

## Notre patrimoine rétroviral

par François Mallet & Sarah Prudhomme

UMR 2714 CNRS-bioMérieux, IFR128 BioSciences Lyon-Gerland, École Normale Supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon cedex 07, France. Tél. : 04 72 72 83 58. Fax : 04 72 72 85 33.  
E-mail : francois.mallet@ens-lyon.fr

Reçu le 27 septembre 2004

### RÉSUMÉ

Les données fournies par le séquençage du génome humain montrent que les éléments de type rétroviral constituent environ 8 % de l'euchromatine. L'origine de ces éléments, leur propagation conduisant à une organisation en familles, leur structure génétique et l'identification des domaines fonctionnels des constituants de ces éléments sont décrits. L'implication physiologique des HERV (Human Endogenous Retrovirus) est illustrée à travers l'exemple du placenta. Les fonctions des éléments de contrôle transcriptionnel (LTR) ainsi que l'implication possible des protéines rétrovirales dans la résistance à l'infection, l'immunosuppression, et la différenciation cellulaire sont explicitées. En particulier les données permettant d'impliquer l'enveloppe du locus ERVWE1 de la famille HERV-W dans le processus de fusion abou-

tissant à la formation du syncytiotrophoblaste sont décrites. L'implication pathologique potentielle des HERV est principalement illustrée à travers l'expression de la super-famille HERV-K dans les cancers. Plus précisément, l'association entre la protéine de régulation Rec codée par HERV-K(HML-2) et le processus de tumorigenèse testiculaire est développée. La nature causale ou consécutive de l'expression/ré-expression de séquences rétrovirales dans d'autres contextes physiopathologiques est discutée. Pour conclure, le rapport bénéfique/risque de l'acquisition-propagation des HERV est examiné à la lumière de l'évolution des espèces et au regard du caractère multicopie des familles HERV et de la nature essentiellement multifactorielle des pathologies autoimmunes et cancéreuses.

### SUMMARY Retroviral inheritance in man

The data provided by the sequencing of the human genome showed that retroviral-like elements constituted approximately 8 % of the euchromatin. The origin of these elements, their propagation leading to an organization in families, their genetic structure and the identification of the functional domains of the components of these elements are described. Placenta is used as a model to illustrate the physiological involvement of HERVs. Transcriptional regulatory element (LTR) functions and the putative implication of retroviral proteins in resistance to infection, immunosuppression, and cellular differentiation are clarified. The data implicating the envelope encoded by the ERVWE1 locus of the HERV-W family in the

fusion process, leading to syncytiotrophoblast formation, is analysed. The putative pathological effect of HERVs is illustrated by the expression of the HERV-K superfamily in cancer. More precisely, the association between the Rec regulatory protein encoded by HERV-K(HML-2) and testicular tumorigenesis is developed. Whether HERVs are triggers or markers in other physiopathological contexts is discussed. To conclude, the dual benefit-hazard underlying the acquisition/propagation of HERVs is examined with respect to species evolution, considering the multicopy trait of HERV families and the mainly multi-factorial aspect of autoimmune diseases and cancers.

### LES RÉTROVIRUS ENDOGÈNES HUMAINS, UNE HISTOIRE DE FAMILLES

L'événement rare que représente l'infection d'une cellule de la lignée germinale par un rétrovirus exogène conduit à l'intégration dans le génome de l'hôte d'un ADN rétroviral ou provirus, celui-ci devenant partie inté-

grante du patrimoine génétique de l'hôte. Par conséquent, ce provirus endogène (HERV pour *Human Endogenous Retrovirus* dans la littérature anglo-saxonne) est transmissible à la génération suivante de façon mendélienne. Le rétrovirus infectieux parental est un virus à ARN diploïde dont le génome compact, d'environ 8 à 10 kb, comporte quatre gènes majeurs *gag*, *pro*, *pol* et *env*



codant pour les protéines nécessaires à son cycle de répliation. Le gène *gag* code pour les protéines qui permettent l'encapsidation de l'ARN viral, le gène *pro* code pour une protéase permettant le clivage des précurseurs polypeptidiques Gag-Pro-Pol et Gag, le gène *pol* code pour deux enzymes, une ADN polymérase ARN-dépen-

dante (transcriptase inverse ou RT) et une intégrase, et le gène *env* code pour les glycoprotéines de l'enveloppe virale qui confèrent au virus les propriétés de reconnaissance de récepteur cellulaire (*via* la sous-unité appelée SU) et de fusion de membranes (*via* la sous-unité appelée TM). La figure 1a illustre de façon schématique le

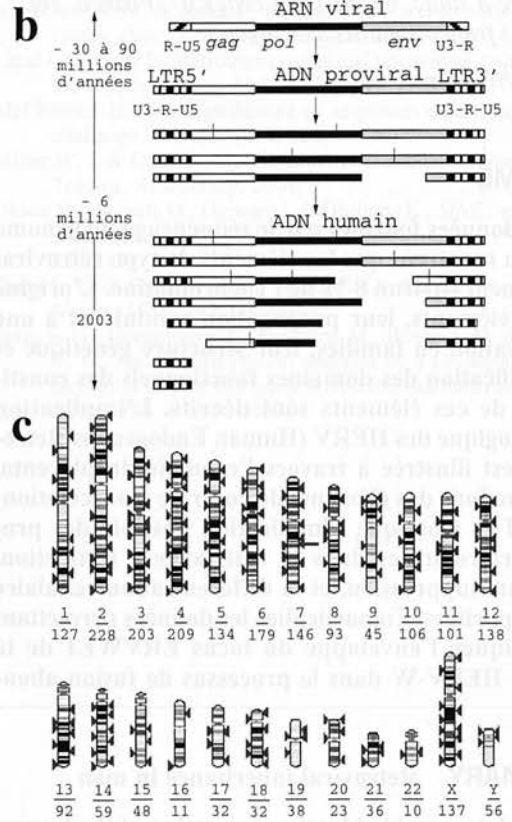
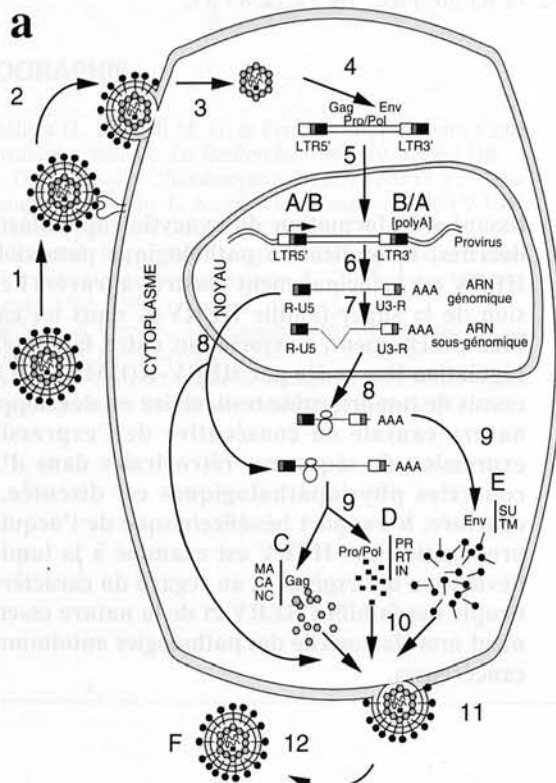


FIG. 1. - Du rétrovirus infectieux ancestral à la famille de rétrovirus endogènes humains.

(a) Représentation schématique du cycle de répliation d'un rétrovirus infectieux, illustrant les fonctions remplies par les différents éléments rétroviraux au cours des étapes du cycle, et permettant l'identification des éléments rétroviraux endogènes pouvant être impliqués dans une fonction physiologique ou pathologique. -1- Liaison à un récepteur cellulaire *via* la sous-unité de surface (SU) de l'enveloppe (Env, ●) du virus, -2- fusion des membranes virale et cellulaire *via* la sous-unité trans-membranaire (TM) de l'enveloppe du virus, conduisant -3- à l'entrée de la capsid dans le cytoplasme, -4- transformation de l'ARN viral en ADNc puis en ADN par la transcriptase inverse (RT, ■) et -5- intégration du provirus flanqué de deux LTR identiques dans l'ADN cellulaire (provirus), -6- transcription (fonction promotrice de la LTR5') régulée par les facteurs de transcription de la cellule hôte et -7- production d'ARNm génomique et sous-génomiques (épissés) transportés -8- dans le cytoplasme, -9- traduction et production des polyprotéines de capsid (Gag, ◇) et de la machinerie enzymatique (RT, intégrase, protéase) à partir du transcrit génomique, et d'enveloppe, à partir du transcrit sous-génomique, -10- assemblage de l'ARN génomique et des protéines virales conduisant -11- au bourgeonnement de virions, -12- libération de virions pouvant infecter de nouvelles cellules. Identification des éléments pouvant être impliqués dans une fonction chez les rétrovirus endogènes : -A- Fonction promotrice (région U3 des LTR) pouvant conduire à la synthèse d'ARN codant pour des protéines rétrovirales (LTR5') ou non rétrovirales (LTR isolées ou LTR3'). -B- Signal de polyadénylation (région R des LTR). -C- Protéines Gag pouvant former des particules (intra voire extra cellulaires) susceptibles d'encapsider l'ARN génomique rétroviral qui pourra être rétrotranscrit (*via* la RT) puis ré-intégré. -D- Activité transcriptase inverse (RT) pouvant contribuer à la réintégration de gènes rétroviraux (RT-HERV et RT-LINE) ou cellulaires (RT-LINE) déletés de leurs introns (pseudogènes). -E- Protéine d'enveloppe pouvant s'exprimer à la membrane cytoplasmique (portions intra et extra cellulaires), interagir avec un récepteur, transmettre des signaux de fusion ou d'immunosuppression. -F- Certains HERV produisent des particules enveloppées, pouvant potentiellement délivrer un signal à distance dans l'organisme; les génomes identifiés à ce jour sont cependant défectifs pour la répliation.

(b) Constitution d'une famille de HERV. L'ADN proviral, intégré il y a plusieurs millions d'années dans l'ADN d'une cellule germinale, s'est propagé principalement par rétrotransposition et les différents loci ont subi au cours de l'évolution un processus mutagène (symbolisé par un trait ou une délétion). Aucune copie contemporaine n'est infectieuse comme le montrent i) la fréquence des délétions du gène *env*, ii) l'absence de la région U3 de la LTR5' sur certaines entités, iii) l'existence d'entités déletées de la majorité de leurs séquences et iv) des LTR isolées.

(c) Représentation de la distribution chromosomique des entités génétiques de la famille HERV-W. La position et le nombre d'éléments par chromosome sont indiqués. On notera sur le chromosome 7 (flèche) la présence du locus ERVWE1 contenant l'unique cadre ouvert de lecture complet du gène *env*.

cycle de réplication d'un rétrovirus infectieux simple et permet d'identifier quels constituants des HERV, protéines ou éléments de régulation de l'expression, pourraient remplir une fonction contribuant à un rôle physiologique ou pathologique. Brièvement, après l'entrée dans la cellule, l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN par la RT virale qui utilise comme amorce un ARN de transfert (ARNt) cellulaire spécifique s'hybridant avec la région PBS (primer binding site) située à la jonction des régions R-U5 et *gag* du génome rétroviral. L'ADN bicaténaire résultant, qui comporte à chaque extrémité une séquence LTR (longue terminaison répétée) issue des séquences virales R-U5 et U3-R (voir localisations, Fig. 1b), est intégré dans le génome de la cellule hôte grâce à l'action de l'intégrase virale. L'expression de cet ADN proviral est dépendante de la machinerie cellulaire hôte fournissant les facteurs de transcription requis pour activer la LTR5' qui contient les séquences promotrices et modulatrices conférant une expression tissu-spécifique.

Au cours de l'évolution, le provirus HERV parental (puis les éléments fils) est répliqué par des mécanismes dépendant ou non de la transcription, *i.e.* la rétrotransposition ou la transposition, et muté par des substitutions, des insertions, des délétions, conduisant à une famille multicopie complexe constituée d'éléments hétérogènes (Fig. 1b). Ainsi, la perte préférentielle du gène *env* sur de nombreux éléments d'une famille HERV est un phénomène fréquent qui pourrait refléter le caractère non nécessaire de ce gène une fois la barrière d'espèce franchie (Boeke *et al.*, 1997). Néanmoins, des trames de lecture (ORF) peuvent perdurer et conduire à la synthèse de protéines, voire de particules non infectieuses. Notons de plus l'existence de LTR isolées ou solitaires, résultant vraisemblablement de la perte intégrale des séquences codantes par recombinaison entre les deux LTR flanquantes (Löwer *et al.*, 1996). Les loci des familles HERV contemporaines sont donc tous défectifs pour la réplication, ce qui signifie la perte des propriétés infectieuses et implique un mode de transmission exclusivement vertical. Cependant, leur processus de propagation à l'intérieur des génomes a généré, outre un niveau de complexité important, une distribution généralement large comme l'illustre la localisation chromosomique des éléments de la famille HERV-W (Blond *et al.*, 1999) (Fig. 1c).

Il est estimé qu'il existe environ une centaine de familles HERV dans le génome, représentant environ 8 % de l'euchromatine (I.H.G.S.C., 2001). Vingt-six familles sont caractérisées en terme de phylogénie (Benit *et al.*, 2001 ; Tristem, 2000) mais bien moins sont étudiées en détail. La définition d'une nomenclature précise des familles HERV reste un exercice difficile en l'absence de fonction ou de pathologie évidentes liées à ces rétrovirus (contrairement aux rétrovirus infectieux). Une tentative de nomenclature est basée sur la séquence du PBS présent en aval du LTR5', ou sa similarité avec les PBS des rétrovirus animaux, reconnu par un ARNt spécifique, dont le code une-lettre de l'acide aminé correspondant est alors le suffixe du terme HERV ; par exemple HERV-K présente un PBS reconnu par un ARNt lysine (K), le PBS de HERV-W est homologue à celui des rétrovirus

aviaires utilisant un ARNt tryptophane (W). Néanmoins, certaines appellations perdurent telles ERV-3 (appelé aussi HERV-R) et ERV-9 (possédant aussi un PBS de type arginine (R)). La super-famille HERV-K contient 9 sous-familles (HML-1 à HML-9) phylogénétiquement distinctes mais possédant toutes un PBS reconnu par un ARNt lysine. Cette nomenclature est complétée par le système de classification des rétrovirus. La classification traditionnelle repose sur la morphologie des virions durant la maturation et l'assemblage des particules, dites de type A, B, C ou D (Coffin, 1992). Récemment, suite à une re-classification, basée sur la comparaison phylogénétique du gène de RT, le Comité international de taxonomie des virus (ICTV) a établi 7 genres de *Retroviridae*,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , et  $\epsilon$ -*rétrovirus*, *Lentivirus* et *Spumavirus* (van Regenmortel *et al.*, 2000). Ainsi, la classification moléculaire des HERV est basée sur l'homologie de leur région *pol* avec les rétrovirus animaux (Wilkinson *et al.*, 1994). Les virus de classe I présentent des similarités avec les  $\gamma$ -*rétrovirus* (type C), tel le virus de la leucémie murine (MuLV) : c'est le cas de HERV-E et de HERV-W. Les virus de classe II ont des similarités avec les  $\beta$ -*rétrovirus* (type B/D), tel le virus du cancer mammaire murin (MMTV) : c'est le cas de HERV-K. Enfin, la classe III apparentée aux *Spumavirus* contient les éléments de la famille HERV-L.

Avant l'obtention d'une séquence complète du génome humain, l'identification des séquences HERV a résulté de l'utilisation de multiples approches. En premier lieu, le criblage de banques génomiques humaines par hybridation à faible stringence à l'aide de sondes dérivées de rétrovirus animaux a permis l'identification de nombreux provirus représentant différentes familles, telles HERV-E (Repaske *et al.*, 1983), HERV-R (O'Connell *et al.*, 1984) et HERV-K (Ono *et al.*, 1986). D'autres approches utilisant des oligonucléotides sont basées sur l'existence de régions caractéristiques des rétrovirus. Ainsi, la famille HERV-P (Harada *et al.*, 1987) a été identifiée par hybridation de sondes homologues au site PBS de fixation de l'ARNt proline utilisé lors de la transcription inverse. D'autre part, avec l'essor des techniques de PCR, des tentatives d'amplification de régions rétrovirales à l'aide d'amorces dégénérées correspondant à des motifs conservés du génome rétroviral ont été utilisées, dans les régions *pol* (Shih *et al.*, 1989) et *env* (Lindskog *et al.*, 1993). C'est par l'utilisation d'une telle approche qu'ont été obtenues les premières informations de séquence (Perron *et al.*, 1997) ayant ultérieurement conduit à la découverte de la famille HERV-W (Blond *et al.*, 1999). De plus, l'analyse de gènes humains a permis la découverte incidente de certaines familles, telles HERV-H (Mager *et al.*, 1987), ERV-9 (La Mantia *et al.*, 1991) et HERV-I (Maeda, 1985).

Les HERV ont d'abord été considérés comme de l'ADN «poubelle», «égoïste» ou «parasite» sans effet physiologique. Néanmoins, compte tenu de la distribution et de la nature rétrovirale de ces éléments, ceux-ci apparaissent pouvoir agir sur leur hôte par différents mécanismes : *i)* les HERV peuvent être impliqués dans la plasticité génomique en agissant comme site de recom-



binasion intra ou inter chromosomique (Hughes *et al.*, 2001), *ii*) ils peuvent par recombinaison produire des mutations somatiques ou germinales ayant pour effet la perte d'une fonction d'un gène cellulaire (Blanco *et al.*, 2000; Kamp *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 2000), *iii*) des LTR individuelles ou proviraux peuvent moduler l'expression de gènes cellulaires adjacents (Long *et al.*, 1998; Schulte *et al.*, 1996; Ting *et al.*, 1992), *iv*) l'expression de protéines HERV avec des fonctions classiques rétrovirales peut avoir une influence physiologique ou pathologique sur l'hôte (Blond *et al.*, 2000; Boese *et al.*, 2000).

L'analyse de l'expression transcriptionnelle des HERV est rendue extrêmement difficile du fait de la nature multicopie de ces éléments. En effet, l'expression d'une famille dans un tissu donné n'est généralement pas le reflet de l'expression de tous les éléments de cette famille, mais résulterait plutôt de l'activation d'un nombre limité de copies rétrovirales. Les déterminants majeurs de telles différences apparaissent liés notamment au site d'intégration, à la méthylation, aux facteurs cellulaires ainsi qu'aux stimuli environnementaux. Une expression des HERV dans les tissus de la reproduction et dans les tissus embryonnaires peut s'expliquer par une contribution des HERV à la diversité génétique et au développement physiologique. *A contrario*, l'expression des HERV plus tard dans la vie de l'organisme peut avoir des conséquences néfastes. L'augmentation des transcrits HERV dans les cancers et les maladies autoimmunes confirme que leur activité est altérée dans des conditions pathologiques. Ainsi, les HERV ont fréquemment été proposés comme des co-facteurs étiologiques de telles pathologies (Löwer, 1999). Néanmoins, il reste complexe de démontrer définitivement si l'expression ou la ré-expression des séquences rétrovirales est une cause ou une conséquence du contexte biologique dans lequel elle est détectée. L'implication physiologique et pathologique des HERV sera principalement illustrée à travers deux exemples bien caractérisés, à savoir l'expression de HERV-W dans le placenta et l'expression de la super-famille HERV-K dans différents cancers.

## RÉTROVIRUS ENDOGÈNES HUMAINS ET PLACENTATION

La fonction première du placenta est d'intervenir comme une interface entre la mère et le fœtus, permettant les échanges métaboliques appropriés tout en maintenant une séparation entre les deux organismes. L'anatomie du placenta humain est liée pour une grande part aux deux voies de différenciation du trophoblaste conduisant à la formation des villosités choriales, unités fonctionnelles du placenta, comprenant les villosités crampons qui ancrent le placenta sur l'utérus en envahissant l'endomètre et les villosités flottantes qui surnagent dans le sang maternel. D'une part, les cytotrophoblastes peuvent se différencier en trophoblastes extravilloux envahissant profondément l'utérus (invasion interstitielle) et ses artérioles (invasion endovasculaire), ce dernier pro-

cessus initiant le flux sanguin maternel qui irrigue le placenta. D'autre part, les cytotrophoblastes peuvent se différencier en fusionnant pour former le syncytiotrophoblaste plurinucléé qui contribue, au début de la grossesse, à l'implantation du blastocyste dans l'utérus, puis à partir de la troisième semaine de grossesse, aux fonctions d'échange entre la mère et le fœtus et est le siège des sécrétions endocrines placentaires (hCG [*human chorionic gonadotropin*]). Notons que les trophoblastes extravilloux, ainsi que le syncytiotrophoblaste, sont des cellules d'origine fœtale en contact avec des cellules maternelles, donc un lieu potentiel de conflit immunologique entre la semi-allogreffe à composante paternelle et l'hôte maternel.

## LTR rétrovirales et placenta

Le placenta, en tant que site majeur d'expression des HERV, a permis de décrire certains mécanismes de régulation de l'expression de gènes (non rétroviraux) voisins des LTR rétrovirales. Ainsi l'intégration d'éléments rétroviraux au voisinage de certains gènes a conféré à ceux-ci plusieurs tropismes d'expression cellulaire, dépendants de l'activation du promoteur non rétroviral (natif) ou rétroviral (acquis au cours de l'évolution). Par exemple, l'expression du gène de la pléiotrophine dans le système nerveux central durant la période périnatale est contrôlée par un promoteur non rétroviral, alors que son expression dans le trophoblaste normal est contrôlée par un promoteur LTR HERV-E inséré en amont du premier exon (Schulte *et al.*, 1996). De même, des LTR de la famille HERV-E contribuent à l'expression placentaire des gènes *EDNRB* (récepteur de l'endothéline B) (Medstrand *et al.*, 2001) et *MIDI1* (syndrome d'opitz) (Landry *et al.*, 2002), les transcrits dépendants des promoteurs natifs étant détectés dans de nombreux tissus dans les deux exemples. La LTR3' d'un élément HERV-K inséré à proximité du gène de l'*INSL4* (*Insulin-like growth factor*) régule l'expression placentaire spécifique de ce gène pendant la formation du syncytiotrophoblaste (Bieche *et al.*, 2003). Enfin, de la Souris à l'Homme, la leptine est produite dans les adipocytes mais, chez l'Homme, l'ARNm codant pour la leptine a été détecté dans le placenta. Ceci est dû à l'insertion d'un élément répété MER11 au sein du promoteur naturel, cet élément conférant un effet activateur restreint au placenta (Bi *et al.*, 1997).

## Protéines rétrovirales et placenta

Les protéines rétrovirales, par leur fonction princeps, peuvent être associées avec les phénomènes suivants : *i*) l'interférence, qui peut conférer la protection contre l'infection par un rétrovirus apparenté, *ii*) l'immunosuppression, qui pourrait fournir une protection contre le système immunologique de la mère, *iii*) la fusion des membranes cellulaires, qui pourrait participer à la formation du syncytiotrophoblaste. ERV-3, qui est fortement transcrit pendant toute la grossesse (Kato *et al.*, 1987), a été le premier candidat pour des fonctions pla-

centaires. Ainsi, la protéine d'enveloppe de ERV-3 est détectée spécifiquement dans le syncytiotrophoblaste multinucléé (Venables *et al.*, 1995). De plus, l'expression de Env ERV-3 affecte la prolifération et la différenciation des cellules BeWo, une lignée modèle de choriocarcinome inducible en phénotype multinucléé mimant la différenciation du cytotrophoblaste en syncytiotrophoblaste (Lin *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2000). Cependant, l'hypothétique implication de Env ERV-3 dans l'implantation et le développement placentaire semble remise en question par l'observation que 1 % de la population caucasienne présente de façon homozygote une mutation tronquant la protéine Env ERV-3; cette délétion à la fois du peptide de fusion et du domaine immunosuppresseur n'a pas d'incidence sur la fonction procréatrice, puisque des enfants sont nés de personnes homozygotes pour la mutation inactivant le gène (De Parseval *et al.*, 1998).

#### Différenciation cellulaire et fusion

Chez les Mammifères, le placenta constitue un des cas de fusion cellulaire physiologique conduisant à la formation de syncytia multinucléés. Les myotubes et les ostéoclastes sont les autres exemples. Le rôle principal et naturel d'une enveloppe rétrovirale mature est de médier l'infectivité *via* la fusion des membranes entre le virus et la cellule cible, phénomène dépendant de la reconnaissance d'un récepteur cellulaire. Cette propriété de fusion des membranes et le haut niveau d'expression des protéines Env endogènes dans le placenta suggère que celles-ci sont impliquées dans la morphogénèse placentaire, comme décrit pour la famille HERV-W. Nous avons précédemment découvert et caractérisé la famille HERV-W en criblant une banque d'ADNc placentaire (Blond *et al.*, 1999) à l'aide d'une sonde rétrovirale isolée dans un contexte de sclérose en plaques (Perron *et al.*, 1997). Cette famille multicopie contient un locus appelé ERVWE1, localisé en 7q21.2 et codant pour une enveloppe complète (Fig. 2a) (Blond *et al.*, 1999). La présence de mutations délétères dans les gènes *gag* et *pol* de ERVWE1 nous a conduit à proposer que les fonctions de *env* avaient été sélectivement préservées (Blond *et al.*, 1999). De façon intéressante, ce gène *env* est unique (Voisset *et al.*, 2000), comme confirmé par le séquençage complet du génome humain (I.H.G.S.C., 2001). Le produit du gène *env* ERVWE1 (aussi surnommé syncytine) est une glycoprotéine membranaire fortement fusogène qui induit la formation de cellules géantes multinucléées ou syncytia, *in vitro* (Fig. 2b) (Blond *et al.*, 2000; Mi *et al.*, 2000). La propriété fusogène de Env ERVWE1 est restreinte aux cellules qui expriment le récepteur des rétrovirus mammaliens de type-D (RDR/hATB<sup>o</sup>) (Fig. 2b) (Blond *et al.*, 2000). Ce récepteur est un transporteur d'acides aminés neutres du système B<sup>0</sup> et est préférentiellement exprimé dans les tissus épithéliaux (Kekuda *et al.*, 1996; Rasko *et al.*, 1999; Tailor *et al.*, 1999). L'implication du récepteur RDR dans le mécanisme de fusion est corrélé avec, d'une part, la classification de type-D de Env ERVWE1 (Blond *et al.*, 1999) et, d'autre part, l'expression placentaire de ce récepteur (Kekuda *et al.*, 1996). La protéine Env ERVWE1 est détectée au

niveau du syncytiotrophoblaste (Fig. 2c) suggérant un rôle dans la différenciation des cytotrophoblastes en syncytiotrophoblaste (Blond *et al.*, 2000; Frendo *et al.*, 2003). Une telle fonction est d'ailleurs confirmée par l'observation qu'un antisérum de Lapin dirigé contre un

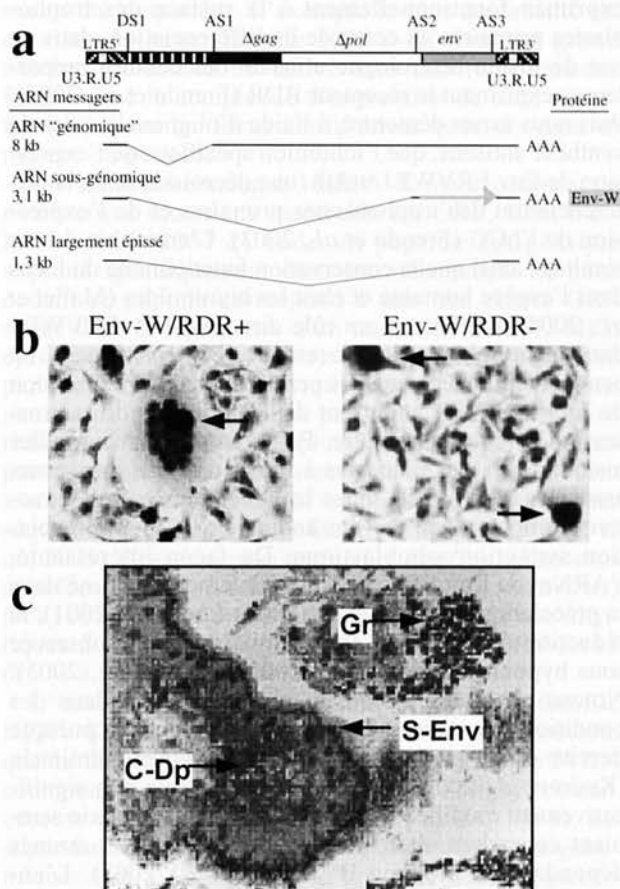


FIG. 2. – Expression placentaire de la famille HERV-W et propriété fusogène de l'enveloppe codée par le locus ERVWE1.

(a) L'analyse par Northern blot de l'expression de la famille HERV-W dans le placenta montre l'existence de trois transcrits pouvant résulter d'un processus d'épissage du locus ERVWE1. Le transcrit sous-génomique code pour la protéine d'enveloppe détectable par Western blot.

(b) Le gène *env* du locus ERVWE1, cloné dans un vecteur d'expression, est transfecté dans des cellules TELac2 exprimant la  $\beta$ -galactosidase au niveau de la membrane nucléaire. Lorsque ces cellules productrices sont mises au contact de cellules indicatrices XC de rat dans lesquelles a été introduit le récepteur des rétrovirus mammaliens de type D, on observe la formation de syncytia multinucléés comportant un noyau bleu foncé, généralement unique (Env-W/RDR+). Aucun syncytium n'est observé dans l'expérience témoin utilisant des XC natives (Env-W/RDR-). Les flèches indiquent le noyau bleu foncé de la cellule productrice.

(c) Un double marquage *in situ* a été réalisé à l'aide d'anticorps spécifiques anti-Env-W et anti-desmoplakine, sur une coupe de placenta normal de 10 semaines. La glycoprotéine d'enveloppe est détectée au niveau de la face externe du syncytiotrophoblaste (S-Env) bordant la villosité flottante. La desmoplakine, une protéine de la plaque desmosomiale impliquée dans les jonctions intercellulaires, est absente du tissu fusionné et souligne les membranes plasmiques des cytotrophoblastes sous-jacents (C-Dp). On notera, dans l'espace lacunaire, la présence des globules rouges de la mère (Gr).



mélange de peptides Env ERVWE1 est capable d'inhiber partiellement la fusion hétérologue entre la lignée de choriocarcinome BeWo (mimant la différenciation du cytotrophoblaste en syncytiotrophoblaste) et des cellules COS rapporteuses (Mi *et al.*, 2000). Nous avons quant à nous tout d'abord démontré que la protéine Env ERVWE1 est exprimée fonctionnellement à la surface des trophoblastes primaires au cours de la différenciation, dans un test de fusion hétérologue utilisant des cellules rapporteuses exprimant le récepteur RDR (Frendo *et al.*, 2003). Puis nous avons démontré, à l'aide d'oligonucléotides de synthèse antisens, que l'inhibition spécifique de l'expression de Env ERVWE1 induit une décroissance de la différenciation des trophoblastes primaires et de l'expression de l'hCG (Frendo *et al.*, 2003). L'ensemble de ces résultats, ainsi que la conservation fonctionnelle du locus dans l'espèce humaine et chez les hominoïdes (Mallet *et al.*, 2004), confirment un rôle direct de Env ERVWE1 dans la morphogenèse placentaire. Par conséquent, on peut s'attendre à ce que des perturbations de l'expression de Env ERVWE1 induisent des pathologies de la grossesse d'origine placentaire. Par exemple, les anomalies histologiques des placentas à terme dans les grossesses associées à l'hypoxie, telles la prééclampsie, sont caractérisées notamment par des anomalies de la différenciation syncytiotrophoblastique. De façon intéressante, l'ARNm de Env ERVWE1 est faiblement exprimé dans la prééclampsie (Knerr *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2001), la réduction d'expression étant similaire à celle observée sous hypoxie (Knerr *et al.*, 2002; Kudo *et al.*, 2003). Notons que l'expression du récepteur RDR dans des conditions similaires demeure mal comprise, puisque décrite d'une part comme significativement diminuée (Kudo *et al.*, 2003) et, d'autre part, comme non significativement modifiée (Knerr *et al.*, 2002), l'hypoxie semblant cependant altérer le transport des acides aminés dépendant du système B<sup>0</sup> (Kudo *et al.*, 2003). L'ensemble de ces données confirme que l'expression de Env ERVWE1 est directement impliquée dans la formation du syncytiotrophoblaste. Notons l'identification récente d'une autre enveloppe rétrovirale de la famille HERV-FRD transcrite dans le placenta et fusogène *in vitro* (Blaise *et al.*, 2003).

#### *Protéines HERV et rôle protecteur : modulation de l'immunité et résistance aux infections*

Pour protéger le fœtus contre l'agression immunitaire maternelle, l'existence d'un mécanisme immunosuppresseur, qui permettrait l'initiation et le maintien de la grossesse, a été évoquée. En fait, le tissu placentaire d'origine fœtale dépend de l'expression des génomes paternels et maternels. Ce tissu invasif d'un génotype et, donc, phénotype étranger devrait être rejeté par la mère. Plusieurs mécanismes contribuant à éviter le rejet de l'implant fœtal par la mère sont proposés, par exemple les antigènes de classe I non classiques HLA-G qui protègent contre la cytolysse par les cellules NK (natural killer) déciduales (Rouas-Freiss *et al.*, 1997). Les enveloppes rétrovirales pourraient également participer à une telle défense, compte tenu de la conservation dans ces

enveloppes d'une région dite immunosuppressive (Cianciolo *et al.*, 1985), susceptible de moduler l'expression relative des cytokines de type 1 et de type 2 de façon à diminuer l'immunité à médiation cellulaire (Haraguchi *et al.*, 1995), ce qui est compatible avec la suggestion qu'une grossesse normale se déroule avec une réponse Th1 défavorisée (Lin *et al.*, 1993). Une propriété immunosuppressive locale a été démontrée pour une enveloppe de la famille HERV-H dans un modèle murin (Mangeny *et al.*, 2001). Contrairement aux cellules tumorales qui sont normalement rejetées par la souris greffée, les cellules exprimant l'enveloppe rétrovirale échappent au rejet immunitaire et prolifèrent. Même si les trois enveloppes rétrovirales endogènes ERV-3, HERV-E (4-1) et HERV-W sont détectées au niveau du syncytiotrophoblaste, (Blond *et al.*, 2000; Frendo *et al.*, 2003; Kitamura *et al.*, 1994; Venables *et al.*, 1995), elles ne présentent pas toutes le domaine immunosuppresseur. Ainsi, Env ERV-3 pour 1 % de la population caucasienne (De Parseval *et al.*, 1998) et HERV-E (4-1) (Kitamura *et al.*, 1994) sont tronquées avant cette région spécifique, ce qui induit un sérieux doute quant aux capacités immunomodulatrices de ces deux enveloppes. Bien que la région immunosuppressive soit conservée pour Env HERV-W, une telle fonction n'est pas démontrée à ce jour.

La résistance à l'infection par les rétrovirus peut être conférée par les gènes rétroviraux endogènes qui pourraient interférer avec le cycle naturel des rétrovirus exogènes. Deux mécanismes déduits d'études *in vitro* chez la Souris suggèrent des hypothèses fonctionnelles pour les protéines Gag et Env dans le placenta. Il a été montré qu'une protéine apparentée à Gag, produite par le gène *Fv-1* (Friend virus susceptibility-1), peut interagir avec la capsid virale du virus infectieux après son entrée dans la cellule, ce qui inhibe l'infection en perturbant une étape postérieure au désassemblage de la particule et précédant l'intégration du provirus (Best *et al.*, 1996; Goff, 1996). Au contraire, un tel Gag trans-dominant négatif a été décrit comme agissant au cours d'une étape tardive du cycle de réplication de la forme exogène, dans le cas du JSRV (*jaagsiekte sheep retrovirus*) (Mura *et al.*, 2004). Deux protéines Gag sont trouvées dans le placenta humain, Gag HERV-W (Voisset *et al.*, 2000) et Gag HRES-1 (Perl *et al.*, 1989). Bien qu'aucune fonction ni localisation précise ne soient connues, ces protéines pourraient être impliquées dans de tels mécanismes d'interférence. La résistance aux infections par interférence au niveau des récepteurs a initialement été décrite *in vitro* : des cellules infectées par un virus donné sont résistantes à la surinfection par des virus utilisant le même récepteur; ce récepteur étant (schématiquement) bloqué par l'enveloppe virale (Best *et al.*, 1997). Le gène murin *Fv-4/Akvr4* (*Friend Virus susceptibility-4*), codant pour une glycoprotéine d'enveloppe (gp70) de type MLV (*murine leukemia virus*), permet de bloquer l'entrée des rétrovirus exogènes écotropes MLV dans la cellule par compétition au niveau des récepteurs (Gardner *et al.*, 1986; Nihrane *et al.*, 1996). De même, chez la Mouton, des études *in vitro* montrent que l'enveloppe de la forme

endogène du JSRV, enJSRV, interfère avec l'entrée du JSRV exogène en saturant le récepteur cellulaire Hyal-2 (Sanna *et al.*, 2002). Néanmoins, bien que le gène *env* de enJSRV soit transcrit dans le placenta ovin (Spencer *et al.*, 2003), aucune démonstration fonctionnelle (impliquant des protéines) ne permet de dire si ce mécanisme de protection est effectif *in vivo*. Chez l'Homme, même si trois protéines Env, HERV-E (4-1) (Kitamura *et al.*, 1994), ERV-3 (Venables *et al.*, 1995) et HERV-W (Blond *et al.*, 2000; Frendo *et al.*, 2003; Voisset *et al.*, 2000), sont produites dans le placenta, une interaction avec un récepteur n'est décrite que dans un seul cas. Il s'agit de l'enveloppe de HERV-W qui interagit avec le récepteur des rétrovirus mammaliens de type D ou RDR (Blond *et al.*, 2000). Ceci pourrait conférer à la cellule hôte l'exprimant des capacités de résistance vis-à-vis de l'infection par des rétrovirus exogènes de type D comme démontré *in vitro* pour le virus aviaire SNV (*spleen necrosis virus*) (Ponferrada *et al.*, 2003).

## RÉTROVIRUS ENDOGÈNES HUMAINS ET CANCERS

Compte tenu de la nature des séquences rétrovirales, des mécanismes globalement similaires à ceux évoqués dans un contexte physiologique pourraient induire ou contribuer à diverses pathologies, *via* l'activité insertionnelle des LTR et les domaines fonctionnels des protéines rétrovirales. Une insertion *de novo* pourrait entraîner le blocage ou l'altération de gènes cellulaires importants tels des proto-oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeurs, mais aussi des gènes du système majeur d'histocompatibilité (Andersson *et al.*, 1998; Seidl *et al.*, 1999). Il a de plus été montré que des sites d'intégration de HERV-E (4-1) étaient proches de loci associés à des malformations héréditaires (Taruscio *et al.*, 1996). La ré-expression des rétrotransposons peut être liée à la déméthylation ou l'hypo-méthylation, comme cela a été mis en évidence pour les séquences LINE-1 et le provirus HERV-K dans le cadre de certains cancers (Götzinger *et al.*, 1996; Khodosevich *et al.*, 2004; Menendez *et al.*, 2004). L'expression des HERV peut être soumise à des facteurs endogènes tels les hormones (Ono *et al.*, 1987), les cytokines, ou les facteurs de transcription induits par un processus de tumorigenèse (Dunn *et al.*, 2003; Willer *et al.*, 1997). Elle peut être aussi conditionnée par des facteurs environnementaux comme des infections microbiennes (Lee *et al.*, 2003; Sutkowski *et al.*, 2001), des traitements chimiques (Ogasawara *et al.*, 2003; Taruscio *et al.*, 1998) ou les rayons UV (Hoehnadl *et al.*, 1999).

### Expression des HERV et cancers

Il est aujourd'hui établi que le développement d'un cancer est un processus multifactoriel, au cours duquel l'activation de proto-oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur sont des événements critiques

(Hanahan *et al.*, 2000). Alors que l'association entre les rétrovirus exogènes infectieux et les cancers est établie (Weiss, 1992), le rôle des HERV dans l'étiologie de ces pathologies multifactorielles reste largement méconnu. De nombreuses observations de l'activité de différentes familles de HERV dans les tissus cancéreux ont néanmoins été rapportées. L'exemple le plus documenté est celui de la super-famille HERV-K, dont un grand nombre d'éléments est activé dans différents cancers. Etant donné la complexité d'expression de cette super-famille, le ou les locus actifs seront précisés dans la mesure du possible.

Un élément homologue à HERV-K mais contenant de nombreuses mutations inactivant les ORF, HERV-K-MEL (AC092357.2) code un peptide antigénique exprimé spécifiquement dans les mélanomes. Le gène codant ce peptide correspond à une très courte ORF située dans la région *env* d'un transcrite HERV-K-MEL épissé (Mingari *et al.*, 1998). Cet antigène est reconnu par les lymphocytes T cytotoxiques issus de patients atteints de mélanome mais pas ceux d'individus sains (Mingari *et al.*, 1998). De plus, il a été suggéré que des particules produites par les cellules de mélanomes sont associées à une activité RT et pourraient contenir des séquences appartenant à la famille HERV-K (Muster *et al.*, 2003). Ces séquences retrouvées dans les mélanomes appelées MERV (*melanoma endogenous retrovirus*) (AY186778) sont fortement homologues mais non identiques à HERV-K108 (95 % à 97 %) et HERV-K113 (93 % à 95 %) (Muster *et al.*, 2003).

L'intérêt porté à l'expression de la super-famille HERV-K dans le cancer du sein découle de la découverte que la famille HERV-K(HML-4) (ou HERV-K/T47D) code pour les particules observées dans la lignée de carcinome mammaire T47D (Seifarh *et al.*, 1998). La super-famille HERV-K comporte deux sous-types génomiques 1 et 2 différant par la présence d'une séquence de 292 nucléotides située entre les gènes *pol* et *env*. Selon les individus affectés, l'un et/ou l'autre de ces sous-types de HERV-K est exprimé, produisant des transcrits génomiques, des transcrits sous-génomiques *env*, et des transcrits épissés alternativement (Wang-Johanning *et al.*, 2003b). De manière intéressante, ces transcrits multi-épissés codent des ORF sans codon stop, et ont donc la capacité d'être traduits en protéines. De tels transcrits sous-génomiques épissés codant pour les protéines Np9 (HERV-K type 1) (Armbruster *et al.*, 2002) et cORF (HERV-K type 2) (Boese *et al.*, 2000) ont été caractérisés et associés à la tumorigenèse. L'augmentation de l'expression des transcrits *env* et de transcrits multi-épissés chez des patientes atteintes du cancer du sein, et non chez les témoins sains, suggère que ces transcrits peuvent être de nouveaux marqueurs des tumeurs mammaires (Wang-Johanning *et al.*, 2003b). Néanmoins l'impact potentiel de ces variants d'épissage dans l'étiologie du cancer du sein n'est pas démontré à ce jour. Notons que les transcrits observés présentent de très fortes homologies avec HERV-K102 (AF164610.1) la séquence prototype de sous-type 1, et avec HERV-K109 (AF164615) et HERV-K(I) (AB047209.1), cor-



respondant au sous-type 2 (Wang-Johanning *et al.*, 2003b).

Une expression d'éléments de type HERV-K(HML-2) a pu être détectée par RT-PCR quantitative et Northern blot chez des patients atteints de leucémie (Depil *et al.*, 2002). D'autres éléments de la super-famille HERV-K, HERV-K101 (AF164609) et HERV-K108 (AF164614) sont détectés dans l'estomac tumoral et non dans l'estomac sain, par analyse des EST (Stauffer *et al.*, 2004). Une analyse similaire, mais restreinte au cerveau, montre l'activation transcriptionnelle de HERV-K102 (AF164610) et HERV-K (AC010642) dans des tumeurs du cerveau (Nakamura *et al.*, 2003). Rappelons que les lignées de tératocarcinomes ont la capacité de se différencier en cellules neuroépithéliales par induction à l'acide rétinolique. Enfin, une hypométhylation de HERV-K dans le cancer de la vessie a été observée (Florl *et al.*, 1999), sans détection, toutefois, de transcrite spécifique de HERV-K.

La translocation t(8;19) identifiée chez des patients atteints de syndrome myéloprolifératif atypique des cellules souches implique un élément de la famille HERV-K3 (AC023149), localisé au niveau du point de cassure sur le chromosome 19 (Guasch *et al.*, 2003). Cette translocation résulte en un transcrite de fusion entre HERV-K et le gène FGFR1, codant alors une protéine de fusion oncogène (Guasch *et al.*, 2003). La forte activité promotrice de la LTR de HERV-K pourrait contribuer au taux de transcription élevé du gène de fusion. Il est d'ailleurs montré que les LTR de HERV-K sont actives dans des lignées cellulaires cancéreuses variées (Kim *et al.*, 2001).

Les HERV pourraient également contribuer au développement d'un cancer par mutagenèse insertionnelle, comme démontré pour un autre type de rétroélément (Miki *et al.*, 1992). Une étude récente révèle que deux éléments de la famille HERV-K, K113 (AY037928) et K115 (AY037929) ne sont présents que dans une faible partie de la population humaine (30 % et 15 % respectivement), suggérant que ces éléments pourraient être infectieux et par conséquent être à l'origine de mutagenèse insertionnelle (Turner *et al.*, 2001). Ainsi, le provirus HERV-K113 est le premier rétrovirus endogène décrit chez l'Homme ayant des ORF complètes pour toutes les protéines rétrovirales et aucune substitution d'acides aminés dans les motifs conservés. De plus, une analyse bioinformatique des processus de sélection agissant sur les éléments de la famille HERV-K(HML-2) suggère que celle-ci pourrait encore contenir des entités infectieuses malgré l'absence apparente de telles séquences dans le génome humain (Belshaw *et al.*, 2004).

D'autres familles de HERV sont également transcriptionnellement actives dans les cancers. C'est le cas de HERV-E dont les transcrits sont détectés dans le cancer de la prostate (Wang-Johanning *et al.*, 2003a), de HERV-W dans le placenta cancéreux (Stauffer *et al.*, 2004) et les carcinomes ovariens (Menendez *et al.*, 2004), de HERV-R dans le cancer du poumon (Andersson *et al.*, 1998), de HERV-H dans le cancer colorectal (Wentzen

*et al.*, 2004), et dans de nombreux tissus cancéreux comprenant la moelle épinière, l'intestin grêle, la vessie, et le col de l'utérus (Stauffer *et al.*, 2004), de HERV-H/F dans les cellules myélocytaires de patients leucémiques (Patzke *et al.*, 2002), et de HERV-F dans le cancer du cerveau (Nakamura *et al.*, 2003). Il apparaît donc que les différentes familles HERV (voire certains loci spécifiques) sont exprimées différemment selon les tissus cancéreux. Ainsi, les HERV pourraient constituer de bons candidats pour le diagnostic et potentiellement l'immunothérapie.

### HERV-K(HML-2) et cancers testiculaires

La famille HERV-K(HML-2) (ou HERV-K/HTDV) est détectée, sous forme ARN, protéines et particules dans les tératocarcinomes (Fig. 3b) (Boller *et al.*, 1993; Herbst *et al.*, 1996; Herbst *et al.*, 1999). De façon intéressante, il semble exister une corrélation entre l'expression de la famille HERV-K et l'évolution des tumeurs des cellules germinales (TCG). Deux études concordantes montrent qu'une majorité (62 à 78 %) des patients atteints de séminome ou d'un tératocarcinome présentent un titre élevé en anticorps anti-HERV-K au moment de la détection de la tumeur ou lors d'une récurrence; la prévalence chute fortement (11 à 0 %) après l'ablation de la tumeur, dès la première année (Boller *et al.*, 1997; Sauter *et al.*, 1995). De plus, il a été montré que des anticorps anti-HERV-K pouvaient être détectés plus de 6 mois avant le diagnostic du séminome (Goedert *et al.*, 1999). Ainsi, la détection du taux d'anticorps anti-HERV-K pourrait jouer un rôle diagnostique (voire prédictif) et pronostique (Goedert *et al.*, 1999; Sauter *et al.*, 1995), permettant un suivi thérapeutique post-opératoire, en complément des dosages d' $\alpha$ -foeto-protéine et de  $\beta$ hCG (Herbst *et al.*, 1996).

Les mécanismes d'implication de HERV-K dans l'étiologie vraisemblablement multifactorielle de ces pathologies demeurent non élucidés. On peut par exemple noter que le risque accru de cancer des testicules chez les malades atteints du SIDA ne peut être corrélé avec une détection des anticorps anti-HERV-K (Goedert *et al.*, 1999). Néanmoins, la détection de l'expression de HERV-K d'une part avant la formation de TCG invasives, d'autre part à la fois dans des TCG et dans des altérations trophoblastiques invasives, semble pouvoir contribuer à mieux comprendre la genèse de ces pathologies et à les classer (Herbst *et al.*, 1996; Herbst *et al.*, 1998; Herbst *et al.*, 1999).

Le profil d'expression de HERV-K dans les tératocarcinomes est celui présenté figure 3a (Löwer *et al.*, 1995), et correspond exclusivement à l'expression de HERV-K(HML-2) de sous-type 2. Celle-ci présente notamment un transcrite multi-épissé de 1,8 kb qui code une protéine de 14 kDa appelée originellement cORF (Löwer *et al.*, 1995) puis Rec (*regulator of expression encoded by corf*) (Yang *et al.*, 1999), par analogie aux protéines rétrovirales de régulation Rev (VIH) et Rex (HTLV). Cette protéine contient une région d'acides aminés basiques capable d'interagir avec un élément de réponse, désigné



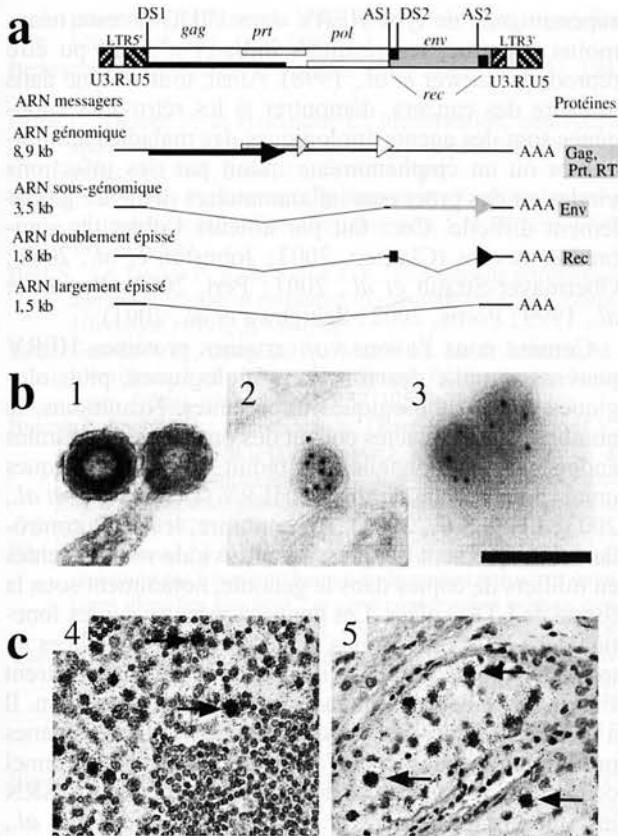


FIG. 3. – Expression de la famille HERV-K/HML-2 dans les tumeurs testiculaires

(a) L'analyse par Northern blot de l'expression de la famille HERV-K/HML-2 (HTDV) dans une lignée de tétarocarcinome montre l'existence de quatre transcrits pouvant résulter d'un processus d'épissage. Les transcrits codent pour les protéines de structure (Gag et Env) et de la machinerie enzymatique (Prt, RT), ainsi que pour une protéine de régulation du transport des ARNm (Rec), conduisant à la formation de particules.

(b) Mise en évidence de particules HERV-K/HTDV par microscopie électronique sur coupes ultrafines de cellules de tétarocarcinome -1- par marquage à l'or colloïdal -2- avec un anticorps anti Gag-HERV-K et -3- avec le sérum d'un patient atteint d'un tétarocarcinome; (barre 250 nm).

(c) Expression transcriptionnelle de HERV-K *in vivo*. -4- Détection d'ARNm HERV-K, par hybridation *in situ* avec une sonde *env*, dans les cellules néoplasiques d'un patient atteint de séminome, et -5- dans les cellules germinales néoplasiques intratubulaires; (grossissement  $\times 40$ ).

RcRE (*rec-responsive element*), couvrant les régions U3 et R de la LTR 3' de HERV-K (Löwer *et al.*, 1995). cORF intervient dans l'export des ARN viraux uni-épissés et non épissés dans le cytoplasme et par conséquent leur traduction en protéines (Magin *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1999). Une analyse récente a montré que 7 provirus parmi les 17 provirus de la famille HERV-K(HML-2) (prototype HML-2.HOM AF074086) sont capables de coder pour cORF (Mayer *et al.*, 2004). La protéine de régulation cORF favorise d'une part la croissance de tumeurs chez des souris «nude» et peut d'autre part lier le facteur de transcription PLZF requis pour la spermatogenèse (Boese *et al.*, 2000). Sachant qu'une spermatogenèse anormale pourrait prédisposer un patient au

développement des TCG, ces résultats suggèrent que HERV-K *via* cORF pourrait contribuer au processus de tumorigenèse testiculaire en interférant avec des mécanismes impliqués dans la spermatogenèse (Boese *et al.*, 2000).

## CONCLUSION

L'implication, dans le processus de fusion placentaire, de la protéine d'enveloppe Env codée par le locus ERVWE1 de la famille HERV-W et, dans le processus de tumorigenèse testiculaire, de la protéine de régulation Rec de HERV-K, sont deux exemples bien caractérisés illustrant le potentiel physiologique et pathologique des HERV. Néanmoins, les conséquences de l'acquisition-propagation de ces éléments transposables que sont les HERV restent pour l'essentiel à élucider, aussi bien du point de vue de l'évolution que des implications physiopathologiques. Les difficultés (notamment méthodologiques) auxquelles nous sommes confrontés sont liées d'une part au caractère relativement récent de ces gènes et, d'autre part, à leur distribution en familles présentant des centaines de copies apparentées mais dégénérées.

Ainsi, nous ne savons pas si la fonction de fusion/différenciation placentaire mise en évidence pour l'enveloppe ERVWE1 chez les Hominoïdes (Mallet *et al.*, 2004), à l'exclusion des autres Mammifères, relève d'un mécanisme additionnel, adaptatif ou de substitution (Harris, 1998; Villareal, 1997), considérant l'extrême diversité des structures placentaires observées dans la nature (Benirschke, 1998; Cross *et al.*, 2003). Les rétrovirus endogènes pourraient contribuer à une telle diversité soit grâce à la diversité des fonctions qu'ils supportent, soit grâce à la redondance des rôles qu'ils peuvent remplir. Ainsi, une hypothèse tentante est la cooptation de plusieurs fonctions par une même protéine d'enveloppe : fusion, résistance aux infections et immunosuppression. Ceci semble possible pour l'enveloppe de ERVWE1 compte tenu de son interaction avec un récepteur spécifique impliqué dans le mécanisme de fusion (Blond *et al.*, 2000) voire de résistance vis-à-vis de l'infection par des rétrovirus exogènes (Ponferrada *et al.*, 2003). Notons la proposition d'un mécanisme d'immunosuppression lié à la nature du récepteur de l'enveloppe de HERV-W, à savoir un transporteur d'acides aminés neutre, et l'hypothèse de l'influence du transport des acides aminés sur l'immunosuppression (Espinosa *et al.*, 2000; Rasko *et al.*, 1999). *A contrario*, une autre hypothèse pourrait prendre en compte la diversité et la redondance (totale ou partielle) des caractéristiques/fonctions portées par les enveloppes rétrovirales placentaires de différentes familles, ERV-3 (Lin *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2000; Venables *et al.*, 1995), HERV-E (4-1) (Kitamura *et al.*, 1994), ERVWE1 (Blond *et al.*, 2000) et HERV-FRD (Blaise *et al.*, 2003).

Cependant, quel que soit le contexte biologique étudié, il reste généralement difficile de démontrer si la ré-expression de séquences rétrovirales est une cause ou

une conséquence de ce contexte. Ainsi, l'appréhension du potentiel pathologique des HERV se heurte à un double niveau de complexité : d'une part, les pathologies auxquelles les HERV sont associés paraissent généralement multifactorielles; d'autre part chaque famille HERV ne représente pas un ensemble homogène du point de vue de l'expression, autrement dit l'expression d'une famille particulière de HERV n'est pas systématiquement le reflet de l'expression de tous les membres de cette famille, mais résulte plutôt en l'activation (sélective?) d'un nombre limité de copies rétrovirales pour lesquelles les processus de régulation restent à élucider. Les différents travaux portant sur la famille HERV-W illustrent parfaitement ce phénomène. En effet, l'expression de la famille HERV-W, forte dans le placenta majoritairement mais non exclusivement à travers l'activation du locus ERVWE1, est également détectable par des méthodes plus sensibles (RT-PCR) dans diverses lignées tumorales *in vitro* (Schön *et al.*, 2001) et dans divers contextes pathologiques *in vivo*, notamment dans les cancers ovariens (Menendez *et al.*, 2004), la schizophrénie (Karlsson *et al.*, 2001) et certaines maladies autoimmunes telles que la sclérose en plaques (SEP) (Perron *et al.*, 1997). Il y a maintenant 15 ans, Perron et ses collaborateurs ont observé des particules de type rétroviral en microscopie électronique dans les surnageants de culture de cellules leptoméningées de patients atteints de SEP (Perron *et al.*, 1989). Ces observations ont conduit à l'identification de séquences correspondant à la région *pol* d'un nouveau type rétroviral appelé MSVR (*multiple sclerosis associated retrovirus*) (Perron *et al.*, 1997), génétiquement homologue à HERV-W (Blond *et al.*, 1999; Komurian-Pradel *et al.*, 1999). De plus, une protéine d'enveloppe, apparentée phylogénétiquement à la famille HERV-W (87 % d'homologie avec l'enveloppe du locus ERVWE1), semble provoquer un processus d'altération de l'immunité de type superantigène, suggérant son implication dans la SEP (Perron *et al.*, 2001). Néanmoins, l'origine exacte de la séquence présentant cet effet biologique reste à déterminer, de même que le ou les loci exprimés (spécifiquement?) *in vivo* doivent être identifiés. Ainsi, il a été récemment suggéré que la surexpression de l'enveloppe codée par le locus ERVWE1 pourrait participer à la pathologie démyélinisante *via* la libération de radicaux libres (Antony *et al.*, 2004). Il est cependant possible qu'une activation extra-physiologique (stimulus proinflammatoire, infection virale) d'éléments particuliers de la famille HERV-W soit à l'origine de la plupart des transcrits détectés (Perron *et al.*, 2000). Notons que d'autres familles de HERV sont activées chez les patients SEP, telles les familles HERV-H (Christensen *et al.*, 1998), ERV-9 (Perron *et al.*, 1997) et HERV-K (Johnston *et al.*, 2001). Cette dernière famille, dont nous avons vu précédemment que l'expression était associée à divers cancers, contient en outre un locus, HERV-K18, qui semble responsable de la synthèse d'un peptide d'enveloppe présentant une activité superantigénique impliquée dans le diabète insulino-dépendant (IDDM) (Conrad *et al.*, 1997; Marguerat *et al.*, 2004; Stauffer *et al.*, 2001; Sutkowski *et al.*, 2001). Cette implication d'un

superantigène de type HERV dans l'IDDM reste néanmoins débattue, les résultats initiaux n'ayant pu être reproduits (Löwer *et al.*, 1998). Ainsi, tout comme dans le cadre des cancers, démontrer si les rétrovirus endogènes sont des agents étiologiques des maladies autoimmunes ou un épiphénomène induit par des infections virales ou des processus inflammatoires demeure globalement difficile. Ceci fait par ailleurs l'objet de nombreuses revues (Clausen, 2003; Johnston *et al.*, 2001; Obermayer-Straub *et al.*, 2001; Perl, 2003; Perron *et al.*, 1999; Portis, 2002; Sekigawa *et al.*, 2001).

Comme nous l'avons vu, certaines protéines HERV peuvent remplir des fonctions biologiques, physiologiques et/ou pathologiques importantes. Néanmoins, le nombre d'ORF intacts codant des protéines rétrovirales endogènes fonctionnelles est réduit à une ou quelques unités pour chaque famille de HERV (De Parseval *et al.*, 2003; I.H.G.S.C., 2001). Au contraire, les LTR contrôlant classiquement l'expression rétrovirale sont présentes en milliers de copies dans le génome, notamment sous la forme de LTR isolées. Les données récentes sur les fonctions des LTR rétrovirales, à côté des fonctions liées au tropisme cellulaire telles que décrites ci-avant, illustrent l'importance de ces séquences au cours de l'évolution. Il a été montré que l'expression des rétrovirus endogènes produit un phénomène d'interférence transcriptionnel conduisant au silence des gènes par un processus d'ARN interférents (Schramke *et al.*, 2003; Whitelaw *et al.*, 2001). Une implication directe des LTR dans la régulation de l'expression des gènes au cours de la différenciation cellulaire a été démontrée chez la levure, suggérant un mécanisme général chez les eukaryotes (Schramke *et al.*, 2003). Pour conclure, il a été récemment proposé que les rétrotransposons (et donc les HERV) sont les médiateurs épigénétiques des variations phénotypiques chez les Mammifères (Whitelaw *et al.*, 2001), le revers de la médaille étant qu'ils pourraient contribuer à la genèse et la progression des tumeurs (Tufarelli *et al.*, 2003; Whitelaw *et al.*, 2001).

**Remerciements.** – Nous remercions Klaus BOLLER et Hermann HERBST de nous avoir fourni leurs clichés de microscopie électronique, et Jean-Luc BLOND pour la relecture de cette revue.

## BIBLIOGRAPHIE

- Andersson G., Svensson A. C., Setterblad N. & Rask L., Retroelements in the human MHC class II region. *Trends Genet.*, 1998, 14 (3), 109-114.
- Antony J. M., van Marle G., Opti W., Butterfield D. A., Mallet F., Yong V. W., Wallace J. L., Deacon R. M., Warren K. & Power C., Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redox reactants causes oligodendrocyte death and demyelination. *Nature Neuroscience*, 2004, 7 (10), 1088-1095.
- Armbruster V., Sauter M., Krautkraemer E., Meese E., Kleiman A., Best B., Roemer K. & Mueller-Lantzsch N., A novel gene from the human endogenous retrovirus K expressed in transformed cells. *Clin. Cancer Res.*, 2002, 8, 1800-1807.
- Belshaw R., Pereira V., Katzourakis A., Talbot G., Paces J., Burt A. & Tristem M., Long-term reinfection of the human



- genome by endogenous retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 4894-4899.
- Benirschke K., Remarkable placenta. *Clin. Anat.*, 1998, 11, 194-205.
- Benit L., Dessen P. & Heidmann T., Identification, phylogeny, and evolution of retroviral elements based on their envelope genes. *J. Virol.*, 2001, 75, 11709-11719.
- Best S., Le Tissier P., Towers G. & Stoye J. P., Positional cloning of the mouse retrovirus restriction gene Fv1. *Nature*, 1996, 382, 826-829.
- Best S., Le Tissier P. R. & Stoye J. P., Endogenous retroviruses and the evolution of resistance to retroviral infection. *Trends Microbiol.*, 1997, 5, 313-318.
- Bi S., Gavrilova O., Gong D. W., Mason M. M. & Reitman M., Identification of a placental enhancer for the human leptin gene. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 30583-30588.
- Bieche I., Laurent A., Laurendeau L., Duret L., Giovangrandi Y., Frendo J. L., Olivi M., Fausser J. L., Evain-Brion D. & Vidaud M., Placenta-specific INSL4 expression is mediated by a human endogenous retrovirus element. *Biol. Reprod.*, 2003, 68, 1422-1429.
- Blaise S., Parseval N. N., Benit L. & Heidmann T., Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved in primate evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 13013-13018.
- Blanco P., Shlumukova M., Sargent C. A., Jobling M. A., Affara N. & Hurler M. E., Divergent outcomes of intrachromosomal recombination on the human Y chromosome: male infertility and recurrent polymorphism. *J. Med. Genet.*, 2000, 37, 752-758.
- Blond J. L., Beseme F., Duret L., Bouton O., Bedin F., Perron H., Mandrand B. & Mallet F., Molecular characterization and placental expression of HERV-W, a new human endogenous retrovirus family. *J. Virol.*, 1999, 73, 1175-1185.
- Blond J. L., Lavillette D., Cheynet V., Bouton O., Oriol G., Chapel-Fernandes S., Mandrand B., Mallet F. & Cosset F. L., An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J. Virol.*, 2000, 74, 3321-3329.
- Boeke J. D. & Stoye J. P., Retrotransposons, endogenous retroviruses, and the evolution of retroelements. In: *Retroviruses* (Coffin J. M., Hughes S. H., Varmus H. E., eds). New York: Cold Spring Harbor laboratory press, 1997, 343-435.
- Boese A., Sauter M., Galli U., Best B., Herbst H., Mayer J., Kremmer E., Roemer K. & Mueller-Lantzsch N., Human endogenous retrovirus protein cORF supports cell transformation and associates with the promyelocytic leukemia zinc finger protein. *Oncogene*, 2000, 19, 4328-4336.
- Boller K., Janssen O., Schuldes H., Tonjes R. R. & Kurth R., Characterization of the antibody response specific for the human endogenous retrovirus HTDV/HERV-K. *J. Virol.*, 1997, 71, 4581-4588.
- Boller K., Konig H., Sauter M., Mueller-Lantzsch N., Lower R., Lower J. & Kurth R., Evidence that HERV-K is the endogenous retrovirus sequence that codes for the human teratocarcinoma-derived retrovirus HTDV. *Virology*, 1993, 196, 349-353.
- Christensen T., Sorensen P. D., Riemann H., Hansen H. J. & Moller-Larsen A., Expression of sequence variants of endogenous retrovirus RGH in particle form in multiple sclerosis. *Lancet*, 1998, 352, 1033.
- Cianciolo G. J., Copeland T. D., Oroszlan S. & Snyderman R., Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope protein. *Science*, 1985, 230, 453-455.
- Clausen J., Endogenous retroviruses and MS: using ERVs as disease markers. *Int. MS J.*, 2003, 10, 22-28.
- Coffin J. M., Genetic diversity and evolution of retroviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1992, 176, 143-164.
- Conrad B., Weissmahr R. N., Böni J., Arcari R., Schüpbach J. & Mach B., A human endogenous retroviral superantigen as candidate autoimmune gene in type 1 diabetes. *Cell*, 1997, 90, 303-313.
- Cross J. C., Baczyk D., Dobric N., Hemberger M., Hughes M., Simmons D. G., Yamamoto H. & Kingdom J. C., Genes, development and evolution of the placenta. *Placenta*, 2003, 24, 123-130.
- De Parseval N. & Heidmann T., Physiological knockout of the envelope gene of the single-copy ERV-3 human endogenous retrovirus in a fraction of the Caucasian population. *J. Virol.*, 1998, 72, 3442-3445.
- De Parseval N., Lazar V., Casella J. F., Benit L. & Heidmann T., Survey of human genes of retroviral origin: identification and transcriptome of the genes with coding capacity for complete envelope proteins. *J. Virol.*, 2003, 77, 10414-10422.
- Depil S., Roche C., Dussart P. & Prin L., Expression of a human endogenous retrovirus, HERV-K, in the blood cells of leukemia patients. *Leukemia*, 2002, 16, 254-259.
- Dunn C. A., Medstrand P. & Mager D. L., An endogenous retroviral long terminal repeat is the dominant promoter for human  $\beta$ 1,3-galactosyltransferase 5 in the colon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 12841-12846.
- Espinosa A. & Villarreal L. P., T-Ag inhibits implantation by EC cell derived embryoid bodies. *Virus Genes*, 2000, 20, 195-200.
- Firouzi R., Rolland A., Michel M., Jouvin-Marche E., Hauw J. J., Malcus-Vocanson C., Lazarini F., Gebuhrer L., Seigneurin J. M., Touraine J. L., Sanhadji K., Marche P. N. & Perron H., Multiple sclerosis-associated retrovirus particles cause T lymphocyte-dependent death with brain hemorrhage in humanized SCID mice model. *J. Neurovirol.*, 2003, 9, 79-93.
- Flori A. R., Löwer R., Schmitz-Dräger B. J. & Schulz W. A., DNA methylation and expression of LINE-1 and HERV-K provirus sequences in urothelial and renal cell carcinomas. *Br. J. Cancer*, 1999, 80 (9), 1312-1321.
- Fraser J., Arcus V., Kong P., Baker E. & Proft T., Superantigen-powerful modifiers of the immune system. *Molecular Medicine Today*, 2000, 6 (3), 125-132.
- Frendo J. L., Olivier D., Cheynet V., Blond J. L., Bouton O., Vidaud M., Rabreau M., Evain-Brion D. & Mallet F., Direct involvement of HERV-W Env glycoprotein in human trophoblast cell fusion and differentiation. *Mol. Cell. Biol.*, 2003, 23, 3566-3574.
- Gardner M., Dandekar S. & Cardiff R., Molecular mechanism of an ecotropic MuLV restriction gene Akvr-1/FV-4 in California Wild mice. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1986, 127, 338-345.
- Goedert J. J., Sauter M. E., Jacobson L. P., Vessella R. L., Hilgartner M. W., Leitman S. F., Fraser M. C. & Mueller-Lantzsch N. G., High prevalence of antibodies against HERV-K10 in patients with testicular cancer but not with AIDS. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1999, 8, 293-296.
- Goff S. P., Operating under a Gag order: a block against incoming virus by the Fv1 gene. *Cell*, 1996, 86, 691-693.
- Guasch G., Popovici C., Mugneret F., Chaffanet M., Pontarotti P., Birnbaum D. & Pebusque M. J., Endogenous retroviral sequence is fused to FGFR1 kinase in the 8p12 stem-cell myeloproliferative disorder with t(8;19)(p12;q13.3). *Blood*, 2003, 101, 286-288.
- Hanahan D. & Weinberg R. A., The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, 100, 57-70.
- Harada F., Tsukada N. & Kato N., Isolation of three kinds of human endogenous-like sequences using tRNA<sup>Pro</sup> as a probe. *Nucleic Acids Res.*, 1987, 15, 9153-9162.
- Haraguchi S., Good R. A. & Day N. K., Immunosuppressive retro-

- viral peptides: cAMP and cytokine patterns. *Immunol. Today*, 1995, 16 (12), 595-603.
- Harris J. R., Placental endogenous retrovirus (ERV): structural, functional, and evolutionary significance. *BioEssays*, 1998, 20, 307-316.
- Herbst H., Kuhler-Obbarius C., Lauke H., Sauter M., Mueller-Lantzsch N., Harms D. & Loning T., Human endogenous retrovirus (HERV)-K transcripts in gonadoblastomas and gonadoblastoma-derived germ cell tumours. *Virchows Arch.*, 1999, 434, 11-15.
- Herbst H., Sauter M., Kuhler-Obbarius C., Loning T., & Mueller-Lantzsch N., Human endogenous retrovirus (HERV)-K transcripts in germ cell and trophoblastic tumours. *APMIS*, 1998, 106, 216-220.
- Herbst H., Sauter M. & Mueller-Lantzsch N., Expression of human endogenous retrovirus K elements in germ cell and trophoblastic tumors. *Am. J. Pathol.*, 1996, 149, 1727-1735.
- Hohenadl C., Germaier H., Walchner M., Hagenhofer M., Herrmann M., Sturzl M., Kind P., Hehlmann R., Erfle V. & Leib-Mösch C., Transcriptional activation of endogenous retroviral sequences in human epidermal keratinocytes by UVB irradiation. *J. Invest. Dermatol.*, 1999, 113 (4), 587-594.
- Hughes J. F. & Coffin J. M., Evidence for genomic rearrangements mediated by human endogenous retroviruses during primate evolution. *Nature genetics*, 2001, 29, 487-489.
- I.H.G.S.C. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 2001, 409, 860-921.
- Johnston J. B., Silva C., Holden J., Warren K. G., Clark A. W. & Power C., Monocyte activation and differentiation augment human endogenous retrovirus expression: implications for inflammatory brain diseases. *Ann. Neurol.*, 2001, 50, 434-442.
- Kamp C., Hirschmann P., Voss H., Huellen K. & Vogt P. H., Two long homologous retroviral sequence blocks in proximal Yq11 cause AZFa microdeletions as a result of intrachromosomal recombination events. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9, 2563-2572.
- Karlsson H., Bachmann S., Schroder J., McArthur J., Torrey E. F., & Yolken R. H., Retroviral RNA identified in the cerebrospinal fluids and brains of individuals with schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 4634-4639.
- Kato N., Pfeifer-Ohlsson S., Kato M., Larsson E., Rydner J., Ohlsson R. & Cohen M., Tissue-specific expression of human provirus ERV3 mRNA in human placenta: two of the three ERV3 mRNAs contain human cellular sequences. *J. Virol.*, 1987, 61, 2182-2191.
- Kekuda R., Prasad P. D., Fei Y. J., Torres-Zamorano V., Sinha S., Yang-Feng T. L., Leibach F. H. & Ganapathy V., Cloning of the sodium-dependent, broad-scope, neutral amino acid transporter Bo from a human placental choriocarcinoma cell line. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 18657-18661.
- Khodosevich K., Lebedev Y. & Sverdlov E. D., Large-scale determination of the methylation status of retrotransposons in different tissues using a methylation tags approach. *Nucleic Acids Res.*, 2004, 32, e31.
- Kim H. S., Yi J. M. & Jeon S. H., Isolation and phylogenetic analysis of HERV-K long terminal repeat cDNA in cancer cells. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2001, 17, 987-990.
- Kitamura M., Maruyama N., Shirasawa T., Nagasawa R., Watanabe K., Tateno M. & Yoshiki T., Expression of an endogenous retroviral gene product in human placenta. *Int. J. Cancer*, 1994, 58, 836-840.
- Knerr I., Beinder E. & Rascher W., Syncytin, a novel human endogenous retroviral gene in human placenta: evidence for its dysregulation in preeclampsia and HELLP syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002, 186, 210-213.
- Komurian-Pradel F., Paranhos-Baccala G., Bedin F., Ounanian-Paraz A., Sodoyer M., Ott C., Rajoharison A., Garcia E., Mallet F., Mandrand B. & Perron H., Molecular cloning and characterization of MSRV-related sequences associated with retrovirus-like particles. *Virology*, 1999, 260 (1), 1-9.
- Kudo Y., Boyd C. A., Sargent I. L. & Redman C. W., Hypoxia alters expression and function of syncytin and its receptor during trophoblast cell fusion of human placental BeWo cells: implications for impaired trophoblast syncytialisation in pre-eclampsia. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1638, 63-71.
- La Mantia G., Maglione D., Pengue G., Di Cristofano A., Simeone A., Lanfrancone L. & Lania L., Identification and characterization of novel human endogenous retroviral sequences preferentially expressed in undifferentiated embryonal carcinoma cells. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19, 1513-1520.
- Landry J. R., Rouhi A., Medstrand P. & Mager D. L., The opitz syndrome gene mid1 is transcribed from a human endogenous retroviral promoter. *Mol. Biol. Evol.*, 2002, 19, 1934-1942.
- Lee W. J., Kwun H. J., Kim H. S., & Jang K. L., Activation of the human endogenous retrovirus W long terminal repeat by herpes simplex virus type 1 immediate early protein 1. *Mol. Cells*, 2003, 15, 75-80.
- Lee X., Keith J. C., Jr., Stumm N., Moutsatsos I., McCoy J. M., Crum C. P., Genest D., Chin D., Ehrenfels C., Pijnenborg R., Van Assche F. A. & Mi S., Downregulation of placental syncytin expression and abnormal protein localization in pre-eclampsia. *Placenta*, 2001, 22, 808-812.
- Lin H., Mosmann T. R., Guilbert L., Tuntipipat S. & Wegmann T. G., Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J. Immunol.*, 1993, 151, 4562-4573.
- Lin L., Xu B. & Rote N. S., Expression of endogenous retrovirus ERV-3 induces differentiation in BeWo, a choriocarcinoma model of human placental trophoblast. *Placenta*, 1999, 20, 109-118.
- Lin L., Xu B. & Rote N. S., The cellular mechanism by which the human endogenous retrovirus ERV-3 env gene affects proliferation and differentiation in a human placental trophoblast model, BeWo. *Placenta*, 2000, 21, 73-78.
- Lindskog M., Medstrand P. & Blomberg J., Sequence variation of human endogenous retrovirus ERV9-related elements in an env region corresponding to an immunosuppressive peptide: transcription in normal and neoplastic cells. *J. Virol.*, 1993, 67, 1122-1126.
- Long Q. M., Bengra C., Li C. H., Kutlar F. & Tuan D., A long terminal repeat of the human endogenous retrovirus ERV-9 is located in the 5' boundary area of the human  $\beta$ -globin locus control region. *Genomics*, 1998, 54, 542-555.
- Löwer R., The pathogenic potential of endogenous retroviruses: facts and fantasies. *Trends Microbiol.*, 1999, 7 (9), 350-356.
- Löwer R., Löwer J. & Kurth R., The viruses in all of us: characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 5177-5184.
- Löwer R., Tönjes R. R., Boller K., Denner J., Kaiser B., Phelps R. C., Löwer J., Kurth R., Badenhop K., Donner H., Usadel K. H., Miethke T., Lapatschek M. & Wagner H., Development of insulin-dependent diabetes mellitus does not depend on specific expression of the human endogenous retrovirus HERV-K. *Cell*, 1998, 95, 11-14.
- Löwer R., Tönjes R. R., Korbmayer C., Kurth R. & Löwer J., Identification of a Rev-related protein by analysis of spliced transcripts of the human endogenous retrovirus HTDV/HERV-K. *J. Virol.*, 1995, 69 (1), 141-149.
- Maeda N., Nucleotide sequence of the haptoglobin and haptoglobin-related gene pair. *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 6698-6709.
- Mager D. L. & Freeman J. D., Human endogenous retrovirus genome with type C pol sequences and gag sequences rela-



- ted to human T-cell lymphotropic viruses. *J. Virol.*, 1987, 61, 4060-4066.
- Magin C., Löwer R. & Löwer J., cORF and RcRE, the Rev/Rex and RRE/RxRE homologues of the the human endogenous retrovirus family HTDV/HERV-K. *J. Virol.*, 1999, 73, 9496-9507.
- Mallet F., Bouton O., Prudhomme S., Cheynet V., Oriol G., Bonnaud B., Lucotte G., Duret L. & Mandrand B., The endogenous retroviral locus ERVWE1 is a bona fide gene involved in hominoid placental physiology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 1731-1736.
- Mangency M., De Parseval N., Thomas G. & Heidmann T., The full-length envelope of an HERV-H human endogenous retrovirus has immunosuppressive properties. *J. Gen. Virol.*, 2001, 82, 2515-2518.
- Marguerat S., Wang W. Y., Todd J. A. & Conrad B., Association of human endogenous retrovirus K-18 polymorphisms with type 1 diabetes. *Diabetes*, 2004, 53, 852-854.
- Mayer J., Ehlhardt S., Seifert M., Sauter M., Muller-Lantzsch N., Mehraein Y., Zang K. D. & Meese E., Human endogenous retrovirus HERV-K(HML-2) proviruses with Rec protein coding capacity and transcriptional activity. *Virology*, 2004, 322, 190-198.
- Medstrand P., Landry J. R. & Mager D. L., Long terminal repeats are used as alternative promoters for the endothelin B receptor and apolipoprotein C-I genes in humans. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 1896-1903.
- Menendez L., Benigno B. B. & McDonald J. F., L1 and HERV-W retrotransposons are hypomethylated in human ovarian carcinomas. *Mol. Cancer*, 2004, 3, 12.
- Mi S., Lee X., Li X., Veldman G. M., Finnerty H., Racie L., LaValle E., Tang X. Y., Edouard P., Howes S., Keith J. C., Jr. & McCoy J. M., Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, 2000, 403, 785-789.
- Miki Y., Nishisho I., Horii A., Miyoshi Y., Utsunomiya J., Kinzler K. W., Vogelstein B. & Nakamura Y., Disruption of the APC gene by a retrotransposal insertion of L1 sequence in a colon cancer. *Cancer Res.*, 1992, 52, 643-645.
- Mura M., Murcia P., Caporale M., Spencer T. E., Nagashima K., Rein A. & Palmarini M., Late viral interference induced by transdominant Gag of an endogenous retrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 11117-11122.
- Muster T., Waltenberger A., Grassauer A., Hirschl S., Caucig P., Romirer I., Fodinger D., Sepele H., Schanab O., Magin-Lachmann C., Lower R., Jansen B., Pehamberger H. & Wolff K., An endogenous retrovirus derived from human melanoma cells. *Cancer Res*, 2003, 63, 8735-8741.
- Nakamura A., Okazaki Y., Sugimoto J., Oda T. & Jinno Y., Human endogenous retroviruses with transcriptional potential in the brain. *J. Hum. Genet.*, 2003, 48, 575-581.
- Nihrane A., Fujita K., Willey R., Lyu M. S. & Silver J., Murine leukemia virus envelope protein in transgenic-mouse serum blocks infection *in vitro*. *J. Virol.*, 1996, 70, 1882-1889.
- O'Connell C. D., O'Brien S., Nash W. G. & Cohen M., ERV-3, a full-length human endogenous provirus: chromosomal localization and evolutionary relationships. *Virology*, 1984, 138, 225-235.
- Obermayer-Straub P. & Manns M. P., Hepatitis C and D, retroviruses and autoimmune manifestations. *J. Autoimmun.*, 2001, 16, 275-285.
- Ono M., Kawakami M. & Ushikubo H., Stimulation of expression of the human endogenous retrovirus genome by female steroid hormones in human breast cancer cell line T47D. *J. Virol.*, 1987, 61, 2059-2062.
- Ono M., Yasunaga T. & Ushikubo H., Nucleotide sequence of human endogenous retrovirus genome related to the mouse mammary tumor virus. *J. Virol.*, 1986, 60, 589-598.
- Patzke S., Lindeskog M., Munthe E. & Aasheim H. C., Characterization of a novel human endogenous retrovirus, HERV-H/F, expressed in human leukemia cell lines. *Virology*, 2002, 303, 164-173.
- Perl A., Role of endogenous retroviruses in autoimmune diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 2003, 29, 123-43, vii.
- Perl A., Rosenblatt J. D., Chen I. S., DiVincenzo J. P., Bever R., Poiesz B. J. & Abraham G. N., Detection and cloning of new HTLV-related endogenous sequences in man. *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 6841-6854.
- Perron H., Garson J. A., Bedin F., Beseme F., Paranhos-Baccala G., Komurian-Pradel F., Mallet F., Tuke P. W., Voisset C., Blond J. L., Lalande B., Seigneurin J. M., Mandrand B. & The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis, Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 7583-7588.
- Perron H., Geny C., Laurent A., Mouriquand C., Pellat J., Perret J. & Seigneurin J. M., Leptomeningeal cell line from multiple sclerosis with reverse transcriptase activity and viral particles. *Research Virology*, 1989, 140, 551-561.
- Perron H., Jouvin-Marche E., Michel M., Ounanian-Paraz A., Camelo S., Dumon A., Jolivet-Reynaud C., Marcel F., Souillet Y., Borel E., Gebuhrer L., Santoro L., Marcel S., Seigneurin J. M., Marche P. N. & Lafon M., Multiple sclerosis retrovirus particles and recombinant envelope trigger an abnormal immune response *in vitro*, by inducing polyclonal Vβ16 T-lymphocyte activation. *Virology*, 2001, 287, 321-332.
- Perron H., Perin J. P., Rieger F. & Alliel P. M., Particle-associated retroviral RNA and tandem RGH/HERV-W copies on human chromosome 7q: possible components of a "chain-reaction" triggered by infectious agents in multiple sclerosis? *J. Neurovirol.*, 2000, 6 (Suppl. 2), S67-S75.
- Perron H. & Seigneurin J. M., Human retroviral sequences associated with extracellular particles in autoimmune diseases: epiphenomenon or possible role in aetiopathogenesis? *Microbe. Infect.*, 1999, 1, 309-322.
- Ponferrada V. G., Mauck B. S. & Wooley D. P., The envelope glycoprotein of human endogenous retrovirus HERV-W induces cellular resistance to spleen necrosis virus. *Arch. Virol.*, 2003, 148, 659-675.
- Portis J. L., Perspectives on the role of endogenous human retroviruses in autoimmune diseases. *Virology*, 2002, 296, 1-5.
- Rasko J. E. J., Battini J. L., Gottschalk R. J., Mazo I. & Miller A. D., The RD114 simian type D retrovirus receptor is a neutral amino acid transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 2129-2134.
- Repaske R., O'Neill R. R., Steele P. E., & Martin M. A., Characterization and partial nucleotide sequence of endogenous type C retrovirus segments in human chromosomal DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983, 80, 678-682.
- Rouas-Freiss N., Gonçalves R. M. B., Menier C., Dausset J. & Carosella E. D., Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 11520-11525.
- Sanna E., Sanna M. P., Loddò C., Sanna L., Mura M., Cadelano T. & Leoni A., Endogenous jaagsiekte sheep retrovirus RNA is expressed by different cell types in ovine foetus and placenta. *Eur. J. Histochem.*, 2002, 46, 273-280.
- Sauter M., Schommer S., Kremmer E., Remberger K., Dolken G., Lemm I., Buck M., Best B., Neumann-Haefelin D. & Muller-Lantzsch N., Human endogenous retrovirus K10: expression of Gag protein and detection of antibodies in patients with seminomas. *J. Virol.*, 1995, 69, 414-421.
- Schiavetti F., Thonnard J., Colau D., Boon T. & Coulie P. G., A human endogenous retroviral sequence encoding an antigen recognized on melanoma by cytolytic T lymphocytes. *Cancer Res.*, 2002, 62, 414-421.



- Schön U., Seifarth W., Baust C., Hohenadl C., Erfle V. & Leib-Mosch C., Cell type-specific expression and promoter activity of human endogenous retroviral long terminal repeats. *Virology*, 2001, 279, 5510-5516.
- Schramke V. & Allshire R., Hairpin RNAs and retrotransposon LTRs effect RNAi and chromatin-based gene silencing. *Science*, 2003, 301, 1069-1074.
- Schulte A. M., Lai S., Kurtz A., Czubyko F., Riegel A. T. & Wellstein A., Human trophoblast and choriocarcinoma expression of the growth factor pleiotrophin attributable to germ-line insertion of an endogenous retrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 14759-14764.
- Seidl C., Donner H., Petershofen E., Usadel K. H., Seifried E., Kaltwasser J. P. & Badenhop K., An endogenous retroviral long terminal repeat at the HLA-DQB1 gene locus confers susceptibility to rheumatoid arthritis. *Hum. Immunol.*, 1999, 60, 63-68.
- Seifarth W., Baust C., Murr A., Skladny H., Krieg-Schneider F., Blusch J., Werner T., Hehlmann R. & Leib-Mosch C., Proviral structure, chromosomal location, and expression of HERV-K-T47D, a novel human endogenous retrovirus derived from T47D particles. *J. Virol.*, 1998, 72, 8384-8391.
- Sekigawa I., Ogasawara H., Kaneko H., Hishikawa T. & Hashimoto H., Retroviruses and autoimmunity. *Intern. Med.*, 2001, 40, 80-86.
- Shih A., Misra R. & Rush M. G., Detection of multiple, novel reverse transcriptase coding sequences in human nucleic acids: relation to primate retroviruses. *J. Virol.*, 1989, 63, 64-75.
- Spencer T. E., Mura M., Gray C. A., Griebel P. J. & Palmarini M., Receptor usage and fetal expression of ovine endogenous betaretroviruses: implications for coevolution of endogenous and exogenous retroviruses. *J. Virol.*, 2003, 77, 749-753.
- Stauffer Y., Marguerat S., Meylan F., Ucla C., Sutkowski N., Huber B., Pelet T. & Conrad B., Interferon- $\alpha$ -induced endogenous superantigen. A model linking environment and autoimmunity. *Immunity*, 2001, 15, 591-601.
- Stauffer Y., Theiler G., Sperisen P., Lebedev Y. & Jongeneel C. V., Digital expression profiles of human endogenous retroviral families in normal and cancerous tissues. *Cancer Immun.*, 2004, 4, 2.
- Sun C., Skaletsky H., Rozen S., Gromoll J., Nieschlag E., Oates R. & Page D. C., Deletion of azoospermia factor a (AZFa) region of human Y chromosome caused by recombination between HERV15 proviruses. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9, 2291-2296.
- Sutkowski N., Conrad B., Thorley-Lawson D. A. & Huber B. T., Epstein-Barr virus transactivates the human endogenous retrovirus HERV-K18 that encodes a superantigen. *Immunity*, 2001, 15, 579-589.
- Taylor C. S., Nouri A., Zhao Y., Takeuchi Y. & Kabat D., A sodium-dependent neutral-amino-acid transporter mediates infections of feline and baboon endogenous retroviruses and simian type D retroviruses. *J. Virol.*, 1999, 73, 4470-4474.
- Taruscio D. & Mantovani A., Eleven chromosomal integration sites of a human endogenous retrovirus (HERV 4-1) map close to known loci of thirteen hereditary malformation syndromes. *Teratology*, 1996, 54, 108-110.
- Taruscio D. & Mantovani A., Human endogenous retroviruses and environmental endocrine disruptors: a connection worth exploring? *Teratology*, 1998, 58, 27-28.
- Ting C. N., Rosenberg M. P., Snow C. M., Samuelson L. C. & Meisler M. H., Endogenous retroviral sequences are required for tissue-specific expression of a human salivary amylase gene. *Genes Dev.*, 1992, 6, 1457-1465.
- Tristem M., Identification and characterization of novel human endogenous retrovirus families by phylogenetic screening of the human genome mapping project database. *J. Virol.*, 2000, 74, 3715-3730.
- Tufarelli C., Stanley J. A., Garrick D., Sharpe J. A., Ayyub H., Wood W. G. & Higgs D. R., Transcription of antisense RNA leading to gene silencing and methylation as a novel cause of human genetic disease. *Nature genetics*, 2003, 34, 157-165.
- Turner G., Barbulescu M., Su M., Jensen-Seaman M. I., Kidd K. K. & Lenz J., Insertional polymorphisms of full-length endogenous retroviruses in humans. *Curr. Biol*, 2001, 11, 1531-1535.
- van Regenmortel M. H., Mayo M. A., Fauquet C. M. & Maniloff J., Virus nomenclature: consensus versus chaos. *Arch. Virol.*, 2000, 145, 2227-2232.
- Venables P. J., Brookes S. M., Griffiths D., Weiss R. A. & Boyd M. T., Abundance of an endogenous retroviral envelope protein in placental trophoblasts suggests a biological function. *Virology*, 1995, 211, 589-592.
- Villareal L. P., On viruses, sex, and motherhood. *J. Virol.*, 1997, 71 (2), 859-865.
- Voisset C., Bouton O., Bedin F., Duret L., Mandrand B., Mallet F. & Paranhos-Baccala G., Chromosomal distribution and coding capacity of the human endogenous retrovirus HERV-W family. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2000, 16, 731-740.
- Wang-Johanning F., Frost A. R., Jian B., Azerou R., Lu D. W., Chen D. T. & Johanning G. L., Detecting the expression of human endogenous retrovirus E envelope transcripts in human prostate adenocarcinoma. *Cancer*, 2003a, 98, 187-197.
- Wang-Johanning F., Frost A. R., Jian B., Epp L., Lu D. W. & Johanning G. L., Quantitation of HERV-K env gene expression and splicing in human breast cancer. *Oncogene*, 2003b, 22, 1528-1535.
- Weiss R. A., Retroviruses and human cancer. *Semin. Cancer Biol.*, 1992, 3, 321-328.
- Wentzensen N., Wilz B., Findeisen P., Wagner R., Dippold W., von Knebel D.M. & Gebert J., Identification of differentially expressed genes in colorectal adenoma compared to normal tissue by suppression subtractive hybridization. *Int. J. Oncol.*, 2004, 24, 987-994.
- Whitelaw E. & Martin D. I., Retrotransposons as epigenetic mediators of phenotypic variation in mammals. *Nature genetics*, 2001, 27, 361-365.
- Wilkinson D. A., Mager D. L. & Leong J. A. C., Endogenous human retroviruses. In: The retroviridae, Volume 3 (Levy J. A., ed.). New York: Plenum Press, 1994, 465-535.
- Willer A., Saussele S., Gimbel W., Seifarth W., Kister P., Leib-Mösch C. & Hehlmann R., Two groups of endogenous MMTV related retroviral env transcripts expressed in human tissues. *Virus Genes*, 1997, 15, 123-133.
- Yang J., Bogerd H. P., Peng S., Wiegand H., Truant R. & Cullen B. R., An ancient family of human endogenous retroviruses encodes a functional homolog of the HIV-1 Rev protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 13404-13408.