

# Comment le parasite Apicomplexe *Theileria* manipule-t-il l'identité cellulaire de son hôte bovin ?\*

Justine Marsolier et Jonathan B. Weitzman

Laboratoire Plasticité des Phénotypes Cellulaires, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Epigénétique et Destin Cellulaire, UMR7216 CNRS, 35 rue Hélène Brion, 75013 Paris, France

Auteur correspondant : Justine Marsolier, [marsolier.justine@gmail.com](mailto:marsolier.justine@gmail.com)

Reçu le 15 octobre 2014

**Résumé** – De nombreux micro-organismes, comme les bactéries et les virus, sont responsables du développement de certaines pathologies chez les mammifères. Cependant, les parasites Apicomplexes semblent également jouer un rôle dans les pathologies humaines et animales. Il s'agit de parasites eucaryotes intracellulaires. Dans cette revue, nous nous intéressons aux parasites bovins appartenant au genre *Theileria*. Nous allons décrire ici une caractéristique très intéressante de ce parasite qui est sa capacité à contrôler l'identité de sa cellule hôte et à induire la transformation de cette dernière en manipulant des voies de signalisation. *Theileria* régule ainsi l'activité de facteurs de transcription impliqués, par exemple, dans la prolifération cellulaire et/ou l'apoptose, ou des protéines engagées dans la régulation du cycle cellulaire.

**Mots clés** : Apicomplexes / *Theileria* / theileriose bovine / transformation cellulaire / Buparvaquone

**Abstract** – How does the apicomplexan parasite *Theileria* control host cell identity?

Infectious agents, like bacteria or virus, are responsible for a large number of pathologies in mammals. Microbes have developed mechanisms for interacting with host cell pathways and hijacking cellular machinery to change the phenotypic state. In this review, we focus on an interesting apicomplexan parasite called *Theileria*. Infection by the tick-transmitted *T. annulata* parasite causes Tropical Theileriosis in North Africa and Asia, and the related *T. parva* parasite causes East Coast Fever in Sub-Saharan Africa. This parasite is the only eukaryote known to induce the transformation of its mammalian host cells. Indeed, *T. annulata* and *T. parva* infect bovine leukocytes leading to transforming phenotypes, which partially mirror human lymphoma pathologies. *Theileria* infection causes hyperproliferation, invasiveness and escape from apoptosis, presumably through the manipulation of host cellular pathways. Several host-signaling mechanisms have been implicated. Here we describe the mechanisms involved in parasite-induced transformation phenotypes.

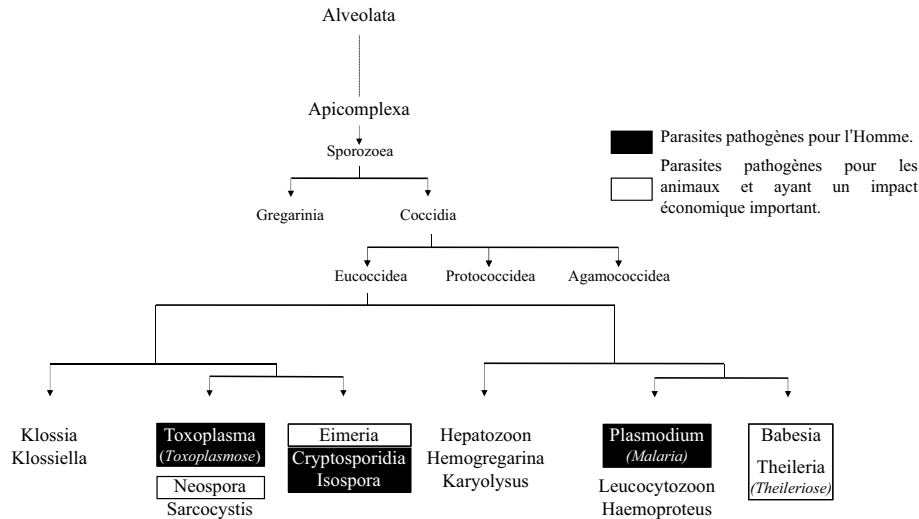
**Key words**: Apicomplexan parasites / *Theileria* / bovine theileriosis / cell transformation / Buparvaquone

## Introduction

De nombreux micro-organismes participent au développement de pathologies chez les mammifères.

Parmi ces micro-organismes pathogènes, les plus étudiés depuis leur découverte sont les virus et les bactéries. Cependant, un autre groupe, les parasites Apicomplexes, semble également jouer un rôle dans les pathologies humaines et animales.

\* Cet article présente les conclusions majeures d'une thèse qui a été soutenue par Justine Marsolier pour obtenir le titre de Docteur de l'Université Paris Diderot le 30 septembre 2013.



**Fig. 1.** Arbre phylogénétique du phylum des Apicomplexes. Les genres sur fond noir regroupent les Apicomplexes pathogènes pour l'Homme et ceux sur fond blanc et encadrés en noir représentent les Apicomplexes pathogènes pour les animaux et ayant un impact économique important.

Le phylum des Apicomplexes est composé d'un groupe de sporozoaires unicellulaires eucaryotes (figure 1). Ces parasites appartiennent à la division des Alveolates comme les Ciliés et les Dinoflagellés. Les Apicomplexes ont le plus souvent plusieurs hôtes au cours de leur cycle de vie. Ils sont caractérisés par la présence au niveau de leur région antérieure (partie apicale) d'une structure complexe impliquée dans l'invasion du parasite dans la cellule hôte (structure composée de microsphères, de rhoptries et/ ou de granules denses). La majorité des Apicomplexes possède également un plaste non photosynthétique appelé « apicoplaste » qui résulterait d'une endosymbiose secondaire avec les algues rouges (Fast *et al.*, 2001). L'apicoplaste est important pour la survie du parasite car il est le lieu de synthèse de métabolites comme les lipides. Une autre caractéristique des Apicomplexes est leur incapacité à synthétiser *de novo* les noyaux purines (Booden & Hull, 1973; Chaudhary *et al.*, 2004). Ainsi, ces parasites manipulent les voies de signalisation de leur hôte pour assurer leur accès aux nutriments, leur dissémination, leur transmission et éviter leur reconnaissance et leur destruction par le système immunitaire de l'hôte.

Le premier parasite Apicomplexe fut décrit par Leeuwenhoek en 1674 dans la vésicule biliaire d'un lapin et il s'agissait du parasite *Eimeria stiedai* (Revue – Levine, 1988). Depuis cette découverte, de nombreux parasites Apicomplexes ont été identifiés. Ce phylum contient plusieurs milliers d'espèces décrites dont certaines sont étudiées à cause de leur pathogénicité envers l'Homme ou leur importance économique dans le monde agricole (figure 1). Par exemple, le parasite *Toxoplasma gondii* est l'agent pathogène responsable

de la toxoplasmose chez l'Homme, décrit pour la première fois en 1908 à Tunis par Nicolle et Mancaux lors d'une épidémie sur un rongeur sauvage d'Afrique du Nord, le *Ctenodactylus gundi* (Revue – Meyer & de Andrade Mendonça, 1955). Ce parasite fut également décrit par Splendore chez des lapins infectés. La toxoplasmose est une maladie très répandue, bénigne et asymptomatique pour des sujets en bonne santé mais qui peut avoir des conséquences importantes chez des sujets immunodéprimés ou lors de la grossesse chez la femme. En effet, cette maladie peut engendrer des malformations du fœtus lorsqu'elle est contractée pour la première fois pendant la grossesse (Kaye, 2011; Kieffer & Wallon, 2013). Le parasite est transmis à l'hôte humain ou tout autre homéotherme par les excréments ou de la terre souillée par les déjections d'un félinid comme le chat infecté, qui est l'hôte définitif permettant la reproduction sexuée du parasite. *T. gondii* peut également être transmis à l'Homme par de l'eau ou des aliments contaminés.

*Plasmodium falciparum* est également un parasite pathogène humain, décrit en 1880 par le médecin Laveran en Algérie et responsable de la forme la plus sévère de la malaria ou paludisme (Revue – Mollaret, 1980). Les régions les plus touchées sont l'Afrique Sud-Saharienne et l'Asie du Sud-Est. La malaria se développe majoritairement chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Le parasite *P. falciparum* est transmis à l'hôte humain lors d'une piqûre par un moustique femelle Anophèle qui est l'hôte définitif permettant la reproduction sexuée du parasite (Plattner & Soldati-Favre, 2008)

Un autre parasite Apicomplexe intéressant est le parasite bovin *Theileria*. En effet, contrairement

aux autres parasites décrits ci-dessus, certains parasites *Theileria* induisent la transformation de leur cellule hôte. Malgré de nombreuses études, les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans ce phénomène restent peu connus. Dans cette revue, nous allons énoncer des indices nous permettant de mieux comprendre comment un parasite, situé à l'intérieur de sa cellule hôte, peut manipuler l'identité de cette dernière pour induire sa transformation. Pour cela, nous effectuerons dans un premier temps une description sommaire du genre *Theileria* puis nous décrirons plusieurs voies de signalisation de l'hôte dérégulées à la suite de l'infection parasitaire.

### ***Theileria* : un parasite (Api)complexe**

La première description d'un parasite *Theileria* a été faite en 1898 par Koch en Afrique du Sud. Le genre *Theileria* comporte une dizaine d'espèces, aux pouvoirs pathogènes différents. En effet, certaines sont peu ou pas pathogènes (comme *T. sergenti*, *T. mutans*, *T. velifera*, *T. tauratragi* et *T. orientalis/buffeli*), d'autres sont pathogènes et induisent une maladie grave (comme *T. annulata* et *T. parva* chez les bovins et *T. lestoquardi* chez les petits ruminants comme les moutons et chèvres). Les parasites *T. annulata* et *T. parva* sont les deux espèces les plus étudiées car elles causent chez les bovins infectés, la theileriose tropicale et la fièvre de la côte orientale, respectivement. *T. annulata* sévit dans le sud de l'Europe – Méditerranée, en Afrique du Nord et en Asie. *T. parva* est présent dans treize pays de l'Afrique subsaharienne principalement (Dobbelaere & Heussler, 1999). Nous décrirons ici plus précisément le parasite *T. annulata*.

L'infection bovine par *T. annulata* cause une maladie protozoose, inoculable et infectieuse. La theileriose tropicale décime des millions de troupeaux bovins (bœufs, buffles, zébus et bisons) et affecte la production de viande et de lait. En absence de traitement, la létalité consécutive à un cas clinique de theileriose tropicale varie entre 50 % dans les régions où la maladie est endémique, à 100 % dans les régions où la maladie est nouvellement introduite (Revue – Dobbelaere & Heussler, 1999). Par exemple, l'impact financier de la theileriose tropicale en Tunisie représente plusieurs millions d'euros (Gharbi *et al.*, 2006). Ainsi, l'identification de traitements efficaces pour soigner les animaux atteints de theileriose représente un enjeu économique pour ces pays.

Les premiers signes cliniques de l'infection par *T. annulata* sont la fièvre pouvant atteindre 42 °C, une forte anorexie, une anémie (due à la lyse des globules rouges infectés), une diarrhée hémorragique, des pétéchies dans les muqueuses. Dans la phase terminale de la maladie, les animaux infectés présentent

une hypertrophie des nodules lymphatiques, une dissémination des cellules infectées dans des tissus lymphoïdes et non lymphoïdes comme les poumons et le tractus gastro-intestinal conduisant à la mort de l'animal trois à quatre semaines après les premiers signes cliniques de l'infection (Dobbelaere & Heussler, 1999; Forsyth *et al.*, 1999). La sévérité des signes cliniques varie en fonction de la virulence de la souche de *T. annulata*, du nombre de parasites injectés par la tique ainsi que du nombre de tiques infectées parasitant l'animal et enfin de la sensibilité de l'animal. Certains facteurs comme le mode d'élevage, l'hygiène des étables et les conditions climatiques (la chaleur) contribuent au développement de la tique. Les lésions observées chez les animaux infectés présentent des analogies avec les lymphomes et les leucémies humaines. Cependant ces parasites ne semblent pas pathogènes pour l'Homme.

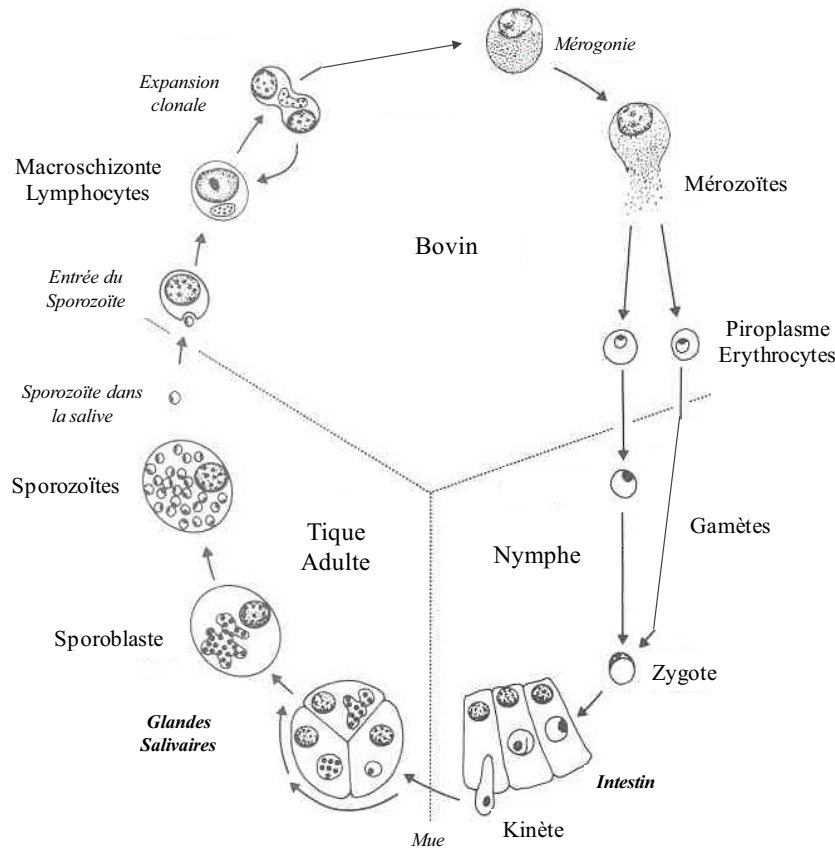
Il existe évidemment des outils de lutte contre la theileriose bovine comme l'utilisation d'acaricides dans les étables pour éliminer les larves et les tiques adultes (Dobbelaere & Heussler, 1999) et des theilericides qui permettent l'élimination du parasite chez les bovins infectés traités. Ces theilericides appartiennent à la famille des hydroxynathoquinones (comme la Buparvaquone) et permettent l'élimination spécifique du parasite dans la cellule hôte et donc la survie du bovin s'ils sont administrés rapidement après l'apparition des symptômes cliniques (Dhar *et al.*, 1986).

### **Cycle de vie de *T. annulata***

Le cycle biologique de *T. annulata* comporte deux phases. La première phase se développe chez la tique vectrice Ixodidé et la deuxième phase se déroule chez l'hôte bovin (figure 2).

#### **Chez la tique**

La première phase implique une tique du genre *Hyalomma*. Les nymphes s'infectent lors d'un repas sanguin sur un bovin infecté par *T. annulata*. Le parasite se développe au niveau de l'intestin de la nymphe où il produit des gamètes lors d'une phase de gamétogonie. Les gamètes fusionnent ensuite pour former un zygote qui va envahir les cellules intestinales. La nymphe effectue ensuite une diapause pendant la saison hivernale. Lors de la mue de la tique (conditions climatiques plus chaudes), le zygote se transforme en kinète mobile puis gagne les glandes salivaires où il va se diviser (division nucléaire sans cytotodièrese complète) pour former un sporoblaste. Lors d'un repas sanguin, il se forme dans les glandes salivaires de la tique un nombre très élevé de sporozoïtes à partir du sporoblaste (Dobbelaere & Heussler, 1999).



**Fig. 2.** Cycle de vie de *Theileria annulata*. Le parasite *Theileria* a un cycle biphasique. La première étape de son cycle de vie a lieu chez la tique puis la seconde étape a lieu chez le bovin à la suite de la morsure de l'animal par une tique vectrice contenant les parasites *Theileria* dans ses glandes salivaires. Les parasites ainsi introduits infectent les lymphocytes, monocytes ou macrophages bovins. (Adaptée de la Figure 5 du site internet : <http://www.ilri.org/InfoServ/Webpub/fulldocs/Irad90/Theile.htm>).

### Chez le bovin

Lors de la seconde phase, le bovin est infecté par une ou plusieurs tiques adultes porteuses de parasites. Les sporozoïtes de *T. annulata* contenus dans la salive de la tique sont inoculés au bovin lors du repas sanguin de la tique, le troisième ou quatrième jour de fixation de la tique adulte sur la vache. Quelques minutes après la morsure de la tique, les sporozoïtes infectent les lymphocytes, monocytes ou macrophages bovins où ils se différencient en trophozoïtes. Deux à trois jours après l'infection, les trophozoïtes se différencient en macroschizontes multinucléés qui se multiplient en entraînant une division des cellules infectées. Ces cellules sont alors transformées (Dobbelaere & Rottenberg, 2003). Les cellules parasitées envahissent les nœuds lymphatiques drainant le lieu de morsure de la tique puis se disséminent dans plusieurs organes. En parallèle, une portion des macroschizontes se différencie en mérozoïtes lors de la mérogonie, ce qui induit la lyse de la cellule hôte. Ces mérozoïtes libres vont infecter des érythrocytes où ils se différencient en piroplasmes.

Les cellules érythrocytaires infectées seront ingérées lors du repas sanguin d'une autre tique (Dobbelaere & Heussler, 1999).

Le parasite eucaryote intracellulaire *Theileria* induit la transformation des leucocytes mononucléés à la suite de l'infection. *In vitro*, les cellules infectées par *T. annulata* présentent une prolifération accrue indépendante des facteurs de croissance et des cytokines (Dobbelaere & Heussler, 1999). *In vivo*, elles possèdent de fortes capacités de migration et d'invasion. En effet, les cellules infectées forment des tumeurs lorsqu'elles sont injectées à des souris immunodéficientes et sont capables d'envahir les tissus lymphoïdes ou non lymphoïdes (Fell & Preston, 1993; Lizundia *et al.*, 2006).

### Entrée du parasite dans la cellule hôte

Les parasites du genre *Theileria* entrent dans leur cellule hôte par un mécanisme passif et non orienté, ne

nécessitant pas d'apport énergétique. La protéine parasitaire p67 permet la reconnaissance et la fixation du parasite sur la cellule hôte. Puis le parasite est internalisé et perd la protéine p67 lors de ce processus (Webster *et al.*, 1985). Contrairement aux autres parasites Apicomplexes, *Theileria* induit ensuite la dégradation de la membrane de la vacuole parasitophore dans laquelle il se trouve (grâce à la libération des protéines contenues dans les microsphères et les rhoptries) et reste dans le cytoplasme de la cellule hôte où il est entouré par les microtubules de l'hôte (Dobbelaere & Heussler, 1999). Le récepteur cellulaire ciblé par la protéine parasitaire p67 est peu connu mais il est possible que l'invasion parasitaire implique les complexes majeurs d'histocompatibilité (MHC) car l'utilisation d'anticorps contre ces protéines ou leur déletion dans les cellules bovines inhibent la reconnaissance et l'infection des cellules par les sporozoïtes (Shaw *et al.*, 1991, 1995).

Les deux parasites transformants *T. annulata* et *T. parva* infectent des cellules sanguines différentes. Spooner et ses collaborateurs ont montré que le parasite *T. annulata* infecte préférentiellement les cellules lymphocytaires B, les macrophages et les monocytes mais pas les lymphocytes T. Au contraire, le parasite *T. parva* infecte les lymphocytes T mais pas les monocytes et peu les lymphocytes B (Spooner *et al.*, 1989). De plus, contrairement à *T. parva*, *T. annulata* peut infecter les cellules sanguines des moutons et des chèvres (Dobbelaere & Heussler, 1999).

## La transformation cellulaire de l'hôte

Lors du cycle de vie de *Theileria*, le stade macroschizonte est le stade transformant car il induit la prolifération importante de sa cellule hôte. Dans cette section, nous aborderons certains mécanismes moléculaires impliqués dans la manipulation de l'identité de la cellule hôte par les parasites *Theileria*.

Lors de la division cellulaire, le parasite s'associe de façon étroite avec les microtubules de l'hôte pour assurer sa répartition dans les deux cellules filles. Seitzer et ses collègues ont démontré l'implication de la protéine parasitaire de surface TaSP et de la protéine TaSE lors de la division cellulaire. En effet, TaSP et TaSE interagissent avec l'alpha tubuline des MTOC (*MicroTubule Organizing Center*), des centrioles, du fuseau mitotique et du pont intermédiaire (ou *midbody*) lors de la division mitotique (Schneider *et al.*, 2007; Seitzer *et al.*, 2010). En parallèle, le laboratoire de Dobbelaere a observé que le parasite recrute la protéine kinase PLK1 (*Polo Like Kinase 1*) à sa surface. Cette interaction est essentielle pour l'association du parasite avec le fuseau mitotique et la répartition des parasites dans les cellules filles (von Schubert

*et al.*, 2010). De plus, récemment, ce laboratoire a identifié la protéine parasitaire de surface p104 comme interagissant avec EB1 (*End-Binding protein 1*), une protéine de l'extrémité plus des microtubules, essentielle pour la dynamique de ces derniers (Woods *et al.*, 2013). Grâce à cette interaction, qui est régulée au cours du cycle cellulaire, le parasite pourrait contrôler le cytosquelette de son hôte.

## Les principales voies de signalisation de la cellule hôte dérégulées par le parasite

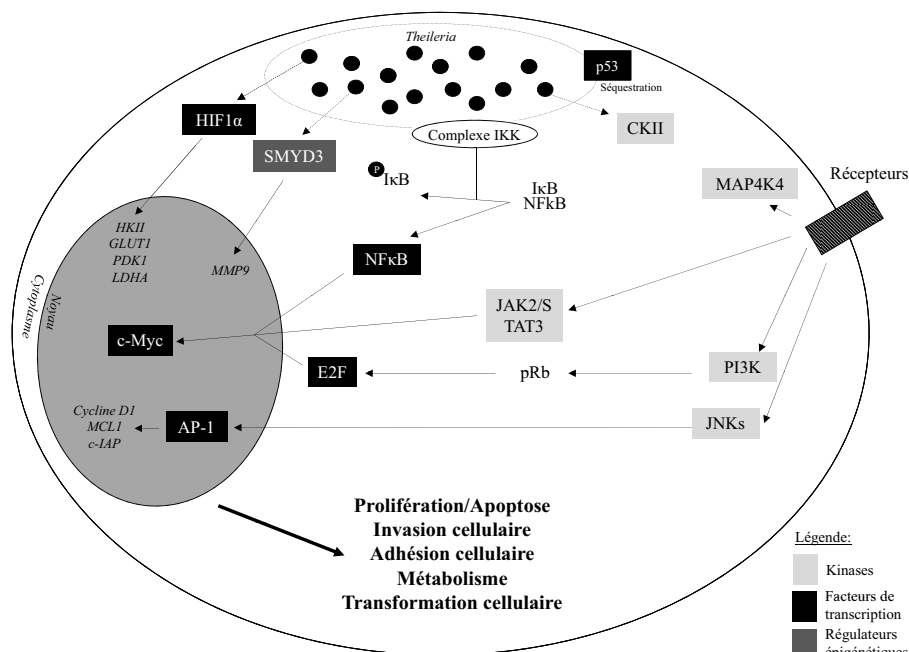
Lorsque le parasite est dans le cytoplasme de la cellule hôte, il lui faut survivre, ce qui implique d'inhiber l'apoptose de sa cellule hôte mais aussi de se multiplier en induisant la prolifération de la cellule infectée indépendamment de la présence de facteurs de croissance et également de se disséminer dans le reste de l'organisme en favorisant les capacités invasives de la cellule. Le parasite a la capacité d'interférer avec de nombreuses voies de signalisation de l'hôte pour réguler l'activité de facteurs de transcription impliqués dans la prolifération cellulaire et/ou l'apoptose, ou des protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire comme JNK/AP-1, p53, NF $\kappa$ B, ou c-Myc (Ivanov *et al.*, 1989; Chaussepied *et al.*, 1998; Dessauge *et al.*, 2005; Lizundia *et al.*, 2006; Haller *et al.*, 2010) (figure 3).

### Les kinases

#### - JNK

De nombreuses kinases sont activées à la suite de l'infection parasitaire : par exemple, CKII (*Casein Kinase II*) (ole-MoiYoi *et al.*, 1993), PI3K (*Phosphoinositide 3-kinase*) (Shiels *et al.*, 2006) et JNK (Chaussepied *et al.*, 1998). Les protéines JNK (*c-Jun N-terminal Kinases*) sont des kinases appartenant à la famille des MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinases*) et jouent un rôle dans de nombreux processus cellulaires comme la réponse aux stress, les réponses inflammatoires, la prolifération cellulaire ou encore l'adhérence cellulaire (You *et al.*, 2013).

Chez *Theileria*, l'activation des kinases JNK1 et JNK2 induit une phosphorylation et une activation constitutive, entre autres, du facteur de transcription c-Jun qui est un composant du complexe AP-1 (*Activating Protein 1*). Ce complexe va ensuite migrer dans le noyau des cellules infectées pour permettre l'expression des gènes cibles de AP-1 comme la *Cycline D1* jouant un rôle dans la prolifération cellulaire. De plus, l'inhibition de c-Jun dans les cellules



**Fig. 3.** Les voies de signalisation activées par suite de l'infection lymphocytaire bovine par le parasite *Theileria*. Le parasite active plusieurs voies de signalisation de la cellule hôte pour manipuler son identité. La régulation de ces voies de signalisation permet, par exemple, de contrôler la prolifération/apoptose, les capacités invasives et adhésives de la cellule hôte ainsi que son métabolisme.

parasitées réduit la croissance tumorale, l'invasion cellulaire *in vitro* et la formation de métastases *in vivo* (Lizundia *et al.*, 2006). L'inhibition de c-Jun sensibilise les cellules parasitées à l'apoptose par suite de la répression des protéines anti-apoptotiques MCL1 (*Myeloid Cell Leukemia-1*) et c-IAP (*Inhibitor of Apoptosis*) (Lizundia *et al.*, 2006).

Les autres composants du complexe AP-1 (par exemple, c-Fos, JunB, JunD) sont également surexprimés après l'infection parasitaire (Chaussepied *et al.*, 1998). Les kinases JNK régulent l'activité de TCR/Elk1 (des substrats de la kinase ERK qui ne semble pas activée dans les cellules infectées par *Theileria*) qui contrôlent notamment l'expression de c-Fos (Dobbelaere & Heussler, 1999). Ainsi, dans les cellules parasitées, la régulation de l'expression/activation de c-Jun et c-Fos et de l'activation du complexe AP-1 pourrait jouer un rôle clé dans la transformation et l'invasion induites par ce parasite.

#### - MAP4K4

MAP4K4 (*Mitogen-activated kinase kinase kinase kinase 4*) est une kinase Serine/Thréonine proto-oncogénique qui contrôle la dynamique du cytosquelette et la motilité cellulaire.

Récemment, Ma et ses collaborateurs ont démontré qu'à la suite de l'infection par *Theileria*,

l'induction chronique de TNF $\alpha$  régule l'expression de MAP4K4, ce qui permet le contrôle de la formation dynamique des lamellipodes d'actine, de la motilité et de l'invasion cellulaire (Ma & Baumgartner, 2014).

#### Les facteurs de transcription

##### - p53

Le facteur de transcription p53 régule le cycle cellulaire, l'apoptose ou encore la réparation des dommages à l'ADN en réponse à un stress. p53 est considéré comme le « gardien du génome ». Il est indispensable au maintien de l'intégrité cellulaire et est souvent muté ou sous-exprimé dans les cancers humains (Muller & Vousden, 2014).

En 2010, Haller et ses collaborateurs ont observé que p53 interagit avec la surface du macroschizonte dans les cellules infectées, ce qui induit une séquestration de ce facteur qui ne peut plus activer les voies de signalisation d'arrêt du cycle cellulaire et/ou de l'apoptose (Haller *et al.*, 2010). L'élimination du parasite induit la translocation de p53 dans le noyau de la cellule hôte, l'expression des gènes pro-apoptotiques *BAX* (*Bcl2-Associated X protein*) et *APAF-1* (*Apoptotic Peptidase activating Factor 1*) et la répression du gène anti-apoptotique *BCL2* (*B-cell CLL/Lymphoma 2*). Les mécanismes impliqués dans

la séquestration de p53 par le parasite ne sont pas connus (protéine parasitaire ou autre protéine bovine interagissant avec la surface du parasite et p53?).

#### - NF $\kappa$ B

Le facteur de transcription NF $\kappa$ B (*Nuclear Factor-kappa B*) régule l'expression des nombreuses cytokines, molécules d'adhésion ou encore des gènes impliqués dans la prolifération ou l'apoptose dont *c-Myc*. Lors d'un signal extracellulaire, comme TNF $\alpha$  (*Tumor necrosis factor  $\alpha$* ), NF $\kappa$ B qui est composé de deux sous-unités, est activé à la suite de la phosphorylation des résidus Ser32/36 de l'inhibiteur I $\kappa$ B $\alpha$ / I $\kappa$ B $\beta$  par la kinase IKK (*I $\kappa$ B kinase*) qui induit l'ubiquitination et la dégradation par le protéasome de I $\kappa$ B $\alpha$  et/ou I $\kappa$ B $\beta$ . NF $\kappa$ B peut alors migrer dans le noyau et activer l'expression de ses gènes cibles (Liang *et al.*, 2004).

NF $\kappa$ B est constitutivement actif dans les cellules infectées par *Theileria* et les protègent contre l'apoptose (Ivanov *et al.*, 1989). En effet, en présence du parasite, ce dernier induit la dégradation de I $\kappa$ B $\alpha$  et I $\kappa$ B $\beta$  permettant une activation prolongée de NF $\kappa$ B. Le parasite recrute à sa surface un complexe IKK signalosome contenant la protéine IKK (qui s'active par autophosphorylation) et l'inhibiteur I $\kappa$ B $\alpha$  phosphorylé (Heussler *et al.*, 2002). Ainsi, le parasite manipule directement la voie de signalisation NF $\kappa$ B par un mécanisme appelé « *proximity induced activation* ». La protéine parasitaire interagissant avec le complexe IKK signalosome n'est pas connue.

Après une stimulation par TNF $\alpha$  (grâce à une boucle autocrine induite par le parasite), le facteur NF $\kappa$ B est activé et favorise la prolifération des cellules parasitées (Guernon *et al.*, 2003). NF $\kappa$ B est donc important pour la prolifération des cellules infectées par *Theileria*.

#### - c-Myc

*c-Myc* est un proto-oncogène surexprimé dans plusieurs cancers humains. Ce facteur de transcription est impliqué dans de nombreux processus cellulaires comme la prolifération, l'apoptose, la différenciation cellulaire ou encore le métabolisme glucidique (Meyer & Penn, 2008).

En 2005, Dessauge et ses collègues ont démontré un rôle anti-apoptotique de *c-Myc* dans les cellules infectées par *Theileria (parva)* (Dessauge *et al.*, 2005). En effet, à la suite de l'infection, le parasite induit l'expression de *c-Myc* via la voie de signalisation JAK2/STAT3 (*Janus Kinase 2/Signal Transducer and Activator of Transcription 3*) ou PI3K et augmente également sa stabilité protéique (via CKII). L'inhibition spécifique de *c-Myc* grâce à l'utilisation d'un

siARN, inhibe la protéine anti-apoptotique MCL1 et induit la mort des cellules parasitées. Ainsi, comme NF $\kappa$ B et AP-1, *c-Myc* semble jouer un rôle essentiel dans la survie de l'hôte après une infection par *Theileria*.

#### - HIF1 $\alpha$

Le facteur d'hypoxie HIF1 $\alpha$  régule de nombreux gènes impliqués notamment dans le métabolisme du glucose (et plus précisément la glycolyse). Ce facteur de transcription joue un rôle dans l'effet Warburg qui conduit les cellules cancéreuses à convertir le glucose en acide lactique même en conditions aérobiques, ce qui participe à leur transformation cellulaire (Semenza, 2007).

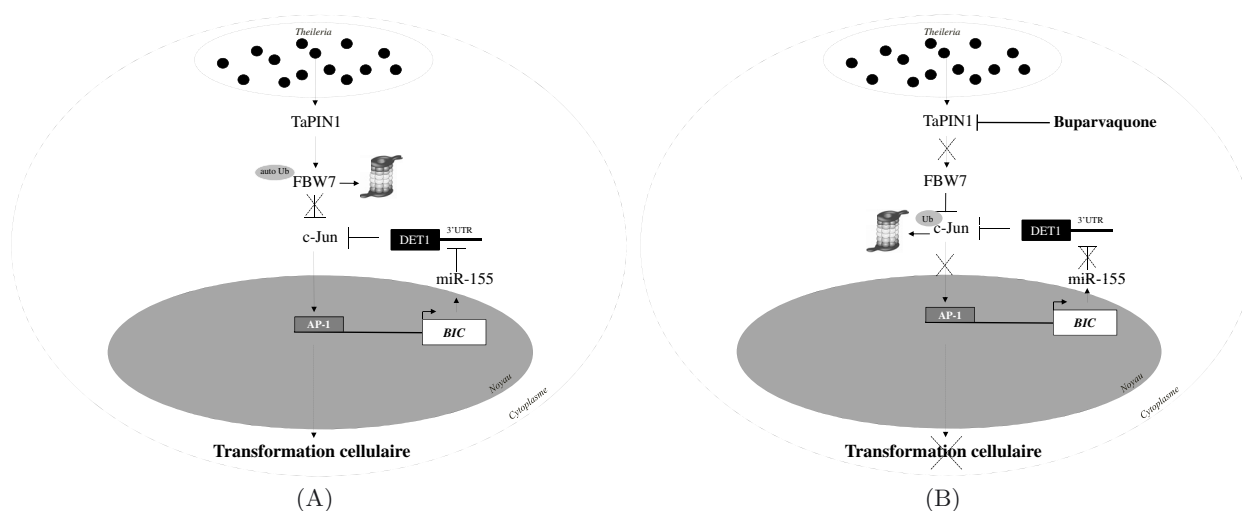
*Theileria* induit un changement dans le métabolisme de la cellule hôte, « *Warburg-like effect* », en stabilisant le facteur de transcription HIF1 $\alpha$  (Medjkane *et al.*, 2013; Metheni *et al.*, 2014). En effet, les cellules infectées ont une consommation en glucose et une production de lactate élevées. Ce phénotype de « glycolyse aérobie » est réduit après l'élimination du parasite. L'infection parasitaire induit un niveau élevé de ROS (*Reactive Oxygen Species*), ce qui stabilise HIF1 $\alpha$  au niveau protéique et induit l'expression des gènes codant pour les enzymes de la glycolyse *GLUT1 (GLucose Transporter 1)*, *HKII (HexoKinase-2)* mais également *LDHA (L-lactate DeHydrogenase A)* qui est nécessaire à la conversion du pyruvate en lactate et *PDK1 (Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1)* qui inhibe le cycle de Krebs. La stabilisation de HIF1 $\alpha$  est essentielle au pouvoir transformant des cellules infectées. Ainsi, en contrôlant la stabilité de HIF1 $\alpha$ , *Theileria* module le métabolisme de son hôte, ce qui contribue à sa transformation.

### Les régulateurs épigénétiques

#### - SMYD3

SMYD3 (*SET and MYND domain-containing protein 3*) est une histone méthyltransférase surexprimée dans certains types de cancers humains (Hamamoto *et al.*, 2004, 2006; Silva *et al.*, 2008).

*Theileria* augmente les capacités invasives des cellules hôtes en régulant SMYD3 et l'expression d'une de ses cibles, la métalloprotéase MMP9 (*Matrix MetalloProtease 9*) (Cock-Rada *et al.*, 2011). En effet, à la suite de l'infection parasitaire, l'expression de SMYD3 est fortement induite. SMYD3 régule alors l'état de triméthylation de l'histone H3K4 au niveau du promoteur de *MMP9*, permettant l'expression de ce gène impliqué dans l'invasion cellulaire. Le mécanisme responsable de l'expression de SMYD3 suivant l'infection par *Theileria* n'est pas connu.



**Fig. 4.** *T. annulata* manipule l'identité de sa cellule hôte pour induire sa transformation. A – Le parasite *Theileria* sécrète la protéine TaPIN1 dans le noyau et le cytoplasme de la cellule hôte. Cette PPIase participe à la transformation cellulaire de l'hôte. B – Après un traitement à la Buparvaquone, la transformation cellulaire induite par *T. annulata* est inhibée.

- miR-155

miR-155 est un oncomiR conservé, contenu dans le dernier exon du gène non codant *BIC/miR155HG*. miR-155 est surexprimé dans les cancers des cellules sanguines ou lymphatiques et dans des tumeurs solides, comme par exemple les cancers du sein (Chang *et al.*, 2011; Velkova & Monteiro, 2011; Chen *et al.*, 2012; Kong *et al.*, 2013), du pancréas (Gironella *et al.*, 2007) et est associé à un pronostic vital faible.

Dans une étude récente, notre laboratoire a démontré la manipulation de l'expression des gènes de l'hôte par le parasite *T. annulata* via la régulation des microARNs dont miR-155 (Marsolier *et al.*, 2013). Le parasite induit une boucle de régulation positive impliquant l'expression de miR-155 qui va induire la dégradation de DET1 (*De-ETiolated 1*, un composant du complexe ubiquitine ligase E3 DCX-DET1-COP1), la stabilisation du facteur de transcription c-Jun (une cible connue de DET1) et l'activation du complexe AP-1, permettant l'expression du promoteur du gène contenant miR-155 : *BIC*. Cette boucle de régulation est essentielle pour la survie et la transformation des cellules infectées créant alors un état d' « oncomiR addiction ». Cependant, même après cette étude, un certain nombre de questions restait sans réponse : Comment le parasite induit-il l'expression de miR-155 pour initier cette boucle de régulation ? Pourquoi la cellule hôte reste-t-elle dépendante de la présence du parasite après la mise en place de cette boucle de régulation positive de l'expression de miR155 ?

## Comment le parasite contrôle-t-il les voies de signalisation de sa cellule hôte ?

### Le parasite *Theileria* sécrète la protéine TaPIN1

Afin de comprendre comment le parasite induit la transformation de sa cellule hôte, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle le parasite *Theileria* sécrète une ou plusieurs protéines dans le cytoplasme et/ou le noyau de sa cellule hôte pour contrôler les voies de signalisation de cette dernière et induire sa transformation. Nous avons alors identifié une protéine sécrétée par le parasite dans la cellule hôte bovine, essentielle à la transformation induite par *T. annulata* (Marsolier *et al.*, 2015). En effet, nous avons identifié une phospho-spécifique peptidyl prolyl *cis-trans* isomérase (PPIase) que nous avons nommée TaPIN1 (TA18945) qui manipule la voie de signalisation FBW7/c-Jun pour réguler la transformation de la cellule hôte. TaPIN1 permet la stabilisation de c-Jun (une cible de l'ubiquitine ligase FBW7, *F-Box/WD repeat-containing protein 7*) en inhibant son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome. Nous avons également identifié TaPIN1 comme une cible cellulaire du theilericide Buparvaquone. Ainsi, cette étude apporte des éléments de réponse aux questions posées ci-dessus et permet de proposer le modèle suivant (figure 4) :

Lors de l'infection par le parasite *T. annulata*, ce dernier sécrète la PPIase TaPIN1 dans le cytoplasme et le noyau de sa cellule hôte. TaPIN1 interagit avec l'ubiquitine ligase FBW7 et induit son ubiquitination



et sa dégradation par le protéasome. L'élimination de FBW7 permet la stabilisation de c-Jun, l'activation du complexe AP-1 qui peut alors activer l'expression de ses gènes cibles dont *BIC*. Ainsi, la sécrétion de TaPIN1 participerait à l'activation de AP-1 et à l'expression de *BIC*/miR-155 et donc à l'initiation et/ou le maintien de la boucle de régulation positive miR-155/DET1/c-Jun (figure 4A).

La Buparvaquone et les autres inhibiteurs de TaPIN1 diminuent les capacités transformées des cellules infectées en inhibant l'activité ou la fixation de TaPIN1 à ses substrats (et/ou sa sécrétion par le parasite?). FBW7 est alors stabilisée et induit la dégradation de c-Jun qui ne peut plus activer l'expression de ses gènes cibles dont *miR-155* et maintenir la boucle miR155/DET1/c-Jun. Ainsi, la présence du parasite et la sécrétion de TaPIN1 fonctionnelle semblent essentielles pour le maintien de la boucle de régulation positive permettant une expression constante de miR-155 et l'inhibition de DET1 (figure 4B).

Comme nous l'avons vu précédemment, l'infection parasitaire par *Theileria* est caractérisée par la régulation de plusieurs voies de signalisation de l'hôte comme NF $\kappa$ B, c-Myc ou encore p53 (Ivanov *et al.*, 1989; Dessauge *et al.*, 2005; Haller *et al.*, 2010). Ces protéines sont également des cibles de hPin1 (Wulf *et al.*, 2001, 2002; Ryo *et al.*, 2003a; Farrell *et al.*, 2013). Pin1 régule leur activité transactivatrice et/ou leur stabilité en inhibant leur dégradation par le protéasome. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour étudier si ces protéines sont des cibles de TaPIN1. Si c'est le cas, la sécrétion de TaPIN1 pourrait jouer un rôle central dans la manipulation de l'hôte à la suite de l'infection par *T. annulata*.

### TaPIN1 est-elle la seule protéine sécrétée par *T. annulata* ?

Les premières protéines parasitaires décrites comme étant sécrétées par le parasite *Theileria* appartiennent à la famille des TashAT (*AT hook DNA-binding protein*) (Swan *et al.*, 1999). Les auteurs ont découvert que TashAT2 (i) possède une séquence signal putative, (ii) est exprimée au stade transformant du cycle de vie du parasite (stade macroschizonte) et (iii) est localisée dans le noyau de la cellule hôte. Cependant, sa fonction n'est pas connue. Des études complémentaires sont donc nécessaires pour analyser le rôle potentiel de cette famille de protéines dans la transformation induite par *T. annulata*. De plus, en 2004, Shiels et ses collègues ont identifié une autre « *AT-Hook DNA binding protein* », SuAT1 qui contient une séquence signal et est localisée dans le noyau de la cellule hôte où elle semble réguler la morphologie de l'hôte (cytosquelette) lors de la différenciation parasitaire du stade macroschizonte vers le stade mérozoïte (Shiels

*et al.*, 2004). En parallèle, au cours de leur analyse des génomes de *Theileria annulata* et *Theileria parva*, Pain et ses collaborateurs ont identifié *in silico* plusieurs protéines potentiellement sécrétées et pouvant donc jouer un rôle dans la transformation cellulaire induite par ces parasites. Ces protéines appartiennent aux familles des protéines chaperonnes, des *Dead-Box* hélicases, des peptidases, des peptidyl-prolyl *cis-trans* isomérases, ou encore des thioredoxines/glutaredoxines (Pain *et al.*, 2005; Shiels *et al.*, 2006). Enfin, en 2007, Schneider et ses collègues ont montré que la protéine parasitaire TaSE était sécrétée par le parasite et interagissait avec les microtubules de l'hôte, suggérant un rôle de cette protéine dans la répartition des parasites dans les cellules filles lors de la division de la cellule hôte (Schneider *et al.*, 2007).

Ainsi TaPIN1 n'est pas la première protéine de *Theileria* décrite comme étant sécrétée dans la cellule hôte. Cependant, nous avons démontré pour la première fois que le parasite sécrète une PPIase, TaPIN1, pour réguler l'identité de la cellule hôte bovine. Néanmoins, ce modèle n'exclut pas la sécrétion ou l'expression à la surface du parasite d'autres protéines pouvant coopérer avec TaPIN1 ou agir sur des voies de signalisation différentes. De plus, il est intéressant de noter que l'homologue humain de TaPIN1, hPin1, interagit avec des motifs Ser/Thr-Pro phosphorylés par différentes kinases comme GSK3 $\beta$ , JNK ou encore ERK. Ainsi, comme l'ont suggéré Ryo *et al.*, il faut un premier événement comme l'activation de kinases (Neu/Ras) avant que hPin1 puisse agir sur ses cibles et amplifier le signal oncogénique (Ryo *et al.*, 2003b). Nous pouvons émettre l'hypothèse selon laquelle, dans le modèle de la transformation lymphocytaire induite par *T. annulata*, le parasite sécrète une autre protéine (une kinase ou une autre protéine activant une kinase bovine) pour permettre la phosphorylation de c-Jun, FBW7 et des autres partenaires cellulaires de TaPIN1.

Il est également intéressant de noter que les parasites *Theileria* ne sont pas les seuls pathogènes capables de sécréter des protéines pour manipuler leur hôte. En effet, chez les Apicomplexes, des exemples de sécrétion de protéines ont été décrits pour les parasites *Plasmodium* et *Toxoplasma* (Ravindran & Boothroyd, 2008). Contrairement aux parasites *Theileria*, ces deux parasites intracellulaires sont contenus dans une vacuole parasitophore lorsqu'ils sont dans la cellule hôte. Ainsi, les protéines sécrétées doivent traverser deux membranes plasmiques avant de rejoindre le cytoplasme de la cellule hôte.

Chez les champignons, un exemple intéressant est celui de l'organisme *Ustilago maydis* qui infecte le maïs et induit la transformation de son hôte. Ce pathogène découvert au Mexique induit une maladie appelée charbon du maïs. Plusieurs études ont tenté

d'identifier les protéines sécrétées par ce pathogène lors de l'infection et jouant un rôle dans la transformation induite par *U. maydis*. Grâce au séquençage du génome de ce champignon, Skibbe et ses collaborateurs ont observé qu'en fonction des tissus infectés, *U. maydis* sécrète des protéines différentes pour manipuler le transcriptome de son hôte (Skibbe *et al.*, 2010).

Enfin, chez les bactéries par exemple, les laboratoires de Cossart et Sorek ont identifié les protéines sécrétées par la bactérie *Listeria* lors de l'infection (Lebreton *et al.*, 2011). Ils ont comparé les génomes de deux bactéries *Listeria monocytogenes* (agent pathogène responsable de la listériose chez l'Homme) et *Listeria innocua* (agent non pathogène) afin d'identifier les protéines essentielles à la virulence. Ils ont identifié 22 protéines exprimées exclusivement chez *L. monocytogenes* dont LntA (*Listeria nuclear targeted protein A*) qui possède une séquence signal et interagit dans le noyau de la cellule hôte avec le répresseur chromatinien BAHD1 (*Bromo Adjacent Homology Domain-containing 1*), pour réguler l'expression des gènes ISG (*Interferon Stimulated Genes*) et moduler les réponses immunitaires de la cellule hôte.

De façon similaire, le laboratoire de Sansonetti a démontré que la bactérie *Shigella flexneri* (agent pathogène responsable de la dysenterie chez l'Homme) manipule son hôte en sécrétant une protéine appelée OspF (Arbibe *et al.*, 2007). Cette protéine est une phosphatase qui déphosphoryle ERK et p38 dans le noyau de la cellule hôte, inhibe la phosphorylation de la Ser10 de l'Histone H3, ce qui abolit le recrutement de NF $\kappa$ B au niveau de certains promoteurs et réprime des gènes impliqués dans les réponses immunitaires innées de l'hôte comme l'interleukine *IL-8*.

Ainsi, la sécrétion de protéines semble être un mécanisme commun utilisé par les micro-organismes pathogènes pour manipuler l'identité de leur cellule hôte.

### **TaPIN1 est une cible cellulaire du theilericide Buparvaquone**

La Buparvaquone est un theilericide utilisé par les vétérinaires pour traiter les animaux atteints de theileriose. Cette molécule induit la mort du parasite dans les cellules infectées, mais n'affecte pas l'intégrité de la cellule hôte (McHardy & J. Beesley, données non publiées).

Malgré l'utilisation de ce theilericide depuis des décennies, la/les cible(s) moléculaire(s) et le mode d'action de la Buparvaquone ne sont pas connus. La Buparvaquone appartient à la famille des naphtoquinones comme l'Atovaquone qui est utilisée comme

traitement contre la toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*) (Huskinson-Mark *et al.*, 1991) ou le paludisme (*Plasmodium falciparum*) (Gutteridge, 1989). Ce composé agirait spécifiquement sur la chaîne respiratoire mitochondriale du parasite en inhibant le cytochrome bc1 du complexe III (Fry & Pudney, 1992). Il est donc possible d'envisager que le mode d'action de la Buparvaquone sur le parasite *Theileria* est semblable à celui de l'Atovaquone. L'identification d'une mutation ponctuelle dans le cytochrome b des parasites résistants *in vivo* à un traitement à la Buparvaquone a renforcé cette hypothèse malgré l'absence de validations expérimentales (Sharifyazdi *et al.*, 2012).

Nous avons identifié une mutation dans le gène parasitaire codant pour TaPIN1 chez des parasites *Theileria* résistants *in vivo* à la Buparvaquone. Cette mutation induirait un changement dans la structure de TaPIN1 affectant son interaction avec la Buparvaquone. Cependant, nous ne pouvons pas exclure que la Buparvaquone cible également d'autres protéines parasitaires en plus de TaPIN1.

### **Conclusion**

Nous avons décrit dans cette revue plusieurs voies de signalisation de l'hôte bovin dérégulées lors de l'infection par le parasite *Theileria*. Nous avons également exposé des travaux récents démontrant pour la première fois qu'un parasite eucaryote manipule l'identité de sa cellule hôte en sécrétant une protéine PPIase, TaPIN1. Des travaux complémentaires sont nécessaires pour étudier les relations entre ce parasite Apicomplexe et sa cellule hôte afin de comprendre les mécanismes utilisés par le parasite pour induire la transformation de ses cellules hôtes. Ces données apporteront des pistes thérapeutiques précieuses pour soigner les animaux atteints de theileriose bovine et permettront plus généralement de découvrir des oncoprotéines impliquées dans le développement tumoral chez l'Homme et donc d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement des cancers humains.

*Remerciements.* La thèse dont cet article est issu, a été soutenue par Justine Marsolier pour obtenir le titre de Docteur de l'Université Paris Diderot le 30 septembre 2013, sous le titre « La transformation lymphocytaire bovine induite par *Theileria annulata* : un modèle unique et innovant pour identifier de nouvelles oncoprotéines et voies oncogéniques ». Ce travail, réalisé dans le cadre du LABEX portant la référence ANR-11-LABX-0071, a bénéficié d'une aide de l'Etat gérée par l'Agence Nationale de la Recherche au titre du programme Investissements d'avenir portant la référence n° ANR-11-IDEX-0005-01. Nous tenons à remercier Souhila Medjkane pour la relecture de ce manuscrit.

## Références

- Arbibe L., Kim D.W., Batsche E., Pedron T., Mateescu B., Muchardt C., Parsot C., Sansonetti P.J., An injected bacterial effector targets chromatin access for transcription factor NF- $\kappa$ B to alter transcription of host genes involved in immune responses. *Nat Immunol*, 2007, 8, 47–56.
- Booden T., Hull R.W., Nucleic acid precursor synthesis by *Plasmodium lophurae* parasitizing chicken erythrocytes. *Exp Parasitol*, 1973, 34, 220–228.
- Chang S., Wang R.-H., Akagi K., Kim K.-A., Martin B.K., Cavallone L., Kathleen Cuninghame Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer (kConFab), Haines D.C., Basik M., Mai P., Poggi E., Isaacs C., Looi L.M., Mun K.S., Greene M.H., Byers S.W., Teo S.H., Deng C.X., Sharan S.K., Tumor suppressor BRCA1 epigenetically controls oncogenic microRNA-155. *Nat Med*, 2011, 17, 1275–1282.
- Chaudhary K., Darling J.A., Fohl L.M., Sullivan W.J., Jr Donald R.G.K., Pfefferkorn E.R., Ullman B., Roos D.S., Purine salvage pathways in the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. *J Biol Chem*, 2004, 279, 31221–31227.
- Chaussepied M., Lallemand D., Moreau M.F., Adamson R., Hall R., Langsley G., Upregulation of Jun and Fos family members and permanent JNK activity lead to constitutive AP-1 activation in *Theileria*-transformed leukocytes. *Mol Biochem Parasitol*, 1998, 94, 215–226.
- Chen J., Wang B.-C., Tang J.-H., Clinical significance of MicoRNA-155 expression in human breast cancer. *J Surg Oncol*, 2012, 106, 260–266.
- Cock-Rada A.M., Medjkane S., Janski N., Yousfi N., Périchon M., Chaussepied M., Chluba J., Langsley G., Weitzman J.B., SMYD3 promotes cancer invasion by epigenetic upregulation of the metalloproteinase MMP-9. *Cancer Res*, 2012, 72, 810–20.
- Dessauge F., Hilaly S., Baumgartner M., Blumen B., Werling D., Langsley G., c-Myc activation by *Theileria* parasites promotes survival of infected B-lymphocytes. *Oncogene*, 2005, 24, 1075–1083.
- Dhar S., Malhotra D.V., Bhushan C., Gautam O.P., Chemotherapy of *Theileria annulata* infection with butparvaquone. *Vet Rec*, 1986, 119, 635–636.
- Dobbelaere D., Heussler V., Transformation of leukocytes by *Theileria parva* and *T. annulata*. *Annu Rev Microbiol*, 1999, 53, 1–42.
- Dobbelaere D.A., Rottenberg S., *Theileria*-induced leukocyte transformation. *Curr Opin Microbiol*, 2003, 6, 377–382.
- Farrell A.S., Pelz C., Wang X., Daniel C.J., Wang Z., Su Y., Janghorban M., Zhang X., Morgan C., Impey S., Sears R.C., Pin1 Regulates the Dynamics of c-Myc DNA Binding to Facilitate Target Gene Regulation and Oncogenesis. *Mol Cell Biol*, 2013, 33, 2930–2949.
- Fast N.M., Kissinger J.C., Roos D.S., Keeling P.J., Nuclear-encoded, plastid-targeted genes suggest a single common origin for apicomplexan and dinoflagellate plastids. *Mol Biol Evol*, 2001, 18, 418–426.
- Fell A.H., Preston P.M., Proliferation of *Theileria annulata* and *Theileria parva* macroschizont-infected bovine cells in scid mice. *Int J Parasitol*, 1993, 23, 77–87.
- Forsyth L.M.G., Minns F.C., Kirvar E., Adamson R.E., Hall F.R., McOrist S., Brown C.G.D., Preston P.M., Tissue Damage in Cattle Infected with *Theileria annulata* Accompanied by Metastasis of Cytokine-producing, Schizont-infected Mononuclear Phagocytes. *J Comp Pathol*, 1999, 120, 39–57.
- Fry M., Pudney M., Site of action of the antimalarial hydroxynaphthoquinone, 2-[trans-4-(4'-chlorophenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone (566C80). *Biochem Pharmacol*, 1992, 43, 1545–1553.
- Gharbi M., Sassi L., Dorchie P., Darghouth M.A., Infection of calves with *Theileria annulata* in Tunisia: Economic analysis and evaluation of the potential benefit of vaccination. *Vet Parasitol*, 2006, 137, 231–41.
- Gironella M., Seux M., Xie M.-J., Cano C., Tomasini R., Gommeaux J., Garcia S., Nowak J., Yeung M.L., Jeang K.-T., Chaix A., Fazli L., Motoo Y., Wang Q., Rocchi P., Russo A., Gleave M., Dagorn J.C., Iovanna J.L., Carrier A., Pébusque M.J., Dusetti N.J., Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 16170–16175.
- Guernon J., Chaussepied M., Sopp P., Lizundia R., Moreau M.-F., Blumen B., Werling D., Howard C.J., Langsley G., A tumour necrosis factor alpha autocrine loop contributes to proliferation and nuclear factor- $\kappa$ B activation of *Theileria parva*-transformed B cells. *Cell Microbiol*, 2003, 5, 709–716.
- Gutteridge W.E., Antimalarial drugs currently in development. *J R Soc Med*, 1989, 82, 63.
- Haller D., Mackiewicz M., Gerber S., Beyer D., Kullmann B., Schneider I., Ahmed J.S., Seitzer U., Cytoplasmic sequestration of p53 promotes survival in leukocytes transformed by *Theileria*. *Oncogene*, 2010, 29, 3079–3086.
- Hamamoto R., Furukawa Y., Morita M., Iimura Y., Silva F.P., Li M., Yagyū R., Nakamura Y., SMYD3 encodes a histone methyltransferase involved in the proliferation of cancer cells. *Nat Cell Biol*, 2004, 6, 731–740.
- Hamamoto R., Silva F.P., Tsuge M., Nishidate T., Katagiri T., Nakamura Y., Furukawa Y., Enhanced SMYD3 expression is essential for the growth of breast cancer cells. *Cancer Sci*, 2006, 97, 113–118.
- Heussler V.T., Rottenberg S., Schwab R., Küenzi P., Fernandez P.C., McKellar S., Shiels B., Chen Z.J., Orth K., Wallach D., Dobbelaere D.A. Hijacking of Host Cell IKK Signalosomes by the Transforming Parasite *Theileria*. *Science*, 2002, 298, 1033–1036.
- Huskinson-Mark J., Araujo F.G., Remington J.S., Evaluation of the effect of drugs on the cyst form of *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*, 1991, 164, 170–171.
- Ivanov V., Stein B., Baumann I., Dobbelaere D.A., Herrlich P., Williams R.O., Infection with the intracellular protozoan parasite *Theileria parva* induces constitutively high levels of NF- $\kappa$ B in bovine T lymphocytes. *Mol Cell Biol*, 1989, 9, 4677–4686.

- Kaye A., Toxoplasmosis: diagnosis, treatment, and prevention in congenitally exposed infants. *J Pediatr Health Care*, 2011, 25, 355–364.
- Kieffer F., Wallon M., Congenital toxoplasmosis. *Handb Clin Neurol*, 2013, 112, 1099–1101.
- Kong W., He L., Richards E.J., Challa S., Xu C.-X., Permut-Wey J., Lancaster J.M., Coppola D., Sellers T.A., Djeu J.Y., Cheng J.Q., Upregulation of miRNA-155 promotes tumour angiogenesis by targeting VHL and is associated with poor prognosis and triple-negative breast cancer. *Oncogene*, 2014, 33, 679–689.
- Lebreton A., Lakisic G., Job V., Fritsch L., Tham T.N., Camejo A., Mattei P.-J., Regnault B., Nahori M.-A., Cabanes D., Gautreau A., Ait-Si-Ali S., Dessen A., Cossart P., Bierne H., A Bacterial Protein Targets the BAHD1 Chromatin Complex to Stimulate Type III Interferon Response. *Science*, 2011, 331, 1319–1321.
- Levine N.D., Progress in taxonomy of the Apicomplexan protozoa. *J Protozool*, 1988, 35, 518–520.
- Liang Y., Zhou Y., Shen P., NF-kappaB and its regulation on the immune system. *Cell Mol Immunol*, 2004, 1, 343–350.
- Lizundia R., Chaussepied M., Huerre M., Werling D., Santo J.P.D., Langsley G., c-Jun NH2-Terminal Kinase/c-Jun Signaling Promotes Survival and Metastasis of B Lymphocytes Transformed by *Theileria*. *Cancer Res*, 2006, 66, 6105–6110.
- Ma M., Baumgartner M., Intracellular *Theileria annulata* promote invasive cell motility through kinase regulation of the host actin cytoskeleton. *PLoS Pathog*, 2014, 10, e1004003.
- Marsolier J., Pineau S., Medjkane S., Périchon M., Yin Q., Flemington E., Weitzman M.D., Weitzman J.B., OncomiR Addiction Is Generated by a miR-155 Feedback Loop in *Theileria*-Transformed Leukocytes. *PLoS Pathog*, 2013, 9, e1003222.
- Marsolier J., Périchon M., DeBarry J.D., Villoutreix B.O., Chluba J., Lopez T., Garrido C., Zhou X.Z., Lu K.P., Fritsch L., Ait-Si-Ali S., Mhadhbi M., Medjkane S., Weitzman J.B., *Theileria* parasites secrete a prolyl isomerase which contributes to host leukocyte transformation. *Nature*, 2015, DOI: 10.1038/nature14044.
- Medjkane S., Périchon M., Marsolier J., Dairou J., Weitzman J.B., *Theileria* induces oxidative stress and HIF1 $\alpha$  activation that are essential for host leukocyte transformation. *Oncogene*, 2014, 33, 1809–1817.
- Metheni M., Echebli N., Chaussepied M., Ransy C., Chéreau C., Jensen K., Glass E., Batteux F., Bouillaud F., Langsley G., The level of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> type oxidative stress regulates virulence of *Theileria*-transformed leukocytes. *Cell Microbiol*, 2014, 16, 269–279.
- Meyer H., de Andrade Mendonça I., Electron microscopic observations of toxoplasma “Nicolle et Manceaux” grown in tissue cultures (first note). *Parasitology*, 1955, 45, 449–451.
- Meyer N., Penn L.Z., Reflecting on 25 years with MYC. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8, 976–990.
- ole-MoiYoi O.K., Brown W.C., Iams K.P., Nayar A., Tsukamoto T., Macklin M.D., Evidence for the induction of casein kinase II in bovine lymphocytes transformed by the intracellular protozoan parasite *Theileria parva*. *EMBO J*, 1993, 12, 1621–1631.
- Mollaret P., [Discovery, by Alphonse Laveran, of the malaria agent. Constantine, 6 November 1880]. *Nouv Presse Médicale*, 1980, 9, 3055–3063.
- Muller P.A.J., Vousden K.H., Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer Cell*, 2014, 25, 304–317.
- Pain A., Renauld H., Berriman M., Murphy L., Yeats C.A., Weir W., Kerhornou A., Aslett M., Bishop R., Bouchier C., Cochet M., Coulson R.M., Cronin A., de Villiers E.P., Fraser A., Fosker N., Gardner M., Goble A., Griffiths-Jones S., Harris D.E., Katzer F., Larke N., Lord A., Maser P., McKellar S., Mooney P., Morton F., Nene V., O’Neil S., Price C., Quail M.A., Rabinowitsch E., Rawlings N.D., Rutter S., Saunders D., Seeger K., Shah T., Squares R., Squares S., Tivey A., Walker A.R., Woodward J., Dobbelaere D.A., Langsley G., Rajandream M.A., McKeever D., Shiels B., Tait A., Barrell B., Hall N., Genome of the host-cell transforming parasite *Theileria annulata* compared with *T. parva*. *Science*, 2005, 309, 131–133.
- Plattner F., Soldati-Favre D., Hijacking of Host Cellular Functions by the Apicomplexa. *Annu Rev Microbiol*, 2008, 62, 471–487.
- Ravindran S., Boothroyd J.C., Secretion of Proteins into Host Cells by Apicomplexan Parasites. *Traffic*, 2008, 9, 647–656.
- Ryo A., Suizu F., Yoshida Y., Perrem K., Liou Y.-C., Wulf G., Rottapel R., Yamaoka S., Lu K.P., Regulation of NF- $\kappa$ B Signaling by Pin1-Dependent Prolyl Isomerization and Ubiquitin-Mediated Proteolysis of p65/RelA. *Mol Cell*, 2003a, 12, 1413–1426.
- Ryo A., Liou Y.-C., Lu K.P., Wulf G., Prolyl isomerase Pin1: a catalyst for oncogenesis and a potential therapeutic target in cancer. *J Cell Sci*, 2003b, 116, 773–783.
- Schneider I., Haller D., Kullmann B., Beyer D., Ahmed J.S., Seitzer U., Identification, molecular characterization and subcellular localization of a *Theileria annulata* parasite protein secreted into the host cell cytoplasm. *Parasitol Res*, 2007, 101, 1471–1482.
- von Schubert C., Xue G., Schmuckli-Maurer J., Woods K.L., Nigg E.A., Dobbelaere D.A.E., The Transforming Parasite *Theileria* Co-opts Host Cell Mitotic and Central Spindles to Persist in Continuously Dividing Cells. *PLoS Biol*, 2010, 8, e1000499.
- Seitzer U., Gerber S., Beyer D., Dobschanski J., Kullmann B., Haller D., Ahmed J.S., Schizonts of *Theileria annulata* interact with the microtubuli network of their host cell via the membrane protein TaSP. *Parasitol Res*, 2010, 106, 1085–1102.
- Semenza G.L., Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochem J*, 2007, 405, 1–9.
- Sharifiyazdi H., Namazi F., Oryan A., Shahriari R., Razavi M., Point mutations in the *Theileria annulata*

- cytochrome b gene is associated with buparvaquone treatment failure. *Vet Parasitol*, 2012, 187, 431–435.
- Shaw M.K., Tilney L.G., Musoke A.J., The entry of *Theileria parva* sporozoites into bovine lymphocytes: evidence for MHC class I involvement. *J Cell Biol*, 1991, 113, 87–101.
- Shaw M.K., Tilney L.G., Musoke A.J., Teale A.J., MHC class I molecules are an essential cell surface component involved in *Theileria parva* sporozoite binding to bovine lymphocytes. *J Cell Sci*, 1995, 108, 1587–1596.
- Shiels B., Langsley G., Weir W., Pain A., McKellar S., Dobbelaere D., Alteration of host cell phenotype by *Theileria annulata* and *Theileria parva*: mining for manipulators in the parasite genomes. *Int J Parasitol*, 2006, 36, 9–21.
- Shiels B.R., McKellar S., Katzer F., Lyons K., Kinnaird J., Ward C., Wastling J.M., Swan D., A *Theileria annulata* DNA Binding Protein Localized to the Host Cell Nucleus Alters the Phenotype of a Bovine Macrophage Cell Line. *Eukaryot Cell*, 2004, 3, 495–505.
- Silva F.P., Hamamoto R., Kunizaki M., Tsuge M., Nakamura Y., Furukawa Y., Enhanced methyltransferase activity of SMYD3 by the cleavage of its N-terminal region in human cancer cells. *Oncogene*, 2008, 27, 2686–2692.
- Skibbe D.S., Doehlemann G., Fernandes J., Walbot V., Maize Tumors Caused by *Ustilago maydis* Require Organ-Specific Genes in Host and Pathogen. *Science*, 2010, 328, 89–92.
- Spooner R.L., Innes E.A., Glass E.J., Brown C.G., *Theileria annulata* and *T. parva* infect and transform different bovine mononuclear cells. *Immunology*, 1989, 66, 284.
- Swan D.G., Phillips K., Tait A., Shiels B.R., Evidence for localisation of a *Theileria* parasite AT hook DNA-binding protein to the nucleus of immortalised bovine host cells. *Mol Biochem Parasitol*, 1999, 101, 117–129.
- Velkova A., Monteiro A.N.A., Epigenetic tumor suppression by BRCA1. *Nat Med*, 2011, 17, 1183–1185.
- Webster P., Dobbelaere D.A., Fawcett D.W., The entry of sporozoites of *Theileria parva* into bovine lymphocytes *in vitro*. Immunoelectron microscopic observations. *Eur J Cell Biol*, 1985, 36, 157–162.
- Woods K.L., Theiler R., Mühlemann M., Segiser A., Huber S., Ansari H.R., Pain A., Dobbelaere D.A.E., Recruitment of EB1, a Master Regulator of Microtubule Dynamics, to the Surface of the *Theileria annulata* Schizont. *PLoS Pathog*, 2013, 9, e1003346.
- Wulf G.M., Ryo A., Wulf G.G., Lee S.W., Niu T., Petkova V., Lu K.P., Pin1 is overexpressed in breast cancer and cooperates with Ras signaling in increasing the transcriptional activity of c-Jun towards cyclin D1. *EMBO J*, 2001, 20, 3459–3472.
- Wulf G.M., Liou Y.-C., Ryo A., Lee S.W., Lu K.P., Role of Pin1 in the Regulation of p53 Stability and p21 Transactivation, and Cell Cycle Checkpoints in Response to DNA Damage. *J Biol. Chem*, 2002, 277, 47976–47979.
- You H., Lei P., Andreadis S.T., JNK is a novel regulator of intercellular adhesion. *Tissue Barriers*, 2013, 1, e26845.