

Lectures

I

**LES MYSTÈRES DE LA LATENCE D'UN VIRUS
ET DE SA RÉACTIVATION**

par

B. RENTIER (U.Lg) (*)

La varicelle est provoquée par le virus de la varicelle et du zona (VZV) qui, comme son nom l'indique, est responsable également du zona, lié à la réactivation du virus dans ses sites nerveux de persistance. La latence du VZV est caractérisée par une durée souvent fort longue, plusieurs dizaines d'années, ce qui a rendu fort difficiles les études des mécanismes sous-jacents.

Dans la varicelle, le virus pénètre par les voies respiratoires, suite à l'inhalation de micro-gouttelettes de Pflüger. Le virus se réplique dans l'épithélium trachéen et bronchique, puis dans les ganglions lymphatiques. Une virémie primaire se développe, suite à quoi le virus atteint les organes internes, tels que le foie et la rate, où il se réplique à nouveau. Deux semaines après le contagion, une virémie secondaire transporte le virus vers la peau et la maladie entre dans sa phase éruptive. C'est durant cette période, d'une durée de quelques jours, que le virus passe dans le système nerveux et se propage jusqu'aux ganglions sensoriels, où il entre en latence. Dans de rares cas, il peut même atteindre le système nerveux central. Habituellement, cette pénétration dans le système nerveux, et la résidence du virus dans les cellules nerveuses, ne s'accompagnent d'aucun signe neurologique décelable. Sur ces entrefaites, le système immunitaire, alerté, développe une réponse humorale qui permettra de neutraliser tout virus circulant dans le sang, et une réponse cellulaire procédera au nettoyage des cellules infectées, à l'exception des cellules nerveuses, hors d'atteinte.

Lorsque, de nombreuses années plus tard et suite à un stimulus encore mal identifié, mais très probablement lié à un affaiblissement de la réponse immunitaire cellulaire, le virus se réactive au sein des ganglions sensoriels, il reprend le chemin axonal pour revenir au niveau de la peau et y provoquer des lésions généralement confinées à un seul dermatome unilatéral. Des dommages causés par la répli-

(*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 84 du Règlement.

cation virale aux cellules nerveuses, et en particulier à celles qui contrôlent les mécanismes de la douleur, entraînant généralement des douleurs intenses pouvant parfois, surtout chez les personnes âgées, durer bien au-delà de la période d'éruption, puis de séchage et de disparition des lésions. Ces séquelles douloureuses, souvent très violentes, permanentes et insupportables, sont appelées « névralgies post-zonatales » ou « post-herpétiques », le terme d'herpès étant consacré aux éruptions dues non seulement à *l'herpès simplex*, mais également à *l'herpes zoster* (zona). Les chances de réactivation du virus et d'occurrence d'un zona et de douleurs post-herpétiques augmentent notablement avec l'âge, de même que la gravité de l'affection.

Un vaccin contre la varicelle, constitué par un virus vivant atténué, a été développé au Japon dans les années '70, et est maintenant d'usage universel chez les enfants aux États-Unis. Bien que ce vaccin soit sans danger et efficace contre la varicelle, il ne protège pas du zona car le virus vaccinal a été démontré capable de se réactiver comme le virus sauvage, quoique beaucoup moins fréquemment.

Le VZV, un alpha-herpesviridae, est un virus à ADN, constitué d'une capsidie icosaédrique régulière et d'une enveloppe lipo-protéique externe. La morphologie ne permet pas de distinguer les herpesviridae (herpes simplex, cytomegalovirus, virus d'Epstein-Barr, HHV-6, 7 et 8 ainsi qu'une multitude de virus d'animaux) entre eux. L'organisation de leurs génomes présente des similitudes frappantes, mais également de considérables différences, la taille du génome pouvant varier pratiquement du simple au double, d'un groupe à l'autre.

Le cycle infectieux du virus est fort complexe. Qu'il suffise ici de rappeler que ce cycle se déroule essentiellement en trois phases : une phase précoce immédiate (immédiate early, IE), une phase précoce (early, E) et une phase tardive (late, L). Chaque phase se caractérise par la transcription d'un ensemble de gènes viraux appelés respectivement α , β et γ . Les transcrits ainsi obtenus sont traduits en protéines IE, E et L. Les gènes α codent pour les protéines IE. Celles-ci commandent la transcription-traduction des gènes β qui codent pour les protéines E. Celles-ci jouent soit un rôle d'activateur des gènes γ à leur tour, soit un rôle enzymatique dans le contrôle de la réplication de l'ADN viral qui conduit à la fabrication des ADN des futurs virions. Les gènes γ codent pour les protéines L qui sont en grande majorité des protéines de structure du virus (protéines de la capsidie et glycoprotéines de l'enveloppe). L'assemblage des capsides, faites de protéines L et d'ADN répliqué, se déroule dans le nucléoplasme, le virus s'enveloppe une première fois dans un repli de la membrane interne de l'enveloppe

nucléaire de la cellule, circule dans l'espace périmucléaire et, curieusement, se désenveloppe au niveau de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire. On retrouve donc des capsides nues dans le cytoplasme et celles-ci se 'réenveloppent' dans des replis de membranes de vésicules cytoplasmiques. Les virions sont donc libérés dans la lumière de ces vésicules et, suite à la fusion des vésicules avec la membrane cytoplasmique, ils sont rejetés à l'extérieur.

Pendant la latence du virus, tout ce mécanisme s'arrête aussitôt après la phase 1, lors des premiers moments de la phase 2, provoquant une accumulation de protéines IE et de quelques protéines E, et sans constitution de virions complets. Il est possible que l'accumulation de ces protéines IE, en particulier, serve d'élément régulateur qui maintient le virus en latence.

Pour mieux comprendre ces phénomènes, nous avons mis au point des modèles d'étude de l'infection des cellules nerveuses *in vitro* et *in vivo* chez le rat (Merville-Louis *et al.*, 1989 ; Sadzot-Delvaux *et al.*, 1990). Ces études ont démontré une similitude frappante entre l'infection par le VZV chez le rat et chez l'homme.

C'est ainsi que les études chez le rat ont permis de mettre en évidence l'existence d'une traduction des ARN transcrits (Debrus *et al.*, 1995), alors qu'on pensait jusqu'alors que cette transcription partielle des gènes viraux ne donnait pas naissance à des protéines. Cette découverte importante a ouvert la voie à une recherche de protéines virales, traduites lors de la latence chez l'homme, ce qui a été démontré par plusieurs équipes, en collaboration avec notre laboratoire (Mahalingam *et al.*, 1996).

Il est donc maintenant bien clair que, durant la latence, la protéine IE63 du VZV est fortement exprimée dans les ganglions sensoriels de rats infectés, ainsi que dans les ganglions sensoriels humains infectés. La protéine IE63 s'avère donc être un acteur inattendu du scénario de la latence du VZV. Nous avons pu montrer que la protéine IE63 est un répresseur efficace de promoteurs viraux ainsi que de promoteurs cellulaires (Jackers *et al.*, 1992 ; E. di Valentin, résultats non publiés). Son rôle dans l'induction de la latence virale et dans la réactivation du virus pourrait être majeur.

Diverses hypothèses (liste non exhaustive) doivent être envisagées : les protéines virales exprimées durant la latence sont modifiées et partant, s'accumulent dans le cytoplasme ; une protéine spécifique des neurones interagit avec des composants viraux pour bloquer le cycle de réplication ; une protéine cellulaire nécessaire à la réplication virale est absente dans les neurones.

D'autres études portant sur l'immunité cellulaire au VZV indiquent qu'elle pourrait être impliquée dans la latence et la réactivation virales (Sadzot-Delvaux *et al.*, 1997). En effet, l'immunité cellulaire au VZV chute avec l'âge chez des personnes saines, alors que celle qui est plus spécifiquement dirigée contre la protéine IE63 se maintient. Ceci laisse penser que seul un affaiblissement de l'immunité anti-IE63 pourrait être responsable de la réactivation virale. Des études sont entreprises dans une population âgée, suivie pour l'apparition d'un zona, afin d'examiner cette possibilité. D'autre part, une importante étude est actuellement en cours aux États-Unis, et porte sur 38.000 personnes de plus de 50 ans, vaccinées ou non lors de l'étude, et suivies pour l'apparition d'un zona, indépendamment de leur séropositivité. Cette étude devrait permettre, lors de son décodage en 2004, de voir si la vaccination permet de relancer l'immunité au virus et de protéger ces personnes contre le zona.

Diverses améliorations pourraient cependant être apportées au vaccin actuel. En particulier, une délétion du ou des gènes responsable(s) du neurotropisme, le priverait de la possibilité de se réactiver et de provoquer un zona. Une telle manipulation requiert avant tout l'identification d'un (des) gène(s) du neurotropisme, par la création de mutants de délétion, chez l'animal ou en culture de cellules.

Il est également permis d'imaginer une stimulation de l'immunité naturelle en ajoutant aux préparations vaccinales des composants tels que des protéines exprimées durant la latence (IE63, par exemple), en identifiant des adjuvants favorisant la réponse immunitaire cellulaire (Sadzot, Delvaux & Rentier, 2001).

RÉSUMÉ

Le virus de la varicelle et du zona est un herpesvirus responsable de trois entités cliniques distinctes : la varicelle, le zona et les douleurs post-herpétiques. C'est le passage du virus dans le système nerveux périphérique lors de la primo-infection, qui détermine les aspects neurologiques de ces maladies : complications nerveuses de la varicelle, latence du virus dans les ganglions sensoriels et réactivation en zona, avec parfois des séquelles douloureuses prolongées. La prévention est obtenue par une vaccination par virus vivant atténué, et la thérapeutique fait appel à des agents antiviraux spécifiques. A bien des égards, le VZV se comporte différemment des virus proches. En particulier, la latence du virus dans le système nerveux, est fondamentalement différente de celle des autres herpesvirus. La découverte récente de l'expression de certaines protéines virales régulatrices lors de la latence, considérée jusqu' alors comme silencieuse, et la démonstration du caractère immunogène de ces protéines, ouvrent des perspectives nouvelles quant au contrôle immunitaire de la réactivation du VZV.

SUMMARY

Varicella-zoster virus is a Herpesvirus responsible for three distinct clinical features : chicken pox (varicella), shingles (herpes zoster) and post-zosterian pain (post-herpetic neuralgia). Neurological features of these diseases such as complications of chicken pox, viral latency in sensory ganglia and reactivation as shingles with concurrent and possibly subsequent prolonged pain, are the sequels of the invasion of the peripheral nervous system during primary infection. Prevention is achieved by vaccination with a live attenuated virus strain and therapy calls for specific antiviral agents. In many respects, VZV behaves differently from close relatives. In particular, viral latency in the nervous system is basically different from that of other Herpesviridae. The recent discovery of the expression of some viral regulatory proteins during latency, although it had always been considered that VZV latency was silent, and demonstration that these proteins are immunogenic open new avenues concerning the immune control of VZV reactivation.

BIBLIOGRAPHIE

1. DEBRUS S., C. SADZOT-DELVAUX, A. F. NIKKELS, J. PIETTE & B. RENTIER : *Varicella-zoster virus gene 63 encodes an immediate-early protein abundantly expressed during latency*. J. Virol. **69**, 3240-3245, 1995.
2. GILDEN D. H., B. K. KLEINSCHMIDT-DEMASTERS, M. WELLSCH, E. T. HEDLEY-WHYTE, B. RENTIER & R. MAHALINGAM : *Varicella-zoster virus : a cause of waxing and waning vasculitis*. *The New England Journal of Medicine*, case 5-1995 revisited. *Neurology* **47**, 1441-1446, 1996.
3. JACKERS P., P. DEFECHEREUX, L. BAUDOUX, C. LAMBERT, M. MASSAER, M.-P. MERVILLE-LOUIS, B. RENTIER & J. PIETTE : *Characterization of regulatory functions of the varicella-zoster virus gene 63-encoded protein*. J. Virol. **66**, 3899-3903, 1992.
4. MAHALINGAM R., M. WELLSCH, R. COHRS, S. DEBRUS, J. PIETTE, B. RENTIER & D. H. GILDEN : *Expression of protein encoded by varicella-zoster virus open reading frame 63 in latently infected human ganglionic neurons*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93**, 2122-2124, 1996.
5. MERVILLE-LOUIS M. P., C. SADZOT-DELVAUX, P. DELREE, J. PIETTE, G. MOONEN & B. RENTIER : *Varicella-zoster virus persistent infection of adult rat sensory neurons in vitro*. J. Virol. **63**, 3155-3160, 1989.
6. SADZOT-DELVAUX C., M.-P. MERVILLE-LOUIS, P. DELREE, Ph. MARC, J. PIETTE, G. MOONEN & B. RENTIER : *In vivo model for varicella-zoster virus persistent infection of dorsal root ganglia*. *J. Neurosci. Res.* **26**, 83-89, 1990.
7. SADZOT-DELVAUX C., P. R. KINCHINGTON, S. DEBRUS, B. RENTIER & A. M. ARVIN : *Recognition of the latency-associated immediate early protein IE63 of varicella-zoster virus by human memory T-lymphocytes*. *J. Immunol.* **159**, 2802-2806, 1997.
8. SADZOT-DELVAUX C. & B. RENTIER : *The role of varicella-zoster virus immediate-early proteins in latency and their potential use as components of vaccines*. *Arch. Virol.* **17**, 81-89, 2001
9. D. H. GILDEN, B. K. KLEINSCHMIDT-DEMASTERS, M. WELLSCH, E. T. HEDLEY-WHYTE, B. RENTIER & R. MAHALINGAM : *Varicella-zoster virus : a cause of waxing and waning vasculitis*. *The New England Journal of Medicine* case 5-1995 revisited. *Neurology* **47**, 1441-1446, 1996.

Discussion

M. Ph. Evrard — La lecture faite par le Professeur Rentier fut remarquable et d'une importance toute particulière dans le domaine de la neuropédiatrie. Je l'en félicite, je l'en remercie chaleureusement et je lui adresse les questions suivantes. (i) La varicelle est un des facteurs étiologiques les plus importants dans les accidents vasculaires cérébraux de l'enfant. L'artérite intracrânienne post-varicelleuse survient en moyenne deux mois après la varicelle, parfois jusqu'à neuf mois après cette maladie. Le mécanisme de latence virale exposé dans votre lecture est-il applicable à ces artérites ? (ii) Les cérébellites post-varicelleuses que nous rencontrons fréquemment sont-elles dues à un mécanisme analogue ? Avez-vous une explication pour le tropisme cérébelleux si remarquable ? (iii) Nous rencontrons fréquemment des cérébellites aigues d'origine indéterminée. Quels examens suggérez-vous pour établir ou pour exclure une éventuelle étiologie varicelleuse par réactivation de ce virus après une longue latence dans le cervelet ?

M. B. Rentier — (1) Les mécanismes ne sont pas connus. Toutefois, nous avons pu montrer, en collaboration avec des collègues de Denver et de Harvard, que le VZV pouvait rester latent dans les endothéliums vasculaires et y être éventuellement responsables de vascularites. (2) Aucune idée particulière concernant un tropisme cérébelleux. (3) L'analyse post-mortem est relativement simple (immunohistochimie, mise en évidence d'antigènes viraux de type IE63 ou PCR). Chez un patient vivant, la recherche par PCR de l'ADN viral dans le LCR est la seule option actuellement.

M. A. Govaerts — Le mécanisme de réplication du VZV que vous avez si clairement décrit et qui est différent de celui des HSV, est-il semblable à celui d'un autre virus herpétique latent, le CMV, et ce dernier est-il susceptible d'un vaccin analogue ?

M. B. Rentier — Non, bien que tous les Herpesviridæ soient capables d'entrer en latence et de se réactiver, les mécanismes utilisés par les divers virus sont fort différents. Au sein même des Alphaherpesvirinæ (HSV et VZV), les différences sont considérables. Pendant sa latence, le HSV exprime uniquement des transcrits partiels (latency-associated transcripts, LAT) qui ne sont pas traduits en protéines, et qui exercent leur rôle apparent de maintien de la latence d'une manière encore inconnue. Le CMV, lui est encore bien différent et les voies de préparation d'un vaccin anti-CMV sont encore très mal connues.

M. P. Vanderhoef — Les voies respiratoires étant la porte d'entrée, quelles sont les expressions pulmonaires qui en résultent ? Faut-il couper les ongles aux enfants atteints de varicelle ? Ces vésicules ne sont-elles pas une autre porte d'entrée ?

M. B. Rentier — La varicelle commence comme une infection respiratoire, accompagnée d'éternuements et de toux, qui constituent le meilleur moyen de propagation du virus et expliquent l'efficacité remarquable de la contagion. On pense actuellement que le passage du virus des tissus cutanés aux neurones, se fait probablement par des micro-lésions. Celles-ci pourraient être facilitées par le grattage, d'où la recommandation de couper les ongles, qui se justifie également en termes de transmission du virus, très abondant dans les vésicules cutanées et, partant, sous les ongles si l'enfant s'est gratté. Les vésicules en elles-mêmes, remplies de virus, ne constituent pas une porte d'entrée, mais une redoutable porte de sortie.

M. Ch. M. Lapière — Le mécanisme responsable de la latence du VZV m'a toujours intrigué. Comment les cellules immunitaires contrôlent-elles la prolifération et/ou la progression du virus au sein des cellules des ganglions sensoriels ?

M. B. Rentier — Très probablement en raison de l'émission, par les cellules immunitaires, de cytokines qui peuvent alors avoir des effets sur les cellules nerveuses et y induisent des modifications retentissant sur la réplication virale. Des études sont actuellement en cours pour tenter de démontrer cette thèse.

M. Ch. van Ypersele — Si nous pressentons qu'un zona est sur le point de se développer, quelle est la méthode « Rentier » pour le vaincre ?

M. B. Rentier — Attendre l'expression de vésicules cutanées typiques et traiter aux antiviraux (acyclovir et dérivés, valacyclovir ou famciclovir) dans les 72 heures de la première apparition de lésions. Ceci permet d'éviter le développement du zona, mais également l'apparition de douleurs post-zonateuses, dites « post-herpétiques ». Toutefois, certains zonas se manifestent par la douleur seule, et non par une éruption, et nous pensons que ces cas sont plus nombreux qu'on ne l'imagine habituellement, et pourraient expliquer bien des douleurs à étiologie inconnue, tant au thorax qu'au visage. Il est évident qu'un traitement identique de ces douleurs pourrait s'avérer très utile, mais reste assez peu utilisé, faute de diagnostic clair.