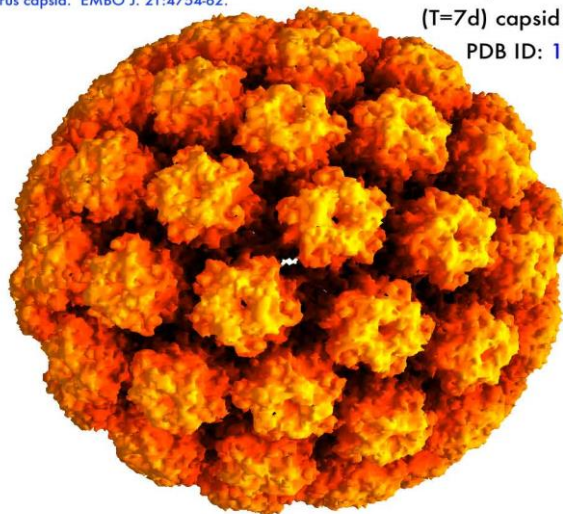


Papillomaviridae : Papillomavirus Humains

Modis Y, Trus BL, Harrison SC (2002). Atomic model of the papillomavirus capsid. EMBO J. 21:4754-62.

Human Papillomavirus 16 L1
(T=7d) capsid Model
PDB ID: 1LOT

GS4UP image by Jean-Yves Sire ©2005
Images: www.boclabs.wisc.edu



Coordinates from: PDB: www.rcsb.org/pdb/ VIPER: mmtsb.scripps.edu/viper/

1. Introduction :

Les Papillomavirus sont des virus à ADN qui infectent les épithéliums malpighiens de nombreuses espèces animales. Les papillomavirus retrouvés chez l'homme portent le nom de papillomavirus humains ou *human papillomavirus* (HPV). L'analyse des séquences génomiques de ces virus a rapidement montré qu'il existait un grand nombre d'HPV et ces séquences sont à la base de la classification des HPV. On peut également différencier les HPV sur la base de leur tropisme ou de leur pouvoir oncogène.

2. Classification des HPV :

2.1. Basée sur la séquence génomique :

C'est la séquence nucléotidique du gène L1, codant pour la protéine majeure de capsid, qui sert de base à la classification des papillomavirus. Ainsi les papillomavirus sont subdivisés en **genres**, **espèces** et **types**. Au sein des

différents types de papillomavirus, on peut identifier des **sous-types** et des **variants**.

Les HPV se répartissent dans les **genres alpha-papillomavirus, beta-papillomavirus, gamma-papillomavirus, mu-papillomavirus et nupapillomavirus**.

2.2. Basée sur le tropisme :

On distingue habituellement les types HPV à **tropisme cutané** et ceux à **tropisme muqueux**. Cette distinction n'est pas toujours absolue, certains types d'HPV n'ayant pas un tropisme strict pour la peau ou les muqueuses.

Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus, alors que les HPV à tropisme cutané appartiennent essentiellement aux genres betapapillomavirus et gamma-papillomavirus ainsi qu'aux genres mu-papillomavirus et nu-papillomavirus.

2.3. Basée sur le potentiel oncogène :

En fonction de leur potentiel oncogène les HPV se répartissent en **HPV à haut risque et à bas risque oncogène**. Il est à noter que **cette répartition ne prend en considération que les HPV à tropisme muqueux**, cette classification étant basée sur le risque de cancer du col de l'utérus associé à HPV.

En ce qui concerne les HPV à tropisme cutané, il n'y a pas actuellement de classification en virus à bas risque ou haut risque, bien que certains types d'HPV cutanés soient indiscutablement associés au développement de carcinomes cutanés.

Tropisme	Types
Cutané	1,2,4,5,8,9,12
Muqueux	6,11, 16,18,31,33
Mixte	3,7,10

Classification des HPV selon leur tropisme

Classification	Types
Haut risque	16,18,31,33,35,39
Haut risque probable	26,53,66
Bas risque	6,11,13

Classification des HPV ano-génitaux selon leur pouvoir oncogène

Genre	Nombre d'espèces	Principaux type
--------------	-------------------------	------------------------

Alpha-papillomavirus	15	HPV 6, 16,18
Beta- papillomavirus	5	HPV 5,9.
Gamma- papillomavirus	2	HPV 4
Mu- papillomavirus	2	HPV 1
Nu- papillomavirus	1	HPV 41

Classification des HPV selon la séquence génomique

3. Structure des Papillomavirus :

Les papillomavirus sont des virus de petite taille (de 45 à 55 nm de diamètre), non enveloppés, dont la capside à symétrie icosaédrique est constituée de 72 capsomères.

Cette capside abrite un **ADN bicaténaire circulaire** d'environ 8 000 paires de bases, dont un seul brin est codant, avec des phases ouvertes de lecture (POL) qui se chevauchent. Le génome est divisé en trois régions.

2.1. La région non codante (RNC), très variable, contient les promoteurs des gènes précoces. En amont des promoteurs, elle comporte des séquences de régulation de la réplication et de la transcription .

2.2. Une région E (Early) codant les protéines précoces **E1 à E8**.

- La protéine E1 est la mieux conservée des protéines virales. Elle possède une **fonction hélicase et une activité ATPase** essentielles à la réplication de l'ADN viral .
- La protéine E2 bien conservée entre les différents papillomavirus est un **facteur de transcription**. Elle intervient à la fois dans la réplication et la modulation de la transcription virale. La protéine E2 se comporte aussi comme un facteur trans-inhibiteur limitant l'expression de E6 et de E7.
- La protéine E3 n'est présente que dans de très rares HPV et sa fonction n'est pas connue.
- La protéine E4 est codée par une des régions les plus variables du génome. Cette protéine, bien que codée par un gène précoce, est exprimée tardivement et en abondance.
- La protéine E5 est une petite protéine surtout exprimée par les HPV haut risque. La plupart des HPV bas risque ne possèdent pas de POL E5 .Ses fonctions sont mal connues.
- **Les protéines E6 et E7** des HPV haut risque sont les seules protéines constamment exprimées dans les cancers du col utérin . **Elles sont impliquées dans l'immortalisation et la transformation cellulaires, et le maintien du phénotype malin.**

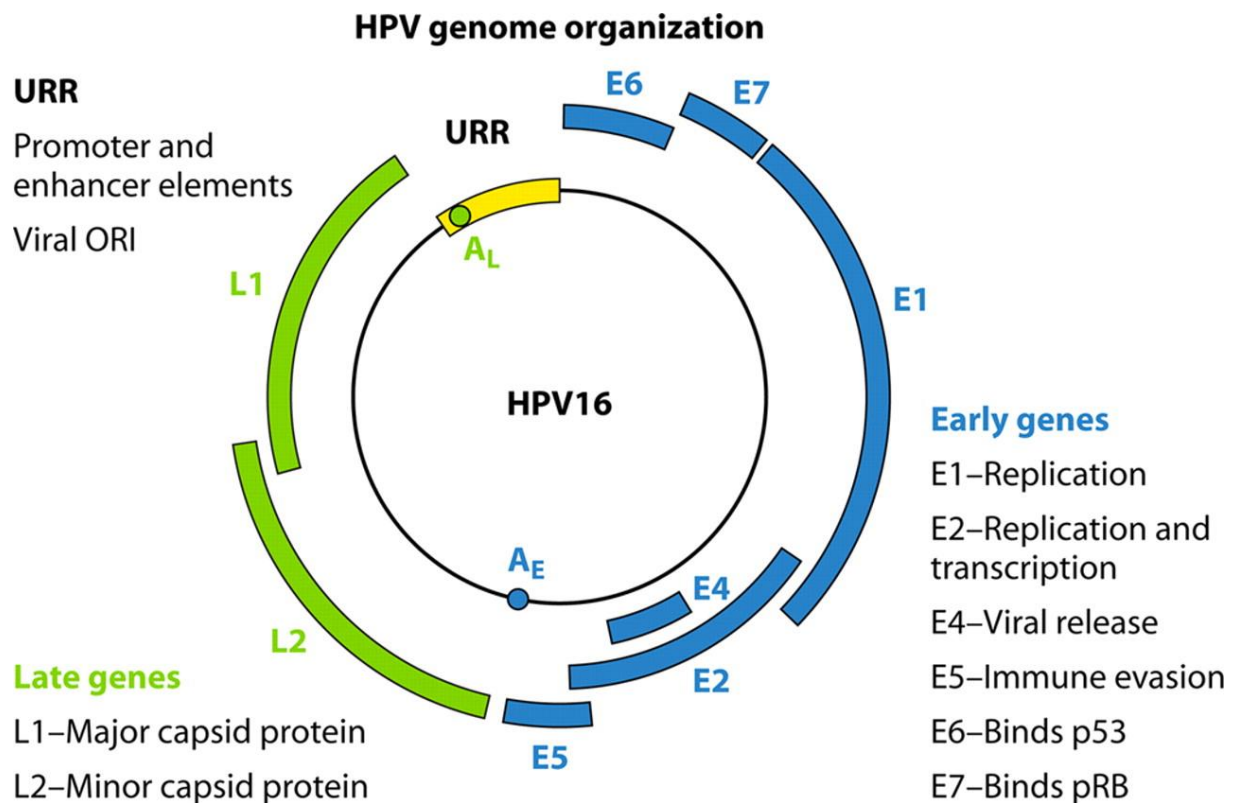
La principale cible de la **protéine E6** des HPV haut risque est la protéine **p53** qui est dégradée dans le protéasome suite à une **ubiquitinylation** par l'ubiquitine ligase cellulaire E6AP (*E6 associated protein*).

La **protéine E7** est impliquée dans la **phosphorylation de la protéine p105Rb**. Elle possède aussi un site de phosphorylation par la caséine kinase II.

- Une protéine de fusion E8^{E2} a été décrite. Elle serait impliquée dans la latence virale observée dans les cellules basales des épithéliums infectés.

2.3. Une région L (Late) codant les protéines tardives de capside L1 et L2.

- La **protéine L1** est la protéine majeure de capside. Hautement conservée entre les papillomavirus, elle porte les antigènes spécifiques de genre et certains antigènes spécifiques de type.
- La **protéine L2**, en association avec la protéine L1, permet l'assemblage du virus et la stabilisation de la capside.



4. Réplication des HPV :

Si la majorité des infections à HPV sont asymptomatiques, certaines peuvent conduire à une prolifération cellulaire localisée, qui se manifeste par des verrues cutanées ou des atteintes génitales (condylomes acuminés liés à HPV6 et 11).

Les HPV pénètrent dans les cellules basales de l'épithélium du col utérin à travers **une microlésion**. L'adsorption des virions sur les cellules se fait par l'intermédiaire des héparanes sulfates et l'entrée dans la cellule se fait par endocytose .

Après décapsidation, le génome viral est transporté jusqu'au noyau. Le cycle viral complet est étroitement dépendant de la différenciation des cellules épithéliales. **Au cours d'une première phase**, seules les protéines précoces sont exprimées et permettent la réplication de l'ADN viral dans les cellules basales et suprabasales.

Les facteurs de transcription , activent alors l'expression des protéines permettant l'entrée et la progression dans la phase S, bénéfique au cycle viral productif. **Dans une seconde phase**, l'activation du promoteur tardif permet l'expression des protéines de capsid L1 et L2 mais aussi l'expression de E1^E4 et de E5. La réplication de l'ADN viral permet une amplification importante du génome viral. **Dans les couches superficielles les plus différenciées**, les protéines L1 et L2 vont empaqueter l'ADN viral ; des virions complets sont formés et libérés avec **les cellules desquamantes**.

L'infection virale productive se traduit par un effet cytopathogène caractéristique, la koïlocytose, lié à la réplication extrachromosomique complète du génome viral et à la synthèse de protéines de capsid.

Cette infection virale ne suffit pas à induire la conversion maligne des cellules infectées. Des étapes supplémentaires, et en particulier **l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN de la cellule hôte**, sont nécessaires. Cette intégration qui concerne uniquement les HPV à haut risque comme les HPV16 et 18 conduit à la **production d'une protéine E2 mutée, délétée, qui n'est plus capable de limiter l'expression des protéines E6 et E7**. Ces protéines virales produites en excès interfèrent avec de nombreuses protéines cellulaires et peuvent provoquer **une immortalisation, une instabilité génétique, une croissance cellulaire anormale et une dissémination métastatique**. L'intégration de l'ADN viral est observée dans la plupart des cancers invasifs et dans la grande majorité des lésions de haut grade.

5. Rôle des protéines E7 et E6 dans le processus tumoral :

5.1. Dérégulation de la prolifération cellulaire

La protéine **E7** des HPV haut risque lie avec une forte affinité la protéine du rétinoblastome p105Rb et facilite sa dégradation via le protéasome.

La protéine **E6** des HPV haut risque va lier avec une forte affinité la protéine p53 et favoriser son hydrolyse dans le protéasome. **La dégradation de p53 inhibe ainsi l'apoptose et permet la poursuite de la division cellulaire.**

5.2. Immortalisation cellulaire

5.3. Transformation cellulaire

5.4. Croissance tumorale et dissémination métastatique

6. Aspects épidémiologiques des HPV :

Les papillomavirus humains (HPV) sont des virus épithéliotropes qui infectent la peau et les muqueuses. La transmission interhumaine a lieu essentiellement par **contact direct cutané ou muqueux**. Une contamination indirecte par l'intermédiaire d'objets souillés est possible.

Les HPV infectent la **couche basale des épithéliums malpighiens**.

Les HPV à localisation génitale sont transmis par voie sexuelle et ils sont la cause la plus fréquente **d'infections sexuellement transmissibles (IST)**.

L'incidence annuelle des infections génitales à HPV est de l'ordre de 30 % chez les jeunes adultes, dans **les années qui suivent l'entrée dans la vie sexuelle**.

Les HPV à haut risque (HR-HPV) sont associés au développement de lésions cancéreuses. **Ces HR-HPV sont retrouvés dans pratiquement 100 % des cancers du col de l'utérus** et dans une proportion variable d'autres cancers génitaux ou de l'oropharynx. **Les HR-HPV de type 16 et 18** sont retrouvés à l'échelle mondiale dans environ **70 % des cancers liés aux HPV**. La distribution des autres types de HR-HPV peut varier d'une région à l'autre du monde.

Le cancer du col est le second cancer le plus fréquent chez la femme avec près de **500 000 nouveaux annuels et environ 275 000 décès**.

7. Pouvoir pathogène des HPV :

Les HPV sont responsables de lésions cutanées ou muqueuses d'aspect et de localisation variés, généralement spécifiques de certains génotypes.

7.1. Verrues cutanées : lésions les plus communes avec des morphologies et des localisations variées : verrues plantaires, vulgaires, papillomateuses, planes. Le plus souvent elles régressent spontanément

7.2. Epidérmodyplasie verruciforme : maladie rare souvent familiale se manifestant par des lésions cutanées diffuses secondaires à une infection chronique à HPV. Les lésions sont faites de verrues planes et de macules rouge-brun ressemblant au Pityriasis versicolor isolées ou confluentes.

7.3. Lésions du tractus génital : elles sont fréquemment plurifocales et asymptomatiques et peuvent atteindre la peau et/ou les muqueuses (vulve, pénis, col utérin, vagin, anus) : carcinome du col utérin, condylomes acuminés, condylomes plans.

7.4. Autres cancers : certains génotypes ont été détectés dans des cancers cutanés ou des cancers épidermoïdes de l'oropharynx.

7.5. Papillomes laryngés : ils prédominent chez l'enfant et sont principalement dus aux HPV-6 et -11. Ils sont récurrents et causent parfois des obstructions laryngées.

Localisation	Lésions	génotypes impliqués
Peau	Verrues cutanées Epidérmodysplasie verruciforme	1 à 4 5,8,9.
Muqueuse génitale	Carcinome du col utérin Condylome acuminé	16,18,31,33 6,11
Muqueuse oro-pharyngée	Papillomatose orale floride	6,11
Muqueuse laryngée	Papillomes laryngés	6,11



Verrues plantaires

8. Méthodes de détection et d'identification des HPV :

Seules des **techniques de biologie moléculaire** permettent d'identifier qualitativement ou de quantifier les séquences nucléiques des HPV.

Ces techniques de biologie moléculaire sont nombreuses et parfois complémentaires; elles reposent sur le **principe de l'hybridation moléculaire** entre un ADN ou un ARN messager (ARNm) cible et une sonde spécifique.

L'ADN génomique des HPV est la cible la plus utilisée, car les ARNm sont plus fragiles. Les étapes d'extraction et de dénaturation de l'ADN ou de l'ARNm cible sont éventuellement suivies d'une étape d'amplification, précédant l'hybridation moléculaire. L'étape ultérieure de détection des hybrides « cible-sonde » permet de révéler la présence de la cible.

8.1. Détection qualitative du génome HPV :

Lors de la détection qualitative des HPV, deux types de résultats peuvent être obtenus : soit le résultat indique la présence (ou l'absence) de HR-HPV sans préciser le génotype exact, soit le résultat précise le génotype de l'HPV détecté.

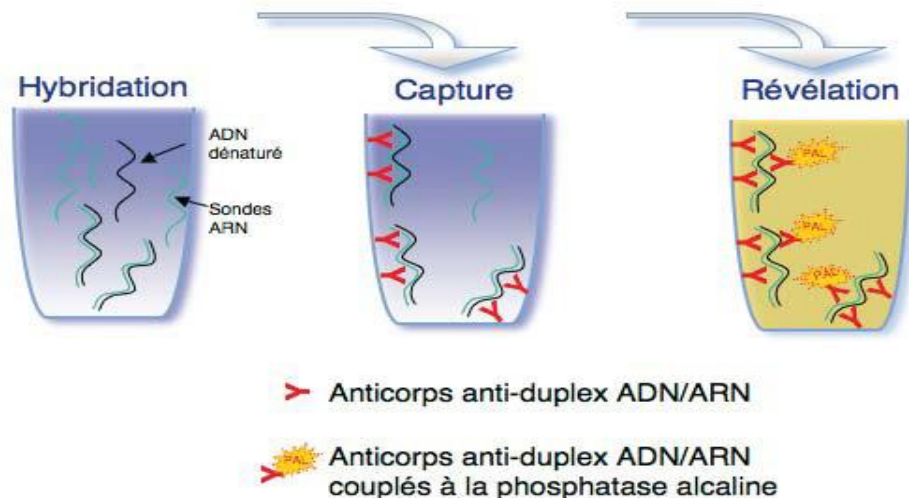
1. Détection des HPV à haut risque, sans précision du type :

Ces techniques permettent de détecter la présence d'un ou de plusieurs HPV sans identifier le ou les génotypes précis présents dans l'échantillon.

1.1. Hybridation en phase liquide

1.2. Amplification par PCR couplée à une détection immunoenzymatique des amplicons

Hybridation en phase liquide



2. Génotypage des HR-HPV :

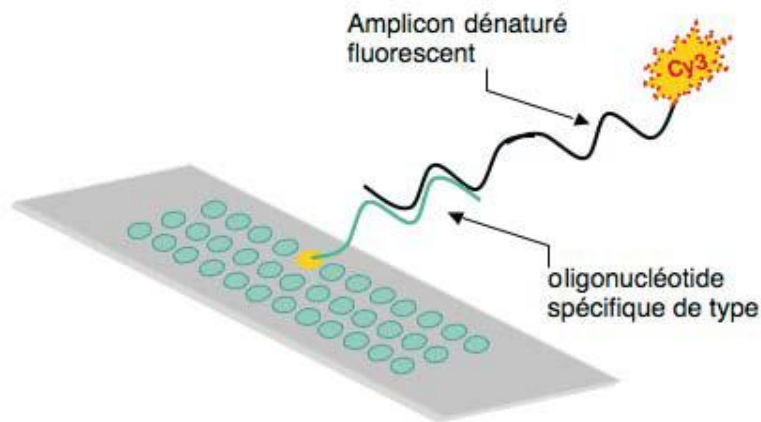
Le patient pouvant être infecté par un seul type d'HPV ou présenter une infection multiple, ces techniques identifient le (ou les) génotype(s) d'HPV présents dans l'échantillon analysé.

2.1. Génotypage par séquençage :

2.2. Génotypage par sondes immobilisées sur bandelettes

2.3. Génotypage par puce à ADN

Génotypage par puce à ADN



8.2. Détection quantitative du génome HPV

La PCR en temps réel permet d'évaluer la charge virale d'un type précis d'HPV. La quantité de virus détecté dans les frottis pourrait être liée au grade de la lésion et donc être un facteur pronostique.

8.3. Détection des ARNm HPV

Puisque les protéines oncogéniques **E6 et E7** sont responsables de la carcinogenèse liée aux HPV à haut risque, la détection des ARNm E6-E7 peut être un marqueur intéressant pour apprécier le risque d'évolution vers une lésion cancéreuse. La technique utilisée est la **technique NASBA** (*nucleic acid sequence based amplification*).

9. Traitement des infections à HPV :

Il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement antiviral spécifique contre les infections à HPV

Les traitements appliqués actuellement sont fonction de la localisation des lésions :

Lésions cervicales à HPV : les lésions dysplasiques de bas grade ne nécessitent pas de traitement car elles guérissent spontanément.

Par contre les lésions dysplasiques de haut grade sont des lésions précancéreuses ne guérissant pas spontanément et nécessitent un traitement afin de prévenir l'évolution vers un cancer cervical. Il s'agit d'un **traitement chirurgical associé à une cryothérapie**.

Cancer cervical : traitement chirurgical, radiothérapie, chimiothérapie

Verrues génitales : deux agents immunomodulateurs peuvent être employés : interféron et imiquimod

Papillomatose laryngée : traitement chirurgical

Verrues non génitales : les thérapies traditionnelles incluant l'application de topique (agents caustiques : acide salicylique, podophylline ; inhibiteurs de la synthèse de l'ADN ; 5-fluorouracil), la cryothérapie à l'azote liquide, l'électrocoagulation, le laser et l'exérèse chirurgicale.

10. Prévention :

Des **vaccins prophylactiques** visant à induire une immunité humorale permettant la prévention des infections à HPV sont commercialisés. Les antigènes vaccinaux utilisés sont dérivés de la protéine de capside L1, nécessaire à l'entrée des HPV dans la cellule. Il s'agit de **vaccins de type VLP (virus-like particle)**.

Les vaccins actuels sont très immunogènes ; ils induisent la production d'anticorps neutralisants efficaces sur l'infection persistante à HPV16,18,31 et 33 sur l'apparition de lésions précancéreuses .

Il existe un vaccin **bivalent** (dirigé contre les **génotypes 16,18**) et un vaccin **tétravalent** (dirigé contre les **génotypes 16,18, 31 et 33**). Ces vaccins ont permis de réduire l'incidence du carcinome du col utérin.

Points forts :

- Les Papillomavirus sont des virus à ADN qui infectent les épithéliums malpighiens de nombreuses espèces animales.
- Les papillomavirus sont subdivisés en **genres, espèces, types, sous-types et variants**.
- Les HPV sont caractérisés par un tropisme cutané, ou muqueux, ou mixte cuténo-muqueux
- Les HPV sont doués de **propriétés transformantes et oncogènes**
- Les HPV se répartissent en HPV à **haut risque et à bas risque oncogène**.
- Les **oncoprotéines E6 et E7** sont impliquées dans l'immortalisation et la transformation cellulaires, et le maintien du phénotype malin.
- Les HPV haut risque comme les HPV16 et 18 sont susceptibles de conduire au développement d'un **cancer du col de l'utérus**.
- Les **principales infections** liées aux HPV : sont les verrues cutanées, les atteintes génitales et les papillomes laryngés
- Le carcinome du col de l'utérus est un problème majeur de santé publique
- Le **diagnostic au laboratoire** des infections à HPV est avant tout **histo-anatomoapthologique**

- Le diagnostic virologique repose sur **les techniques de biologie moléculaire** et doit pouvoir déterminer le génotype
- Aucun traitement antiviral spécifique n'est disponible à l'heure actuelle
- La prévention repose pour les lésions génitales **sur la prévention de la transmission sexuelle et sur la vaccination**