

# INDUCTION ET MODULATION DE LA SYNTHÈSE D'INTERFERON DE TYPE I PAR LE BTV

## INDUCTION AND MODULATION OF TYPE I INTERFERON SYNTHESIS UPON BTV INFECTION

Damien VITOUR, Virginie DOCEUL, Emilie CHAUVEAU, Estelle LARA, Stéphane ZIENTARA  
(Communication présentée le 6 juin 2013)

### RÉSUMÉ

Le virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO ; Bluetongue virus, BTV) est un arbovirus appartenant à la famille des Reoviridae. Il est responsable d'une maladie hémorragique chez les ruminants qui provoque d'importantes pertes économiques. L'infection par le BTV induit la production des interférons de type I (IFN- $\alpha/\beta$ ) *in vivo* et *in vitro*, événement essentiel pour l'établissement d'une réponse cellulaire antivirale. Cette production requiert la réplication virale puisqu'un virus inactivé aux UV a perdu la capacité d'induire la synthèse d'IFN- $\beta$ . Nous avons aussi pu démontrer que les ARN hélicases RIG-I et MDA5 étaient impliquées dans la production d'IFN- $\alpha/\beta$  en réponse au BTV. Cette réponse étant délétère pour la multiplication virale, la plupart des virus ont développé des stratégies pour limiter l'action de l'interféron. Nous avons ainsi pu montrer que la protéine non structurale NS3 de BTV était un puissant antagoniste de la voie des IFN- $\alpha/\beta$ .

**Mots-Clés :** Fièvre catarrhale ovine, NS3, immunité innée, interféron- $\alpha/\beta$

### SUMMARY

Bluetongue virus (BTV) is an arthropod-borne virus belonging to the Reoviridae family. It causes an haemorrhagic disease in ruminants that induces important economic losses. BTV infection triggers type I interferon (IFN- $\alpha/\beta$ ) synthesis *in vivo* and *in vitro*, which is crucial to mount an efficient cellular antiviral response. This event requires viral replication since a UV inactivate virus is unable to induce IFN- $\beta$  synthesis. We also showed that RNA helicases RIG-I and MDA5 are both involved in IFN- $\alpha/\beta$  production upon BTV infection. As this response is deleterious for viral replication, most of viruses have developed strategies to circumvent IFN action. We found that the non structural NS3 protein of BTV is a potent IFN- $\alpha/\beta$  inhibitor.

**Key-Words:** Bluetongue virus, NS3, innate immunity, interferon- $\alpha/\beta$

(1) UMR1161 VIROLOGIE ANSES-INRA-ENVA, 23 avenue du Général de Gaulle, 94704 MAISONS-ALFORT  
Tel : +33(0) 1 43 96 73 30

## INTRODUCTION

La fièvre catarrhale ovine (FCO) est une maladie non contagieuse qui affecte les ruminants). Elle est provoquée par le virus de la langue bleue (Bluetongue virus, BTV), un agent viral appartenant au genre Orbivirus de la famille des Reoviridae [Schwartz-Cornil *et al.*, 2008]. Le génome viral est composé de 10 segments d'ARN double-brin (ARNdb) qui codent pour sept protéines structurales (VP1 à 7) et cinq protéines non structurales (NS1 à NS4, NS3A) [Roy, 2005; Belhouchet *et al.*, 2011; Ratnier *et al.*, 2011]. On dénombre actuellement 26 sérotypes de BTV à travers le monde (BTV-1 à -26) [Maan *et al.*, 2011]. Le BTV est transmis par des petits moucheron hématophages du genre Culicoides [Tabachnick, 2004]. Il infecte de nombreuses espèces de ruminants domestiques et sauvages et induit un large éventail de signes cliniques dont la sévérité dépend de multiples facteurs tels que l'espèce, la race ou la virulence de la souche virale. Les moutons représentent l'espèce la plus sensible au virus. La FCO est endémique dans de nombreuses régions du monde mais n'était pas présente en Europe jusqu'à récemment [James Maclachlan and Mayo, 2013]. Depuis 1998, de multiples sérotypes de BTV (BTV-1, 2, 4, 9 et 16) ont été introduits dans le bassin méditerranéen ou, de façon plus surprenante, dans le nord de l'Europe (sérotypes 6, 8 et 11, 14) [James Maclachlan and Mayo, 2013]. En 2006, une souche de BTV de sérotype 8 émergea en Belgique et aux Pays-Bas et se propagea ensuite rapidement à de nombreux autres pays européens, provoquant d'importantes pertes économiques [Schwartz-Cornil, Mertens *et al.*, 2008; Saegerman *et al.*, 2010]. Cette souche de BTV-8 présentait des propriétés atypiques, dont une capacité à provoquer une maladie chez les bovins [Elbers *et al.*, 2008].

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense contre les virus et se caractérise notamment par la production des interférons de type I (IFN- $\alpha/\beta$ ) et d'autres cytokines pro-inflammatoires qui maîtrisent l'infection [Randall and Goodbourn, 2008]. La liaison de ces cytokines sur leurs récepteurs génère une cascade de signalisation qui induit l'expression de gènes à activité antivirale. L'activation de ces voies de signalisation permet à l'organisme infecté d'établir un état antiviral dans les cellules infectées et les cellules avoisinantes non infectées de façon autocrine et paracrine. Elle régule également la réponse immunitaire adaptative générée par les lymphocytes B et C [Mattei *et al.*, 2010; Huber and Farrar, 2011]. Les réponses immunitaires innées sont activées par la reconnaissance de motifs moléculaires spécifiques (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) par des récepteurs cellulaires spécialisés (pattern recognition receptors, PRRs) [Akira *et al.*, 2006; Meylan *et al.*, 2006]. Pour les virus à ARN, les molécules d'ARNsb et db présents dans les génomes viraux ou produits lors de la réplication virale constituent deux PAMPs majeurs. Deux grandes familles de récepteurs sont capables de détecter ces motifs : les récepteurs Toll-like (TLRs) et la famille des ARN hélicases RIG-I-like (RLRs) [Akira, Uematsu *et al.*, 2006]. Plusieurs PRRs ont été identifiés pour la famille des Reoviridae,

incluant le TLR3 [Alexopoulou *et al.*, 2001], les hélicases RIG-I et MDA5 [Broquet *et al.*; Yoneyama *et al.*, 2004], la PKR [Broquet, Hirata *et al.*; Gitlin *et al.*, 2006] et les hélicases DexD/H de découvertes récentes [Zhang *et al.*]. Les mécanismes d'induction de l'immunité innée antivirale peuvent considérablement varier d'un type cellulaire à l'autre. Ces différences sont liées notamment à l'expression et à l'activation des PRRs impliqués [Segura *et al.*; Kato *et al.*, 2005; Nalubamba *et al.*, 2007; O'Mahony *et al.*, 2008]. Par exemple, RIG-I joue un rôle crucial pour l'induction d'IFN- $\alpha/\beta$  en réponse aux virus à ARN dans les fibroblastes et la plupart des sous-populations de cellules dendritiques conventionnelles (cDCs) alors que les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) utilisent préférentiellement le système TLR [Kato, Sato *et al.*, 2005; Luber *et al.*, 2010].

Le BTV est connu depuis de nombreuses années pour être un puissant inducteur des interférons de type I dans de nombreux modèles *in vitro* et *in vivo* provenant de tissus et d'espèces variés (ovins, bovins, murins, humains) [Huisman, 1969; Jameson *et al.*, 1978; Jameson and Grossberg, 1979; Fulton and Pearson, 1982; MacLachlan and Thompson, 1985; Foster *et al.*, 1991; Russell *et al.*, 1996; Hemati *et al.*, 2009]. Cependant, peu de données étaient disponibles sur les mécanismes responsables de cette induction.

## MÉCANISMES D'INDUCTION DE LA SYNTHÈSE D'IFN $\alpha/\beta$ PAR LE BTV

### La réplication du BTV-8 provoque une forte production d'IFN- $\beta$ .

Afin d'étudier les mécanismes de synthèse des interférons de type I en réponse à une infection par le BTV, nous avons tout d'abord testé la capacité du BTV-8 (souche européenne qui a circulé en 2006-2009) à induire l'IFN- $\beta$  dans divers types cellulaires. Nous avons ainsi pu confirmer que le BTV se réplique et induit la synthèse d'IFN- $\beta$  dans de multiples types cellulaires, incluant des cellules endothéliales ou épithéliales bovines ou humaines [Chauveau *et al.*, 2012]. De façon intéressante, dans des cellules épithéliales bronchiques humaines A549, la cinétique d'apparition de l'ARN viral se superposait à celle de l'ARNm de l'IFN- $\beta$  (**Figure 1**). Cette corrélation suggérait que la réplication était requise pour médier la synthèse d'IFN- $\beta$ . Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé un virus inactivé aux UV et nous avons pu noter que la production d'IFN- $\beta$  se trouvait dès lors inhibée confirmant dans ce modèle l'importance de la réplication virale pour activer une réponse cellulaire efficace (**Figure 2**).

### Les ARN hélicases RIG-I et MDA5 participent à l'induction d'IFN- $\beta$ et au contrôle de l'infection par le BTV

Afin d'identifier la voie de signalisation cellulaire activée par l'infection par le BTV pour la synthèse d'IFN- $\beta$ , nous avons procédé à la transfection de cellules A549 avec des petits ARN

interférents (siRNA) pour cibler spécifiquement l'extinction de l'expression des gènes codant pour MAVS, TLR3, MyD88, TRIF et DDX1 via la dégradation des ARNm respectifs. Après 48h, les cellules ont été infectées par le BTV-8 et l'ARNm d'IFN- $\beta$  mesuré par RT-qPCR. Seul le siRNA ciblant MAVS permettait de réduire significativement la production d'IFN- $\beta$  induite par le BTV (Figure 3). MAVS étant une protéine adaptatrice essentielle de la voie des RLRs située en aval des ARN hélicases RIG-I et MDA5, nous avons cherché à préciser la contribution de ces deux protéines dans l'activation de la production d'IFN- $\beta$  par le BTV. Nous avons employé la même

approche que précédemment et bloquer l'expression de RIG-I ou MDA5 à l'aide de siRNA spécifiques avant d'infecter les cellules par le BTV-8. L'inhibition de l'expression de RIG-I, et dans une moindre mesure MDA5, diminue la quantité d'ARNm d'IFN- $\beta$  produit dans les A549 infectées (Figure 4A). Des résultats similaires étaient retrouvés au niveau protéique en mesurant l'IFN- $\beta$  dans le surnageant des cellules infectées par un test ELISA (Figure 4B). Ces données soulignent l'importance de RIG-I et MDA5 dans la signalisation de l'IFN- $\beta$  au cours de l'infection par le BTV.

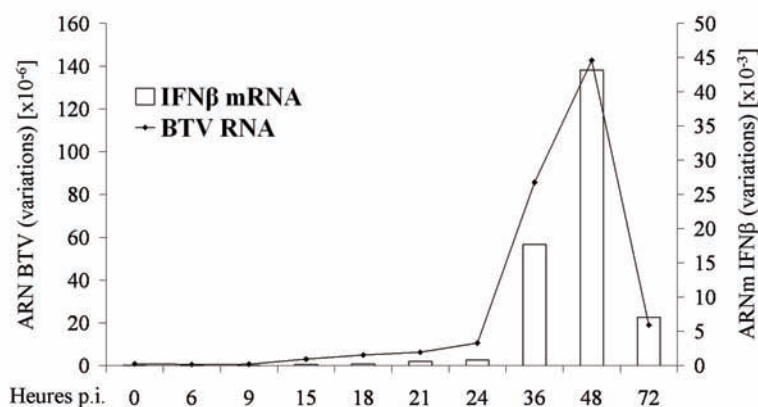


Figure 1 : Effet du BTV-8 sur l'expression d'IFN- $\beta$ . Des cellules A549 ont été infectées avec le BTV-8 (0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule). À différents temps post-infection, les ARN totaux ont été extraits et l'expression de l'ARN de BTV ainsi que l'ARNm de l'IFN- $\beta$  a été déterminée par RT-PCR quantitative.

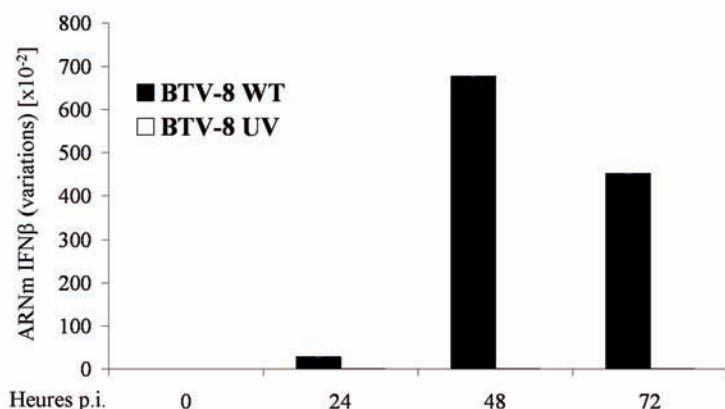


Figure 2 : Effet de la réplication virale sur l'expression d'IFN- $\beta$ . Des cellules A549 ont été infectées avec du BTV-8 vivant ou inactivé aux UV (0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule). À différents temps post-infection, les ARN totaux ont été extraits et l'expression de l'ARN de BTV ainsi que l'ARNm de l'IFN- $\beta$  a été déterminée par RT-PCR quantitative.

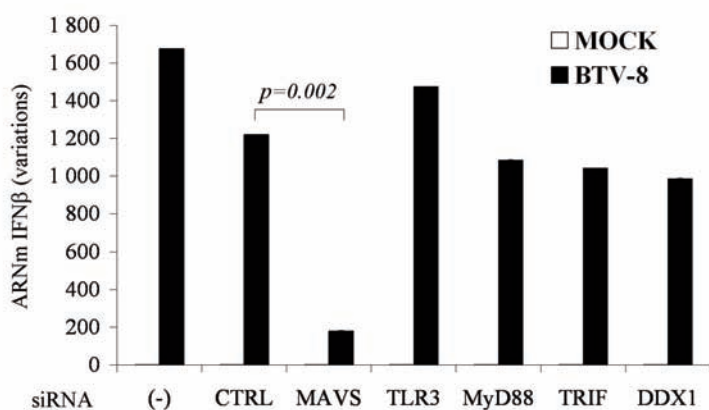
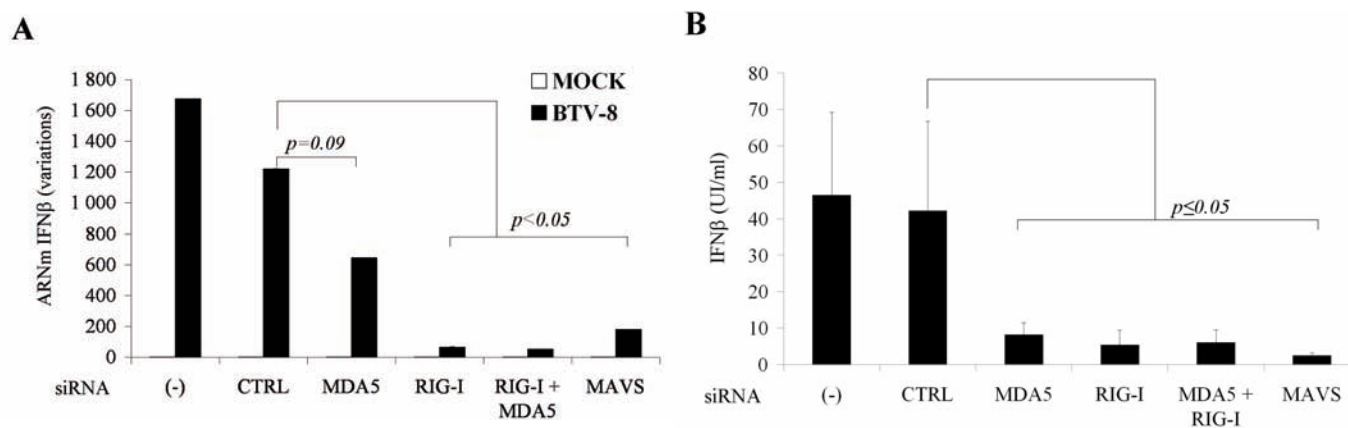


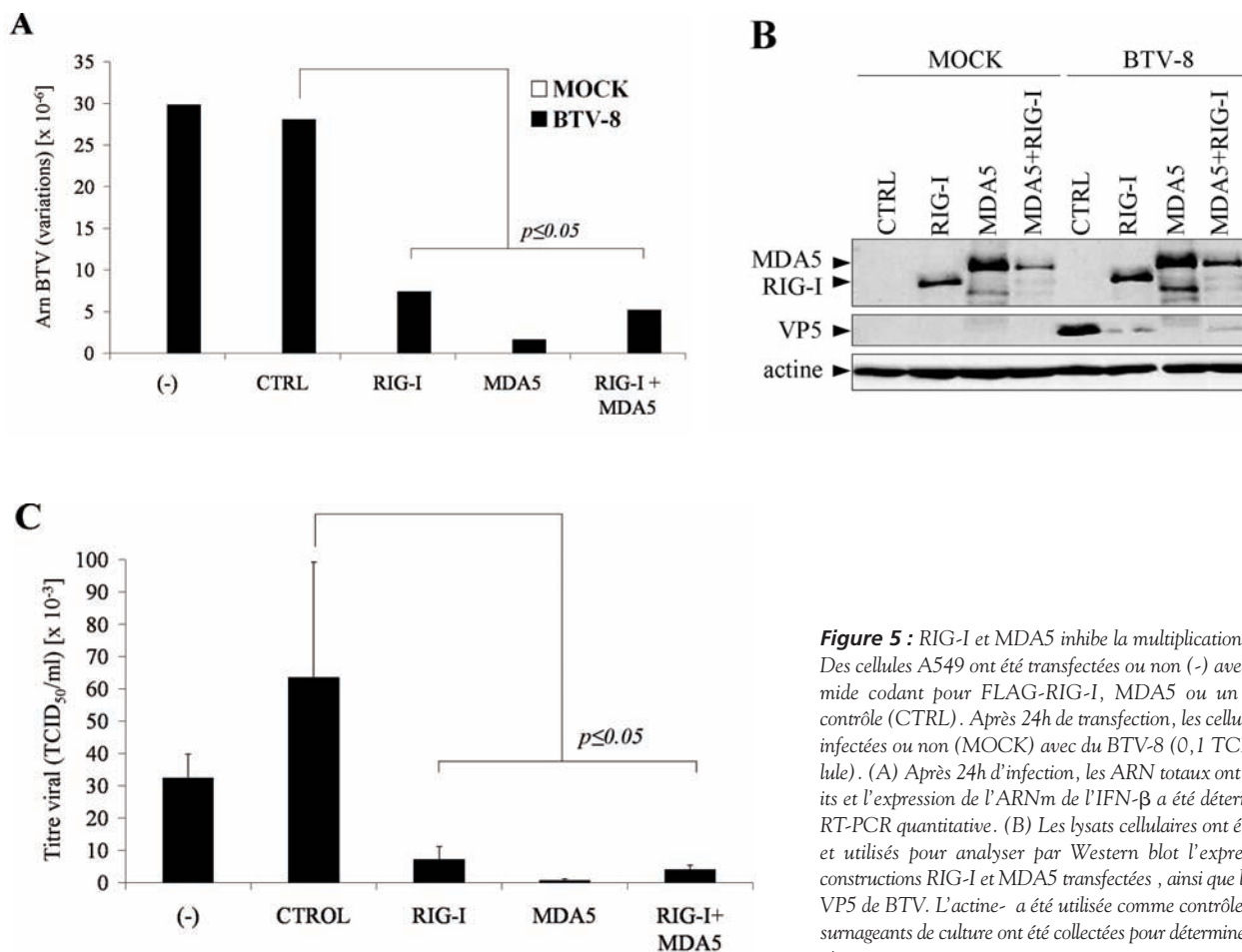
Figure 3 : Le BTV induit la synthèse d'IFN- $\beta$  par une voie dépendante de MAVS. Des cellules A549 ont été transfectées ou non (-) avec des petits ARN interférents (siRNA) spécifiques de MAVS, TLR3, MyD88, TRIF ou DDX1 ou des siRNA contrôles (CTRL). Après 48h de transfection, les cellules ont été infectées ou non (MOCK) avec du BTV-8 (0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule). Après 24h d'infection, les ARN totaux ont été extraits et l'expression de l'ARNm de l'IFN- $\beta$  a été déterminée par RT-PCR quantitative.



**Figure 4 :** Implication des ARN hélicases RIG-I et MDA5 dans l'induction d'IFN- $\beta$  par le BTV. Des cellules A549 ont été transfectées ou non (-) avec des petits ARN interférents (siRNA) spécifiques de RIG-I ou MDA5 ou des siRNA contrôles (CTRL). Après 48h de transfection, les cellules ont été infectées ou non (MOCK) avec du BTV-8 (0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule). Après 24h d'infection, les ARN totaux ont été extraits et l'expression de l'ARNm de l'IFN- $\beta$  a été déterminée par RT-PCR quantitative.

Afin de déterminer l'effet de la signalisation dépendante de RIG-I et MDA5 sur la multiplication du BTV dans les cellules A549, nous avons mesuré l'ARN viral, l'expression de la protéine VP5, et le titre viral 24h après infection dans des cellules surexprimant RIG-I, MDA5 ou les deux protéines. Comme indiqué dans la **figure 5A**, la surexpression de RIG-I, MDA5 ou des deux hélicases avant l'infection entraîne une diminution significative de

la quantité d'ARN viral. Cet effet antiviral était également observé au niveau protéique avec moins de VP5 détectée dans les mêmes conditions (**Figure 5B**). Enfin, le titre viral était également réduit dans les cellules surexprimant ces hélicases (**Figure 5C**). Ces résultats démontrent que la voie des RLRs apparaît très efficace pour établir une réponse antivirale contre l'infection par le BTV.



**Figure 5 :** RIG-I et MDA5 inhibe la multiplication du BTV. Des cellules A549 ont été transfectées ou non (-) avec un plasmide codant pour FLAG-RIG-I, MDA5 ou un plasmide contrôle (CTRL). Après 24h de transfection, les cellules ont été infectées ou non (MOCK) avec du BTV-8 (0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule). (A) Après 24h d'infection, les ARN totaux ont été extraits et l'expression de l'ARNm de l'IFN- $\beta$  a été déterminée par RT-PCR quantitative. (B) Les lysats cellulaires ont été extraits et utilisés pour analyser par Western blot l'expression des constructions RIG-I et MDA5 transfectées, ainsi que la protéine VP5 de BTV. L'actine- a été utilisée comme contrôle. (C) Les surnageants de culture ont été collectés pour déterminer les titres viraux.

## INHIBITION DE LA SYNTHÈSE DE L'IFN- $\beta$ PAR LA PROTEINE NS3 DE BTV

L'IFN- $\beta$  étant délétère pour la réplication virale, la plupart des virus ont développé des mécanismes pour contrer la réponse antivirale de l'hôte induite par l'infection. Cependant, peu de choses sont connues sur la capacité du BTV à contrôler ces mécanismes de défense cellulaire. Au cours d'un travail récent, nous avons cherché à déterminer la capacité du BTV et des différentes protéines codées par le virus à interférer avec la voie de signalisation des RLRs qui induit la synthèse d'IFN- $\beta$ .

Des cellules 293T humaines ont été infectées avec différentes quantités d'une souche de BTV-8, puis transfectées avec un plasmide rapporteur permettant l'expression du gène de la luciférase sous le contrôle d'un promoteur IFN- $\beta$ , ainsi qu'un plasmide codant pour un domaine constitutivement actif de RIG-I afin d'activer le promoteur IFN- $\beta$ . Une réduction significative de l'activité luciférase était observée dans les cellules infectées avec le BTV-8 démontrant par la même la capacité du virus à bloquer la voie des RLRs (Figure 6A).

Afin d'évaluer quelle(s) protéine(s) virale(s) pouvaient être à l'origine de cet effet inhibiteur, l'effet de chaque protéine de BTV-8 a été évalué sur l'activation du promoteur IFN- $\beta$  après stimulation par RIG-I. De façon intéressante, l'activation du promoteur IFN- $\beta$  était drastiquement affectée par la surexpression de la protéine NS3 (Figure 6B). Par la suite, nous avons pu observer que cette action apparaissait conservée parmi d'autres sérotypes de BTV.

L'action de NS3 semble intervenir au niveau transcriptionnel et non traductionnel puisque NS3 ne modifie pas l'activité d'un ARNm codant pour la luciférase (données non montrées).

Par ailleurs, en mesurant l'expression de multiples gènes cellulaires en présence de NS3, nous avons pu montrer que celle-ci bloquait spécifiquement l'expression de gènes liés à la voie

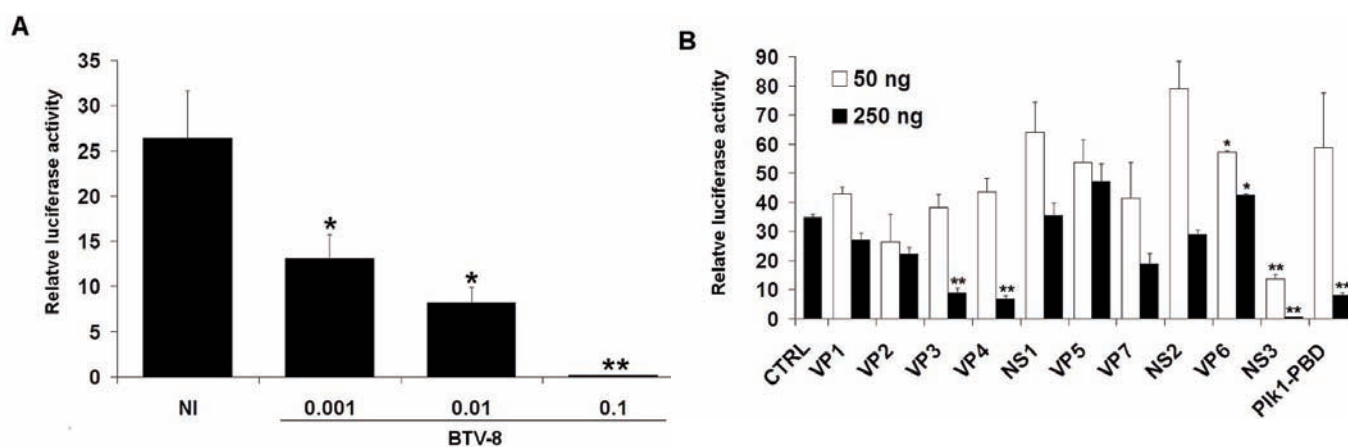
IFN et écartait ainsi un effet global de NS3 sur la transcription des gènes cellulaires (données non montrées).

Afin de vérifier que NS3 bloque l'activation du promoteur IFN- $\beta$  après activation de la voie des RLRs, plusieurs agonistes de cette voie ont été utilisés : virus Sendai, poly(I:C), poly(dA:dT) (Figure 7A-C). NS3 est capable de bloquer l'activation du promoteur IFN- $\beta$  induit par ces trois stimuli, confirmant l'effet antagoniste de NS3 sur la voie des RLRs.

Afin de mieux comprendre à quel niveau intervient NS3 dans la voie des RLRs, nous avons surexprimé les protéines MAVS, TBK1, IKK $\epsilon$  et IRF3-5D (une forme constitutivement active d'IRF3) comme activateurs du promoteur IFN- $\beta$  (Figure 7D-E). Alors que l'action de TBK1, IKK $\epsilon$  et IRF3-5D n'était pas ou peu affectée par NS3, ce dernier était en revanche capable de bloquer l'activation du promoteur IFN- $\beta$  médiée par MAVS. Ce résultat suggère que NS3 interfère avec la voie de signalisation des RLRs en amont des kinases TBK1/IKK $\epsilon$  et au niveau ou en aval de MAVS. Afin de confirmer ce résultat, la phosphorylation d'IRF3 a été mesurée par Western blot dans des cellules surexprimant RIG-I ou IKK $\epsilon$ , en présence de NS3 (Figure 7F). La forme phosphorylée de NS3 était détectée après stimulation par IKK $\epsilon$  et non par RIG-I, confirmant l'effet antagoniste de NS3 en amont de IKK $\epsilon$  et en aval de l'activation de RIG-I.

## DISCUSSION

Comme évoqué à travers cet article, le BTV peut induire l'IFN- $\beta$ , un acteur clé de la réponse innée antivirale, dans plusieurs types cellulaires, incluant les cellules endothéliales ou épithéliales bovines ou humaines. Nous avons pu montrer que le BTV peut activer les facteurs de transcription IRF3 et NF- $\kappa$ B pour induire l'expression d'IFN- $\beta$  et d'autres cytokines pro-inflammatoires. Cette induction requiert les ARN hélicases cyto-



**Figure 6 :** Activation du promoteur IFN- $\beta$  dans des cellules infectées par le BTV ou exprimant des protéines codées par le virus. (A) Des cellules 293T ont été infectées ou non (NI) avec différentes quantités de BTV-8 (0.001 à 0,1 TCID<sub>50</sub>/cellule), puis ont été transfectées avec les plasmides rapporteurs pRSV- Gal (contrôle de transfection), pIFN- $\beta$ -Luc (luciférase sous contrôle du promoteur IFN- $\beta$ ), ainsi qu'un plasmide codant pour une forme constitutivement active de RIG-I afin d'activer le promoteur IFN- $\beta$ . (B) Des cellules 293T ont été transfectées comme en (A) avec de plus 50 ou 250ng d'un plasmide contrôle (CTRL), d'un plasmide codant pour PLK1-PBD (un inhibiteur de la voie RIG-I) ou bien des plasmides codant pour chacune des protéines de BTV-8. L'activité luciférase a été mesurée à partir des lysats cellulaires collectés 16h post-transfection.



soliques RIG-I et MDA5 et la surexpression de ces récepteurs diminue la réplication du BTV, indiquant que RIG-I et MDA5 contribuent à la maîtrise de l'infection virale.

Les changements conformationnels de RIG-I et MDA5 induits par l'infection virale permettent le recrutement et l'activation de la protéine mitochondriale MAVS. Nous avons pu démontrer que les ARN hélicases RIG-I et MDA5 avec MAVS sont critiques pour la production d'IFN- $\beta$  dans des cellules humaines (A549) et bovines (MDBK) en réponse à l'infection par le BTV, révélant le rôle majeur de la voie RLR/MAVS dans la réponse anti-BTV. Au contraire, les protéines TLR3, MyD88, TRIF ou DDX1 ne semblent pas contribuer à la production d'IFN- $\beta$  dans ce modèle.

Récemment, la voie RLR/MAVS a été décrite comme jouant un rôle important dans la production d'IFN- $\beta$  par le rotavirus, un autre membre de la famille des Reoviridae, suggérant que des mécanismes de reconnaissance sont conservés à l'intérieur de cette famille [Broquet *et al.*, 2011; Sen *et al.*, 2011]. L'ARNdb génomique du rotavirus induit la réponse IFN [Zhou *et al.*, 2007; Deal *et al.*, 2010]. Il serait intéressant de déterminer si ce mécanisme est conservé pour le BTV.

Bien que nous ayons pu démontrer l'implication de RIG-I et MDA5 dans la synthèse d'IFN- $\beta$  au cours de l'infection par le BTV, d'autres PRRs pourraient contribuer à ce processus dans certaines cellules ou espèces. En outre, les RLRs ne semblent pas intervenir dans les pDCs [Kato, Sato *et al.*, 2005; Lubber, Cox *et al.*, 2010], au contraire des TLR7 et TLR9 qui induisent une cascade de signalisation mettant en jeu la protéine adaptatrice MyD88 [Honda *et al.*, 2004; Kawai *et al.*, 2004]. Dans une étude récente, des collaborateurs de l'INRA de Jouy-en-Josas ont montré que le BTV infecte à la fois les pDCs et cDCs ovines mais induit la production d'IFN- $\alpha/\beta$  uniquement dans les pDCs via un mécanisme qui requiert la maturation des endosomes en absence de réplication virale [Ruscanu *et al.*, 2012]. Ils démontrèrent également que le BTV active la voie de signalisation des IFN- $\alpha/\beta$  dans les pDCs via MyD88, ainsi via les kinases PKR et JNK.

Dans cette étude, nous avons montré que la synthèse d'IFN- $\beta$  dans les A549 nécessitait la réplication du BTV. Ce résultat est en contradiction avec les observations faites dans les pDCs [Ruscanu, Pascale *et al.*, 2012], indiquant des réponses cellulaires différentes entre les cellules immunes et non immunes. Ainsi, au cours de premiers stades de l'infection, une forte production systémique d'IFN- $\alpha/\beta$  et d'autres cytokines serait induites dans des cellules présentatrices d'antigène spécialisées (principalement des pDCs) par un mécanisme RLR-indépendant qui requiert la réplication virale, puis dans les principales cellules cibles de l'infection, telles que les cellules endothéliales, des PRRs distincts répondent aux produits de la réplication du BTV afin d'induire une réponse antivirale locale.

Il est intéressant d'explorer si un lien existe entre la pathogénèse virale et l'intensité de la signalisation IFN- $\alpha/\beta$ .

L'induction d'IFN- $\alpha/\beta$  est généralement délétère pour les virus et la plupart d'entre eux ont élaboré des stratégies pour contourner cette réponse antivirale. En cherchant à savoir si le BTV possédait également un mécanisme de blocage de la voie IFN- $\alpha/\beta$ , nous avons identifié la protéine NS3 de BTV comme étant un puissant inhibiteur de la voie des RLRs.

Un équilibre doit exister entre la capacité de l'hôte à induire la production d'IFN et la capacité des virus à bloquer cette voie de signalisation antivirale. On peut ainsi imaginer qu'en absence de NS3 le BTV produirait davantage d'IFN. Le BTV étant reconnu par différents PRRs en fonction de la nature des cellules infectées, il est également possible que cette capacité de blocage soit spécifique du type cellulaire. Différentes protéines virales pourraient aussi être requises en fonction des voies de signalisation activées par l'infection virale. Il serait intéressant également de déterminer à l'avenir les limites de l'action inhibitrice de NS3 sur la production des IFN- $\alpha/\beta$  et d'évaluer son activité antagoniste dans différents types cellulaires, après stimulation de différentes voies de signalisation. Une meilleure compréhension du mode d'action de NS3 et des autres mécanismes développés par le BTV pour contrecarrer la réponse cellulaire de l'hôte fournira des informations essentielles dans la compréhension de la pathogénèse associée à l'infection par le BTV et aidera à générer des meilleurs outils prophylactiques pour maîtriser le virus.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par l'ANSES, l'INRA, l'ENVA et le consortium européen EMIDA ORBINET (K1303206).  
Emilie CHAUVEAU et Estelle LARA ont été financées par l'ANSES et l'INRA.

## BIBLIOGRAPHIE

- Akira S., Uematsu S., *et al.* - Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, 124(4): 783-801.
- Alexopoulou L., Holt A.C., *et al.* - Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature*, 2001, 413(6857): 732-738.
- Belhouchet M., Mohd Jaafar F., *et al.* - Detection of a fourth orbivirus non-structural protein. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25697.
- Broquet A.H., Hirata Y., *et al.* - RIG-I/MDA5/MAVS are required to signal a protective IFN response in rotavirus-infected intestinal epithelium. *J Immunol* 186(3): 1618-1626.
- Broquet A.H., Hirata Y., *et al.* - RIG-I/MDA5/MAVS are required to signal a protective IFN response in rotavirus-infected intestinal epithelium. *J Immunol*, 2011, 186(3): 1618-1626.
- Chauveau E., Doceul V., *et al.* - Sensing and control of bluetongue virus infection in epithelial cells via RIG-I and MDA5 helicases. *J Virol*, 2012, 86(21): 11789-11799.
- Deal E.M., Jaimes M.C., *et al.* - Rotavirus structural proteins and dsRNA are required for the human primary plasmacytoid dendritic cell IFNalpha response. *PLoS Pathog*, 2010, 6(6): e1000931.
- Elbers A.R., Backx A., *et al.* - Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in The Netherlands. *Vet Microbiol*, 2008, 129(1-2): 156-162.
- Foster N.M., Luedke A.J., *et al.* - Temporal relationships of viremia, interferon activity, and antibody responses of sheep infected with several bluetongue virus serotypes. *Am J Vet Res*, 1991, 52(2): 192-196.
- Fulton R.W. and Pearson N.J. - Interferon induction in bovine and feline monolayer cultures by four bluetongue virus serotypes. *Can J Comp Med*, 1982, 46(1): 100-102.
- Gitlin L., Barchet W., *et al.* - Essential role of mda-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic:polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(22): 8459-8464.
- Hemati B., Contreras V., *et al.* - Bluetongue virus targets conventional dendritic cells in skin lymph. *J Virol*, 2009, 83(17): 8789-8799.
- Honda K., Yanai H., *et al.* - Role of a transcriptional-transcriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(43): 15416-15421.
- Huber J.P. and Farrar J.D. - Regulation of effector and memory T-cell functions by type I interferon. *Immunology*, 2011, 132(4): 466-474.
- Huismans H. - Bluetongue virus-induced interferon synthesis. *Onderstepoort J Vet Res*, 1969, 36(2): 181-185.
- James Maclachlan N. and Mayo C.E. - Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging, Culicoides-transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. *Antiviral Res*, 2013.
- Jameson P. and Grossberg S.E. - Production of interferon by human tumor cell lines. *Arch Virol*, 1979, 62(3): 209-219.
- Jameson P., Schoenherr C.K., *et al.* - Bluetongue virus, an exceptionally potent interferon inducer in mice. *Infect Immun*, 1978, 20(1): 321-323.
- Kato H., Sato S., *et al.* - Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, 2005, 23(1): 19-28.
- Kawai T., Sato S., *et al.* - Interferon-alpha induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol*, 2004, 5(10): 1061-1068.
- Luber C.A., Cox J., *et al.* - Quantitative proteomics reveals subset-specific viral recognition in dendritic cells. *Immunity*, 2010, 32(2): 279-289.
- Maan S., Maan N.S., *et al.* - Novel bluetongue virus serotype from Kuwait. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(5): 886-889.
- MacLachlan N.J. and Thompson J. - Bluetongue virus-induced interferon in cattle. *Am J Vet Res*, 1985, 46(6): 1238-1241.
- Mattei F., Schiavoni G., *et al.* - Regulation of immune cell homeostasis by type I interferons. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(4): 227-236.
- Meylan E., Tschopp J., *et al.* - Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature*, 2006, 442(7098): 39-44.
- Nalubamba K.S., Gossner A.G., *et al.* - Differential expression of pattern recognition receptors in sheep tissues and leukocyte subsets. *Vet Immunol Immunopathol*, 2007, 118(3-4): 252-262.
- O'Mahony D.S., Pham U., *et al.* - Differential constitutive and cytokine-modulated expression of human Toll-like receptors in primary neutrophils, monocytes, and macrophages. *Int J Med Sci*, 2008, 5(1): 1-8.
- Randall R.E. and Goodbourn S. - Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 2008, 89(Pt 1): 1-47.
- Ratniner M., Caporale M., *et al.* - Identification and characterization of a novel non-structural protein of bluetongue virus. *PLoS Pathog*, 2011, 7(12): e1002477.
- Roy P. - Bluetongue virus proteins and particles and their role in virus entry, assembly, and release. *Adv Virus Res*, 2005, 64: 69-123.
- Ruscanu S., Pascale F., *et al.* - The Double-Stranded RNA Bluetongue Virus Induces Type I Interferon in Plasmacytoid Dendritic Cells via a MYD88-Dependent TLR7/8-Independent Signaling Pathway. *J Virol*, 2012, 86(10): 5817-5828.
- Russell H., O'Toole D.T., *et al.* - Comparative effects of bluetongue virus infection of ovine and bovine endothelial cells. *Vet Pathol*, 1996, 33(3): 319-331.
- Saegerman C., Mellor P., *et al.* - The most likely time and place of introduction of BTV8 into Belgian ruminants. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9405.
- Schwartz-Cornil I., Mertens P.P., *et al.* - Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity. *Vet Res*, 2008, 39(5): 46.
- Segura E., Kapp E., *et al.* - Differential expression of pathogen-recognition molecules bet-



- ween dendritic cell subsets revealed by plasma membrane proteomic analysis. *Mol Immunol* 47(9): 1765-1773.
- Sen A., Pruijssers A.J., *et al.* - The early interferon response to rotavirus is regulated by PKR and depends on MAVS/IPS-1, RIG-I, MDA-5, and IRE3. *J Virol*, 2011, 85(8): 3717-3732.
  - Tabachnick W.J. - Culicoides and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Vet Ital*, 2004, 40(3): 144-150.
  - Yoneyama M., Kikuchi M., *et al.* - The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol*, 2004, 5(7): 730-737.
  - Zhang Z., Kim T., *et al.* - DDX1, DDX21, and DHX36 helicases form a complex with the adaptor molecule TRIF to sense dsRNA in dendritic cells. *Immunity* 34(6): 866-878.
  - Zhou R., Wei H., *et al.* - Recognition of double-stranded RNA by TLR3 induces severe small intestinal injury in mice. *J Immunol*, 2007, 178(7): 4548-4556.

