

Les recherches sur la biologie moléculaire du virus de la varicelle et du zona (VZV) ont-elles des applications cliniques?

B. RENTIER

Les grandes voies suivies actuellement par la recherche en biologie moléculaire sur le virus et sa réplication laissent entrevoir pour le futur de nouvelles stratégies préventives ou thérapeutiques.

RAPPELS

LA VARICELLE

La varicelle est l'infection primaire par le virus de la varicelle et du zona (1). Elle débute par l'infection de la conjonctive ou des muqueuses respiratoires supérieures et à ce titre, le VZV peut être considéré comme un virus respiratoire. Le virus se réplique dans les ganglions lymphatiques proches de sa porte d'entrée. Après environ 5 jours, une virémie primaire a lieu et le virus se réplique dans un certain nombre d'organes qui ne sont pas tous parfaitement identifiés (le foie, la rate). Il effectue une virémie secondaire avant d'atteindre la peau où il se multiplie après environ 2 semaines. C'est alors qu'apparaît l'éruption vésiculeuse tout à fait caractéristique. C'est également à ce moment que le virus pénètre dans le système nerveux et accède aux ganglions sensoriels où il va résider pour toute la durée de l'existence.

TABLEAU I. — *La réactivation du zona.*

| | | |
|--|------------------|---------------------------------|
| Nombre de récurrences | VZV Une seule | HSV Jusqu'à plusieurs centaines |
| Probabilité de réactivation | ↗ avec l'âge | ↘ avec l'âge |
| P. 100 de séropositifs avec récurrences symptomatiques | 10-20 p. 100 | 20-47 p. 100 |
| Distribution | Dermatome | Lésion focale |
| Symptômes associés | Douleur violente | Légère gêne |
| Délai de récurrence après immunosuppression | 2-4 mois | 1-4 semaines |
| Réactivation aux UV | Non | Oui |
| Libération de virus asymptomatique | Non | Oui |

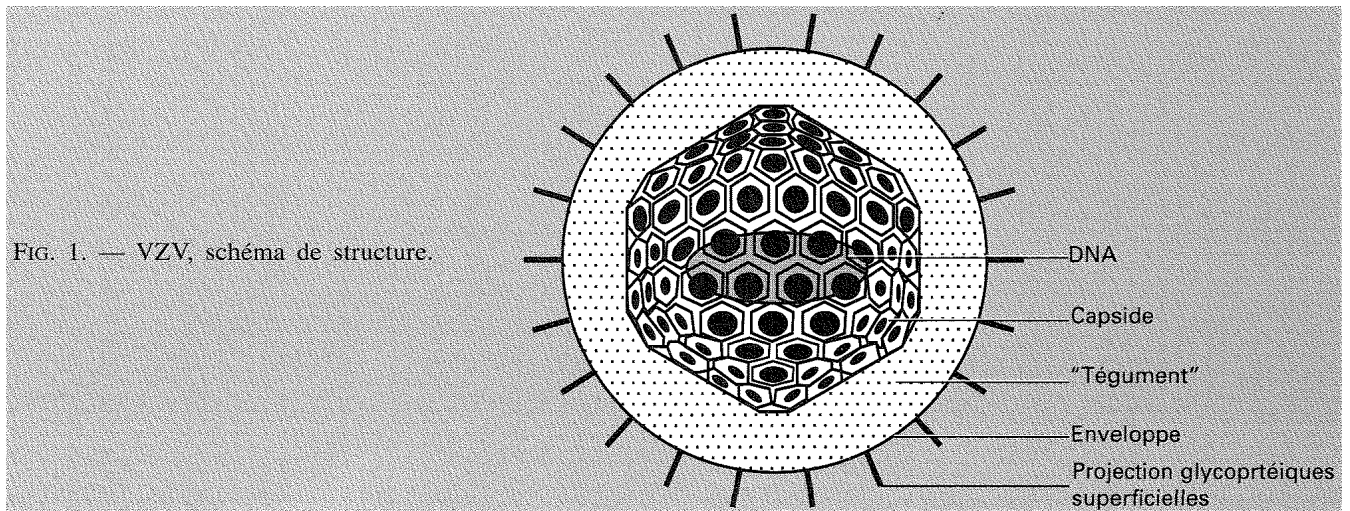
LE ZONA

Il correspond à la réactivation du virus (1). La cause de cette réactivation est inconnue. Elle est vraisemblablement liée à un affaiblissement ou une altération du système immunitaire cellulaire. L'immunité humorale limite l'extension virale à la zone cutanée innervée par le ganglion sensoriel où réside le virus. Il est en fait prouvé que le virus réside dans de nombreux ganglions, peut être même tous, mais pour une raison inconnue, ne se réactive que dans un seul (2).

Les différences avec l'herpès simplex virus (HSV), résumées dans le *tableau I*, laissent supposer un mécanisme de réactivation différent.

LA STRUCTURE DU VIRUS

Le virus ressemble aux herpès virus dont il est indistinguable en microscopie électronique. La zone appelée tégment, située entre la capsid virale et l'enveloppe, contient des protéines importantes (*fig. 1*).



LE CYCLE DE REPLICATION DU VZV

Il comporte trois phases : la phase dite précoce immédiate (immediate early ou IE), la phase précoce (early ou E) et la phase tardive (late ou L). Chacune de ces phases comporte des cibles potentielles d'intervention, certaines étant déjà utilisées, d'autres constituants des voies de recherches éventuelles.

LA PHASE DITE PRECOCE IMMEDIATE (IE)

Elle commence par l'adsorption, l'entrée du virus dans la cellule, et la décapsidation qui s'accompagne d'un relargage d'ADN et des protéines du tégument. L'ADN viral migre vers le noyau où a lieu la transcription des gènes α . Les protéines du tégument sont des activateurs immédiats de la transcription, ainsi le virus est indépendant du métabolisme cellulaire pour démarrer son cycle. Les gènes sont à l'origine d'ARN messagers qui vont dans le cytoplasme et sont traduits en protéines « immediate early » (IE).

LA PHASE PRECOCE

Les protéines IE retournent dans le noyau et activent une deuxième série de gènes appelés gènes β , transcrits puis traduits en protéines early (E). Les protéines E retournent à leur tour dans le noyau et activent une troisième vague de gènes du génome viral qui vont être les gènes des protéines tardives.

Certaines des protéines E se placent au niveau de l'ADN viral et le répliquent. Ce sont les enzymes de réplication de l'ADN viral dans lesquelles on trouve la thymidine-kinase, la DNA-polymérase, etc. L'ADN viral répliqué est destiné à s'incorporer dans les nouvelles particules virales produites.

LA PHASE TARDIVE

Elle correspond à la transcription par les protéines E de la troisième vague de gènes : les gènes γ . Les ARNm donnent des protéines tardives (L) dont une partie revient dans le noyau, tandis que les autres se placent au niveau de la membrane de l'enveloppe nucléaire. Ceci permet l'assemblage du virus avec les protéines de la capside et l'ADN viral répliqué. Ensuite, il y a bourgeonnement au niveau de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire. Puis le virus est relâché à l'extérieur par une fusion de la vésicule dans laquelle il se trouve avec la membrane cellulaire.

LE CYCLE COMPLET

La *figure 2* résume l'ensemble du cycle avec l'entrée du virus dans la cellule, les mécanismes d'entrée et de sortie dans le noyau des différentes vagues de protéines, l'assemblage du virus et sa sortie de la cellule. La difficulté d'obtenir ce cycle en laboratoire pose d'importants problèmes de travail.

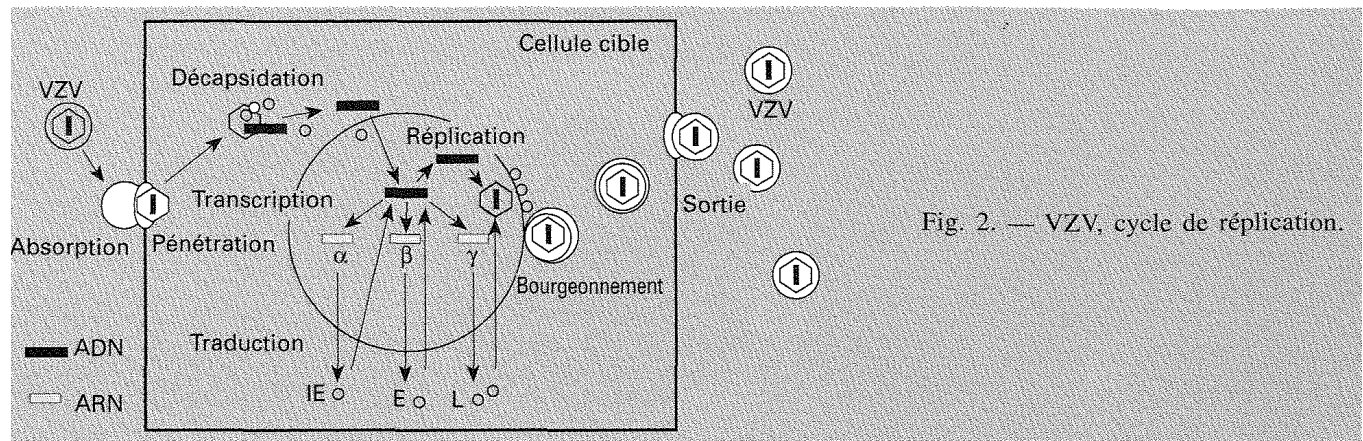


Fig. 2. — VZV, cycle de réplication.

LES CIBLES POTENTIELLES

Les travaux actuels ont pour objet de mieux caractériser les différents stades afin de définir des cibles d'intervention.

Au niveau de l'adsorption, la découverte des récepteurs au virus sur la cellule est en cours (3).

L'entrée du virus dans la cellule relève d'un phénomène très complexe dont la compréhension pourrait aboutir à des perspectives thérapeutiques. Toutefois, l'intervention à cette étape n'est pas la plus efficace sur les virus mieux connus.

Les inhibiteurs de la protéine de transcription immédiate pourraient constituer un blocage très spécifique de l'infection.

La transcription elle-même peut faire l'objet d'un blocage par certaines molécules comme les interférons, quoique dans ce cas ce ne soit pas très efficace.

La réplication est une cible déjà utilisée, c'est au niveau de la thymidine-kinase qu'interviennent des molécules comme l'aciclovir.

L'assemblage, le bourgeoisement au niveau nucléaire et la sortie peuvent également constituer des cibles.

Les avis divergent concernant le stade de bourgeoisement mais beaucoup pensent qu'il y a enveloppement au niveau de l'enveloppe nucléaire puis désenveloppement et réenveloppement dans des vésicules cytoplasmiques.

LA LATENCE ET LA RÉACTIVATION

Ces deux phases clés font l'objet de nombreuses interrogations : pourquoi et comment le virus entre-t-il en latence, quel est le site exact de cette phase, pourquoi et comment est-il réactivé... ?

LES DIFFÉRENTES HYPOTHESES

Les sites de latence du VZV

Le virus, venant de la peau, entre en latence dans le ganglion sensoriel où il reste silencieux avant de se réactiver de nombreuses années plus tard et donner le zona.

Il semblerait que le virus soit également présent dans certains leucocytes. Cette notion controversée est purement hypothétique et reste à démontrer. Elle permettrait d'expliquer le maintien de l'immunité par la réactivation périodique du virus au niveau de ces leucocytes.

Le neurotropisme du virus.

C'est un point d'autant plus important que le seul vaccin existant à l'heure actuelle est un vaccin neurotrope. Il migre, comme le virus, dans les ganglions sensoriels et risque de s'y réactiver. Il existe d'ailleurs un certain nombre de cas documentés de zonas post-vaccinaux. La lutte contre le virus suppose donc la compréhension du neurotropisme. Or celui-ci pose de nombreuses interrogations :

— Quelle est sa cause ?

— Quelles sont les cellules concernées, gliales ou neuronales? Ce point fait l'objet d'un grand débat à l'heure

actuelle.

- Existe-t-il une corrélation avec la gravité de la varicelle (densité des lésions primaires, dommage cutané ou neuronal) ?
- Quel est le rôle de la virémie?
- La réplication virale se fait-elle à la porte d'entrée? Dans le corps neuronal? A-t-elle lieu pendant la phase de latence ?
- Quelle est la cause de la réactivation ?
- Quel est le rôle exact de l'immunodysfonction?
- Y-a-t-il une propagation dans le ganglion en réactivation ?
- La réaction clinique est-elle une voie de transmission ? On le suppose mais c'est également controversé.

La latence du VZV, quelques pistes.

Il pourrait s'agir d'une mauvaise réplication dans les neurones ou d'une protection des neurones contre l'apoptose. Il est démontré que de nombreux virus sont capables de tuer les cellules par apoptose, ce sont en fait les cellules qui se suicident quand elles ont détecté qu'elles étaient infectées par le virus. Ce mécanisme est établi pour le VZV (4).

La latence pourrait avoir lieu dans des cellules satellites et non dans les neurones et dans ce cas la réactivation pourrait être indépendante d'une activation neuronale, ce qui semble être le cas, contrairement à l'HSV où la réactivation possible par les UV indique qu'il y a une activation neuronale.

Il pourrait y avoir une certaine difficulté du virus à rejoindre les neurones.

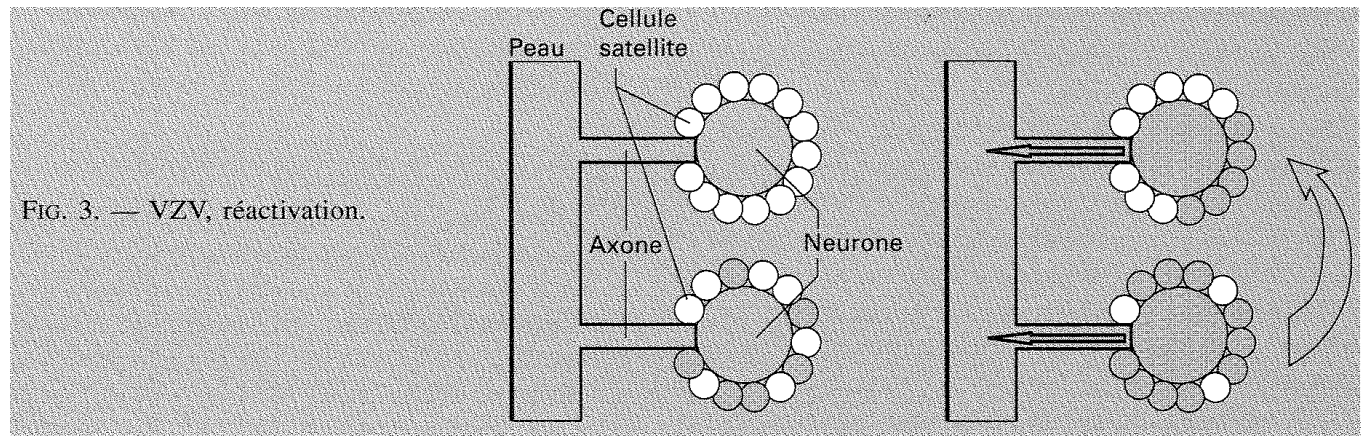
On ne trouve chez le VZV aucun des équivalents des responsables géniques du neurotropisme de l'herpès simplex.

La transcription partielle de certains gènes a lieu pendant la latence et une traduction vient d'être découverte. Cette transcription pourrait servir de stabilisateur du génome viral latent dans les cellules nerveuses et être responsable du maintien d'une réponse immunitaire.

La réactivation.

Une théorie très discutée à l'heure actuelle suppose que le virus en phase de latence résiderait non pas dans le neurone ganglionnaire mais dans les cellules satellites (5). Il serait ensuite réactivé, retournerait dans le neurone et redescendrait le long de l'axone. Cette localisation permettrait le passage du virus dans les cellules satellites d'un neurone voisin. Donc un grand nombre de neurones d'un même dermatome seraient infectés et restitueraient le virus ce qui expliquerait la localisation dermatomale du virus réactivé en zona (*fig.3*). Cette hypothèse est discutée et des travaux en cours sur des modèles animaux tentent de la vérifier et de comprendre le mécanisme de cette réactivation.

Dans le cas de l'herpès, il est bien démontré que le virus réside en latence dans le neurone et ne passe pas dans les cellules satellites, il n'y a pas de passage de neurone à neurone, le virus redescend le long de l'axone et fait une lésion extrêmement focale (6, 7).



L'hypothèse de Hope-Simpson.

Elle date de plus de 40 ans. Elle suppose que la résistance de l'hôte, excellente après la varicelle, peut être réactivée par le virus qui tente de sortir mais diminue progressivement jusqu'à un seuil critique en dessous duquel le zona advient. Le zona stimule à nouveau l'immunité pour une durée de 50 à 60 ans excédant l'espérance de vie. Ceci expliquerait que le zona n'ait lieu qu'une seule fois.

LES DONNEES ACTUELLES DE LA RECHERCHE ET LES PERSPECTIVES

Les protéines régulatrices de la transcription

Plusieurs laboratoires s'intéressent à la première vague de protéines (IE) qui sont régulateurs de transcription ainsi qu'aux gènes correspondants.

Les gènes 63 et 70 du VZV codent pour une protéine régulatrice très importante. Ce gène est assez curieux car il est diploïde, le gène 70 correspond exactement au gène 63 et on ignore si un seul ou les deux fonctionnent, s'ils intera-gissent l'un avec l'autre. Ils codent pour une protéine de 278 AA qui semble jouer un rôle important en temps que régulateur. Elle semble réprimer les gènes de la phase IE et activer ceux de la phase E. Il s'agirait d'un commutateur faisant passer le cycle viral de la phase IE à la phase E (8, 9). Une anomalie de fonctionnement de cette protéine au niveau des neurones pourrait expliquer le blocage du cycle de réplication en phase IE et l'entrée en latence.

Le modèle animal de latence.

Le VZV était réputé ne pas infecter les espèces animales autres que l'homme. Les techniques récentes ont démontré le contraire. Bien qu'il n'y ait pas de maladie chez l'animal, il existe une phase de latence dont les caractéristiques sont identiques à celles de la phase de latence chez l'homme (10, 11).

Ce modèle animal réalisé chez le rat a permis de montrer :

- l'infection des ganglions sensoriels avec la présence du virus à la fois au niveau des neurones et des cellules satellites,
- la présence d'ADN viral pendant la phase de latence,
- l'expression de la protéine 63 (ORF63p) et pas seulement du transcrit RNA messager (12),
- l'expression des transcrits viraux IE 4, IE 62, IE 63

et E 29 qui est la DNA polymérase. Ce point est particulièrement intéressant car il s'agit des mêmes transcrits viraux que ceux observés chez l'homme en phase de latence (13) et permet donc de penser que le modèle est valide.

L'immunodétection de l'ORF63p.

L'immunodétection de l'ORF63p dans le système nerveux du rat infecté met cette protéine en évidence de manière importante tant en phase aiguë qu'en phase de latence (12).

Dans les ganglions sensoriels humains on n'observe le virus qu'au niveau des neurones et l'ORF63p se localise au niveau du cytoplasme (14).

L'examen des ganglions d'un adulte atteint de zona met en évidence la protéine cytoplasmique dans les ganglions en latence et également, peut-être de manière plus abondante, dans les ganglions en réactivation.

En conclusion, chez les modèles animaux (rat et souris) comme chez l'homme, la protéine 63 du VZV est exprimée pendant la latence.

L'ORF63p, la base d'une nouvelle vaccination.

L'ORF63p joue vraisemblablement un rôle mais son mode d'interaction reste à découvrir. On peut supposer que le fait qu'elle soit phosphorylée ou non la rende active ou inactive expliquant sa présence aussi bien en latence qu'en réactivation. Il ne semble pas qu'elle se fixe au DNA mais plutôt à d'autres protéines. Elle pourrait donc activer et réprimer les gènes *via* une protéine cellulaire dont l'absence ou la présence expliquerait la latence ou la réactivation.

Les dernières informations sur les travaux testant l'immunité cellulaire contre la protéine 63 montrent que tous les séropositifs ont une immunité cellulaire anti-63 relativement élevée. L'ORF63p serait peut-être la protéine cible de la protection immunitaire contre le zona. On envisage donc de développer une vaccination basée sur la présence de cette protéine. Ceci suppose de pouvoir stimuler l'immunité cellulaire et humorale.

Les scénarios possibles pour la latence du VZV.

Les neurones pourraient posséder un facteur spécifique qui interagit avec le virus.

Ils pourraient ne pas posséder un facteur spécifique qui se trouve dans les autres cellules et qui est nécessaire pour l'accomplissement du cycle complet.

Un facteur externe pourrait intervenir. Les travaux en cours examinent différentes cytokines (l'interleukine 6, l'interféron gamma, le TNF α) pouvant être émises par des cellules immunitaires pour réprimer la transcription virale dans le ganglion.

Une molécule du type Bcl-2 pourrait protéger les cellules nerveuses contre l'apoptose induite par le VZV.

LA VACCINATION ANTI-VZV

Le vaccin actuellement utilisé utilise la souche OKA, très hétérogène, difficilement contrôlée et neurotrope.

Une vaccination généralisée des enfants est réalisée dans certains pays comme les États-Unis et l'Allemagne. On pourrait envisager de faire le même type de campagne avec une souche modifiée génétiquement et non neurotrope.

La vaccination des adultes séropositifs est envisageable dans le cadre de la prévention du zona. La vaccination des femmes séropositives pour prévenir la transmission materno-foetale est encore controversée.

La vaccination des adultes séronégatifs, justifiée par la gravité de la varicelle à l'âge adulte, est actuellement en cours d'essais cliniques à grande échelle aux USA.

LES ANTIVIRAUX

LA VARICELLE

Le traitement antiviral de la varicelle s'impose chez les sujets immunodéprimés.

Il ne semble pas nécessaire chez les enfants immuno-compétents.

LE ZONA

Le traitement antiviral du zona s'impose chez les sujets immunodéprimés et est également préconisé chez les patients immunocompétents.

Les antiviraux sont efficaces dans la prévention des névralgies post-zostériennes à condition d'être utilisés précocement.

CONCLUSION Il existe deux grandes voies de progrès.

LES NOUVELLES STRATEGIES DE VACCINATION La vaccination s'oriente dans deux directions :

- la manipulation génétique du virus vaccinal type OKA, destinée à le rendre non neurotrope ;
- la mise au point de vaccins sous-unitaires basés sur les glycoprotéines virales et sur les composants viraux exprimés en latence comme les protéines IE.

LES NOUVELLES STRATEGIES ANTIVIRALES

Leur élaboration bénéficiera d'une meilleure compréhension des phases importantes du cycle viral, en particulier les phases clés de la latence et de la réactivation, permettant d'envisager le blocage de la synthèse des protéines régulatrices.

RÉFÉRENCES

1. Weller TH, Witton HM, Bell EJ The etiologic agents of varicella and herpes zoster: isolation, propagation and cultural characteristics *in vitro*. *J Exp Med* 1958;108:843-68.
2. Hope-Simpson RE. The nature of herpes zoster: a long term study and a new hypothesis. *Proc R Soc Med* 1965;58:59.
3. Zhu Z, Gershon MD, Ambron R, Gabel C, Gershon AA. Infection of cells by varicella-zoster virus: inhibition of viral entry by mannose 6-phosphate and heparin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3546-50.

4. Sadzot-Delvaux C, Thonard P, Schoonbroodt S, Piette J, Rentier B. varicella-zoster virus (VZV) induces apoptosis in cell culture. *J Gen Virol* 1995;76:2875-9.
5. Croen KD, Strauss SE. varicella-zoster virus latency. *Ann Rev Microbiol* 1991;45:265-82.
6. Croen KD, Ostrove JM, Dragovic LJ, Straus SE. Patterns of gene expression and sites of latency in human nerve ganglia are different for varicella-zoster and herpes simplex viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988;85:9773-77.
7. Meier JL, Straus SE. Comparative biology of latent varicella-zoster virus and herpes simplex virus infections. *J Infect Dis* 1992;166:S13-S23.
8. Jackers P, Defechereux P, Baudoux L, Lambert C, Massaer M, Merville-Louis MP et al. Characterization of regulatory functions of the varicella-zoster virus gene 63-encoded protein. *J Virol* 1992;66:3899-903.
9. Kost RG, Kupinsky H, Straus SE. varicella-zoster virus gene 63: transcript mapping and regulatory activity. *Virology* 1995;209: 218-24.
10. Sadzot-Delvaux C, Merville-Louis MP, Delrée P, Marc P, Piette J, Moonen G et al. *In vivo* model for varicella-zoster virus persistent infection of dorsal root ganglia. *J Neurosci Res* 1990; 26:83-9.
11. Sadzot-Delvaux C, Debrus S, Nikkels A, Piette J, Rentier B. Characterization of an *in vivo* model of VZV latency in the rat nervous System. *Neurology* 1995;45:Suppl. 8, S18-S20.
12. Debrus S, Sadzot-Delvaux C, Nikkels A, Piette J, Rentier B. varicella-zoster virus open reading frame 63 encodes an immediate-early protein which is abundantly expressed during latency. *J Virol* 1995;69:3240-45.
13. Meier JL, Holman RP, Croen KD, Smialek JE, Straus SE. VZV transcripts in human trigeminal ganglia. *Virology* 1993;93: 193-200.
14. Mahalingam R, Wellish M, Cohrs R, Debrus S, Piette J, Rentier B et al. Expression of protein encoded by varicella-zoster virus open reading frame 63 in latently infected human ganglionic neu-rons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;95:2122-4.