

Propriétés oncogéniques du virus d'Epstein-Barr et pathologies malignes associées

Oncogenic properties of the Epstein-Barr virus and associated malignancies

Anais Pujals*, Philippe Gaulard*, Joëlle Wiels**

» Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un herpèsvirus associé à différentes tumeurs hématologiques ou épithéliales dont les principales sont le lymphome de Burkitt, les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation et le carcinome nasopharyngé. Les cellules malignes infectées expriment des protéines virales dites "de latence". Parmi ces protéines de latence, certaines, telles LMP-1 et LMP-2, présentent des propriétés oncogéniques et sont capables d'activer plusieurs voies de signalisation impliquées dans la régulation de grandes fonctions cellulaires comme la prolifération ou la survie. La compréhension des mécanismes d'oncogenèse liés à l'infection devrait permettre, dans les années à venir, de développer des thérapies ciblant spécifiquement ces anomalies pour le traitement des pathologies malignes associées à EBV.

Mots-clés : Virus d'Epstein Barr – Lymphome de Burkitt – Lymphoprolifération des sujets transplantés – Carcinome nasopharyngé – LMP.

The Epstein-Barr Virus (EBV) is a Herpes Virus which has been associated with several hematologic or epithelial malignancies including Burkitt lymphoma, post-transplant lymphoproliferative disorders and nasopharyngeal carcinoma. EBV-infected malignant cells expressed numerous viral latency proteins. Some of these proteins such as LMP-1 and LMP-2, display oncogenic properties by inducing signalling pathways involved in the regulation of essential cellular function such as proliferation or cell survival. The understanding of these oncogenic mechanisms would promote the development of targeted therapies and would lead to improve the treatment of EBV-associated malignancies.

Keywords: Epstein-Barr virus – Burkitt lymphoma – Post-transplant lymphoproliferative disorder – Nasopharyngeal carcinoma – LMP.

Le virus d'Epstein-Barr

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un virus transformant qui appartient à la sous-famille des γ -herpèsvirus. La découverte de ce virus en 1964 fut l'aboutissement de plusieurs années de recherches menées par les virologues Anthony Epstein et Yvonne Barr en collaboration avec le chirurgien Denis Burkitt. Le virion de l'EBV présente une structure comparable à celle de tous les autres herpèsvirus. Les particules virales comportent un nucléoïde, constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire linéaire, d'une nucléocapside isocaténaire, d'un téguement et d'une enveloppe lipidique. Cette enveloppe externe constitue l'élément de fragilité du virus. Son pouvoir infectieux peut être diminué si cette enveloppe est altérée. La transmission du virus nécessite donc

des contacts humains très étroits. L'infection par EBV s'effectue le plus souvent par la salive, ce qui permet au virus de franchir la muqueuse de l'oropharynx (1). Les organes cibles de la primo-infection sont donc majoritairement localisés dans la zone oropharyngée. Le virus peut infecter des lymphocytes B mais également des cellules épithéliales au niveau de cette zone (2). La primo-infection des lymphocytes B est suivie par une entrée du virus en phase de latence. Celle-ci permet à l'EBV de persister à long terme dans la cellule hôte. La mise en place d'une infection latente repose sur 2 événements :

- ✓ la répression du cycle lytique, qui correspond à la phase répliquative et permet au virus de produire de nouvelles particules virales ;
- ✓ l'expression de gènes dits "de latence".

* Département de pathologie, Inserm U955, hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil ; université Paris Est-Créteil.
** CNRS UMR 8126, institut Gustave-Roussy ; université Paris-Sud, Villejuif.

Les produits des gènes de latence regroupent 6 protéines nucléaires (EBNA), 3 protéines membranaires (LMP), 2 ARN nucléaires non polyadénylés (EBER1 et EBER2), les ARN BART et les micro-ARN BART et BHRF1. L'expression des protéines de latence contribue aux propriétés d'immortalisation et de transformation par l'EBV en influençant la machinerie cellulaire afin de contrôler la multiplication et la survie des cellules infectées. On distingue 4 types de latence (I, II, III, "Wp restreinte"), associés à différentes pathologies malignes et définis selon le profil d'expression des gènes viraux latents (*tableau*) [3].

Pathologies associées au virus d'Epstein-Barr

La primo-infection par l'EBV, qui survient souvent tôt dans l'enfance, est fréquemment asymptomatique. Cependant, si l'infection se produit chez l'adolescent ou le jeune adulte, elle peut être à l'origine d'une maladie bénigne : la mononucléose infectieuse (MNI). L'EBV, sous sa forme latente, est également associé à plusieurs pathologies malignes telles que des lymphoproliférations ou des proliférations épithéliales.

Le lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt (LB) est une prolifération monoclonale de lymphocytes B décrite pour la première fois par Denis Burkitt en 1958. Les cellules de LB sont caractérisées par la présence de translocations chromosomiques qui placent l'oncogène *c-myc* au voisinage des gènes codant les chaînes des immunoglobulines. Ces translocations entraînent une surexpression de *c-myc*, considérée comme l'un des événements majeurs menant à la pathogenèse de ce lymphome. Le LB est également fortement associé à l'EBV. La plupart des tumeurs infectées par le virus présentent une latence de type I. Toutefois, certains cas de latence de type "Wp restreinte" ainsi que quelques rares cas de latence de type III ont également été observés (4). Trois formes cliniques et épidémiologiques de LB sont décrites par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [5]:

- ✓ une forme endémique, associée à l'EBV dans 98% des cas, retrouvée principalement en Afrique équatoriale et en Papouasie-Nouvelle-Guinée, et se manifestant cliniquement par des tumeurs de la mâchoire et de la cavité abdominale ;
 - ✓ une forme sporadique, décrite dans le reste du monde, associée à l'EBV dans 15 à 20% des cas, et se manifestant majoritairement par la présence de tumeurs abdominales ;
 - ✓ une forme associée au syndrome d'immunodéficience, associée à l'EBV dans 30 à 40% des cas, survenant chez les patients infectés par le VIH et se traduisant par une atteinte multiviscérale d'emblée.
- Le traitement des LB repose principalement sur une polychimiothérapie associée aux corticoïdes.

Les lymphoproliférations des sujets transplantés

Les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation (PTLD) surviennent dans le cadre de l'immunosuppression qui suit une transplantation d'organes ou de moelle osseuse. Les PTLD sont très fortement associés à l'EBV (latence III) et le risque de survenue est 10 à 20 fois plus élevé lorsque le receveur est séronégatif pour l'EBV et que le donneur est séropositif. De ce fait, ces lymphoproliférations sont plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte en raison des séroconversions. Les PTLD se caractérisent par un large spectre morphologique et présentent des caractéristiques histopathologiques variables. Leur prise en charge repose sur plusieurs stratégies : la levée de l'immunosuppression, qui permet la guérison par restauration d'une réponse immunitaire antivirale efficace, l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD20 (rituximab), la chimiothérapie et la radiothérapie. Des traitements antiviraux ont également été utilisés à titre préventif ou curatif, mais les résultats obtenus lors de ces études sont controversés et peu concluants (6). L'efficacité limitée de ces traitements peut être due au fait que le virus est présent sous une forme latente dans les cellules de PTLD. L'une des stratégies envisagées aujourd'hui chez les patients présentant une lymphoprolifération associée à l'EBV consiste à induire le cycle lytique du virus pour ensuite utiliser un antiviral comme le ganciclovir ou l'aciclovir.

Tableau. Caractéristiques des différents types de latence associées à l'EBV.

	Latence de type I	Latence de type II	Latence de type III	Latence "Wp restreinte"
Protéines exprimées	EBNA-1	EBNA-1, LMP-1, LMP-2A, LMP-2B	EBNA-1, -2, -3A, -3B, -3C, -LP, LMP-1, LMP-2A, LMP-2B	EBNA-1, -3A, -3B, -3C, EBNA-LP délété
Pathologies associées	Lymphome de Burkitt	Carcinome du nasopharynx Lymphome de Hodgkin (forme classique) Lymphomes T/NK de type nasal	Lymphoproliférations des sujets transplantés Rares lymphomes de Burkitt	Lymphome de Burkitt

Le lymphome de Hodgkin

Le lymphome de Hodgkin se manifeste généralement sous la forme d'une adénopathie. Les biopsies révèlent alors une rupture de l'architecture des ganglions lymphatiques ainsi que la présence de grandes cellules atypiques binucléées, appelées cellules de Reed-Sternberg, qui constituent 1 à 5 % de la masse tumorale. Il existe 2 formes de la maladie : une forme classique retrouvée dans 95 % des cas et une forme nodulaire à prédominance lymphocytaire (5 % des cas). L'EBV est associé à la forme classique de ce lymphome (40 % des cas) : il est retrouvé dans les cellules de Reed-Sternberg, où il établit une latence de type II. Les patients ayant eu une MNI présentent un risque plus important de développer un lymphome de Hodgkin associé à l'EBV (7). Lorsque cette maladie survient chez des patients atteints de sida, l'association avec l'EBV est quasi constante (8).

Le lymphome T/NK extranodal de type nasal

Le lymphome T/NK à localisation nasale est une prolifération tumorale extraganglionnaire très fréquente en Asie et plus rare en Occident. Ce lymphome se manifeste par la présence d'une lésion ulcérée, souvent unique, touchant la cavité nasale, le rhinopharynx et le palais. Ces lymphoproliférations monoclonales, constituées le plus souvent de cellules NK, sont constamment associées à l'EBV, dont le génome est retrouvé dans la quasi-totalité des cellules tumorales. Les cellules présentent une infection clonale et un profil de latence de type I/II (9). Peu de choses sont actuellement connues sur le rôle de l'EBV dans ces pathologies.

Les carcinomes gastriques

Les carcinomes gastriques représentent 10% des cancers dans le monde et sont considérés comme étant la seconde cause de mortalité par cancer. Les taux d'incidence les plus élevés ont été rapportés en Asie, en Europe de l'Est et dans certains pays d'Amérique latine. L'EBV a tout d'abord été recherché dans les carcinomes gastriques de type lymphoépithélial, car ils possèdent des caractéristiques histologiques communes avec les NPC indifférenciés. Le virus a alors été trouvé dans 80 % des cas. L'extension des études à d'autres types histologiques a montré que l'EBV est présent dans les cellules tumorales dans 4 à 18 % des cas, selon l'origine géographique des patients étudiés. L'incidence des carcinomes gastriques associés à l'EBV est élevée en Amérique du Sud et en Amérique centrale et en Allemagne (18 %) et bien plus faible en Chine (4 %). Dans ces tumeurs, l'infection est monoclonale et se traduit par l'expression d'un programme de latence de

type I. Plusieurs études suggèrent que l'EBV pourrait avoir un rôle étiologique dans la carcinogenèse. Des travaux ont montré que l'infection par l'EBV de lignées épithéliales gastriques permet une meilleure prolifération cellulaire et une croissance en agar (10). De plus, les carcinomes gastriques infectés par l'EBV sont plus résistants à l'apoptose induite par divers stimuli (11).

Propriétés oncogéniques du virus d'Epstein-Barr

La présence de l'EBV à l'état latent dans les cellules peut altérer certaines fonctions cellulaires et conduire à la transformation tumorale. Ce sont principalement les protéines EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3C ainsi que les LMP qui sont impliquées dans l'oncogenèse associée au virus.

La protéine EBNA-1

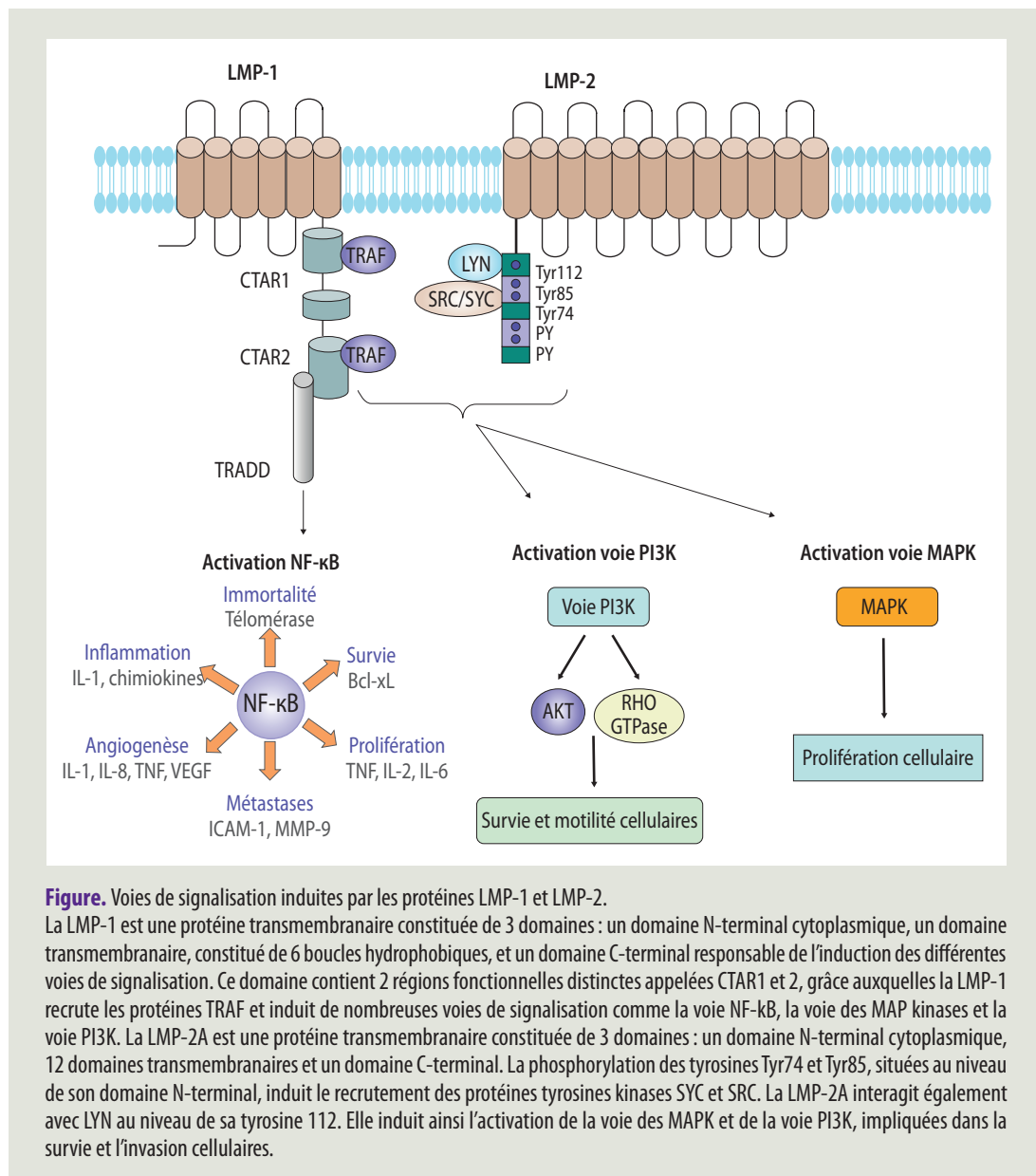
La protéine EBNA-1 est retrouvée dans tous les types de latence et, de ce fait, dans toutes les pathologies associées à l'EBV. Les propriétés biologiques de cette protéine sont indispensables au maintien du génome viral dans la cellule en prolifération. EBNA-1 se fixe sur une région du génome viral située dans l'origine de réplication plasmidique et également sur les chromosomes de la cellule hôte lors de la mitose. La liaison d'EBNA-1 à l'ADN permet la réplication et le maintien du génome viral dans les cellules en division. De plus, EBNA-1 est un transactivateur transcriptionnel qui contribue à l'oncogenèse par différents mécanismes tels que la régulation du cycle cellulaire (régulation de l'expression de la cycline D1), la migration cellulaire (régulation de l'expression des chimiokines CCL3 et CCL4) et l'apoptose (augmentation de l'expression d'une protéine antiapoptotique, la survivine) [12].

La protéine EBNA-2

La protéine EBNA-2 est un puissant activateur transcriptionnel qui recrute, par son domaine de transactivation, des protéines de la machinerie transcriptionnelle et des facteurs de remodelage de la chromatine du complexe Swi/Snf. EBNA-2 stimule ainsi la transcription de certains gènes viraux tels que ceux codant LMP-1 et LMP-2. Elle est également responsable de la surexpression de certains gènes cellulaires comme l'oncogène *c-myc*, *C-FGR* ou le gène codant la protéine membranaire CD21 (récepteur d'EBV) [13].

La protéine EBNA-3C

La protéine EBNA-3C joue un rôle essentiel dans la tumorigenèse associée à l'EBV en régulant la prolifé-



ration, le cycle cellulaire et les capacités métastatiques des cellules infectées. Cette protéine est capable d'interagir avec MYC, permettant ainsi la stabilisation de cet oncogène et l'augmentation de la transcription de ses gènes cibles. EBNA-3C est également capable de réguler le suppresseur de tumeur RB en favorisant sa phosphorylation et sa dégradation, permettant ainsi la progression du cycle cellulaire de la phase G1 vers la phase S. EBNA-3C peut stabiliser la protéine MDM2, ce qui favorise la dégradation du suppresseur de tumeur p53 et permet alors la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose. Enfin, EBNA-3C augmente les capacités métastatiques des cellules infectées par l'EBV en

interagissant avec la protéine kinase Nm23-H1, qui possède une fonction de "suppresseur de métastases". Cette interaction neutralise, d'une part, la fonction de Nm23-H1 et induit, d'autre part, l'expression de la métalloprotéinase 9 (14).

La protéine LMP-1

LMP-1 est considérée comme l'oncogène majeur de l'EBV. Cette protéine mime le récepteur CD40. Contrairement aux récepteurs cellulaires dont l'activation dépend d'un ligand, LMP-1 est constitutivement active. Son expression induit un détournement et une dérégulation des voies de signalisations impliquées

notamment dans des processus prolifératifs ou de résistance à l'apoptose (15). Ces signaux de transduction sont transmis par sa partie carboxy-terminale qui interagit avec les membres de la famille des TRAF (*TNFR-Associated Factors*) et avec TRADD (*TNFR-Associated Death Domain protein*). La première voie qui a été décrite comme étant régulée par LMP-1 a été la voie NF- κ B. L'activation de cette voie se fait principalement par l'intermédiaire du domaine CTAR1 de LMP-1, qui fixe les adaptateurs TRADD, RIP et TRAF6, induisant ainsi la phosphorylation et la dégradation d'I κ B α , l'inhibiteur de NF- κ B. D'autres voies de signalisation majeures ont été associées à LMP-1, comme la voie des MAP-kinases (*Mitogen-Activated Protein kinases*) et celle des PI3K (phosphatidylinositide 3 kinases). En effet, LMP-1 est capable d'induire les trois principales MAPK: JNK (*c-Jun N-amino-terminal Kinase*), ERK (*Extracellular Regulated Kinase*) et p38, qui jouent un rôle central dans la régulation de la croissance et de la survie cellulaires. Différents travaux ont également montré que certains processus cellulaires contrôlés par LMP-1 nécessitent l'induction de la voie PI3K. Parmi ces processus, certains sont impliqués dans la survie cellulaire, le remodelage du cytosquelette, la migration des cellules épithéliales et la production d'IL-10 (figure, p. 83) [16].

Les protéines LMP-2A et -2B

LMP-2A se distingue de LMP-2B par la présence d'un domaine N-terminal comprenant 8 résidus tyrosine qui est impliqué dans la signalisation. Contrairement à la LMP-2B, dont on ne connaît pas le rôle exact, LMP-2A possède de multiples fonctions. Elle est notamment impliquée dans le maintien à l'état latent du virus in vivo. En effet, LMP-2A inhibe la signalisation du récepteur des lymphocytes B (BCR) et empêche le passage de la phase de latence au cycle lytique, normalement induit par la signalisation du BCR. De plus, cette protéine confère un signal de survie aux lymphocytes B, leur permettant d'échapper à l'apoptose en l'absence de sélection dans

les centres germinatifs. Le rôle de LMP-2A dans la résistance à l'apoptose serait lié à sa capacité à induire la voie PI3K (figure, p. 83). LMP-2A peut également activer l'oncogène RAS de façon constitutive, favorisant ainsi la prolifération et la survie des lymphocytes B (17).

Les ARN non codants et micro-ARN

Les EBER sont des petits ARN non polyadénylés, retrouvés de façon très abondante dans les cellules infectées par l'EBV. Plusieurs travaux ont montré qu'ils pourraient contribuer à la transformation des lymphocytes B en favorisant notamment l'expression de cytokines immunosuppressives comme l'IL-10 (18). Depuis quelques années, les micro-ARN d'EBV font l'objet de nombreux travaux. Leur rôle dans la pathogenèse liée à l'EBV reste à élucider mais plusieurs études montrent que ces micro-ARN permettent de réguler l'expression des protéines de latence LMP-1 et LMP-2. D'autres travaux montrent que le miR-BART5 peut inhiber l'expression de la protéine proapoptotique PUMA, favorisant ainsi la survie des cellules infectées.

Conclusion

L'EBV est un virus associé à plusieurs pathologies malignes. Les mécanismes à l'origine du pouvoir oncogénique de ce virus sont désormais connus et montrent que les protéines de latence LMP-1 et LMP-2A jouent un rôle majeur en induisant notamment l'activation de voies de signalisation telles que les voies NF- κ B, PI3K/AKT/mTOR et RAS/MAPK, impliquées dans la régulation de la prolifération et de la survie cellulaires. La dérégulation de ces voies par le virus peut donc contribuer à l'oncogenèse mais également à la résistance des cellules tumorales aux traitements conventionnels. L'émergence de thérapies ciblant spécifiquement ces voies de signalisation devrait permettre la mise en place de nouvelles stratégies pour le traitement de ces pathologies malignes associées à l'EBV. ■

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

RÉFÉRENCES

- Niedermaier JC, Miller G, Pearson HA, Pagano JS, Dowaliby JM. Infectious mononucleosis. Epstein-Barr-virus shedding in saliva and the oropharynx. *N Engl J Med* 1976;294(25):1355-9.
- Kobayashi R et al. Detection of Epstein-Barr virus infection in the epithelial cells and lymphocytes of non-neoplastic tonsils by in situ hybridization and in situ PCR. *Arch Virol* 1998;143(4):803-13.
- Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer* 2004;4(10):757-68.
- Niedobitek G, Agathangelou A, Rowe M et al. Heterogeneous expression of Epstein-Barr virus latent proteins in endemic Burkitt's lymphoma. *Blood* 1995;86(2):659-65.
- Brady G, MacArthur GJ, Farrell PJ. Epstein-Barr virus and Burkitt lymphoma. *J Clin Pathol* 2007;60(12):1397-402.
- Gottschalk S, Rooney CM, Heslop HE. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Annu Rev Med* 2005;56:29-44.
- Hjalgrim H, Smedby KE, Rostgaard K et al. Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* 2007;67(5):2382-8.
- Farrell K, Jarrett RF. The molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *Histopathology* 2011;58(1):15-25.
- Kanegane H, Yachie A, Miyawaki T, Tosato G. EBV-NK cells interactions and lymphoproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 1998;29(5-6):491-8.
- Nishikawa J, Imai S, Oda T, Kojima T, Okita K, Takada K. Epstein-Barr virus promotes epithelial cell growth in the absence of EBNA2 and LMP1 expression. *J Virol* 1999;73(2):1286-92.
- Chen JN, He D, Tang F, Shao CK. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a newly defined entity. *J Clin Gastroenterol* 2012;46(4):262-71.
- Frappier L. Role of EBNA1 in NPC tumorigenesis. *Semin Cancer Biol* 2012;22(2):154-61.
- Zimber-Strobl U, Strobl LJ. EBNA2 and Notch signalling in Epstein-Barr virus mediated immortalization of B lymphocytes. *Semin Cancer Biol* 2001;11(6):423-34.
- Saha A, Robertson ES. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas: pathogenesis and clinical outcomes. *Clin Cancer Res* 2011;17(10):3056-63.
- Eliopoulos AG, Young LS. LMP1 structure and signal transduction. *Semin Cancer Biol* 2001;11(6):435-44.
- Lam N, Sugden B. CD40 and its viral mimic, LMP1: similar means to different ends. *Cell Signal* 2003;15(1):9-16.
- Longnecker R. Epstein-Barr virus latency: LMP2, a regulator or means for Epstein-Barr virus persistence? *Adv Cancer Res* 2000;79:175-200.
- Iwakiri D, Takada K. Role of EBERs in the pathogenesis of EBV infection. *Adv Cancer Res* 2010;107:119-36.