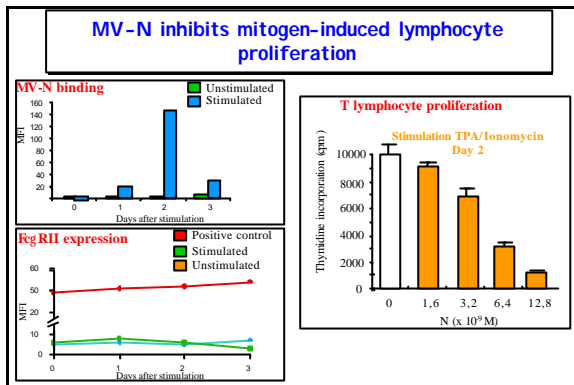
Structure de NP recombinante purifiée



hélice
diamètre :
5 nm interne
21 nm externe
pas d'hélice :
7 nm
13,7 unités NP/
tour d'hélice

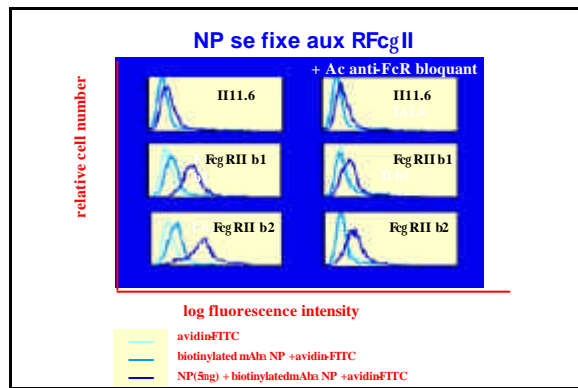
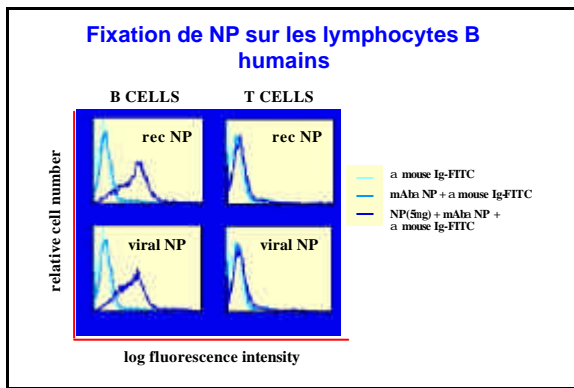
cercle
diamètre :
6 nm interne
21 nm externe
13 unités NP

microscopie électronique x 151 000



MV-induced immunosuppression

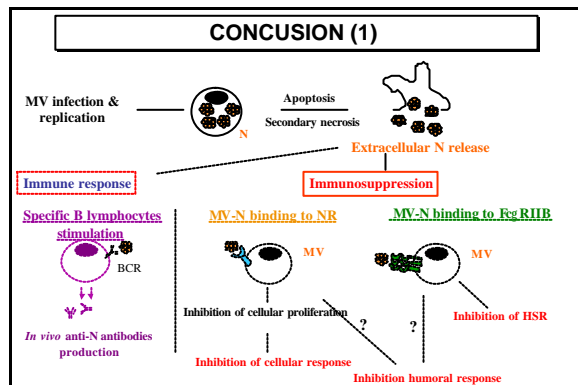
- Inhibition of antibody production: role of NP



Inhibition en présence de NP de la synthèse d'Ig par les lymphocytes B humains activés

Stimulation	NP	Ig synthesis (mg/ml)		
		IgG	IgM	IgA
aIg	-	2.9	0.2	0.3
aIg + IL-2 + IL-10	-	7.7	18.7	0.4
aIg + IL-2 + IL-10	+	2.9 (62)	7.1 (62)	< 0.2 (>50)
CD40L	-	2.9	7.3	0.3
CD40L + IL-2 + IL-10	-	89.5	73.7	12.7
CD40L + IL-2 + IL-10	+	43.4 (52)	36.6 (50)	6.5 (49)

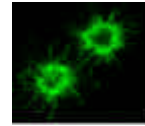
NP 30 ng/ml % of inhibition



MV-induced immunosuppression

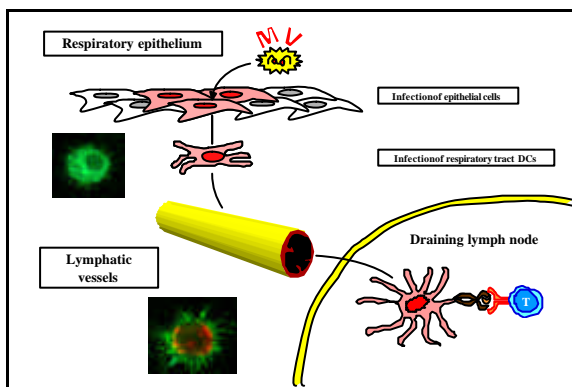
- dysfunction of antigen presenting cells: monocytes and dendritic cells.

MV Infection of Dendritic Cells

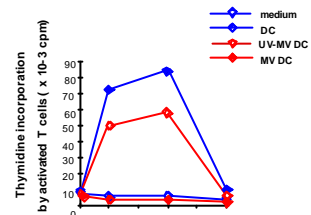


Green : MHC class II

- Monocyte-derived DCs (Fugier-Vivier, 1997, J Exp Med, 186:813)
- CD34⁺-derived LCs (Servet-Delprat, 2000, J Immunol, 164:1753)
- CD34⁺-derived DCs (Grosjean, 1997, J Exp Med, 186:801)
- Peripheral blood DCs (Schnorr, 1997, PNAS, 94:5326)
- Freshly isolated LCs (Steineur, 1998, Eur J Dermatol, 8:413)

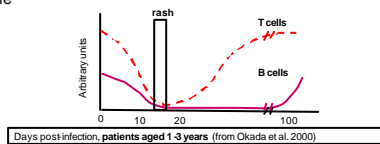


MV-INFECTED DC INHIBITS T CELL PROLIFERATION OF T CELLS

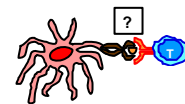
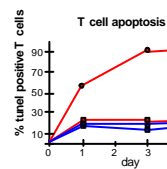


MV-INDUCED IMMUNOSUPPRESSION

- lymphopénie

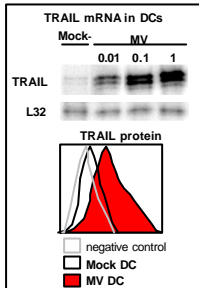


Measles virus-infected DCs are cytotoxic towards T cells



T cell apoptosis

MV-infected DCs become cytotoxic via TRAIL



> TRAIL = TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (Apo2L, TNFSF 10) (Wiley et al, *Immunity*, 1995)

> 2 forms of TRAIL: membrane or soluble TRAIL.

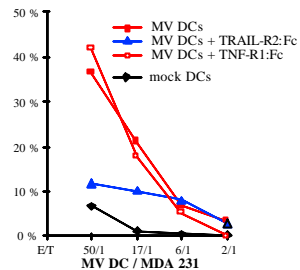
> TRAIL induces apoptosis of tumor **but not** normal cells (Pitti et al, *J Biol Chem*, 1996).

> Apoptosis of virus-infected cells (Katsikis et al, *J Exp Med*, 1997).

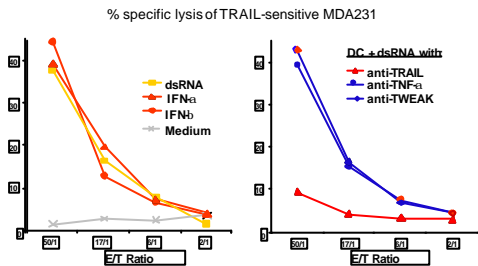
Vidalain et al, *J. Virol.*, 2000

TRAIL produced by MV-infected DCs is functional

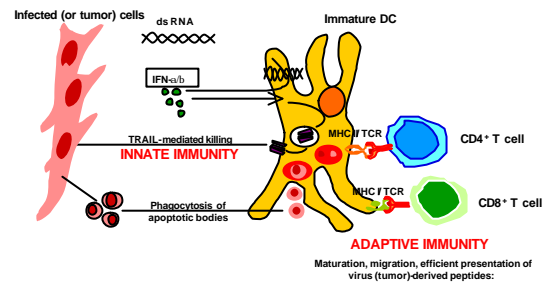
Specific lysis of TRAIL-sensitive MDA231 tumoral cell line by MV DC



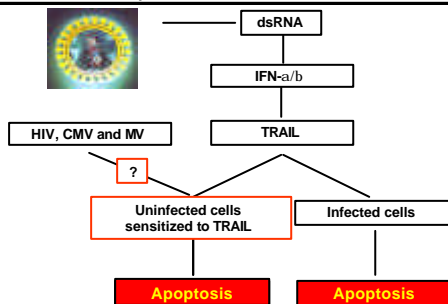
dsRNA or IFN α/β -stimulated DC are cytotoxic via TRAIL



Conclusion: cytotoxic activity of DC, a basic function which links innate and adaptive immunity?



Conclusion: virus-induced immunosuppression may exploit the cytotoxic function of DCs



VIRUS DE LA ROUGEOLE ET IMMUNOSUPPRESSION

Chantal RABOURDIN-COMBE
INSERM U503, Lyon, FRANCE

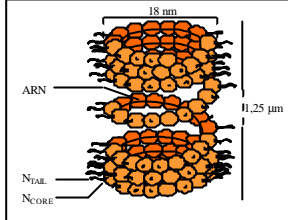
in collaboration with :

- Christine SERVET
- Hélène VALENTIN
- Aymeric RIVOLLIER
- Carole SPEZIANI
- Grégory MEIFFREN
- Monique FLACHER
- Olga AZOCAR
- Pierre-Olivier VIDALAIN
- David LAINE
- Marie-Claude BIEMONT
- Isabelle FUGIER-VIVIER, Schering-Plough
- Yong-Jun LIU, Schering-Plough
- Daniel HANAU, ETS Strasbourg
- Serge MANIE
- Denis GERLIER
- Fabian WILD
- Thierry DEFRENCE
- Vincent LOTTEAU
- Jean-Francois NICOLAS

Caractéristiques de la nucléoprotéine du VR

- 60 kDa, 525 acides aminés
- Localisée dans le cytosol des cellules infectées ou dans les particules virales
- La plus abondante des protéines virales dans les cellules infectées

- S'auto-assemble pour former des nucléocapsides
- Interagit avec l'ARN génomique ou cellulaire
- Forme le complexe RNP (RNA/P/L)



Conclusions

L'immunosuppression au cours de l'infection par le VR résulte de la **coexistence de plusieurs mécanismes** qui se superposent et peuvent également agir de manière décalée dans le temps. Quelques mécanismes qui ont été caractérisés.

- 1- **Mécanismes** qui rendent compte de l'**inhibition précoce de la prolifération des lymphocytes T**
 - blocage en phase G₀ dans les lymphocytes T et B infectés par le VR
 - inhibition de la prolifération des lymphocytes T non infectés médiée soit par **des protéines comme H, F et NP** soit par un **facteur soluble** produit par les lymphocytes infectés.
- 2- **Mécanisme** rendant compte de l'**inhibition de la production d'anticorps** par les lymphocytes B chez des patients rougeoleux vaccinés
 - **interaction RF₆ /INP**

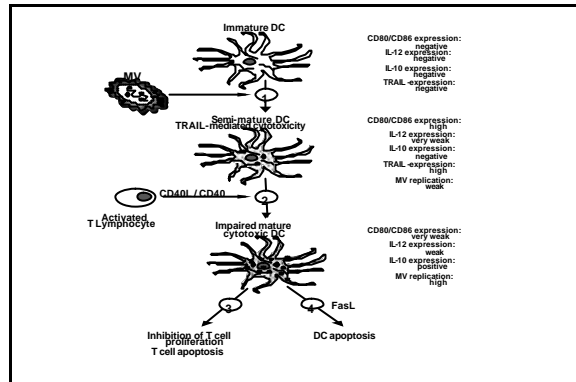
3- Mécanismes qui rendent compte du dysfonctionnement des APC

- maturation anormale des DC : **mauvaise intégration du signal CD40**
- **inhibition de sécrétion de IL-12** : rôle de l'interaction NP/RFc et H/CD46
- **mort par apoptose des DC suite à une interaction Fas/FasL** qui expliquerait l'immunosuppression à long terme

4- Mécanismes qui rendent compte de la lymphopénie observée au cours de la phase aiguë de la rougeole.

- **apoptose des lymphocytes T infectés** activés PMA iono
- **apoptose des lymphocytes T non infectés** mais sensibilisés (?) par le VR

Les **DCs infectés deviennent cytotoxiques** et induisent la mort des lymphocytes T non infectés. Rôle potentiel de **TRAIL synthétisé par les DC** suite à l'action des **interferons de type I**

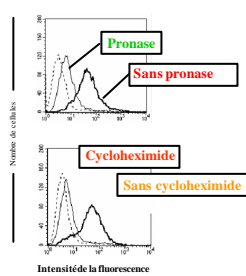


Récepteurs du virus de la rougeole (VR)

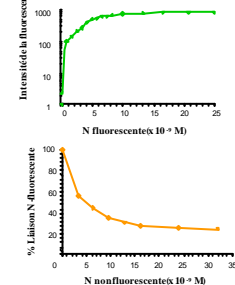
	CD46	CD150 (SLAM)
Expression:	Ubiquitaire (sauf érythrocytes)	Cellules B, T, DC et macrophages activés
Ligands:	C3b, C4b, VR, HSV6, Strepto du groupe A, <i>Neisseria</i>	Interactions homotypiques VR, RPV, CDV
Affinité pour le VR:	Souches "de laboratoire" +++ Isolats "sauvages" +	Souches "de laboratoire" +++ Isolats "sauvages" +++
Structure et domaines d'interaction:		

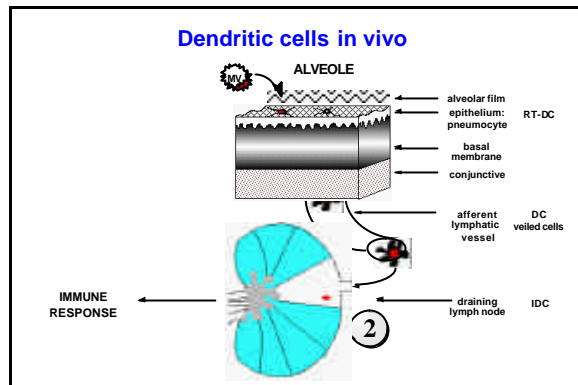
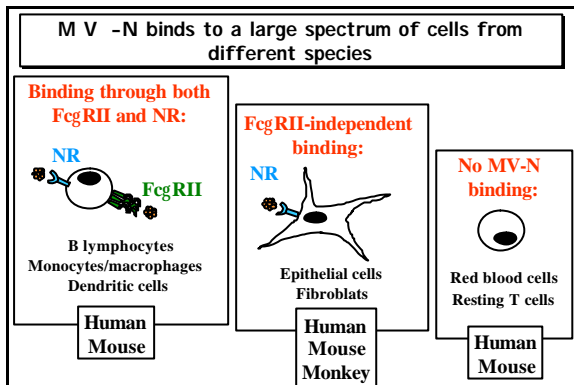
NR est un récepteur protéique

Liaison de la N aux TEC requiert une **synthèse protéique**



Liaison de la N aux TEC est saturable et spécifique



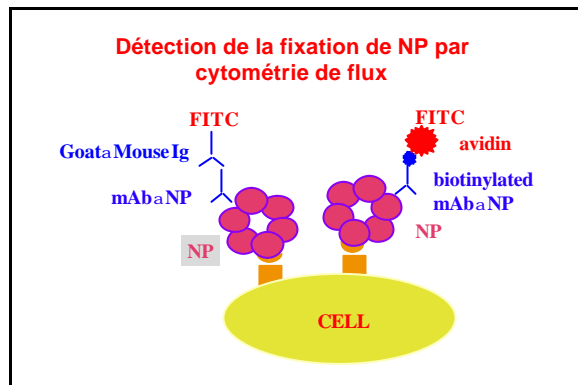
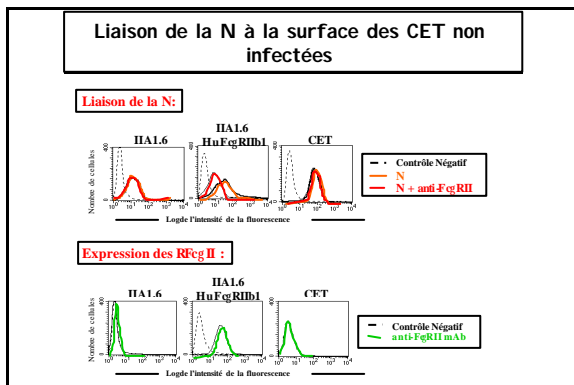
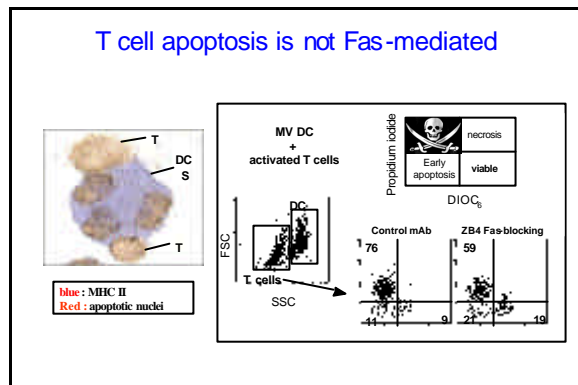


Cytotoxic activities of DCs

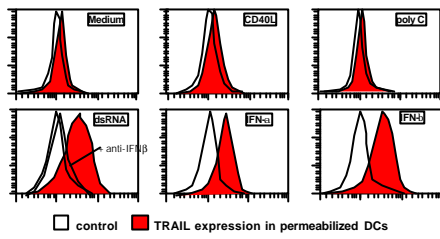
- T cell apoptosis mediated by Fas-ligand from **mouse** DCs (Suss, J Exp Med, 96; Lu, J Immunol, 97).
- Tumor cell apoptosis mediated by Fas-ligand, TRAIL, TNF-alpha from **rat** DCs (Josien, J Exp Med, 97; Trinite, J Immunol, 2000).
- Tumoral cell line apoptosis mediated by TRAIL from **human** DCs (Fanger, J Exp Med, 99; Vidalain, J Virol, 2000).

Potential functions of cytotoxic DCs

- Tolerogenic DCs could induce autoreactive T cell apoptosis.
- Suppressive DCs could regulate and limit T cell expansion.
- Anti-viral DCs could destroy virus-infected IFN-α secreted cells.
- Natural killer DCs could destroy tumoral cells.

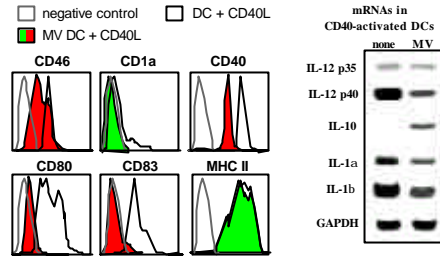


dsRNA or IFN α/β induce TRAIL synthesis by immature monocyte-derived DCs

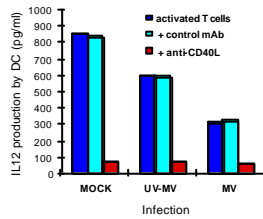


Vidalain et al, JImmunol, 2001

Abnormal differentiation of CD40L activated DCs



MV INFECTION DECREASED CD40-INDUCED IL-12 SECRETION BY DC



Cytotoxic DCs engulf apoptotic bodies of the target they have killed

