



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 17464](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/17464)

To cite this version :

Mugnier, Amélie. *Les virus oncogènes chez les principales espèces domestiques : étude bibliographique*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 146 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

LES VIRUS ONCOGÈNES CHEZ LES PRINCIPALES ESPÈCES DOMESTIQUES : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

MUGNIER Amélie

Née, le 26 juillet 1989 à Neuilly sur Marne (93)

Directeur de thèse : M. Stéphane BERTAGNOLI

JURY

PRESIDENT :

M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Stéphane BERTAGNOLI

M. Christelle CAMUS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : Madame Isabelle CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. MILON Alain, *Microbiologie moléculaire*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- M. DUCOS Alain, *Zootchnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. PICALET Dominique, *Pathologie infectieuse*
- M. SANS Pierre, *Productions animales*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
Mme **SABY-CHABAN Claire**, *Gestion de la santé des troupeaux bovins*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Christophe Pasquier

Professeur à l'Université Toulouse III Paul Sabatier

Praticien hospitalier

Microbiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse,
Homages respectueux.

A Monsieur le Professeur Stéphane Bertagnoli

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie infectieuse

Qui m'a confié ce sujet et qui m'a guidée avec patience dans l'élaboration de ce
manuscrit,
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Christelle Camus-Bouclainville

Maitre de Conférences en Biologie et Génétique Moléculaires

Qui nous a fait l'honneur de prendre part à notre jury,
Sincère reconnaissance.

SOMMAIRE

Remerciements	1
SOMMAIRE	3
Table des illustrations	8
Abréviations	11
Introduction	13
Partie 1 : Généralités	15
I. Oncogénèse	15
A. Le cycle cellulaire et sa régulation	15
B. Les bases moléculaires du cancer	19
1. Caractéristiques des cellules tumorales	20
2. Mécanismes généraux de la tumorigénèse	23
3. Les familles de gènes impliqués dans la cancérogénèse	25
i. Les oncogènes	25
ii. Les gènes suppresseurs de tumeurs ou anti-oncogènes	28
II. Les virus	30
A. Découverte des virus oncogènes	30
B. Généralités sur les virus	31
1. Un peu d'histoire	31
2. Structure des virus	32
3. Classification des virus	33
4. Le cycle viral	34
5. Conséquences de l'infection virale	35
6. Persistance virale et échappement au système immunitaire	36
Partie 2 : Rétrovirus et oncogénèse	39
I. Généralités sur les rétrovirus	39

A.	Structure des rétrovirus	39
B.	Classification des rétrovirus	42
C.	Cycle de réplication	45
II.	Exemple d'un retrovirus cis-activateur	47
A.	Le FeLV et la leucose féline	47
B.	Caractéristiques du virus	48
C.	Mécanismes de l'oncogénèse par le FeLV	50
1.	Un rétrovirus oncogène mais non transformant	50
2.	Oncogénèse par mutation activatrice	50
3.	Exemple : activation de <i>c-myc</i>	51
4.	Rôle des LTRs et de SU	53
i.	Description des LTRs du FeLV	53
ii.	Rôles des LTRs dans la lymphomagénèse	54
iii.	La glycoprotéine de surface du FeLV	56
iv.	Coopération des LTRs et de SU dans la lymphomagénèse	56
5.	Récapitulatif sur l'oncogénèse induite par le FeLV	58
III.	Exemple d'un retrovirus transducteur	59
A.	Les virus sarcomateux	59
B.	Les virus sarcomateux félines	60
C.	Mécanisme de l'oncogénèse	61
IV.	BLV : un retrovirus transactivateur	64
A.	Deux deltarétrovirus leucémogènes	64
B.	Structure de BLV et HTLV-1	67
1.	Particules virales	67
2.	Génome	68
3.	Protéines de la région X	69
C.	Mécanisme de leucémogénèse par BLV	72

V.	JSRV : un mecanisme d'oncogenese particulier.....	74
A.	Pathologie associée au JSRV : l'APO.....	75
B.	Propriétés de l'agent pathogène	78
1.	Identification de l'agent inducteur.....	78
2.	Présentation du génome du JSRV.....	79
3.	Entrée dans les cellules cibles.....	80
C.	Physiopathologie de l'oncogenèse	80
1.	Présentation de l'oncoprotéine virale	81
2.	Description de l'oncoprotéine.....	82
3.	Activation de voies de signalisation	83
4.	Rôle des JSRV endogènes.....	86
D.	Applications possibles des études sur le JSRV.....	87
1.	Comparaison avec un autre rétrovirus proche : l'ENTV.....	87
2.	OPA : modèle pour l'Homme	87
	Partie 3 : Virus à ADN et oncogenèse	90
I.	Rappels sur les virus à ADN	90
A.	Structure.....	90
B.	Les différentes familles de virus à ADN.....	90
C.	Cycle de réplication	91
II.	Les petits virus à ADN	91
A.	Présentation des différentes familles virales	92
1.	Les papillomavirus	92
i.	Présentation des Papillomavirus humains	93
ii.	Présentation des Papillomavirus bovins	94
iii.	Les Papillomavirus chez les autres espèces	95
2.	Les Polyomavirus.....	96
3.	Les Adénovirus	97

B.	Structures des petits virus à ADN.....	98
1.	Les Papillomavirus.....	98
2.	Les Polyomavirus.....	101
3.	Les Adénovirus	103
C.	Mécanisme d'oncogenèse.....	105
1.	Notion de cellule permissive ou non	105
2.	L'intégration du génome viral : première étape de l'oncogenèse	106
3.	Interaction avec les membres de la famille des protéines à poche	107
4.	Régulation de l'apoptose	109
5.	Coopération des oncoprotéines virales	111
6.	Echappement au système immunitaire de l'hôte.....	114
III.	Les Herpèsvirus	115
A.	Généralités sur les herpèsvirus.....	115
1.	Une famille hétérogène.....	115
2.	Une réplication en trois phases.....	116
3.	HPV et pathologies	117
B.	Virus d'Epstein-Barr et lymphomes	118
1.	Présentation du virus d'Epstein-Barr.....	118
i.	Les étapes cellulaires de l'infection par l'EBV.....	119
ii.	Le génome de l'EBV	120
iii.	Les protéines d'EBV et leurs rôles.....	121
2.	Oncogenèse par l'EBV.....	122
i.	In vitro : EBV, un virus transformant	122
ii.	In vivo : EBV et oncogenèse.....	123
3.	Découverte d'un gamma herpesvirus chez le chien.....	124
C.	Rôle des télomères dans la tumorigénèse : l'exemple du virus de la maladie de Marek	126

1.	Les télomères, protecteurs du génome.....	126
2.	Les télomères des Herpèsvirus.....	127
D.	Les microARN des Herpèsvirus	131
1.	Les microARN du virus d'Epstein-Barr et leurs fonctions.....	134
i.	Altération de l'expression de gènes cellulaires	134
ii.	Régulation de l'expression virale	134
2.	Les microARN du MDV	135
	Conclusion.....	138
	Bibliographie.....	140

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES FIGURES

Fig. 1 : Le cycle cellulaire et son contrôle.....	16
Fig. 2 : Rôle de la protéine Rb dans le cycle cellulaire..	17
Fig. 3 : Rôles de la protéine p53.....	18
Fig. 4 : Les sept propriétés fondamentales d'une cellule tumorale.....	22
Fig. 5 : Les bases moléculaires de la cancérogénèse.	24
Fig. 6 : Représentation schématique des différents mécanismes par lesquels un proto-oncogène devient un oncogène.	28
Fig. 7 : Représentation schématique des virus nus et enveloppés.....	33
Fig. 8 : Schématisation du mode de classification des virus (principales familles)..	34
Fig. 9 : Les six étapes de la multiplication virale.....	35
Fig. 10 : Représentation schématique des structures d'une particule rétrovirale et de son génome.....	40
Fig. 11 : Classification des rétrovirus.....	42
Fig. 12 : Etapes de l'infection productive d'une cellule par un rétrovirus..	46
Fig. 13 : Représentation de l'ADN proviral de FeLV après intégration au génome de la cellule hôte.....	48
Fig. 14 : Processus cellulaires contrôlés par c-Myc dans des conditions normales et lors de la tumorigénèse..	52
Fig. 15 : Structure des séquences LTR de différents variants du FeLV.....	56
Fig. 16 : Structures de deux acides aminés.....	58
Fig. 17 : Schéma bilan représentant les déterminants de la pathogénèse du FeLV..	58
Fig. 18 : Fonctionnement des rétrovirus à fort potentiel oncogène.....	63
Fig. 19 : Représentation schématique du génome du FeSV.	63
Fig. 20 : Représentation schématique du BLV.	68
Fig. 21 : Structure génomique des provirus BLV et HTLV-1 et des produits viraux..	69
Fig. 22 : Rôle de Tax dans la régulation de la transcription.....	70
Fig. 23 : Représentation schéma des différentes actions de HBZ et des conséquences sur la transcription..	72
Fig. 24 : La leucémogénèse induite par le BLV : un processus en plusieurs étapes.	73

Fig. 25 : Signe clinique pathognomonique de l'adénomatose pulmonaire ovine..	76
Fig. 26 : Aspect macroscopique de l'adénomatose pulmonaire ovine.....	78
Fig. 27 : Organisation génomique du provirus JSRV.....	80
Fig. 28 : Voies de signalisation empruntées par Env JSRV pour aboutir à la transformation des cellules.....	83
Fig. 29 : Les principaux virus à ADN.....	90
Fig. 30 : Arbre phylogénétique illustrant la classification des papillomavirus.....	93
Fig. 31 : Représentation schématique de la structure des papillomavirus.....	98
Fig. 32 : Représentation schématique du génome de HPV-16.....	99
Fig. 33 : Représentation schématique de la structure des Polyomavirus..	101
Fig. 34 : Représentation schématique du génome du polyomavirus de Merkel.....	102
Fig. 35 : Représentation schématique des oncoprotéines des Polyomavirus.....	102
Fig. 36 : Représentations schématiques de la structure et du génome des adénovirus.....	104
Fig. 37 : Cycle lytique ou abortif lors d'une infection par le SV40.....	106
Fig. 38 : Induction de l'apoptose par les adénovirus.....	110
Fig. 39 : Coopération entre E6 et E7 dans le processus de cancérisation par les papillomavirus.....	112
Fig. 40 : E5 et la transformation cellulaire.....	113
Fig. 41 : Classification simplifiée des Herpesviridae.....	116
Fig. 42 : La réplication des Herpesviridae..	117
Fig. 43 : Représentation schématique du virus d'Epstein-Barr.....	119
Fig. 44 : Organisation génomique linéaire de l'EBV..	120
Fig. 45 : Le génome d'EBV circularisé avec la localisation des gènes de latence..	121
Fig. 46 : Evolution des télomères..	127
Fig. 47 : Le rôle de vTR dans la lymphomagénèse.	130
Fig. 48 : Synthèse et mode d'action des microARN..	133

TABLE DES TABLEAUX

Tabl. 1 : Quelques oncogènes représentatifs.....	26
Tabl. 2 : Quelques gènes suppresseurs de tumeurs représentatifs.....	29
Tabl. 3 : Classification des rétrovirus d'après l'ICTV.	45

Tabl. 4 : Présentation des principaux sites d'intégration du FeLV.	51
Tabl. 5 : Résultats de l'expérience avec les virus FeLV recombinants.	57
Tabl. 6 : Résultats de l'expérience : implication du FeSV dans les fibrosarcomes félins.	60
Tabl. 7 : Quelques oncogènes des rétrovirus.	62
Tabl. 8 : Classification des principaux HPVs.	94
Tabl. 9 : Nature et localisation des tumeurs associées à certains BPV.....	95
Tabl. 10 : Les principales protéines du HPV-16 et leurs fonctions.....	100
Tabl. 11 : Interactions entre les oncoprotéines des petits virus à ADN et pRB, p53.	111
Tabl. 12 : Les produits des gènes de latence de l'EBV et leurs principales fonctions	122
Tabl. 13 : Cibles de quelques microARN d'EBV.	135

ABREVIATIONS

ADN – acide désoxyribonucléique

Akt – *protein kinase B*

ARN – acide ribonucléique

ARNm – ARN messenger

ARNm – ARN messenger

BLV – *Bovine leukemia virus* ou virus leucémogène bovin

BPV – *Bovine papillomavirus* ou papillomavirus bovin

Cdk – kinase cycline-dépendante

CMH – complexe majeur d'histocompatibilité

c-onc – oncogène d'origine cellulaire

dNTP – désoxyribonucléotide triphosphate

E2F – *E2 factor*

EBV – *Epstein-Barr virus* ou virus d'Epstein-Barr

EGF – *epidermal growth factor* ou facteur de croissance épidermique

ENTV – *Enzootic nasal tumor virus* ou

Env – enveloppe

ERV – *endogenous retroviruses*

FeLV – *Feline leukemia virus* ou virus leucémogène félin

FeSV – *Feline sarcoma virus* ou virus sarcomateux félin

GTP – guanosine triphosphate

HHV – *Human herpesvirus* ou herpèsvirus humain

HPV – *Human papillomavirus*

HTLV – *Human T-cell leukemia virus* ou virus lymphotrope humain

ICTV – *International Committee on Taxonomy of Viruses*

JSRV – Jaagsiekte sheep retrovirus

Kb – kilobase ou 1000 paires de bases

LT – *large T antigen* ou antigène grand T

LTR – *long terminal repeat* ou séquence terminale longue répétée

MAPK – *mitogen-activated protein kinases*

MDV – *Marek's disease virus* ou virus de la maladie de Marek

miARN – microARN
mL – millilitre
MPyV – *Murine polyomavirus* ou polyomavirus murin
MuLV – *Murine leukemia virus* ou virus leucémogène murin
NF-κB – *nuclear factor-kappa B*
Nm – nanomètre
OPA – *Ovine Pulmonary Adenocarcinoma* ou adénomatose pulmonaire ovine (APO)
ORF – *open reading frame* ou cadre ouvert de lecture
pb – paire de bases
PCNA – *proliferating cell nuclear antigen*
PCR – *polymerase chain reaction* ou réaction de polymérase en chaîne
PDGF – *platelet-derived growth factor* ou facteur de croissance dérivé des plaquettes
PI3K – phosphatidylinositol-3 phosphate
pRb – protéine du rétinoblastome
PUMA – *p53-up-regulated modulator of apoptosis*
RSV – *Rous sarcoma virus* ou virus du sarcome de Rous
RT – *reverse transcriptase* ou transcriptase inverse
RT-PCR – *reverse transcription PCR*
ST – *small t antigen* ou antigène petit t
SU – protéine de surface
TM – protéine transmembranaire
TNF – *tumor necrosis factor* ou facteur de nécrose tumorale
v-onc – oncogène viral

INTRODUCTION

Dans la société actuelle, le cancer touche directement ou indirectement la quasi-totalité de la population humaine (8,2 millions de décès en 2012). Ce « mal du siècle » prend également de plus en plus de place en médecine vétérinaire où les progrès constants et l'augmentation de la médicalisation ont permis un allongement des espérances de vie.

Le cancer est un terme générique pour désigner un groupe hétérogène de maladies qui peuvent, par une prolifération rapide de cellules anormales, affecter toutes les parties de l'organisme. Elles portent également les noms de tumeurs malignes ou néoplasmes. Il existe aussi un certain nombre de tumeurs dites bénignes qui n'ont pas la même gravité et qui ne sont généralement pas mortelles.

Les étiologies des tumeurs sont variables et les causes peuvent être maîtrisables ou non. Au début du XXème siècle, les virus ont été clairement mis en évidence comme facteurs potentiels de tumorigénisation. A ce jour environ 15% des cancers sont reconnus comme d'origine virale. Chez l'Homme, ces infections se retrouvent principalement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

L'amélioration des techniques, notamment en culture cellulaire et en biologie moléculaire, donne de plus en plus de matière à la virologie tumorale. L'étude de modèles animaux, en plus de faire avancer la médecine oncologique dans ces espèces, permet des progrès considérables sur la compréhension des mécanismes de transformation et d'oncogénèse ainsi que sur l'efficacité des thérapies anticancéreuses.

Cette étude s'appuie sur des exemples de virus infectant les principales espèces domestiques pour présenter différents mécanismes de carcinogénèse. De nombreux parallèles seront faits avec les virus oncogènes humains.

La première partie servira à rappeler quelques notions concernant d'une part, le cycle cellulaire et son altération et d'autre part, les agents inducteurs étudiés ici : les virus. Les deux suivantes présenteront tour à tour les virus oncogènes à ARN puis à ADN à travers les mécanismes de transformation qu'ils utilisent.

PARTIE 1 : GENERALITES

I. ONCOGENESE

Une bonne connaissance des mécanismes généraux de l'oncogenèse est indispensable à la compréhension de la carcinogénèse initiée par des virus. Cette première partie aborde l'oncogenèse de façon générale en commençant par quelques rappels sur le cycle cellulaire.

A. Le cycle cellulaire et sa régulation

Le cycle cellulaire regroupe l'ensemble des modifications subies par une cellule entre deux mitoses : celle par laquelle elle est formée (à partir de la cellule mère) et celle où elle se divise à son tour en deux cellules filles. C'est le processus de régulation de la croissance cellulaire et de la prolifération.

Toutes les étapes d'entrée et de progression du cycle sont parfaitement contrôlées par la cellule et/ou son environnement. Des mécanismes précis de régulation négative et positive assurent la succession coordonnée des différentes phases. De plus, la capacité de prolifération des cellules « normales » n'est pas infinie : il existe des mécanismes de vieillissement qui assurent l'entrée en sénescence des cellules après un certain nombre de divisions.

Lors de situations pathologiques particulières, comme la carcinogénèse, la cellule peut échapper aux mécanismes de contrôle.

Le cycle cellulaire est constitué d'un enchaînement de phases qui se succèdent dans un ordre immuable (figure 1) : les phases G1, S et G2 qui constituent l'interphase (noyau mécaniquement inactif) et la phase M (mitose). Après la phase M, les cellules filles identiques ont différents choix : entrer en quiescence (phase G0), préparer une nouvelle division en entrant en phase G1 (prolifération), se différencier ou subir l'apoptose (mort cellulaire programmée).

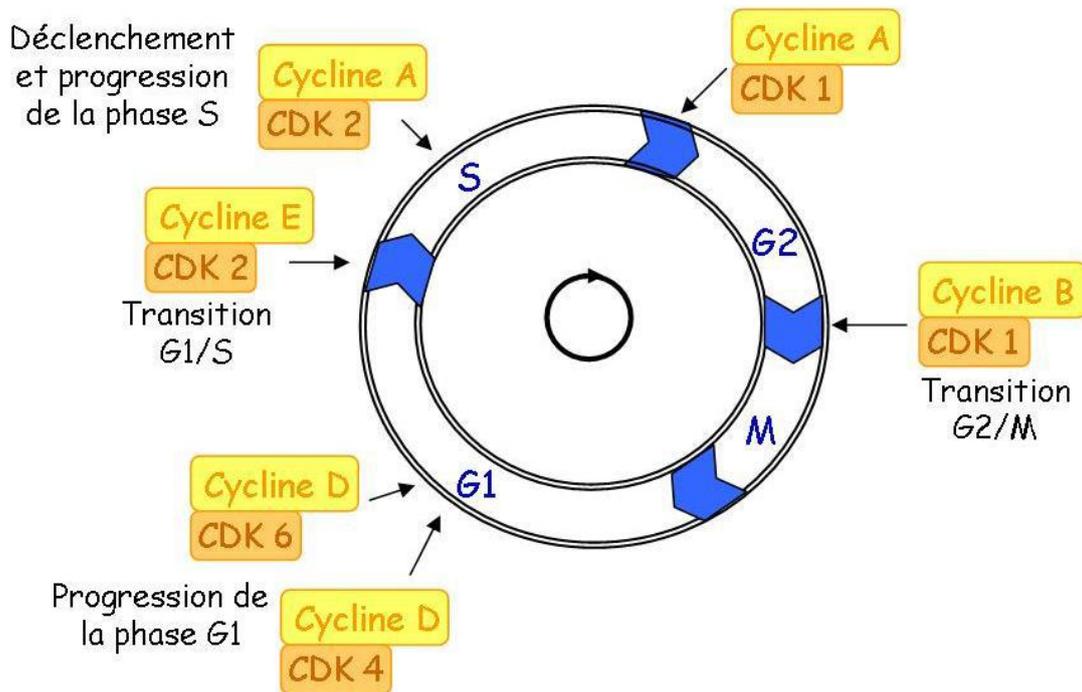


Fig. 1 : Le cycle cellulaire et son contrôle. *Source : Durand (2009).*
 En jaune les cyclines et en orange les kinases cyclines-dépendantes (CDK) intervenant à chaque phase.

Le bon déroulement du cycle et la coordination des événements sont sous contrôle biochimique des protéines de la famille des cyclines. Elles doivent leur nom au fait qu'elles sont successivement synthétisées puis détruites au cours du cycle cellulaire. Elles fonctionnent par fixation et activation des kinases cyclines-dépendantes (Cdk). Les protéines kinases et les cyclines correspondantes sont régulées par des facteurs de croissance et des oncogènes [Allain, 2005].

Le cycle cellulaire possède différents points de contrôle.

Le premier (le point Start), au niveau de la phase G1, décide si la cellule doit lancer ou non un nouveau cycle. En effet, si les signaux de prolifération sont suffisamment intenses, ils vont inactiver la protéine Rb (pRb), permettant aux gènes de prolifération de s'exprimer et donc à la cellule d'entrer en phase S. La protéine Rb est un régulateur essentiel : c'est «le verrou» du cycle cellulaire.

Lorsqu'elle est hypophosphorylée (forme active) pRb est liée aux facteurs E2F et les maintient ainsi sous forme inactive (figure 2). Ces derniers sont essentiels pour l'activation de gènes impliqués dans la réplication de l'ADN (ADN polymérase,

facteur de réplication PCNA...) et pour l'entrée en phase S [Branton et Querido, 1997]. La phosphorylation de pRb entraîne la dissociation du complexe pRb – E2F donc la libération du facteur de transcription qui va stimuler l'initiation de la synthèse d'ADN.

Cette phosphorylation est sous la dépendance de complexes protéiques formés par des kinases cycline - dépendantes dont l'activation est sous le contrôle de cyclines : couples Cdk (unités catalytiques)/cyclines (unités régulatrices). Ces complexes sont actifs lorsque les deux unités sont associées. Les complexes cyclines/Cdk sont eux-mêmes régulés par des protéines inhibitrices (p16, p15, p18, p19 et p21, p57 et p27), qui agissent en se fixant sur les Cdk, et donc en empêchant la constitution du complexe actif.

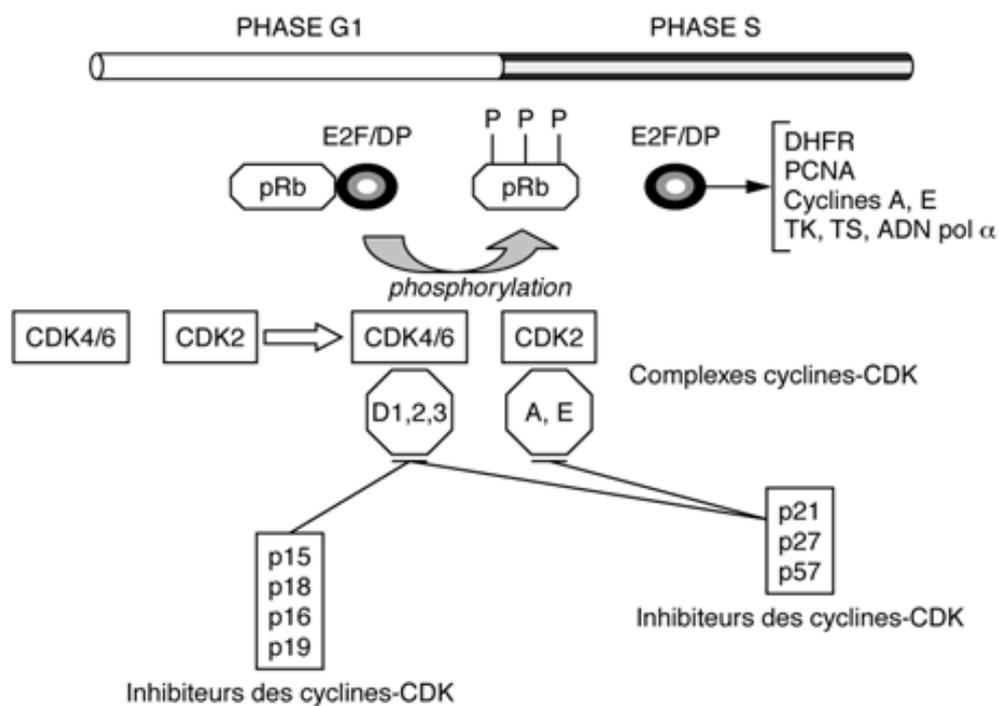


Fig. 2 : Rôle de la protéine Rb dans le cycle cellulaire. Source : Maréchal (1999).

Le gène *RB*, suppresseur de tumeurs le plus étudié, est en tête de file des gènes de la famille Rb. Ils codent pour des protéines à poche qui sont des régulateurs majeurs des nombreuses fonctions cellulaires essentielles. Nous reviendrons sur cette famille de protéines qui est une cible privilégiée des oncovirus [Felsani et al, 2006].

Le deuxième point de contrôle est situé au niveau de la phase S. Il est activé lors de la détection de lésions de l'ADN ou lors de blocage de la réplication. Le cycle va alors être interrompu et il reprendra lorsque les lésions auront été réparées. L'acteur majeur de ce point de contrôle est le gène *p53*. Il est transcrit lors de lésions de l'ADN et il code pour la protéine p53 qui module la transcription de nombreux autres gènes (figure 3).

Dans les faits, p53 va stimuler la transcription du gène *p21*. Ce dernier code pour la protéine p21 qui est un inhibiteur universel des Cdk, ainsi que d'autres gènes qui régulent la croissance cellulaire et l'apoptose (comme *Bax*). Des gènes inhibiteurs de la transcription vont eux voir leur transcription réprimée par p53 (des gènes d'oncoprotéines comme *c-fos* ou *c-myc* et celui de MDR1 pour *multi-drug resistance oncoprotein*).

Et enfin, il existe une boucle de régulation négative de la protéine p53 : cette dernière stimule la transcription du gène *mdm2*, à l'origine de la phosphoprotéine nucléaire mdm2 qui se lie à la protéine p53 et l'inactive.

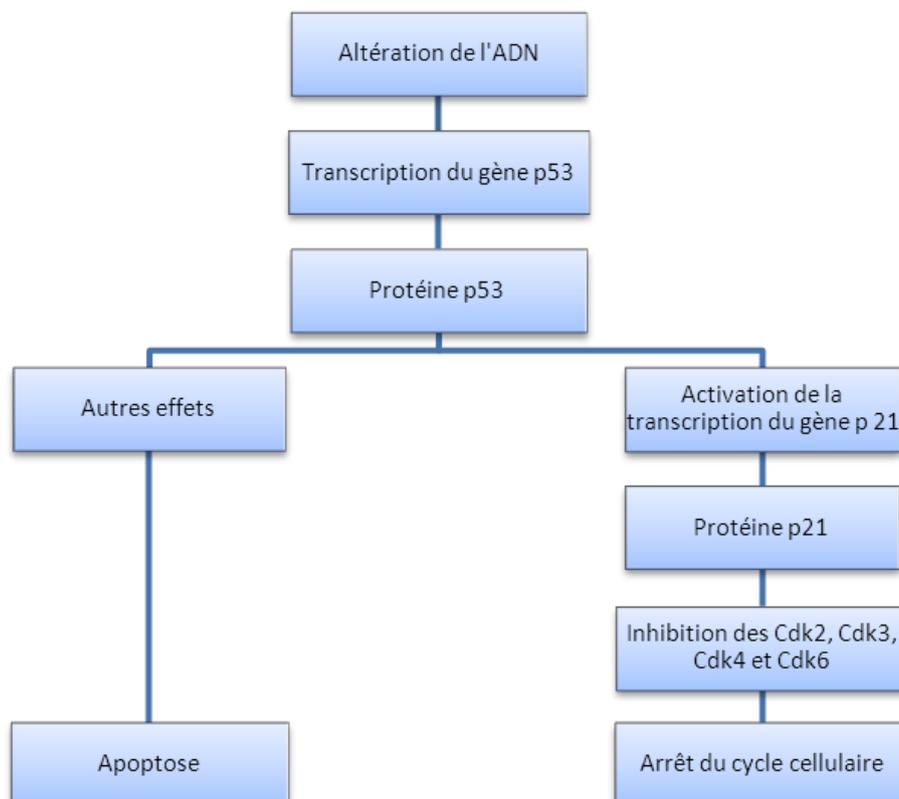


Fig. 3 : Rôles de la protéine p53. Source : Allain (2005).

Ainsi, par cet ensemble d'actions (et d'autres plus complexes), le gène *p53* freine le cycle cellulaire et favorise l'apoptose. Les mutations somatiques de *p53* représentent l'altération moléculaire la plus fréquemment observée dans les tumeurs solides et la protéine serait inactive dans environ 50% des cancers humains [Morgan, 2010].

Enfin, il existe un dernier point de contrôle lors de la transition G2/M qui répare les derniers dommages de l'ADN.

Les régulateurs du cycle cellulaire, et plus particulièrement ceux qui jouent un rôle dans le contrôle de la prolifération, par exemple en modulant le passage en phase S, sont pris pour cibles dans de nombreux cancers.

B. Les bases moléculaires du cancer

Le mot « tumeur » vient du latin *tumere* (« enfler ») il désigne une masse de cellules ayant eu un développement anormal et une multiplication déraisonnée.

Il existe deux types majeurs de tumeurs en fonction de leur forme générale et de leur mode de croissance. D'une part, les tumeurs bénignes qui restent localisées en une masse compacte au sein d'un tissu donné, et d'autre part, les tumeurs malignes dont les cellules se répandent activement dans l'organisme formant ainsi des métastases. On parle alors de cancer, terme désignant un groupe de maladies pouvant affecter différents tissus de l'organisme. Ils sont par exemple appelés carcinomes lorsqu'ils dérivent de cellules épithéliales, sarcomes lorsqu'il s'agit de cellules mésodermiques, adénocarcinomes dans le cas de cellules glandulaires et enfin leucémies pour ceux issus du tissu hématopoïétique. A l'échelle cellulaire, le cancer est une maladie génétique caractérisée par des altérations de l'ADN (mutations simples, délétions, translocations...) qui vont s'accumuler et conférer un avantage sélectif à la cellule tumorale.

1. Caractéristiques des cellules tumorales

Les cellules cancéreuses partagent des propriétés communes qui les différencient des cellules « normales » [Chaix, 2010]. Ces propriétés sont acquises selon une chronologie bien précise (figure 4) :

- Potentiel réplicatif illimité (perte de la sénescence).

Une cellule saine ne peut effectuer qu'un nombre fini de cycles cellulaires lié à la longueur de ses télomères qui diminue à chaque division. La taille des télomères chromosomiques dans les cellules cancéreuses est maintenue à peu près constante, du fait de la réactivation de la télomérase d'où l'acquisition du potentiel réplicatif illimité.

- Autonomie de croissance.

De nombreux oncogènes agissent en mimant les signaux de croissance qui permettent aux cellules « normales » d'entrer dans un état de prolifération active.

- Insensibilité aux signaux inhibiteurs de la prolifération.

Ceux-ci maintiennent normalement la quiescence cellulaire et l'homéostasie tissulaire. Ils agissent via des récepteurs membranaires et sont couplés à des voies de signalisation intracellulaires qui jouent donc un rôle majeur dans la progression du cycle cellulaire. Dans de nombreuses tumeurs, une altération de ces voies de signalisation (impliquant par exemple la protéine du rétinoblastome pRb) sont retrouvées.

- Résistance à l'apoptose.

La capacité de croissance d'une population de cellules est liée à ses taux de prolifération et de mortalité. Une grande partie de la mortalité des cellules est due à l'apoptose, programme de destruction sélective des structures cellulaires. La machinerie apoptotique peut être divisée en deux catégories de molécules :

- les inductrices : récepteurs membranaires des signaux de survie ou de mort ; détecteurs intracellulaires du « bon état physiologique » d'une cellule ;
- les effectrices : généralement liées à l'activité des mitochondries, du cytochrome C et aux caspases qui exécuteront le programme d'apoptose ;

De nombreuses stratégies permettent l'acquisition d'une résistance à l'apoptose par la dérégulation de cette machinerie spécifique. La plus courante implique le gène *p53*, dit suppresseur de tumeur car c'est un acteur majeur de la réponse aux dommages de l'ADN qui peut activer la machinerie apoptotique. Son inactivation fonctionnelle est observée dans 50% des cancers humains [Beaudin et al, 2014].

- Capacité à induire l'angiogénèse.

La vascularisation permet d'apporter le dioxygène et les nutriments indispensables au développement de la tumeur.

- Capacité d'invasion tissulaire et diffusion métastatique.

- Echappement à l'immunosurveillance.

Les cellules tumorales sont génétiquement instables. Ceci provoque d'une part une accumulation de mutations, de translocations et de délétions qui conduisent à l'expression d'antigènes qui sont normalement réprimés d'où production de nouveaux peptides antigéniques. D'autre part, il y a une surexpression de certains gènes qui dépasse alors le seuil d'alerte du système immunitaire. De nombreuses études ont cherché à expliquer les mécanismes moléculaires d'échappement à la réponse immunitaire. Ils sont regroupés en trois catégories [Beaudin et al, 2014] :

- ceux qui sont inhérents aux cellules tumorales : ils provoquent une altération de l'apprêtement et/ou de la présentation des peptides antigéniques. Les cellules échappent alors à la lyse spécifique par les cellules cytotoxiques.

- ceux liés au micro-environnement tumoral : les cellules tumorales sont capables de moduler la réponse inflammatoire [Montovani et al, 2009] et de façonner cet environnement pour qu'il leur soit favorable.
- ceux qui permettent la sélection des cellules tumorales les moins immunogènes au cours de la progression du cancer.

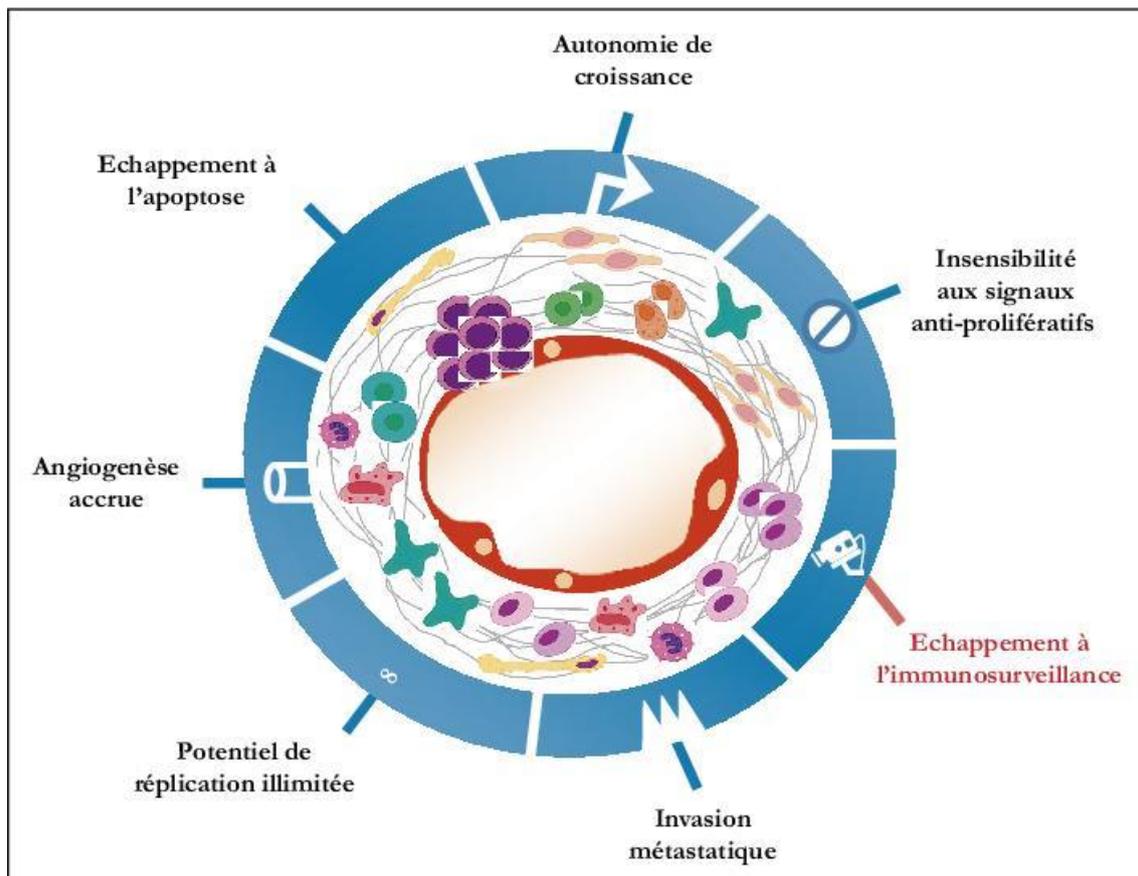


Fig. 4 : Les sept propriétés fondamentales d'une cellule tumorale. Source : Beaudin (2014).

Ces anomalies fonctionnelles s'accompagnent de modifications morphologiques qui permettent généralement de reconnaître une cellule cancéreuse en l'observant au microscope optique.

La transformation maligne (souvent raccourci en "transformation") est le processus pathologique par lequel une cellule acquiert de nouvelles propriétés modifiant sa morphologie et sa croissance. Différents agents peuvent initier cette transformation ; on distingue :

- Ceux qui induisent une lésion définitive de l'ADN : les agents initiateurs tels que les carcinogènes chimiques, l'irradiation ionisante ou encore certains virus...
- Et les agents promoteurs, qui favorisent l'expression d'une lésion génétique (les esters de phorbol, l'alcool, les estrogènes, certains parasites...).

Cependant il est important de noter qu'in vivo, un cancer ne semble se développer qu'après au moins deux évènements de type exposition à une substance chimique mutagène ou à un virus oncogène [Prescott et al, 2010].

2. Mécanismes généraux de la tumorigénèse

La cancérogénèse, processus de formation d'un cancer, comprend trois grandes étapes [Anses, 2014] :

- La phase **d'initiation** dont résulte une transformation cellulaire.
- Une deuxième phase de **promotion** : émergence de cellules transformées du fait d'une stimulation de leur développement par un promoteur de carcinogénèse.
- Et enfin la phase **d'invasion locale**, ou **progression**, qui est à l'origine du phénomène de dissémination métastatique ; le cancer devient cliniquement détectable.

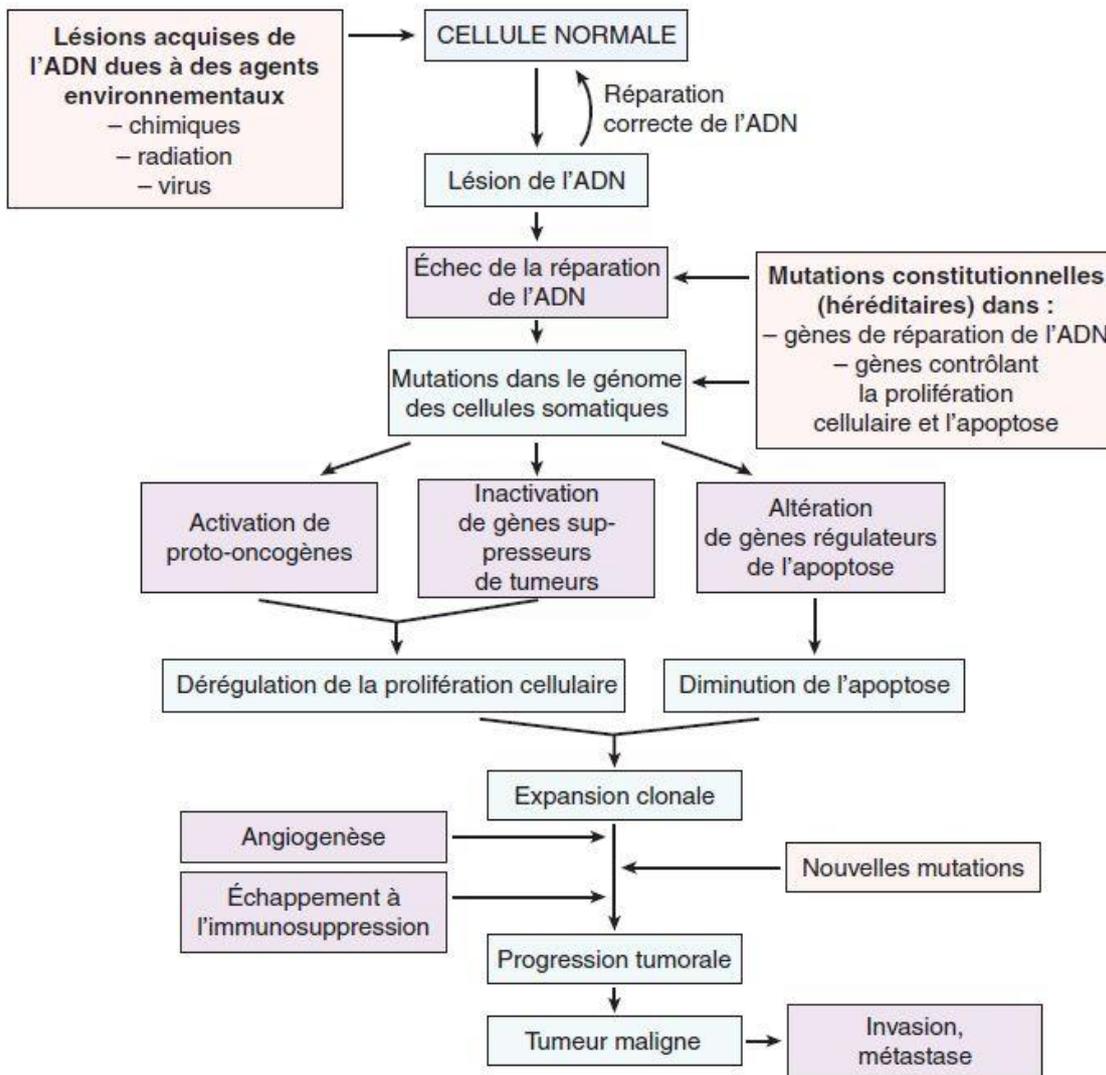


Fig. 5 : Les bases moléculaires de la cancérogénèse. *Source : Collège français des pathologistes (2011).*

Ainsi, un néoplasme, est la conséquence d'altérations successives du génome des cellules tumorales, qui perturbent de façon permanente l'homéostasie tissulaire (figure 5).

L'étude des virus qui provoquent des cancers chez les rongeurs et chez les oiseaux a été extrêmement importante dans l'identification des gènes impliqués dans la transformation maligne des cellules.

3. Les familles de gènes impliqués dans la cancérogénèse

i. Les oncogènes

Les proto-oncogènes sont des gènes importants dans la cellule hôte. Généralement, ils régulent la croissance, la division, la survie ou la différenciation. Lorsqu'ils sont mutés ou surexprimés (modification qualitative ou quantitative de leur expression), ils deviennent alors des oncogènes dont les produits contribuent à la transformation maligne de la cellule. Ces gènes confèrent à la cellule un avantage sélectif. L'altération d'un allèle est suffisante pour entraîner une activation anormale.

Les oncogènes sont répartis en plusieurs catégories (tableau 1) :

- Ceux qui miment les facteurs de croissance pour induire une prolifération cellulaire (assurent une boucle de régulation autocrine) ;
Exemple : proto-oncogènes codant pour les protéines de la famille FGF (*fibroblast growth factor*).
- Les récepteurs de mitogènes ;
Exemple : le proto-oncogène *erbB* code pour le récepteur à l'EGF (*epidermal growth factor*).
- Les transducteurs de signaux intracellulaires :
 - Les tyrosines protéines kinases membranaires
 - les G-protéines ou protéines membranaires liant le GTP*Exemple* : proto-oncogènes de la famille *Ras*.
 - Les sérine/thréonine protéines kinases
 - Les phospholipases C (PKC)
- Les régulateurs nucléaires de la transcription ;
Exemple : proto-oncogène *erbA* codant pour le récepteur aux hormones thyroïdiennes, les proto-oncogènes *fos*, *jun* et *c-myc*.

Oncogènes

Gène	Fonction du produit du gène	Mécanisme de l'activation dans le cancer
RAS	GTPase dans la transmission mitogénique du signal	Mutation qui bloque la GTPase
MYC	Facteur de régulation des gènes impliqués dans la transmission mitogénique du signal	Surexpression de gènes
FOS, JUN	Facteur dans la régulation des gènes dans la transmission mitogénique du signal	Surexpressions de gènes
RAF	Protéine kinase impliquée dans la transmission mitogénique du signal	Mutations qui activent la kinase
EGFR	Récepteur du mitogène EGF	Surexpression de gènes ou mutation activatrice
DGF	Mitogène	Surexpression de gènes
BCL2	Inhibiteur de l'apoptose	Surexpression de gènes
ABL	Protéine kinase avec de multiples fonctions	Surexpression de gènes ou mutations activatrices
SRC	Protéine kinase avec de multiples fonctions	Mutations qui activent la kinase
PIK3CA	Sous-unité catalytique de la PI3 kinase	Surexpression de gènes ou mutations activatrices
AKT	Protéine kinase avec de multiples fonctions	Surexpression de gènes ou mutations activatrices

Tabl. 1 : Quelques oncogènes représentatifs. *Source : Morgan (2010).*

Les proto-oncogènes peuvent devenir des oncogènes de différentes façons (figure 6) [Morgan, 2010] :

- Par intégration virale ;

Exemple 1 : HBV : mécanisme d'intégration-chimérisme. Insertion de l'ADN viral au niveau d'un gène régulateur aboutissant à un gène chimère à l'origine de la synthèse d'une protéine hybride.

Exemple 2 : HTLV I et II, BLV : insertion au hasard dans le génome du virus qui possède ses propres séquences activatrices.

- Lors d'erreurs dans la réplication ou dans la réparation de l'ADN créant des protéines hyperactives ;

Exemple 1 : mutation d'un unique acide aminé dans la GTPase Ras (régulateur positif de nombreuses voies mitogéniques) aboutissant à un blocage en conformation active, liée au GTP.

Exemple 2 : mutations ponctuelles dans la tyrosine kinase Src d'où une augmentation de son activité enzymatique et un élargissement de sa spécificité de substrats. La kinase va alors phosphoryler et activer des protéines mitogènes non ciblées en temps normal.

Exemple 3 : délétion d'une région intervenant dans l'activation de la protéine. Certains récepteurs du facteur de croissance (codés par *erb B*) sont ainsi constitutivement activés par délétion de leur site de liaison au ligand. L'EGF ne pouvant plus s'y fixer, il ne les régule plus, entraînant l'activation constitutive de ces récepteurs.

- Par des réarrangements chromosomiques qui placent des séquences codant pour des protéines mitogéniques sous contrôle d'une autre région régulatrice ou qui engendrent des nouvelles protéines potentiellement oncogènes ;

Exemple : *Myc* placé sous le contrôle des séquences régulatrices des gènes d'immunoglobulines, par une translocation, dans le cas du lymphome de Burkitt. Ceci provoque une production anormalement élevée de la protéine *Myc*, protéine mitogénique régulatrice, dans les cellules lymphoïdes qui vont alors proliférer.

- Par amplification de gènes : augmentation anormale du nombre de copies de ces gènes dans la cellule qui entraîne une synthèse excessive de leurs produits ;

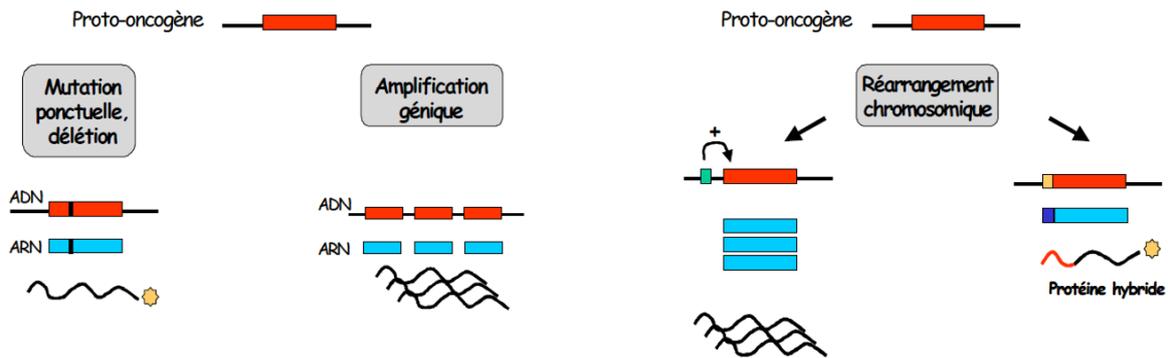


Fig. 6 : Représentation schématique des différents mécanismes par lesquels un proto-oncogène devient un oncogène. Source : Boulle (2011).

ii. Les gènes suppresseurs de tumeurs ou anti-oncogènes

Ils ont la capacité de réguler négativement le cycle cellulaire et d'induire l'apoptose. Ils agissent principalement en phase G1/S. Les mutations de ces gènes sont récessives (une altération des deux allèles est généralement nécessaire à l'obtention d'une perte de fonction de ces gènes). Les altérations moléculaires à l'origine de la perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeurs sont multiples : mutations ponctuelles, délétions, insertions, anomalies de méthylation des promoteurs inhibant la transcription.

Les gènes suppresseurs de tumeur sont regroupés en deux catégories (tableau 2) [Boulle, 2011] :

- Les « caretakers » impliqués dans le maintien de l'intégrité du génome (surveillance et réparation). Ex : *MMR*, *BRCA1*, *ATM*... L'instabilité génétique est un mécanisme essentiel dans la genèse et l'évolution d'un processus tumoral : lorsque les systèmes de surveillance et de réparation du génome sont déficients, les lésions de l'ADN s'accumulent dans des cellules qui continuent à proliférer.
- Les « gatekeepers » qui interviennent dans la prolifération et la survie des cellules. Ex : *RB*, *p53*...

Gènes suppresseurs de tumeurs

Gène	Fonction du produit du gène
p53	Facteur de régulation des gènes dans les réponses aux perturbations
RB	Inhibiteur de l'expression des gènes G1/S
INK4A	Inhibiteur des Cdk p16 ^{INK4A}
ARF	Régulateur positif de p53
APC	Inhibiteur de la transmission mitogénique du signal (non apparenté au complexe inducteur de l'anaphase)
PTEN	Antagoniste de la PI3 kinase
NF1	Protéine activatrice des GTPases pour Ras, transmission du signal mitogénique
TSC1, 2	Protéine activatrice des GTPases pour Rheb, transmission des signaux de croissance
DPC4/SMAD4	Facteur régulateur des gènes dans la transmission anti-mitogénique du signal
ATM	Kinase de réponse aux lésions de l'ADN
NBS1	Kinase de réponse aux lésions de l'ADN
BRCA1	Réparation de l'ADN, réponse aux lésions

Tabl. 2 : Quelques gènes suppresseurs de tumeurs représentatifs. *Source : Morgan (2010).*

Des mutations au niveau de proto-oncogènes et de suppresseurs de tumeur sont présentes dans la majorité des cancers. La voie biologique contrôlant le cycle cellulaire au niveau de la transition G1/S et passant par les gènes suppresseurs *p53*, *p16* et *RB*, est la voie la plus fréquemment altérée.

Notre sujet portera sur une catégorie bien particulière d'agents initiateurs qui vont être présentés dans la partie suivante : les virus oncogènes.

II. LES VIRUS

A. Découverte des virus oncogènes

En 1908, Ellermann et Bang démontrent pour la première fois la possibilité d'une transmission de leucémie aviaire par injection à des poulets sains d'un ultra-filtrat de cellules leucémiques provenant d'un poulet atteint. De la même manière, la transmission du sarcome aviaire par injection du virus du sarcome de Rous est mise en évidence par Peyton Rous en 1911.

En 1933, Richard Shope identifie le premier virus oncogène à ADN : un papillomavirus chez le lapin. Par la suite, une origine virale est démontrée pour de nombreuses maladies :

- Ludwig Gross décrit le virus de la leucémie murine (polyomavirus murin) en 1950
- Anthony Epstein et Yvonne Barr suppose une origine virale pour le lymphome de Burkitt en 1964
- en 1974, Harald zur Hausen présente un possible lien entre HPV (*Human papillomavirus*) et le cancer du col de l'utérus (prix Nobel 2008)
- association entre le virus HHV-8 (*Human herpesvirus*) et le sarcome de Kaposi (1994)
- découverte du virus de la leucémie T de type 1 humain (HTLV-1, *Human T-cell leukemia virus*) par Robert Gallo en 1980

Les études sur les virus oncogènes ont également permis des avancées considérables dans la compréhension des processus cellulaires et des mécanismes d'oncogenèse.

Après ce bref point sur l'histoire de la découverte des virus oncogènes, voici quelques rappels basiques sur les virus.

B. Généralités sur les virus

1. Un peu d'histoire

Virus est un mot d'origine latine qui signifie « poison ». Jérôme Fracastor, médecin et poète du XVI^{ème} siècle, utilisa ce terme pour la première fois, expliquant par ces « minuscules organismes vivants » les contagions par la peste, la lèpre et la syphilis.

Cette notion a par la suite évolué grâce aux apports de la technologie :

- Au XIX^{ème} siècle, les virus sont définis par opposition aux bactéries (ils sont invisibles au microscope, non cultivables...)
- Fin du XIX^{ème} : découverte des virus de la mosaïque du tabac, de la fièvre aphteuse et de la fièvre jaune
- 1911 : Peyton Rous met en évidence un lien entre virus et cancer (virus du sarcome de Rous)
- 1917 : Félix d'Hérelle affirme que les virus ont besoin des bactéries pour se développer
- 1930 : description du virus de la mosaïque du tabac à l'échelle moléculaire
- 1940 : les virus sont rendus visibles par le microscope électronique.

En 1953, André Lwoff, médecin biologiste français donne une définition des virus biologiques [Peigne-Lafeuille et al, 2003] :

« Les virus sont infectieux et potentiellement pathogènes ; ce sont des entités nucléoprotéiques possédant un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN) ; ils sont reproduits par la cellule à partir de leur matériel génétique ; ils sont incapables de croître et de se diviser [...] ».

La définition s'est par la suite précisée pour parler de virion, unité structurale du virus, dont voici les caractéristiques :

- Il possède un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui constitue le génome viral.

- Il se reproduit uniquement à partir de son matériel génétique par réplication de son génome et est incapable de croître ou de subir des divisions binaires.
- Il a une structure particulière (par opposition à la structure cellulaire des procaryotes et des eucaryotes). Les virions apparaissent sous forme géométrique simple.
- Ce sont des parasites absolus : ils ne peuvent se reproduire qu'au sein d'une cellule hôte vivante. De ce fait, ils ne possèdent pas de système enzymatique ou énergétique pour assurer leur propre auto-réplication mais ils détournent ceux de la cellule hôte. Lorsqu'une particule virale interagit avec une cellule hôte, deux voies peuvent être empruntées :
 - o La lyse cellulaire : mort de la cellule hôte du fait de la multiplication virale
 - o La persistance virale : les lésions cellulaires induites ne sont pas létales.

Même si ces caractéristiques restent la norme et sont le plus souvent vérifiées, la découverte récente des virus géants a bousculé le monde de la virologie. Ceci a été pour certains auteurs l'occasion de proposer de nouvelles définitions, qui n'ont néanmoins pas encore remplacé celle de 1953.

Les virus infectent tous les groupes d'organismes vivants : vertébrés, invertébrés, plantes, champignons et bactéries, avec des spectres d'hôtes variables selon les espèces.

2. Structure des virus

Une particule virale (à l'exception de certains virus géants) est constituée d'au moins deux éléments constants : le génome, sous forme d'ADN ou d'ARN et la capsid, coque stable et résistante qui assure la protection et le transport du génome. Il existe deux grands types de virus (figure 7) :

- Les virus nus dont la capsid est, pour les virus des vertébrés, de symétrie icosaédrique (20 faces). Ils sont résistants et stables dans le milieu extérieur d'où une transmission souvent indirecte (par voie fécale-orale, via le milieu hydrique par exemple).

- Les virus enveloppés avec une capsidie généralement hélicoïdale (mais certains sont à symétrie icosaédrique et d'autres à symétrie complexe), entourée d'une enveloppe de nature lipo-protéique dérivée des membranes cellulaires. Ils sont plus fragiles et se transmettent donc préférentiellement par des contacts rapprochés (contamination directe par voie respiratoire, salivaire ou sexuelle), ou grâce aux arthropodes hématophages (arbovirus). Dans certaines familles de virus, une structure amorphe peut séparer la capsidie de l'enveloppe : le tégument (ou matrice).

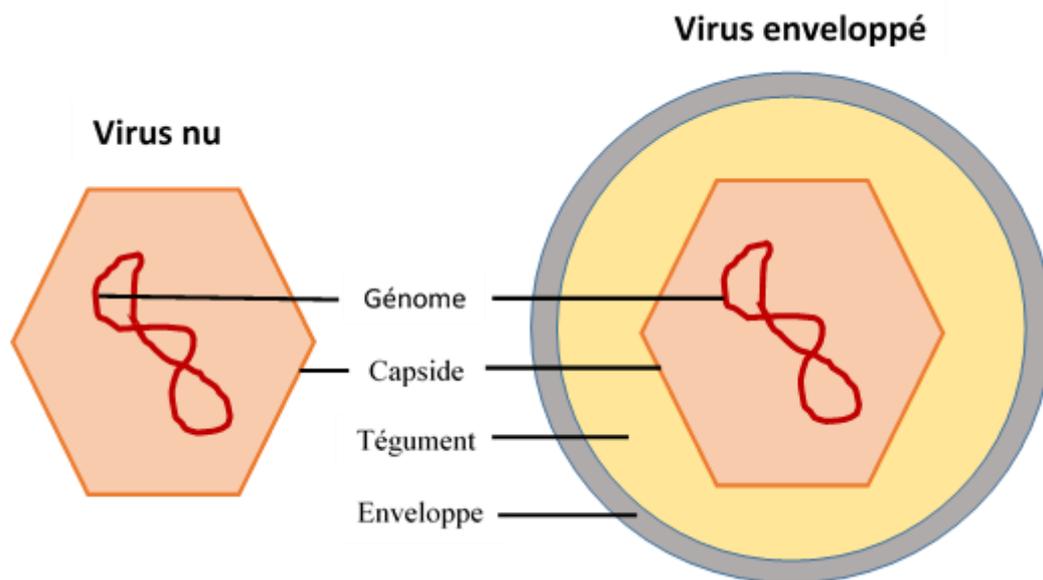


Fig. 7 : Représentation schématique des virus nus et enveloppés. *Source : Duarte (2012).*

3. Classification des virus

Fondée sur l'ensemble des données biochimiques et morphologiques, la classification actuelle suit celle proposée en 1962 par Lwoff. Elle repose sur trois critères majeurs (tableau 3) : le type d'acide nucléique, la présence ou non d'une enveloppe et la symétrie de la capsidie.

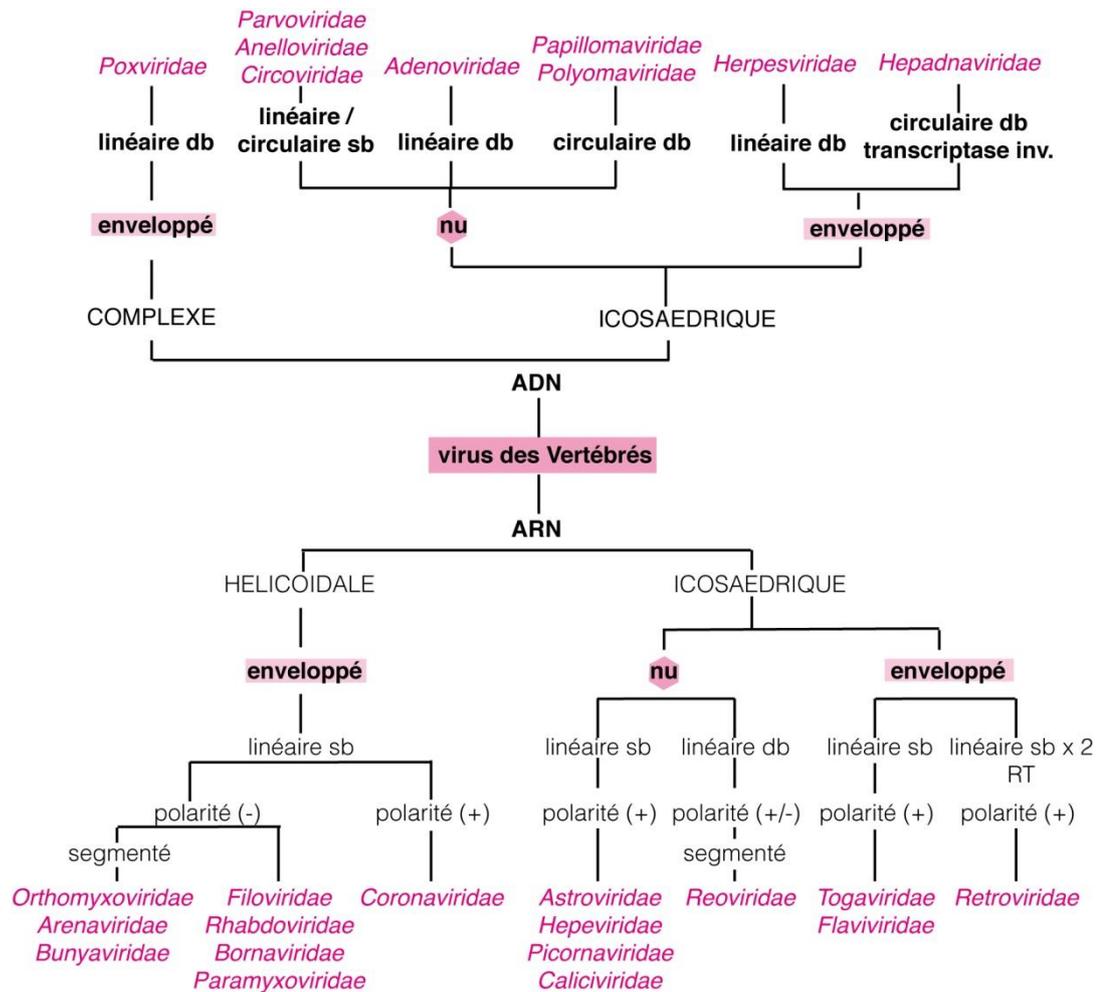


Fig. 8 : Schématisation du mode de classification des virus (principales familles). Source : Pasquier (2013).

4. Le cycle viral

La multiplication virale est un phénomène complexe au cours duquel le virus va détourner la machinerie cellulaire à son profit car il ne contient pas les éléments pour se reproduire. Le cycle est constitué de plusieurs étapes (figure 9) :

- Les étapes précoces : attachement, pénétration et décapsidation.
- La synthèse des macromolécules : expression des gènes viraux répliation du génome.
- Les étapes tardives : assemblage, maturation et relargage des nouveaux virions.

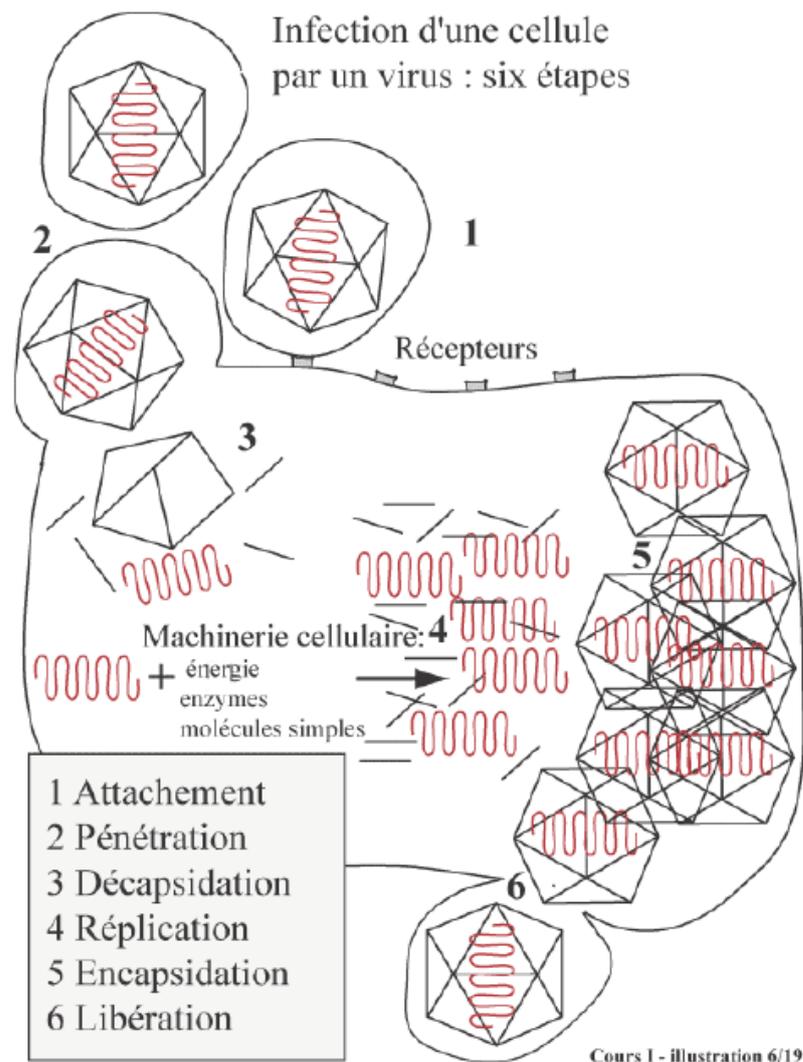


Fig. 9 : Les six étapes de la multiplication virale. Source : Huraux (2006).

La durée du cycle viral varie en fonction de la taille du génome et de la complexité du cycle. En effet, la stratégie de multiplication est dépendante de la nature et de la structure du matériel génétique : ADN ou ARN, génome bicaténaire ou monocaténaire, segmenté ou non, circulaire ou linéaire.

5. Conséquences de l'infection virale

La multiplication virale au sein d'une cellule peut conduire schématiquement à trois scénarios [Huraux, 2006] :

- L'infection lytique (conséquence la plus fréquente) : les structures et les fonctions cellulaires sont désorganisées du fait d'une accumulation de

matériel viral. La cellule va alors rapidement mourir par apoptose ou par nécrose.

- L'infection persistante : la cellule « tolère » la présence du virus et n'est pas directement lysée.
- La transformation maligne : acquisition de caractéristiques de cellule maligne ; c'est une conséquence directe et accidentelle de la persistance virale.

6. Persistance virale et échappement au système immunitaire

Une notion importante dans l'oncogénèse induite par des virus est leur persistance dans les cellules de l'hôte. Il s'agit d'un phénomène complexe qui peut prendre la forme d'une infection chronique productive (production permanente de particules virales) ou d'une infection latente (comme pour les herpèsvirus par exemple).

Les virus utilisent deux mécanismes pour persister dans les cellules hôtes : la régulation de leur potentiel lytique, par exemple avec une restriction de l'expression de leurs gènes, et l'échappement au système immunitaire. Pour rappel, trois lignes de défenses s'opposent aux infections virales [Huraux, 2006] :

- la peau et les muqueuses qui sont des barrières afin d'empêcher l'infection
- l'immunité innée, non spécifique qui intervient dans les heures voire les minutes suivant l'infection. Elle met en jeu différents éléments : les cytokines, les sentinelles (macrophages et cellules dendritiques), les cellules NK (*natural killer*), le complément et la fièvre.
- l'immunité acquise, dont les cellules effectrices sont les lymphocytes B et T, a besoin d'un délai de plusieurs jours pour se mettre en place.

Comme nous l'avons dit, les virus ont mis en place des stratégies afin d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte.

La première est le camouflage. Pour cela, le virus peut entrer en latence ou sélectionner des allèles mutés, cibles des anticorps et des lymphocytes cytotoxiques (utilisée par les rétrovirus) [Huraux, 2006]. La latence virale est le mécanisme par lequel le génome persiste, parfois sous forme intégrée, mais ne s'exprime pas ou

qu'en partie. Il n'y a donc pas (ou peu) de production d'antigènes, le virus survit « en faisant le mort ».

La deuxième stratégie est le sabotage des lignes de défense. Cette technique est classiquement utilisée par les virus à ADN qui codent généralement pour une plus grande information génétique. Ils vont alors utiliser certaines de leurs protéines pour détruire les cellules de l'immunité, dégrader le complexe majeur d'histocompatibilité, inhiber l'apoptose... La plupart de ces protéines sont des homologues de protéines cellulaires qui jouent le rôle de leurre et trompent le système immunitaire de l'hôte [Huraux, 2006].

Les virus oncogènes sont donc séparés en deux grandes classes en fonction de leur matériel génétique (ADN ou à ARN) et des stratégies de persistance mises en jeu. Parmi les virus à ARN, seuls les rétrovirus ont un potentiel oncogène reconnu. On trouvera plus de diversité au sein des virus à ADN oncogènes

PARTIE 2 : RETROVIRUS ET ONCOGENESE

Les rétrovirus ont été les premiers virus oncogènes identifiés. Leur pouvoir oncogène est particulièrement présent chez les animaux où ils sont à l'origine de carcinomes, de lymphomes, de sarcomes... Nous commencerons par présenter les principales propriétés des rétrovirus, puis nous décrivons les différents modes d'oncogénèse qui leur sont associés.

I. GENERALITES SUR LES RETROVIRUS

A. Structure des rétrovirus

La taille du virion varie entre 80 et 120 nanomètres de diamètre [Hunt et McIlroy, 2013]. A l'intérieur de l'enveloppe se trouve une capsidie icosaédrique composée de la protéine de capsidie. L'ARN viral (7 et 12 kb) associé à la protéine de nucléocapsidie se trouve à l'intérieur alors que la protéine de matrice est à l'extérieur. Les rétrovirus sont diploïdes : chaque particule possède deux molécules d'ARN génomique. Ce dernier est à polarité positive et possède, comme un ARNm, une coiffe en 5' et une queue polyA en 3'.

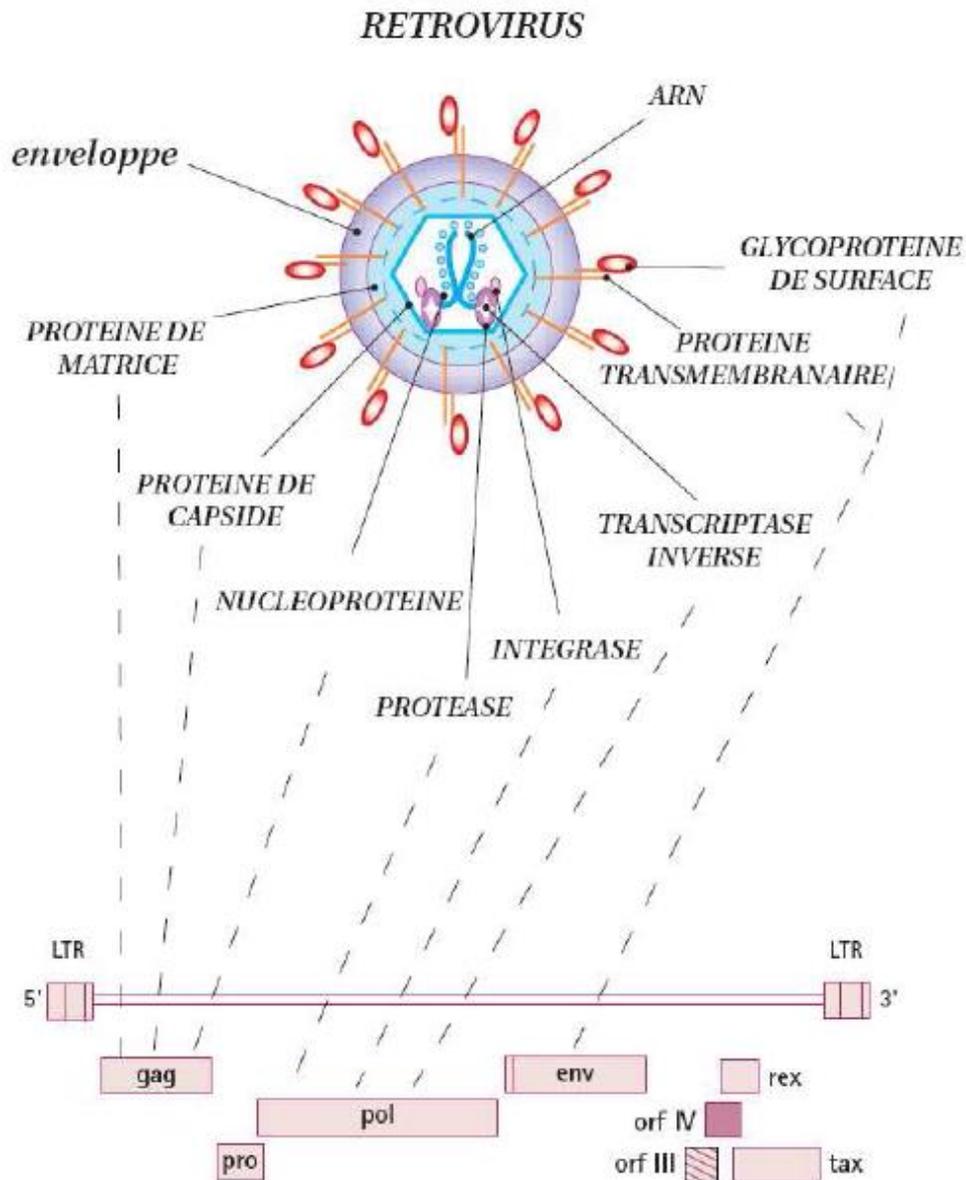


Fig. 10 : Représentation schématique des structures d'une particule rétrovirale et de son génome.
 Source : Thiry (2009).

Le génome viral possède trois domaines conservés de manière systématique dans la famille des *Retroviridae* [Mulot, 2008] :

- le domaine *gag* ("group-specific antigens" ou antigènes spécifiques de groupe) dirige la synthèse des protéines internes du virion qui forment la matrice (MA), la capside (CA) et les structures nucléoprotéiques (NC). Le gène *gag* code pour une polyprotéine, qui est clivée en différentes protéines de structure par une protéase virale codée par le gène *pol*.

- le domaine *pol* ("polymerase") est d'abord traduit en une polyprotéine qui est par la suite découpée pour libérer les différents produits matures :
 - la protéase qui clive les polyprotéines traduites de l'ARNm des gènes *gag* et *pol*
 - la transcriptase inverse qui copie l'ARN génomique du virus en ADN
 - la RNase H qui clive l'ARN de l'hétéroduplexe ARN-ADN (produit initial de la transcriptase inverse) permettant ainsi la synthèse, par la transcriptase inverse, du second brin complémentaire d'ADN (transcription de l'ARN simple brin du virus en une copie en ADN double brin)
 - l'intégrase qui insert le génome viral dans le génome de l'hôte.

Environ 10 copies de la transcriptase inverse et de l'intégrase sont présentes dans la particule virale mature. Du fait de leur rôle majeur, de nombreux médicaments antiviraux les prennent pour cible.

- le domaine *env* ("enveloppe") code les protéines de surface (SU) et transmembranaires (TM) de l'enveloppe virale liées entre elles par des ponts disulfures. En effet, il code pour une protéine transmembranaire de type 1 qui générera (après traduction par les ribosomes du réticulum endoplasmique puis clivage par une enzyme de l'hôte dans l'appareil de Golgi) deux glycoprotéines qui restent associées à la surface du virus mature :
 - Une « glycoprotéine de fusion » (lors de l'entrée du virus) qui reste ancrée dans l'enveloppe du virus et possède une structure secondaire principalement composée d'hélices alpha.
 - Une « glycoprotéine d'attachement » dont la structure est plus globulaire.

Les LTRs sont composées de trois régions U3, R et U5 contenant les signaux d'initiation et d'arrêt de la transcription ainsi que les séquences cibles de protéines régulatrices. Ainsi leurs structures sont identiques mais leurs fonctions différentes :

- Le LTR 5' comprend les promoteurs nécessaires à la régulation du niveau d'initiation de la transcription en interagissant avec des facteurs spécifiques

- Le LTR 3' contient les séquences nécessaires à l'addition d'une queue poly A aux ARN messagers viraux.

B. Classification des rétrovirus

La classification actuelle utilise la protéine RT pour les séparer en deux sous-familles puis en genres et en espèces (figure 11). Les lentivirus, dont fait partie le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) sont généralement cytopathogènes : ils détruisent la cellule qu'ils infectent. Les spumavirus ne sont pour l'instant rattachés à aucune pathologie.

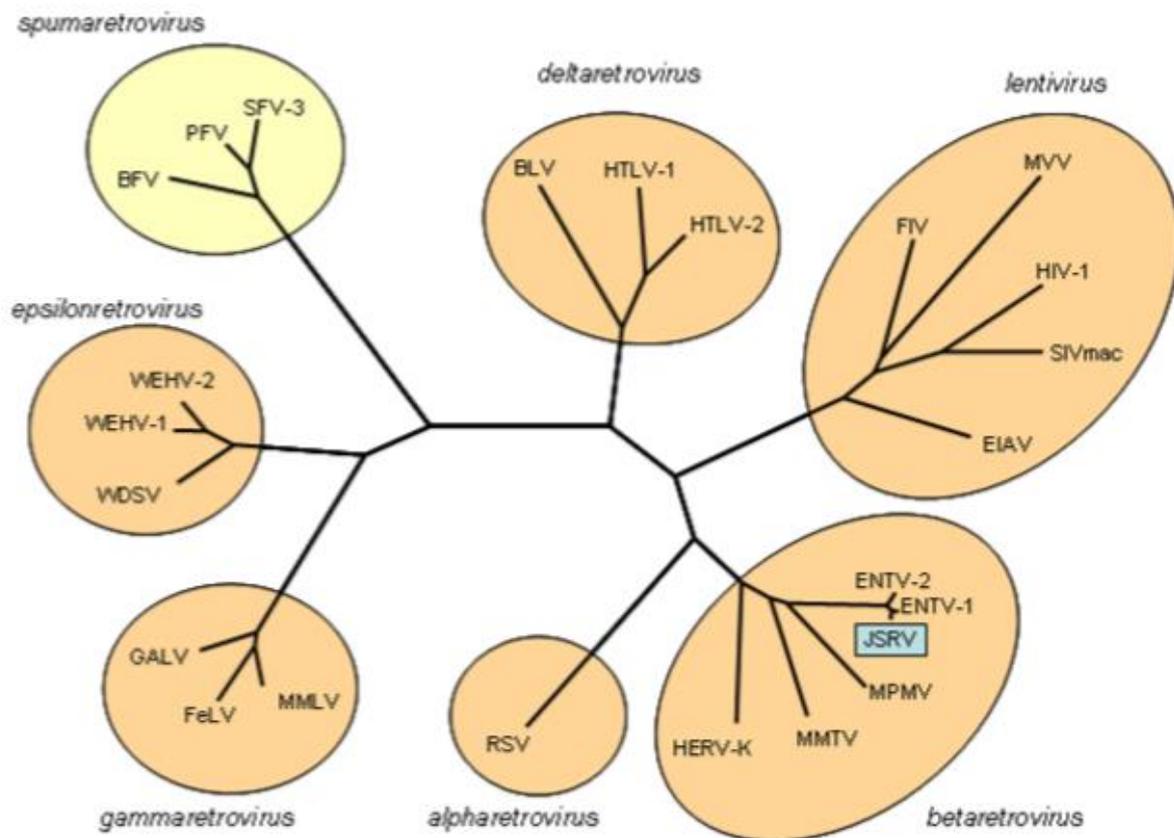


Fig. 11 : Classification des rétrovirus. Source : Griffiths (2009).

Le tableau 4 présente les principales espèces connues à ce jour.

Sous-famille	Genre	Espèce
Orthoretrovirinae	<i>Alpharetrovirus</i>	<i>Avian carcinoma Mill Hill virus 2</i>
		<i>Avian leukosis virus</i>
		<i>Avian myeloblastosis virus</i>
		<i>Avian myelocytomatosis virus 29</i>
		<i>Avian sarcoma virus CT10</i>
		<i>Fujinami sarcoma virus</i>
		<i>Rous sarcoma virus</i>
		<i>UR2 sarcoma virus</i>
		<i>Y73 sarcoma virus</i>
	<i>Betaretrovirus</i>	<i>Jaagsiekte sheep retrovirus</i>
		<i>Langur virus</i>
		<i>Mason-Pfizer monkey virus</i>
		<i>Mouse mammary tumor virus</i>
		<i>Squirrel monkey retrovirus</i>
	<i>Deltaretrovirus</i>	<i>Bovine leukemia virus</i>
		<i>Primate T-lymphotropic virus 1</i>
		<i>Primate T-lymphotropic virus 2</i>
		<i>Primate T-lymphotropic virus 3</i>
	<i>Epsilonretrovirus</i>	<i>Walleye dermal sarcoma virus</i>
		<i>Walleye epidermal hyperplasia virus 1</i>
		<i>Walleye epidermal hyperplasia virus 2</i>

<i>Gammaretrovirus</i>	<i>Chick syncytial virus</i>
	<i>Feline leukemia virus</i>
	<i>Finkel-Biskis-Jinkins murine sarcoma virus</i>
	<i>Gardner-Arnstein feline sarcoma virus</i>
	<i>Gibbon ape leukemia virus</i>
	<i>Guinea pig type-C oncovirus</i>
	<i>Hardy-Zuckerman feline sarcoma virus</i>
	<i>Harvey murine sarcoma virus</i>
	<i>Kirsten murine sarcoma virus</i>
	<i>Moloney murine sarcoma virus</i>
	<i>Murine leukemia virus</i>
	<i>Porcine type-C oncovirus</i>
	<i>Reticuloendotheliosis virus</i>
	<i>Snyder-Theilen feline sarcoma virus</i>
	<i>Trager duck spleen necrosis virus</i>
	<i>Viper retrovirus</i>
	<i>Woolly monkey sarcoma virus</i>
<i>Lentivirus</i>	<i>Bovine immunodeficiency virus</i>
	<i>Caprine arthritis encephalitis virus</i>
	<i>Equine infectious anemia virus</i>
	<i>Feline immunodeficiency virus</i>
	<i>Human immunodeficiency virus 1</i>
	<i>Human immunodeficiency virus 2</i>

		<i>Puma lentivirus</i>
		<i>Simian immunodeficiency virus</i>
		<i>Visna/maedi virus</i>
Spumaretrovirinae	<i>Spumaretrovirus</i>	<i>African green monkey simian foamy virus</i>
		<i>Bovine foamy virus</i>
		<i>Equine foamy virus</i>
		<i>Feline foamy virus</i>
		<i>Macaque simian foamy virus</i>
		<i>Simian foamy virus</i>

Tabl. 3 : Classification des rétrovirus d'après l'ICTV.
En gras les espèces sur lesquelles nous allons revenir dans cette thèse. Source : ICTV (2013).

C. Cycle de réplication

La multiplication des rétrovirus (figure 12) passe obligatoirement par une étape de transcription inverse : l'ARN brin (+) est copié par la transcriptase inverse en ADN brin (-). L'hétéroduplexe ARN-ADN ainsi formé est ensuite clivé par la RNase H afin de permettre la copie du second brin ADN.

Cette forme de génome en ADN double brin est appelée le provirus.

Ce dernier est inséré dans l'ADN de la cellule hôte grâce à l'intégrase. A ce stade, au niveau moléculaire, le provirus est exactement comme un gène cellulaire normal et il sera copié comme tel.

L'ARN génomique brin (+) est transcrit, à partir de ce provirus intégré, par l'ARN polymérase II de l'hôte. Tout comme un ARNm cellulaire il est ensuite coiffé et polyadénylé. Il code pour les polyprotéines Gag et Pol, mais sera aussi épissé par des enzymes nucléaires de l'hôte pour donner les ARNm d'autres protéines virales, telles que Env.

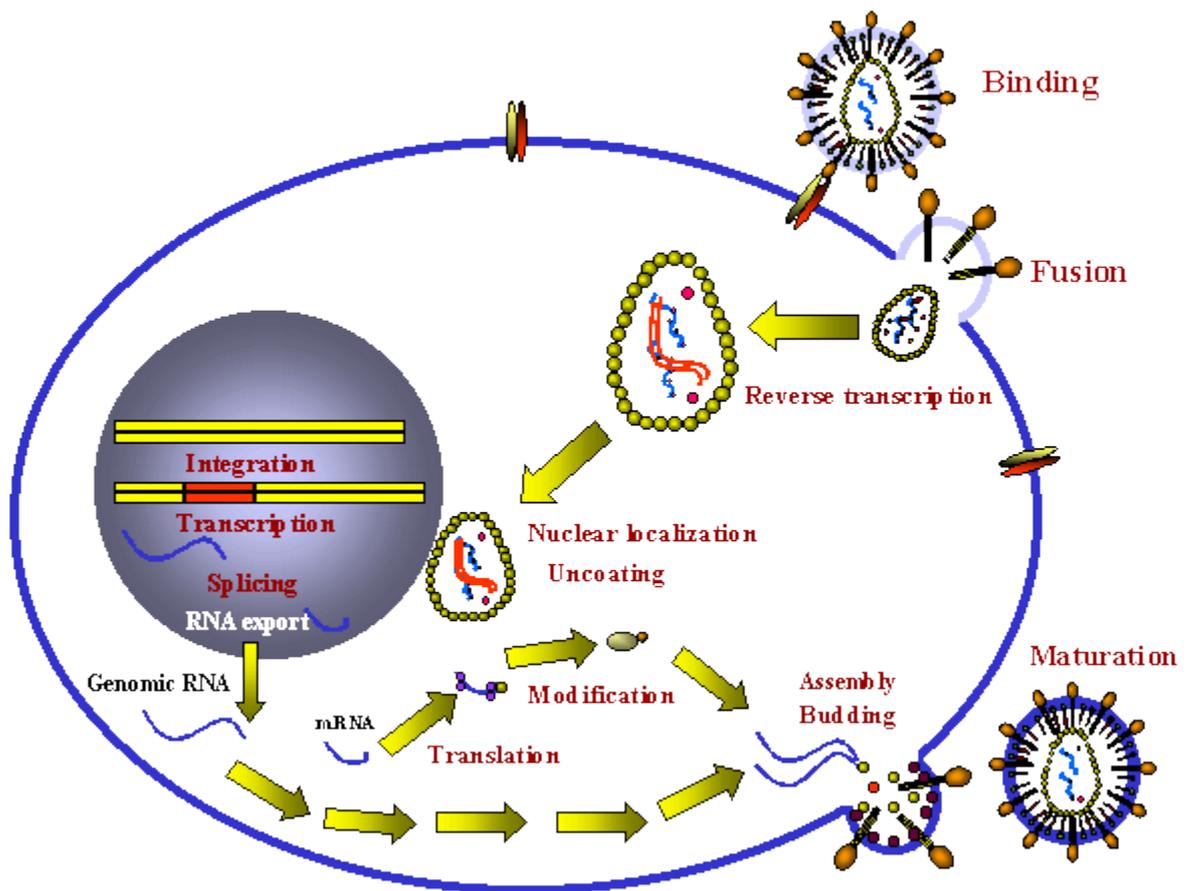


Fig. 12 : Etapes de l'infection productive d'une cellule par un rétrovirus. *Source : Hunt et McIlroy (2014).*

Ainsi le cycle répliatif des rétrovirus est particulièrement propice à l'émergence de tumeurs. Tout d'abord car la production de nouvelles particules virales n'aboutit généralement pas à la mort directe des cellules infectées (ces virus sont peu cytolytiques). D'autre part car l'intégration systématique du génome viral dans celui de la cellule hôte, en plus d'assurer la persistance du virus, peut être une source importante d'altérations génétiques.

II. EXEMPLE D'UN RETROVIRUS CIS-ACTIVATEUR

A. Le FeLV et la leucose féline

Le virus leucémogène félin (FeLV) est un rétrovirus appartenant à la sous-famille des *Orthoretrovirinae* et au genre *Gammaretrovirus*. Il a été isolé pour la première fois par Jarrett et son équipe en 1964 chez un individu vivant au sein d'une communauté de chats dont plusieurs (dont le sujet) avaient développé un lymphosarcome. C'est un virus exogène contagieux, de répartition mondiale et particulièrement endémique dans les collectivités de chats. Sa prévalence varie en fonction de la zone géographique, du mode de vie des chats, de leur état de santé et de la densité de population. En 1981, Harvey estimait que 2% des chats de compagnie des Etats-Unis étaient infectés par le FeLV ; la majorité étant asymptomatique [Hartmann et al, 2012].

Les moyens diagnostiques reposent principalement sur la détection d'un antigène, la protéine de capsid p27 (retrouvé dans les différents sous-groupes du FeLV sur lesquels nous reviendrons par la suite) ou sur la détection du virus par RT-PCR (détection de l'ARN) ou PCR (détection du provirus).

Le virus est présent dans les sécrétions orales et respiratoires ainsi que dans l'urine et les fèces. Les animaux excréteurs sont les virémiques persistants et transitoires. La contamination se fait donc le plus souvent, par contact de type léchage ou partage de gamelles mais également par morsure, griffure, accouplement, allaitement, transfusion sanguine et in utero.

Lors d'infection par le FeLV, la réponse varie d'un animal à l'autre. Rarement, certains chats développent une réponse immunitaire adéquate et l'éliminent complètement sans aucun signe clinique (infection abortive). D'autres sont virémiques durant une période variable mais restent asymptomatiques (infection régressive). Enfin, les animaux dont la réponse immunitaire est insuffisante restent infectés de manière persistante et vont développer l'une des formes de la maladie

(30% des chats exposés au FeLV) (infection progressive). Environ 80 % des animaux déclarés virémiques persistants vont décéder dans les 18 à 36 mois.

Les signes cliniques varient en fonction des différentes formes de la maladie et sont liés à la nature, l'étendue et la localisation des lésions. Deux formes majeures sont retrouvées [Mulot, 2008] :

- la forme néoplasique qui concerne environ 20 % des animaux infectés permanents. La tumeur maligne le plus souvent associée à l'infection par le FeLV est le lymphome ; avec trois types cliniques décrits chez les chats FeLV positif : thymique, alimentaire ou multicentrique [Bolin, 2011].
- la forme non néoplasique peut se manifester par un désordre du système reproducteur, une glomérulonéphrite, des anémies, des thrombopénies ou leucopénies ou encore par une immunodépression favorisant l'émergence de maladies opportunistes. Ces infections sont virales (PIF, typhus, poxviroses), bactériennes (stomatites, gingivites chroniques, hémobartonellose), mycosiques (cryptococcose) ou parasitaires (toxoplasmose).

B. Caractéristiques du virus

Le FeLV est un rétrovirus classique caractérisé par un haut degré de diversité. Il est compétent : il possède tous les gènes nécessaires à sa réplication (figure 13).

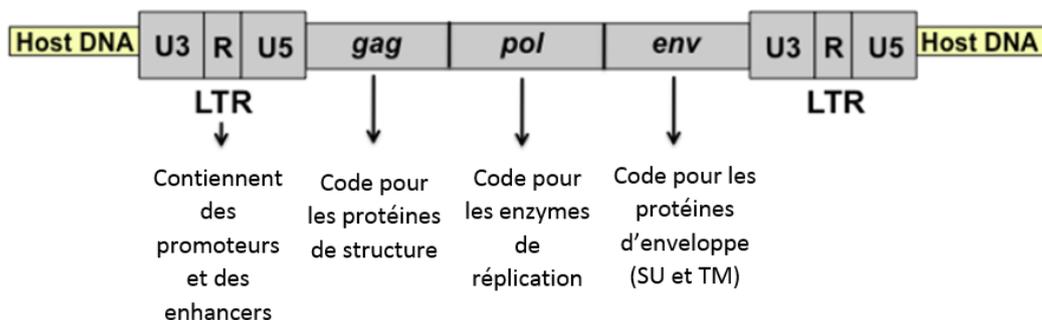


Fig. 13 : Représentation de l'ADN proviral de FeLV après intégration au génome de la cellule hôte.
Source : Bolin (2011).

Ce virus est représenté par quatre sous-groupes – A, B, C et T – fondés sur des différences dans les protéines d'enveloppe et impliquant de ce fait des récepteurs différents pour permettre leur entrée dans la cellule hôte [Pfister, 2010].

Le FeLV-A est majoritaire, il est retrouvé chez tous les chats infectés naturellement par la leucose féline. Il est faiblement pathogène et il ne se réplique que sur des cellules félines. Dans les conditions naturelles, il assure la transmission entre chats (par voie horizontale), l'induction de la virémie et l'infection latente. Il peut entraîner le développement de maladies néoplasiques telles que des lymphomes thymiques des cellules T (tumeurs les plus fréquemment observées lors d'infection par le FeLV et responsables de 20% des décès dus à ce virus). Le FeLV-A est responsable à lui seul, de 50% des cas de virémie persistante. Dans le reste des cas de virémie persistante, une association FeLV-A FeLV-B est retrouvée dans 49% des cas et pour le 1% restant il s'agit soit du sous-groupe A avec le C soit d'une association des trois (A, B, C) [Cheng, 2007].

Le FeLV-B est isolé chez environ 50 % des animaux atteints ; in vivo, il n'est retrouvé qu'en présence du FeLV-A car seul, il ne peut être transmis horizontalement. Il proviendrait d'une recombinaison entre le FeLV-A et le FeLV endogène (enFeLV) qui augmenterait son pouvoir pathogène ainsi que la fréquence des lymphomes.

Le FeLV-C est responsable, chez l'adulte, d'une hypoplasie voire aplasie de la moelle osseuse suite à une infection des précurseurs de la lignée érythrocytaire. Chez le chaton il provoque des anémies fatales. Il serait apparu après mutation du gène *env* du FeLV-A et est toujours associé au FeLV-A (avec parfois le FeLV-B).

Le FeLV-T doit son nom à un tropisme préférentiel pour les lymphocytes T. Certaines études suggèrent que les cellules infectées par un autre sous-groupe du FeLV deviennent des cibles préférentielles pour le FeLV-T. Il présente la particularité suivante : pour entrer dans une cellule il a besoin d'un récepteur spécifique (FePit1), associé obligatoirement à un cofacteur soluble codé par une séquence endogène du FeLV (FeLIX : FeLV infectivity X-essory protein) [Cheng, 2007].

C'est la capacité du FeLV à induire des tumeurs (lymphomes, leucémies, fibrosarcomes, ostéochondromes...) qui justifie sa présence dans cette partie. Ces-

dernières apparaissent après un délai important et le taux de tumorigénèse est faible (moins de 10% des chats infectés). Les mécanismes par lesquels le FeLV induit le développement de tumeurs sont connus et vont maintenant être développés.

C. Mécanismes de l'oncogénèse par le FeLV

1. Un rétrovirus oncogène mais non transformant

Comme décrit précédemment, l'infection in vivo par le FeLV entraîne le développement de tumeurs, dans un faible nombre de cas et après un laps de temps assez long. En culture par contre, ce virus n'induit pas de transformation [Maréchal et Piolot, 1999]. L'infection est ainsi nécessaire mais non suffisante pour l'oncogénèse.

L'analyse de l'intégration de son génome a révélé que le site était aléatoire dans les cellules infectées mais non tumorales alors qu'il était identique dans toutes les cellules tumorales. La tumeur est dite clonale, c'est-à-dire issue d'une même cellule.

Le mécanisme d'oncogène du FeLV fait intervenir au moins trois éléments : ses LTR (Long Terminal Repeat : séquence terminale longue répétée), sa glycoprotéine de surface SU et des oncogènes cellulaires.

2. Oncogénèse par mutation activatrice

Le premier mécanisme par lequel le FeLV entraîne le développement de tumeurs est la mutation insertionnelle. C'est-à-dire que son génome est inséré dans le génome cellulaire à proximité d'un proto-oncogène qui va être activé par les séquences promotrices et amplificatrices des LTRs du provirus (sur lesquelles nous reviendrons par la suite).

Différents sites d'intégration du FeLV, liés à des lymphomes, ont été identifiés [Hartmann, 2012]. Le mieux connu est celui à proximité de *c-Myc* dont le produit est un promoteur essentiel de la croissance cellulaire. Mais il en existe de nombreux autres comme *bmi-1*, *fit-1* et *pim-1* (des collaborateurs de *myc*), *flvi-1* (qui semble lui

aussi associé à l'induction de lymphome d'un type particulier) [Levesque, 1990]. Une étude sur les altérations au niveau de ces différents sites d'intégration a été menée sur 63 lymphomes des cellules T chez des chats FeLV positifs [Bolin, 2011]. Elle a révélé que chaque locus pouvait contribuer indépendamment au développement d'une tumeur, leur collaboration n'étant pas indispensable. Il a également été relevé une association entre le site d'intégration et le type de lymphome développé (tableau 4).

Site d'intégration	Type de lymphome induit	Fonction du gène
<i>c-Myc</i>	Thymique	Contrôle de la prolifération et de la survie cellulaire
<i>flvi-2 = bmi-1</i>	Thymique	Contrôle du renouvellement et de la différenciation des cellules souches leucémiques
<i>pim-1</i>	Thymique	Signal de survie, sérine-thréonine kinase
<i>fit-1</i>	Thymique	Inconnu
<i>flvi-1</i>	Multicentrique	Inconnu

Tabl. 4 : Présentation des principaux sites d'intégration du FeLV. Source : Bolin (2011).

3. Exemple : activation de *c-myc*

D'abord identifié comme l'homologue cellulaire de l'oncogène du rétrovirus de la myélocytomatose aviaire, *c-myc* a ensuite été classé définitivement parmi les oncogènes du fait de son implication dans le lymphome de Burkitt [Lacave et al, 2005].

Ce facteur de transcription intervient dans la régulation de nombreuses activités biologiques : la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose... (figure 14).

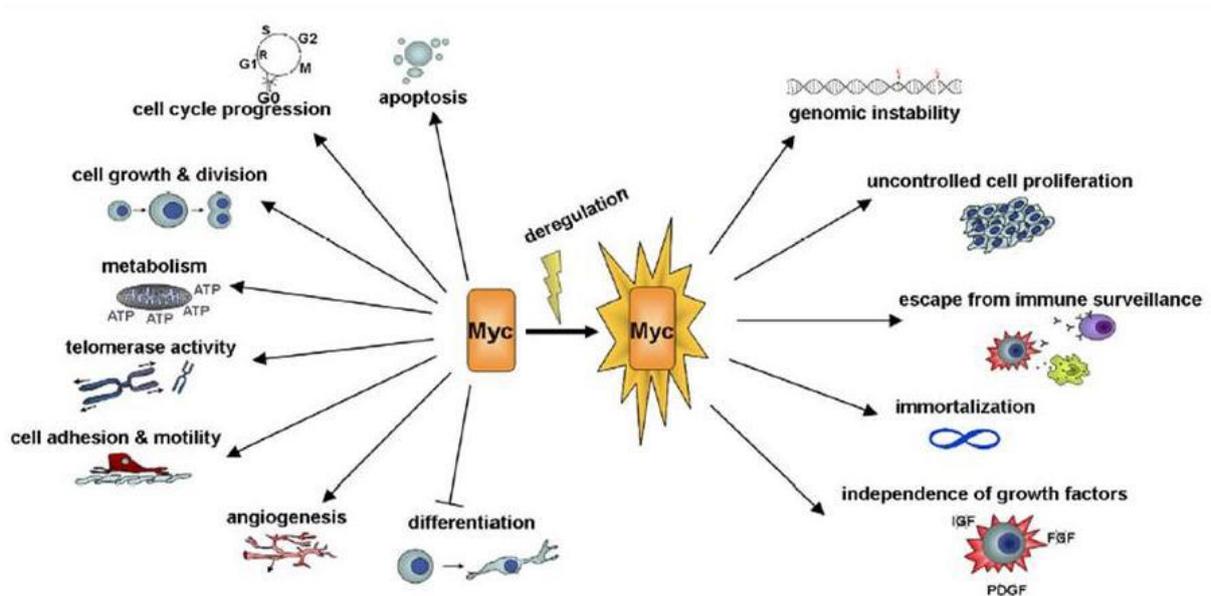


Fig. 14 : Processus cellulaires contrôlés par *c-Myc* dans des conditions normales et lors de la tumorigénèse. Source : Durand (2009).

Dans le cas du FeLV, la dérégulation de *c-myc* est liée à une modification du locus du gène et plus précisément à une insertion activatrice. Elle peut aussi se faire par la dérégulation en amont de différentes voies de signalisation telles que celles des MAPKs et de PI3K, ou encore via les facteurs E2F [Durand, 2009].

L'ensemble des mécanismes par lesquels *c-Myc* intervient ne seront pas expliqués en détails. Sur le plan fonctionnel, cette protéine agit en formant un hétérodimère (avec Max) qui va se lier à une séquence spécifique localisée dans les régions régulatrices des gènes cibles [Lacave et al, 2005].

Ce facteur de transcription peut participer de plusieurs manières à la transformation des cellules.

Tout d'abord, *c-myc* peut stimuler la prolifération cellulaire. Il faut noter que *c-myc* est peu ou pas exprimé dans les cellules quiescentes : son expression est corrélée avec le potentiel réplicatif des cellules [Durand, 2009]. Pour stimuler la prolifération, *c-myc* cible des gènes dont les produits interviennent au niveau des différents points de contrôle du cycle cellulaire (activation de la formation des complexes cyclines/Cdk, répression de gènes de la régulation négative du cycle comme INK4b, KIP1, CIP...) [Lacave et al, 2005].

La protéine c-myc peut également intervenir sur l'apoptose via différents mécanismes : ceux impliquant l'anti oncogène *p53*, la voie mitochondriale (avec Bcl-2 ou Bax par exemple) ou les mécanismes mettant en jeu les récepteurs de la famille du TNF (« les récepteurs de mort ») [Durand, 2009].

De plus, les expériences in vitro ont permis de montrer que c-myc pouvait agir sur la télomérase afin d'offrir aux cellules un potentiel répliatif illimité (le rôle des télomères dans l'immortalisation sera abordé plus en détails dans la partie 3) [Lacave et al, 2005].

L'angiogénèse est un processus indispensable à la tumorigénèse. Or il a été prouvé que c-myc réprimait l'expression de la thrombospondine-1 (un inhibiteur de l'angiogénèse) [Durand, 2009].

Pour finir, c-myc peut participer à l'acquisition du pouvoir invasif des cellules transformées en diminuant l'expression de gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et de protéines relatives au cytosquelette [Durand, 2009].

Ainsi *c-myc* est un puissant oncogène et est une des cibles du FeLV. Le délai d'apparition assez long et la faible incidence des tumeurs induites par le FeLV s'expliquent par le fait que l'événement oncogénique initiateur est rare. En effet il faut que le provirus soit placé à proximité d'un proto-oncogène cellulaire afin d'entraîner sa surexpression. Il a été également rapporté, dans certains cas, une inactivation de suppresseurs de tumeur [Maréchal et Piolot, 1999].

4. Rôle des LTRs et de SU

i. Description des LTRs du FeLV

Chaque LTR est composée d'une région U3 (*Unique 3'*: contient les séquences promotrices-amplificatrices qui contrôlent la transcription de l'ARN), d'une région R (*Repeat* : entre U3 et U5, portant les limites de l'initiation de la transcription de l'ARN, et de la polyadénylation), ainsi que d'une région U5 (*Unique 5'*) [Banski, 2006]. Il faut savoir que chez les rétrovirus, l'expression des gènes est sous l'influence des LTRs et plus particulièrement de la région U3 qui contient le promoteur de transcription associé à des séquences amplificatrices (enhancer) [Bolin, 2011]. Ces séquences peuvent également agir sur les gènes cellulaires situés à proximité du site

d'intégration du provirus. Ceci joue un rôle majeur dans le processus tumoral lorsqu'il s'agit d'oncogènes cellulaires.

Il faut noter que le FeLV est génétiquement très proche des MuLVs (Murine leukemia viruses : virus leucémogènes murins). Une séquence amplificatrice basique de ces virus leucémogènes murins et félins contient une succession de sites de liaison aux facteurs de transcription [Prabhu, 1999 ; Pantginis, 1997] :

- Un motif central hautement conservé au sein de rétrovirus de type C des mammifères :
 - o Le core ou cœur : qui fixe le facteur de transcription CBF (pour « Core binding factor » aussi appelé PEBP2 pour « polyomavirus enhancer binding protein 2 »), facteur de transcription hétérodimérique qui intervient au cours de la différenciation hématopoïétique [Poirel, 2000]
 - o Le LVb qui fixe des protéines de la famille Ets (famille de facteurs de transcription qui jouent un rôle dans l'hématopoïèse, l'angiogénèse, la vasculogénèse et dans les mécanismes de prolifération, de différenciation et de survie cellulaires [Zaldumbide, 2001]
 - o Le site de liaison au facteur nucléaire 1 (NF-1)
 - o Des récepteurs aux glucocorticoïdes
- Des sites variables en fonction du sous-groupe de virus influençant la pathogénicité

Les études réalisées sur les MuLVs ont permis de mettre en évidence l'importance de ces séquences amplificatrices qui se révèlent être un déterminant génétique majeur du potentiel tumoral de ces virus. La présence de ces mêmes séquences au sein des LTRs du FeLV suggère qu'elles jouent un rôle important dans le développement de lymphome chez le chat infecté. Ceci a été vérifié par l'utilisation de virus recombinants [Pantginis, 1997].

ii. Rôles des LTRs dans la lymphomagenèse

Il a donc été montré :

- que les LTRs affectaient de nombreuses étapes de la lymphomagenèse dont l'infection des cellules cibles, la propagation de virus recombinants et l'activation d'oncogènes cellulaires

- que la duplication d'une séquence amplificatrice augmentait l'efficacité de la transformation maligne
- que ces mêmes séquences enhancer étaient adaptées pour être reconnues par les facteurs de transcription présents dans les cellules cibles de l'hôte.

Au vue de la grande variabilité de pathologies induites par le FeLV, des études plus précises des structures des LTRs ont été réalisées (figure 15).

Le FeLV classiquement isolé dans la nature chez les chats asymptomatiques et se transmettant par voie horizontale (FeLV-A faiblement pathogène) possède des LTRs qui ne contiennent qu'une seule copie de la séquence amplificatrice. D'un autre côté, les LTRs des provirus de FeLV clonés à partir de lymphomes thymiques portent des amplificateurs répétés en tandem (2 ou 3 copies). La séquence répétée varie d'un isolat à l'autre et confère une longueur supplémentaire de 39 à 77 paires de bases ainsi qu'un petit avantage répliatif [Bolin, 2011].

Les FeLVs isolés à partir de lymphomes multicentriques chez une dizaine de chats (nommés FeLV-945) possèdent une structure bien particulière. Leurs LTRs ne contiennent qu'une seule copie de l'amplificateur mais celle-ci est associée à un élément de 21 paires de bases répété trois fois dont la position et la séquence sont fortement conservées [Prabhu, 1999]. Deux mécanismes peuvent être proposés afin d'expliquer le rôle de cette triplette : maintien de l'espace adéquat entre l'amplificateur et le promoteur ; rôle d'amplificateur authentique. Les études favorisent la seconde proposition et cette fonction s'exercerait préférentiellement sur les cellules souches hématopoïétiques [Prabhu, 1999]. Le LTR du FeLV-945 semble également lui conférer un avantage répliatif qui expliquerait son haut degré de conservation.

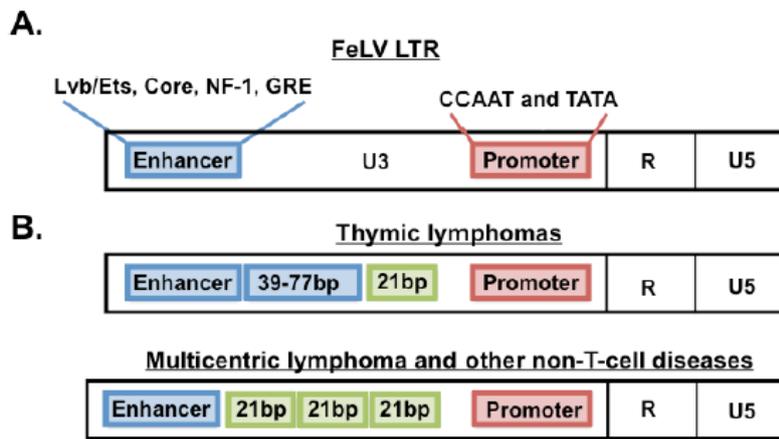


Fig. 15 : Structure des séquences LTR de différents variants du FeLV.
 (A) Structure généralement observée chez les chats FeLV positifs asymptomatiques. (B) Différents structures observées lors de FeLV clinique. *Source : Bolin (2011).*

En 2009, Forman et son équipe [Forman et al, 2009] ont utilisé des techniques de clonage pour mettre en évidence la production, par les cellules des lignées infectées par le virus, de petits ARN non codants spécifiques du LTR. Ils semblent contribuer à la pathogénèse des virus leucémogènes par un mécanisme alternatif : l'activation des gènes de la transcription et la stimulation chronique de la voie NFκB.

iii. La glycoprotéine de surface du FeLV

Un autre élément important pour le virus est sa glycoprotéine de surface SU. Celle-ci comporte un domaine de liaison au récepteur (RBD pour « receptor binding domain ») indispensable aux interactions lors de l'entrée dans la cellule cible. Il est constitué de trois éléments fonctionnels : les régions variables A et B (VRA pour la liaison au récepteur et VRB pour une infection efficace) et la région riche en proline (PRR qui permet les ajustements de conformation nécessaires à l'entrée du virus) [Bolin, 2011].

iv. Coopération des LTRs et de SU dans la lymphomagenèse

Des expériences ont été réalisées afin de déterminer les rôles respectifs des séquences LTR et SU du FeLV-945. Pour se faire, des virus recombinants ont été créés puis injectés à des chatons nouveau-nés (tableau 5) [Bolin, 2011].

Nom du FeLV	Constitution du virus	Pathologie induite	Latence
FeLV-945		Lymphome multicentrique	Brève
FeLV-A/61E		Lymphome thymique des cellules T	Longue
FeLV61E/945L	FeLV-A/61E avec LTR de FeLV-945	Lymphome thymique des cellules T	Brève
FeLV61E/945SL	FeLV-A/61E avec LTR et SU de FeLV-945	Lymphome multicentrique	Brève
FeLV61E/945S	FeLV-A/61E avec SU de FeLV-945	Lymphome thymique	Longue

Tabl. 5 : Résultats de l'expérience avec les virus FeLV recombinants. *Source : Bolin (2011).*

Les premiers résultats ont permis de supposer que le LTR détermine la cinétique d'apparition de la maladie alors que SU donne le spectre de la tumeur. La deuxième étape a permis de mettre en évidence la nécessité d'une coopération entre LTR et SU pour rediriger le phénotype tumoral.

Cette équipe a par la suite étudié plus en détail la conformation des glycoprotéines de surface des FeLV-945 et FeLV-A/61E. La seule différence se trouve au niveau d'une grande boucle de la région variable A. Différentes substitutions, au sein de SU, ont alors été testées : un unique résidu valine en position 186 dans le FeLV-945 lui accorderait une affinité plus importante pour son récepteur (dans le FeLV-A/61E c'est une isoleucine). En effet la chaîne latérale de la valine est moins volumineuse ce qui influence le positionnement d'un autre résidu (la glutamine 110) qui ne dépasse alors plus de l'extrémité de la chaîne d'où un élargissement de la fente de liaison (figure 16).

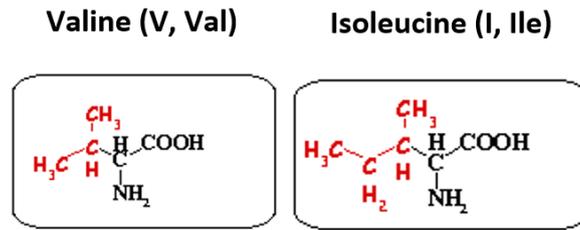


Fig. 16 : Structures de deux acides aminés. *Source : Jaspard (2005).*

Ainsi le remplacement de l'isoleucine par une valine dans les FeLVs responsables de lymphomes multicentriques permet d'augmenter l'interaction du domaine de fixation au récepteur (VRA) avec sa cible.

5. Récapitulatif sur l'oncogenèse induite par le FeLV

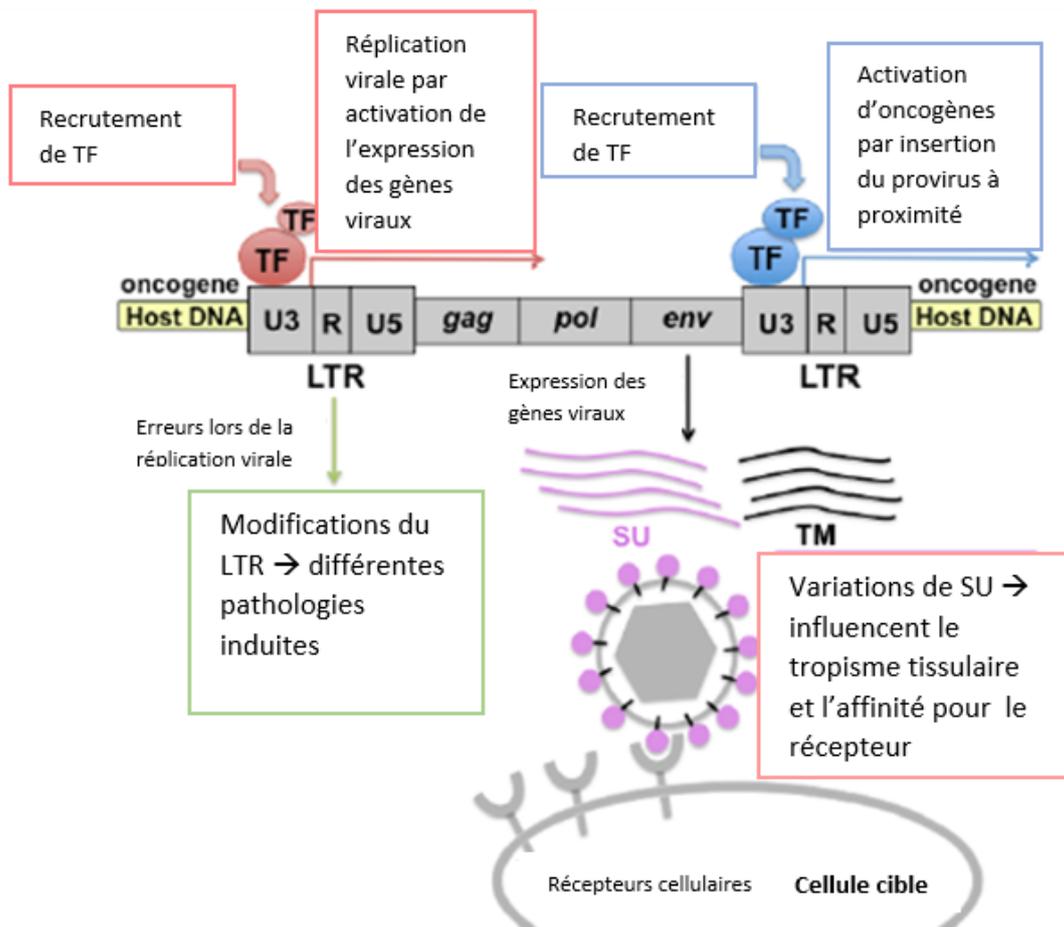


Fig. 17 : Schéma bilan représentant les déterminants de la pathogenèse du FeLV. *Source : Bolin (2011).*

Ainsi le virus leucémogène félin est à l'origine de différents types tumeurs induites par l'activation d'oncogènes cellulaires. Cette activation de la transcription

est réalisée par le biais des séquences amplificatrices des LTRs du provirus. La grande variabilité de pathologies retrouvées lors d'infection par le FeLV est directement liée à la variabilité génétique au sein de cette famille avec notamment un rôle majeur des glycoprotéines de surface dans la détermination du tropisme tissulaire.

Ce mécanisme d'activation de l'oncogénèse, appelé insertion activatrice, est impliqué dans de nombreuses tumeurs provoquées par des rétrovirus « lents » (également dits « à faible pouvoir transformant » ou « cis-activateurs »). Ce type de rétrovirus est plus courant chez les souris et les oiseaux.

III. EXEMPLE D'UN RETROVIRUS TRANSDUCTEUR

L'exemple choisi ici est celui du virus sarcomateux félin (FeSV). Par opposition au précédent, il appartient aux rétrovirus à fort potentiel transformant qui vont être décrits dans cette partie ainsi que les mécanismes par lesquels ils sont responsables du développement de tumeurs.

A. Les virus sarcomateux

Les premiers ont été isolés en 1911 : le virus du sarcome de Rous (RSV, « Rous sarcoma virus ») et le virus sarcomateux aviaire (ASV, «avian sarcoma virus »). Il faut attendre les années 60 pour les mettre en évidence chez les mammifères et sont, à ce jour, présents chez de nombreuses espèces : oiseaux, souris, rats, chats et quelques primates. Ces rétrovirus oncogènes sont dits à fort potentiel transformant car ils sont capables d'entraîner le développement de tumeur chez 100% des animaux infectés dans un court laps de temps. Ils sont retrouvés chez les alpha- et les gamma-rétrovirus et comptent entre autres les virus des fibrosarcomes félin (FeSVs).

B. Les virus sarcomateux félines

Ceux sont des gamma-rétrovirus isolés à partir de fibrosarcomes chez des jeunes chats. Ils sont issus d'une recombinaison entre les gènes du FeLV et certains gènes cellulaires de l'hôte : une partie du génome est remplacée par un oncogène cellulaire.

Au total, sept souches de FeSV auraient été identifiées comme générant le développement de sarcomes chez des chatons [Hardy, 1981]. Parmi elles, seules trois sont présentées sur le site de l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) : Snyder-Theilen FeSV (ST), Gardner-Arnstein FeSV (GA) et Hardy-Zuckerman FeSV (HZ).

Afin de préciser le pouvoir pathogène du FeSV, 204 chatons ont été inoculés avec une des souches de ce virus. Dans 73% des cas (149 chatons), une tumeur s'est développée en 2 à 3 semaines et la majorité contenait des particules virales du type du FeSV [Hardy, 1981]. Par la suite, une étude a été menée sur 61 chats ayant développé naturellement un fibrosarcome afin de déterminer l'implication du virus sarcomateux félin (tableau 6).

Fibrosarcomes	61	Multicentriques	23	≤ 5 ans	19	FeLV-FeSV +	19
				> 5 ans	4	FeLV-FeSV +	1
						FeLV-FeSV -	3
Solitaires	38			≤ 5 ans	4	FeLV-FeSV -	4
				> 5 ans	34	FeLV-FeSV -	34

Tabl. 6 : Résultats de l'expérience : implication du FeSV dans les fibrosarcomes félines. *Source : Hardy (1981).*

Ainsi les fibrosarcomes viro-induits représentent la totalité des fibrosarcomes multicentriques développés par des jeunes chats (< 5 ans). Cependant, il faut savoir qu'en moyenne, seuls 4,5% des tumeurs félines sont des fibrosarcomes. Le sarcome cutané félin à cellules fusiformes représente 12 à 41% des tumeurs cutanées félines avec en chef de file le complexe du fibrosarcome félin. Parmi eux, les fibrosarcomes

viro-induits (2% des fibrosarcomes chez le chat) sont plus rares que les formes solitaires [Herbet, 2001].

Il n'existe aucune preuve de contagiosité du FeSV. L'hypothèse la plus probable étant qu'ils apparaissent par recombinaison chez des chats infectés par le FeLV, chacun serait propre à l'individu infecté et ne pourrait pas se transmettre naturellement à d'autres chats. Ainsi la production d'un virus sarcomateux hautement virulent serait une conséquence inattendue de l'infection par le FeLV.

Le FeSV semble capable de transformer toutes les cellules en culture (y compris les cellules humaines) il doit donc rester considéré comme un danger potentiel et les animaux de compagnie porteurs ne doivent pas être conservés.

C. Mécanisme de l'oncogenèse

Comme indiqué précédemment, presque 100% des animaux infectés par un rétrovirus à fort potentiel transformant, développent une tumeur après une courte période d'incubation. C'est pourquoi ils sont également appelés virus oncogènes rapides.

Ils s'intègrent dans le génome de la cellule hôte mais de manière aléatoire : les tumeurs sont toujours polyclonales [Maréchal et Piolot, 1999]. Ainsi, le site d'intégration n'est pas, comme pour les rétrovirus cis-activateurs, un déterminant des pouvoirs tumorigène ou transformant.

Ces virus sarcomateux se caractérisent par la présence, au sein de leur matériel génétique, d'un oncogène viral (*v-*onc**). Le premier, l'oncogène *src*, a été identifié dans le virus du sarcome de Rous, découverte récompensée par le prix Nobel de Médecine de 1966. Par la suite, en 1970, Bishop et Vamus prouvent l'origine cellulaire des oncogènes rétroviraux (prix Nobel 1989).

Des délétions ou des mutations de ces séquences n'ont aucune influence sur la réplication du virus mais annihilent totalement sa capacité à induire le développement de tumeurs [Hunt et McIlroy, 2013]. Ainsi le *v-*onc** confère au virus la capacité de transformer les cellules mais n'intervient pas dans la réplication. Le virus est alors lui-même facteur d'oncogenèse.

A ce jour, une quarantaine d'oncogènes ont été identifiés grâce aux études sur les rétrovirus transducteurs [Hunt et McIlroy, 2013] (tableau 7). Dans de nombreux cas, un même oncogène est retrouvé dans plusieurs virus isolés dans des espèces différentes.

Oncogène	Virus	Espèce	Protéine oncogène
abl	Abelson leukemia virus	souris	p120 ^{gag-abl}
fes	Gardner-Arnstein FeSV	chat	p110 ^{gag-fes}
fgr	Gardner-Rasheed FeSV	chat	p70 ^{gag-fgr}
fms	MacDonough FeSV	chat	p180 ^{gag-fms}
kit	Hardy-Zuckerman 4 FeSV	chat	p80 ^{gag-kit}
src	Rous sarcoma virus	poulet	p60 ^{src}
mos	Moloney sarcoma virus	souris	p37 ^{env-mos}

Tabl. 7 : Quelques oncogènes des rétrovirus. *Source : Cooper (1995).*

Le schéma qui suit (figure 18) synthétise le mécanisme par lequel les rétrovirus capturent et modifient accidentellement un proto-oncogène cellulaire au cours de leur cycle répliatif.

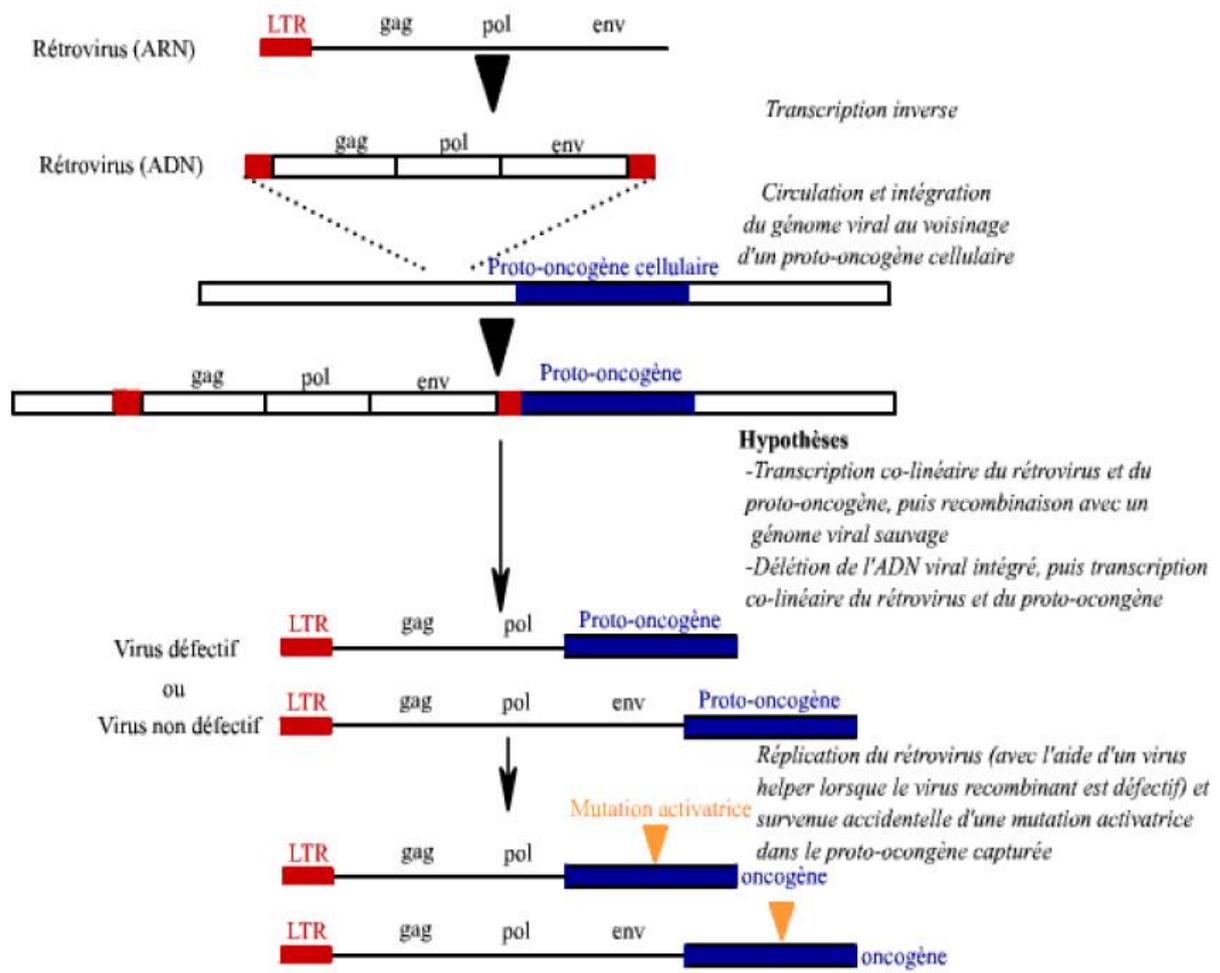


Fig. 18 : Fonctionnement des rétrovirus à fort potentiel oncogène. Source : Maréchal (1999).

Les FeSVs, comme la plupart des rétrovirus transducteurs, sont déficients pour la réplication car l'oncogène cellulaire qui a été intégré remplace, au moins en partie un ou plusieurs gènes de réplication virale (figure 19).



Fig. 19 : Représentation schématique du génome du FeSV. Source : Hunt et McIlroy (2013).

Ils ont donc besoin d'un « virus helper » ou virus auxiliaire dont les gènes gag, pol et env sont fonctionnels, pour se propager. Ainsi les FeSVs sont systématiquement retrouvés en présence du FeLV-A [Doliger et Devauchelle, 1998]. Le virus du sarcome de Rous constitue une exception dans la famille car l'incorporation de l'oncogène src n'a pas perturbé les gènes de la réplication [Hunt et McIlroy, 2013].

Cette partie a présenté les rétrovirus à fort potentiel transformant : ceux qui portent un oncogène viral au sein de leur génome. Ils sont capables d'entraîner le développement rapide de tumeurs chez un grand nombre de mammifères domestiques infectés.

IV. BLV : UN RETROVIRUS TRANSACTIVATEUR

Le « Bovine Leukemia virus » (BLV) et le « Human T-cell Lymphotropic virus » (HTLV) appartiennent à la famille des *Retroviridae* et au genre *Deltaretrovirus* (comportant aussi le STLV pour « Simian T-cell Lymphotropic virus »). Comme nous allons le voir par la suite, ces deux rétrovirus sont très proches que ce soit au niveau de leur pathogénèse, de leur structure génomique ou encore par les interactions qu'ils établissent avec le système immunitaire de l'hôte.

A. Deux deltarétrovirus leucémogènes

Ils sont tous deux à l'origine de maladies lymphoprolifératives chroniques (lymphome B pour BLV et T pour HTLV-1). Les pathologies liées à ces deux infections sont très ressemblantes avec une absence de virémie chronique et une longue période de latence. Toutes ces similitudes, font de BLV un excellent modèle d'étude pour HTLV-1, seul rétrovirus dont le pouvoir oncogène a été démontré chez l'Homme [Maréchal et Piolot, 1999].

Voici tout d'abord quelques données sur HTLV-1 [Institut Pasteur, 2012]. Ce virus, isolé en 1980 par l'équipe de Robert Gallo, a été le premier pathogène associé à une leucémie identifiée. Il a de plus constitué la preuve irréfutable qu'une infection virale pouvait être responsable du développement d'un cancer. Cette infection concerne dix à vingt millions de personnes dans le monde, principalement au sud-ouest du Japon, dans les Caraïbes, en Amérique Latine et en Afrique tropicale. Ce rétrovirus est associé à deux maladies :

- La leucémie lymphoïde T de l'adulte (ATLL pour « Adult T-cell Leukemia/Lymphoma») qui est un cancer très agressif, d'évolution rapide (mort en moins d'un an généralement), résistant à la chimiothérapie.
- La paraparésie spastique tropicale ou neuromyélopathie associée à HTLV-1 (TSP/HAM) : maladie de l'adulte survenant vers 40–50 ans, caractérisée par une démyélinisation qui débute au niveau de la moelle épinière. Celle-ci provoque une modification de la motricité volontaire, de la coordination des mouvements et du tonus musculaire. Les autres manifestations cliniques (hypertension, rougeur au niveau de la figure et du thorax, incontinence urinaire, déficits sensitifs...) sont liées à une réponse exagérée du système parasymphatique à différents stimuli.

Le HTLV-1 peut se transmettre de trois manières différentes : de la mère à l'enfant lors d'allaitement prolongé, par voie sexuelle (préférentiellement dans le sens homme-femme) et enfin via des produits sanguins contaminés. L'individu infecté sera porteur du virus durant toute sa vie et dans la majorité des cas de manière asymptomatique. Cependant, après une longue période médicalement asymptomatique [Halin, 2009] :

- Environ 6,6% des hommes et 2,1% des femmes présenteront une ATLL
- Moins d'1% (plus souvent des femmes) développeront une paraparésie spastique.

D'autres souches de HTLV existent : HTLV-2, moléculairement très proche du précédent, découvert en 1982 chez un patient atteint de leucémie lymphohistiocytaire, mais pas encore clairement associé à cette maladie ; HTLV-3 et 4 dont les caractères pathogènes ou non ne sont pas encore connus.

Nous allons maintenant revenir sur le véritable objet de cette partie : le virus leucémogène bovin.

C'est en 1871 que le premier cas de leucémie bovine est rapporté avec l'observation de nodules jaunâtres sur une rate hypertrophiée de vache. Par la suite, deux types de leucémies bovines vont être mis en évidence [OIE, 2008]:

- La leucose bovine enzootique (LBE) qui est une maladie infectieuse, contagieuse propre aux bovins dont l'agent causal est le virus leucémogène bovin (BLV).
- La leucose bovine sporadique, terme réservé pour désigner les lymphomes thymiques ou cutanés chez des veaux ou bovins de moins de trois ans.

Elles doivent être suspectées chez des animaux présentant un affaiblissement associé ou non à une émaciation, une hypertrophie marquée de plusieurs nœuds lymphatiques, une anémie, des signes de gêne circulatoire ou de protrusion de l'œil (du fait d'une invasion de la cavité orbitale par la tumeur) [Rémy et al, 2009]. Ces deux types de leucose, différenciables par test ELISA, ont des tableaux cliniques similaires mais elles touchent des animaux d'âges différents.

Lors d'infection par la LBE, les bovins peuvent présenter trois stades successifs [Gillet et al, 2007] :

- Une phase asymptomatique, considérée comme une phase de latence qui peut persister toute la vie de l'animal. La présence d'anticorps dirigés contre les protéines virales est alors une des seules manifestations de l'infection.
- Une lymphocytose persistante, qui touche environ un tiers des animaux infectés et qui se traduit par une augmentation du nombre de lymphocytes B circulants (40 à 90% des lymphocytes sont alors des lymphocytes B contre 15 à 20% chez un animal sain). Celle-ci peut s'accroître et atteindre des valeurs très élevées ou se stabiliser pendant de longues périodes, voir disparaître soudainement. Elle est considérée comme une forme bénigne de leucémie.
- Une forme tumorale qui se développe chez moins de 5% des bovins infectés et généralement chez les adultes (5 – 8 ans). C'est une affection néoplasique maligne de la lignée lymphoïde évoluant la plupart du temps sous forme de lymphosarcomes multicentriques (proliférations locales de cellules B). La manifestation clinique la plus spectaculaire de cette maladie lymphoproliférative est une rupture splénique, consécutive aux formations tumorales, et qui va entraîner une hémorragie létale. Ces tumeurs peuvent

également infiltrer d'autres tissus tels que le foie, le cœur, les yeux ou encore les poumons. Elles vont progressivement provoquer des dysfonctionnements organiques qui vont conduire à la mort de l'animal.

La transmission du virus de fait par voie horizontale via le transfert de cellules infectées : par contact direct, par le lait, lors du bouclage, de l'écornage ou par l'utilisation d'aiguilles infectées. Une transmission par les piqûres d'insectes (notamment les tabanidés) reste encore à démontrer.

Aujourd'hui, la leucose bovine enzootique est universelle avec une prévalence très élevée dans certaines régions du monde comme les Etats Unis, mais très faible en Europe. Elle est la maladie néoplasique la plus fréquente chez les bovins et est responsable de pertes économiques majeures. Les bovins domestiques sont l'hôte principal du BLV et l'existence d'un réservoir sauvage chez les buffles reste controversée [Gillet et al, 2007].

Chez les ovins infectés expérimentalement, le développement de tumeurs des cellules B est plus fréquent et plus rapide, ce qui en fait un excellent système pour l'étude de la pathogenèse induite par le BLV.

Ainsi BLV et HTLV-1 sont deux rétrovirus leucémogènes dont les structures et les mécanismes d'oncogenèse vont maintenant être présentés.

B. Structure de BLV et HTLV-1

1. Particules virales

La structure générale de ces virus est semblable à celle des autres rétrovirus. Leurs génomes sont constitués de deux molécules d'ARN simple brin identiques, chacune associée à la protéine de nucléocapside ainsi qu'à la transcriptase inverse. Ce complexe ribonucléoprotéique est entouré par une capsid, constituée des protéines CA, reliée à l'enveloppe virale par les protéines de matrice (protéines MA) (figure 20). Pour rappel, cette enveloppe est acquise lors du bourgeonnement du virus à la surface de la cellule productrice et est constituée d'une bicouche

phospholipidique dans laquelle sont insérées les glycoprotéines d'enveloppe TM et SU d'origine virale (intervenant dans l'attachement du virus à la surface de la cellule cible). Ces dernières ont servi à développer un test ELISA pour révéler la présence d'anticorps anti-gp51 chez les bovins infectés.

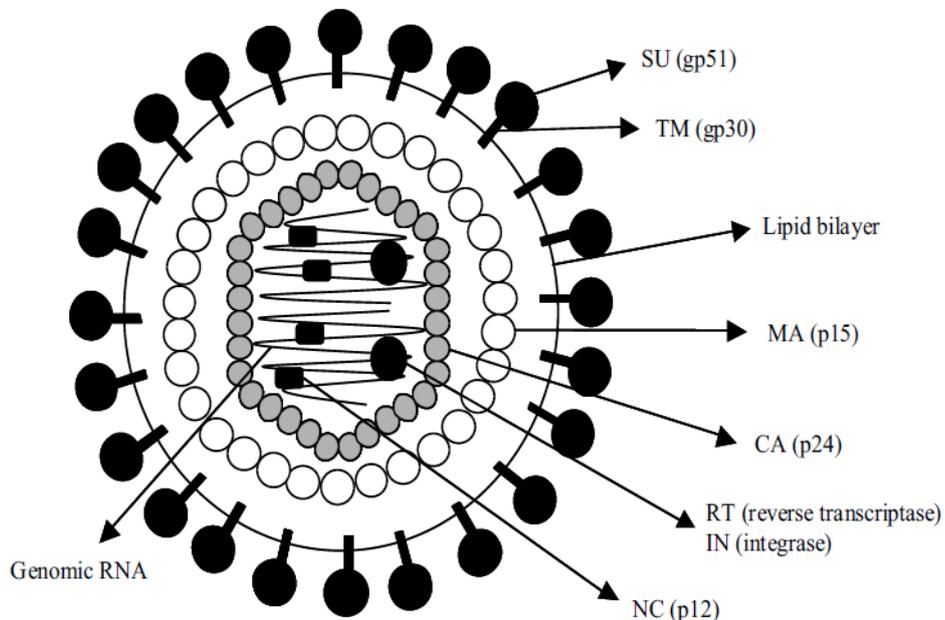


Fig. 20 : Représentation schématique du BLV. *Source : Gillet (2007)*
 NC : nucléocapside, MA : matrice, CA : capsid, TM : glycoprotéine transmembranaire, SU : glycoprotéine de surface.

2. Génome

Le génome viral (8,7 kb pour BLV ou 9,0 kb pour HTLV-1) comporte les gènes structuraux classiques des rétrovirus (*gag*, *pol*, *env*) nécessaires à la synthèse des particules virales. A ceux-ci, s'ajoute une région X entre *env* et l'extrémité 3', codant pour des protéines de régulation.

L'initiation de la transcription de l'ARN génomique se fait au niveau de la région U3/R de la 5'LTR et la terminaison au niveau du site de polyadénylation. Il en résulte trois principaux transcrits d'ARN messager : doublement épissé, simplement épissé et non épissé (figure 21).

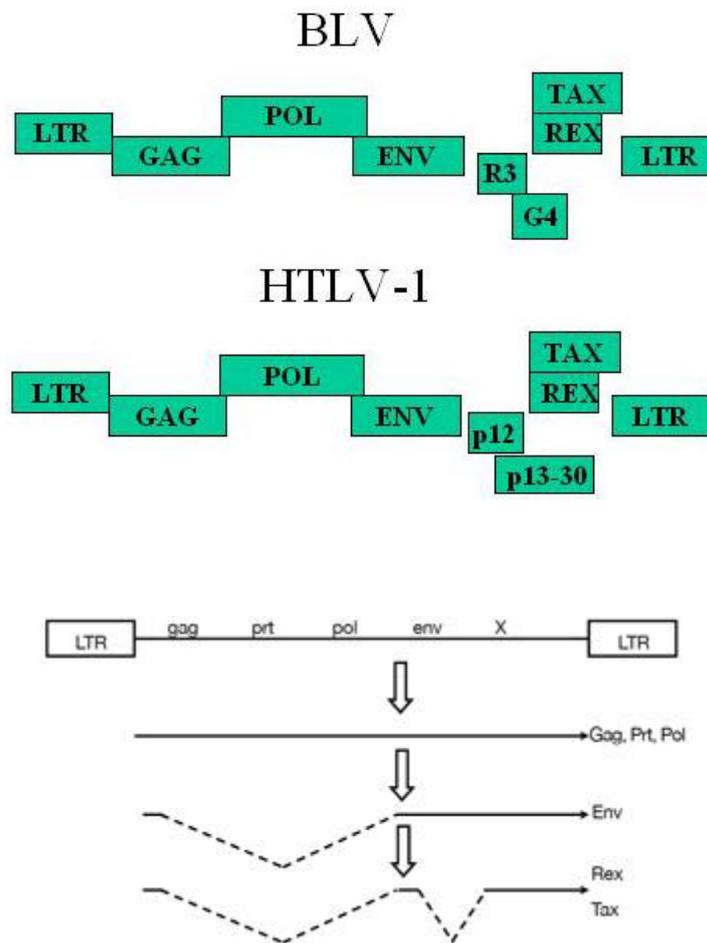


Fig. 21 : Structure génomique des provirus BLV et HTLV-1 et des produits viraux. *Source : Gillet (2007).*

C'est l'ARNm doublement épissé qui joue un rôle majeur dans la leucémogénèse et la régulation de l'expression virale. Il est issu de la région X qui comporte au moins quatre cadres de lecture ouverts. Que ce soit chez BLV ou HTLV-1, cette région code pour des protéines régulatrices (Tax et Rex) et des protéines auxiliaires (R3, G4 ou p12, p13, p30) [Gillet et al, 2007 ; Mathieux, 2011].

3. Protéines de la région X

Rex est une phosphoprotéine nucléaire de 18 kDA intervenant en tant que régulateur post-transcriptionnel. Elle facilite le passage des ARNm non ou mono-épissés, codant pour les protéines de structure du virus, vers le cytoplasme. Le rôle de cette protéine reste encore à préciser mais sa séquence est très conservée et certaines études ont montré que Rex de BLV et HTLV-1 étaient interchangeables [Gillet et al, 2007].

Tax est une protéine phosphorylée d'environ 35 kDa à localisation nucléaire qui contribue au pouvoir oncogène de ces virus leucémogènes. L'importance de cette protéine est suggérée par l'absence de délétion affectant cette région. Sa phosphorylation est indispensable pour son pouvoir oncogène mais pas pour son rôle de transactivateur [Gillet et al, 2007].

Les fonctions de Tax sont multiples [Gillet et al, 2007 ; Aida et al, 2013] :

- (1) Activation de la transcription de gènes viraux par action indirecte, en se fixant au niveau d'une triplette de 21 paires de bases (nommé « Tax responsive element » soit TxRE) situées dans la région U3 de la 5' LTR. Pour se lier à cette séquence, Tax recrute plusieurs partenaires cellulaires afin de modifier l'état de la chromatine, de permettre sa décondensation et ainsi d'activer la transcription des gènes situés en aval (figure 22).



Fig. 22 : Rôle de Tax dans la régulation de la transcription.

Liaison entre Tax et le LTR grâce aux protéines CREB (pour cyclic AMP-responsive element binding protein) d'où le détachement de HDAC1 (pour histone désacétylase 1). Formation d'un complexe protéique qui va décondenser la chromatine : Tax + l'acétyltransférase p300/CBP (pour CREB binding protein) + la ARN pol II. *Source : Gillet (2007).*

- (2) Activation de voies de signalisation utilisant les facteurs de transcription CREB, NF- κ B... d'où une modification de l'expression et/ou de la fonction de protéines participant à la régulation, du cycle cellulaire ou de la division cellulaire. Par ce mécanisme, Tax peut également agir sur certains

suppresseurs de tumeur (*p53*, *pRb*), sur des gènes pro-apoptotiques comme *Bax*, ou encore sur les mécanismes de réparation de l'ADN.

- (3) Immortalisation de certains types cellulaires. Pour les cellules infectées par le BLV, seules les cellules B CD5⁺ IgM⁺ sont immortalisées.
- (4) Coopération avec l'oncogène *Ha-ras* pour aboutir à une transformation complète de cellules en tumeurs (cette activité a également été démontrée avec l'oncogène *Myc*).
- (5) Rôle dans la régulation négative de l'expression des virus leucémogènes, stratégie élaborée pour échapper au système immunitaire de l'hôte.

Cette protéine n'est pas un oncogène strict mais peut l'être dans un mécanisme semblable à celui défini pour *Myc*. Nous reviendrons sur *Tax* dans la partie sur le mécanisme de leucémogénèse par le BLV.

Les protéines auxiliaires, R3-G4 pour le BLV et p13-p12-p30 pour HTLV-1 sont présentes en très faible quantité in vivo. G4 est localisé dans le noyau et les mitochondries et est impliqué dans la transformation cellulaire (expérimentalement, cette protéine entraîne l'immortalisation de fibroblastes d'embryons de rats) [Gillet et al, 2007]. La protéine p13 de HTLV-1 a la même localisation et réalise les mêmes interactions que G4 ce qui permet de supposer qu'il s'agit de son équivalent. R3 et G4 ne sont pas indispensables pour l'infection in vivo mais leur intégrité est essentielle pour une propagation efficace dans l'hôte. Des virus modifiés, sans G4 et R3, ne sont que très faiblement pathogènes chez les ovins [Florins et al, 2011].

Le virus HTLV-1 possède une protéine régulatrice supplémentaire transcrite à partir d'un cadre de lecture dit « anti-sens » : HBZ. Celle-ci semble être un facteur important dans l'établissement de la latence virale in vivo en régulant négativement la transcription dépendante du LTR5' à travers la séquestration des protéines cellulaires CREB et CBP/p300 [Mathieux, 2011]. HBZ module également l'expression de plusieurs gènes cellulaires et stimule la prolifération des cellules transformées. Ainsi, cette protéine est impliquée dans le maintien de l'état tumoral des cellules infectées [Halin et al, 2009] (figure 23).

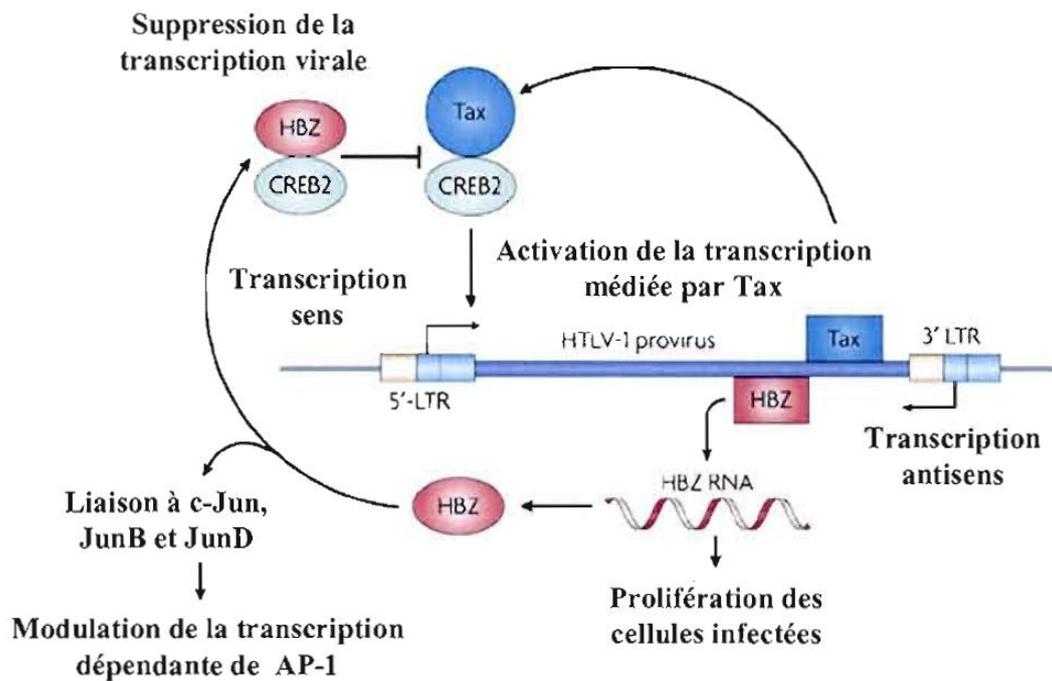


Fig. 23 : Représentation schéma des différentes actions de HBZ et des conséquences sur la transcription. Source : Halin (2009).
CREB-2 : cAMP response element-binding, AP-1 : activator protein 1.

C. Mécanisme de leucémogénèse par BLV

Généralement, les rétrovirus utilisent soit l'activation d'un *v-onc* soit l'insertion activatrice à proximité d'un *c-onc* pour devenir oncogènes. Cependant il n'y a pas d'oncogène d'origine cellulaire chez BLV ou HTLV-1 et aucune intégration préférentielle dans le génome des cellules hôtes n'est mise en évidence.

Les études menées portent souvent sur la protéine Tax. D'une part car elle est considérée comme un activateur potentiel de l'expression des gènes viraux, et d'autre part car elle provoque, *in vitro* l'immortalisation de certaines cellules (les REFs : Rat embryo fibroblasts) grâce à une coopération avec l'oncoprotéine virale du sarcome d'Harvey chez le rat (Ha-ras). Cette capacité d'immortalisation semble être la première étape du processus de transformation induit par le BLV.

Après l'infection, pendant la période de latence, l'expression virale reste bloquée au stade de transcription. L'hybridation *in situ* n'a révélé qu'une très faible expression d'ARN viral dans la majorité des cellules. Cette répression paraît très importante

pour permettre au virus d'échapper au système immunitaire de l'hôte et par la suite, seule une toute petite portion des animaux infectés développe rapidement une maladie au stade terminal.

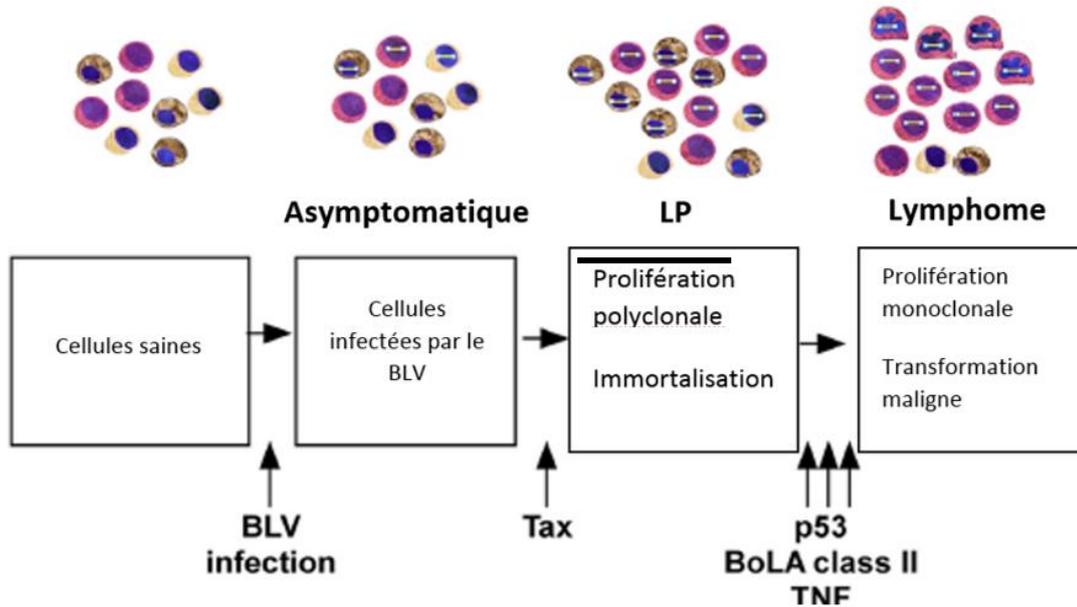


Fig. 24 : La leucémogénèse induite par le BLV : un processus en plusieurs étapes. Source : Aida (2013).

LP : leucocytose persistante.

Le BLV infecte non spécifiquement des cellules dont certaines vont par la suite être immortalisées par la protéine Tax. Comme indiqué précédemment, il est fort probable que Tax n'agisse que sur les cellules B CD5⁺ IgM⁺. Il s'en suit une prolifération polyclonale (figure 24). Nous rappelons que la protéine Tax ne possède pas la capacité de transformer les cellules. Or pour qu'un lymphome se développe, une transformation maligne doit avoir lieu. Ainsi l'infection par le BLV ne semble pas suffire pour induire une leucémogénèse. Elle doit s'accompagner d'évènements annexes tels que des mutations génétiques.

C'est le cas par exemple des mutations de *p53* (gène suppresseur de tumeur) dont la protéine joue un rôle déterminant dans la transduction du signal entre l'ADN endommagé et les gènes de contrôle du cycle cellulaire et de l'apoptose. En effet, dans la moitié des cas de tumeurs solides induites par le BLV et dans les trois quarts des lymphomes des cellules B dus à ce même virus, une mutation de *p53* est retrouvée alors qu'elle n'est jamais présente chez les bovins non infectés. Ceci

indique que certaines mutations altèrent la fonction de la p53 bovine intervenant ainsi dans le développement d'un lymphome.

Le BoLA (Bovine leukocyte antigen) joue un rôle majeur dans l'absence de réponse immunitaire de l'hôte. Des mutations de ce gène semblent influencer la résistance et la susceptibilité à différentes infections.

Pour finir, il a été montré chez des ovins infectés expérimentalement par le BLV qu'un certain allèle du gène *TNF- α* (*TNF- α -824G*) était beaucoup plus fréquent chez ceux présentant un lymphome que chez les animaux asymptomatiques. Cet allèle est associé à une activité de transcription plus faible de la région promotrice de *TNF- α* . Ce polymorphisme doit participer au moins en partie à la progression du lymphome induit par le BLV [Aida et al, 2013].

En conclusion, le BLV permet de présenter un mécanisme particulier d'oncogénèse (et plus particulièrement de leucémogénèse). Celle-ci est multifactorielle et met en jeu dans un premier temps les protéines virales, et par la suite, des mutations génétiques chez l'hôte.

Les études chez les ovins permettent de continuer à étudier le BLV qui sert lui-même de modèle pour HTLV-1. Elles ont notamment permis d'avancer sur de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur l'expression des gènes viraux et plus précisément sur la levée de la latence afin de permettre le déclenchement d'une réponse immunitaire adaptée.

V. JSRV : UN MECANISME D'ONCOGENESE PARTICULIER

Après avoir présenté les rétrovirus oncogènes cis-régulateurs, transducteurs et transactivateurs, nous allons voir que d'autres utilisent des mécanismes singuliers pour induire le développement de tumeurs. C'est le cas par exemple du JSRV, *Jaagsiekte sheep retrovirus*.

A. Pathologie associée au JSRV : l'APO

L'adénomatose pulmonaire ovine (APO ou OPA pour *Ovine Pulmonary Adenocarcinoma*) est une tumeur contagieuse des moutons (et parfois des chèvres). Sa première description a été faite en 1825 par un fermier sud - africain. Il se plaignait de nombreuses pertes animales liées à une maladie décrite comme la *jaagsiekte* (mot afrikaner dérivé de *jaag* et *siekte* signifiant respectivement « chasse » et « maladie »), traduisant l'essoufflement des animaux après l'effort.

Cette affection respiratoire progressive touche principalement les adultes du fait d'une longue période d'incubation avec un pic d'incidence vers 3-4 ans. Son incidence n'est qu'estimée (entre 2 et 5% [Suau, 2006]) du fait de l'absence de test diagnostique valable mais elle est présente dans de nombreuses régions du monde. En France, des foyers endémiques sont retrouvés dans le Pays basque, le Larzac et les Landes.

Dans les troupeaux atteints d'APO, la majorité des ovins sont porteurs et les agneaux s'infectent très jeunes. L'observation d'une propagation de la maladie entre troupeaux ou pays lors de déplacements d'animaux apparemment sains a permis de suspecter rapidement le caractère infectieux et transmissible de l'adénocarcinome pulmonaire ovin. Il se transmet principalement via l'inhalation de particules aérosolisées mais les transmissions périnatale ou in utero ne peuvent pas être totalement exclues. Le confinement des animaux constitue donc un facteur de risque de transmission majeur [Griffiths et al, 2010]. Il a été remarqué un développement plus rapide de l'APO chez les jeunes agneaux (dans les conditions naturelles) suggérant une susceptibilité supérieure du poumon en développement au JSRV [Suau et al, 2006].

Le premier indicateur d'un troupeau contaminé par le JSRV est une augmentation de la mortalité du fait d'une pneumonie ne répondant pas aux traitements antibiotiques.

Dans les cas typiques, l'infection est silencieuse (l'incubation peut durer des mois voire des années) jusqu'à ce que la tumeur soit suffisamment développée pour

entraîner une gêne respiratoire ou un amaigrissement marqué. Cette longue période avant l'apparition des symptômes après une infection naturelle pourrait s'expliquer par l'absence d'inflammation dans le tissu pulmonaire autour de la tumeur [Griffiths et al, 2010]. Ainsi, lorsqu'ils apparaissent, les signes cliniques liés à la gêne respiratoire sont proportionnels à la taille de la tumeur. Le principal symptôme est lié à l'accumulation de liquide dans le tractus respiratoire entraînant des râles humides facilement détectés à l'auscultation. En soulevant l'arrière-train et en abaissant la tête d'un ovin malade, un liquide, visqueux et écumeux abondant peut parfois s'écouler par les naseaux (environ 10-40 mL /j et jusqu'à 400mL) : c'est un signe pathognomonique mais pas systématique [Griffiths et al, 2009] (figure 26). L'adénomatose pulmonaire ovine est parfois compliquée par une infection à *Mannheimia haemolytica* qui va rapidement conduire à la mort.



Fig. 25 : Signe clinique pathognomonique de l'adénomatose pulmonaire ovine. Source : Griffiths (2009).

L'absence de test diagnostique sérologique (anticorps contre le virus non détectés) et de vaccin rend difficile le contrôle de la maladie qui repose donc sur une

inspection régulière des troupeaux et une élimination rapide des cas suspects et de leur descendance. Des PCR sur échantillons de sang peuvent permettre de détecter les cellules infectées par le JSRV mais il y a beaucoup de faux négatifs du fait d'une faible proportion de cellules infectées dans le sang. La meilleure méthode pour identifier précocement l'APO est la PCR sur échantillon de LBA collecté sur des animaux vivants. Là aussi de nombreux faux négatifs sont à déplorer car seule une partie du poumon est testée.

Ainsi, ces tests sont informatifs pour les études épidémiologiques ou pour identifier les troupeaux infectés. Cependant, ils ne peuvent pas être utilisés individuellement dans des objectifs d'éradication ou d'obtention d'accréditation [Griffiths et al, 2009]. Les recherches encore en cours sont très attendues car les mesures préconisées à ce jour pour contrôler l'APO (quarantaine de plusieurs mois pour les animaux entrants, isolement des suspects et de leur descendance, désinfection des zones contaminées et absence d'ovin pendant 2 mois...) sont difficilement réalisables [Griffiths et al, 2009]. L'identification des cas suspects est compliquée par l'existence d'animaux infectés mais qui ne développent pas de tumeur au cours de leur vie d'élevage (ou une tumeur trop petite pour avoir une réelle incidence clinique). Ces ovins, apparemment sains, peuvent transmettre le virus et faciliter son introduction dans de nouveaux troupeaux.

Le diagnostic définitif se fait par autopsie. Elle révélera des poumons non collabés, hypertrophiés, œdémateux et indurés [Griffiths et al, 2009]. Macroscopiquement, les lésions tumorales d'adénocarcinome pulmonaire ovin correspondent à des nodules tissulaires solides, bilatéraux, grisâtres, granuleux, de localisation préférentielle crânioventrale et de taille variable comprise entre 1 et 30 mm [De las Heras et al, 2003] (figure 26). L'examen histopathologique révélera un adénocarcinome bronchioalvéolaire.

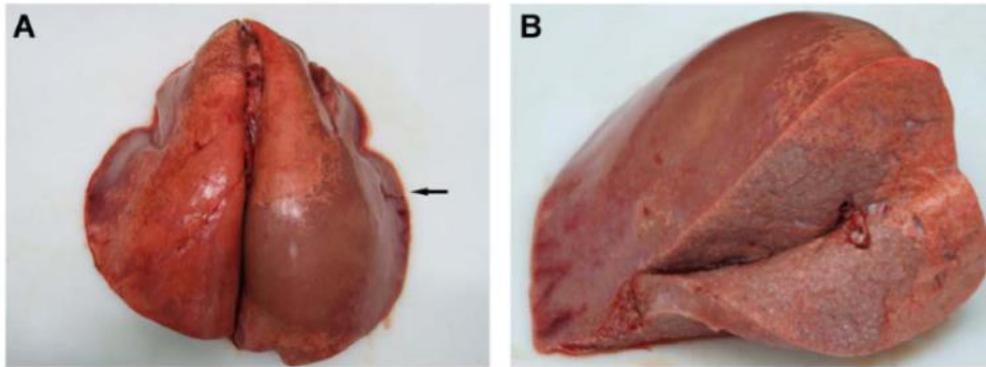


Fig. 26 : Aspect macroscopique de l'adénomatose pulmonaire ovine. *Source : Griffiths (2009).*
 Photo A : la flèche pointe un nodule. Photo B : coupe au niveau de ce nodule.

L'APO est un cancer du poumon se développant par transformation de cellules épithéliales pulmonaires : les pneumocytes II et les cellules de Clara. Ces deux types de cellules synthétisent les différents composants du surfactant, un agent tensioactif permettant le maintien de l'intégrité des alvéoles.

Dans la majorité des cas, les nœuds lymphatiques bronchiques et médiastinaux sont œdémateux et hypertrophiés ; ils contiennent des métastases dans environ 10% des cas [Griffiths et al, 2009]. Les cas de métastases à distance restent rares (foie, reins, cœur, muscles squelettiques).

B. Propriétés de l'agent pathogène

1. Identification de l'agent inducteur

Une étude réalisée en 1974, permet de suspecter pour la première fois une étiologie virale par l'observation de particules virales dans des poumons tumoraux de moutons malades [Perk, 1974]. Il s'agissait ensuite d'identifier le virus en cause.

L'herpès virus ovin de type 1 (ovVH-1) n'a été isolé qu'à partir d'APO. Cependant ni les études épidémiologiques ni les infections expérimentales n'ont apporté de preuve quant à son rôle étiologique. L'herpès virus ovin de type 2 (ovVH-2) n'a jamais été relié à l'APO ; il est responsable de la fièvre catarrhale maligne du mouton [OIE, 2008].

L'impossibilité de cultiver le *jaagsiekte sheep retrovirus* et l'absence d'anticorps anti-JSRV chez les moutons atteints d'APO ont longtemps empêché de confirmer son statut d'agent causal. Cependant les techniques de biologie moléculaire telles que le clonage et le séquençage génomique ont permis une avancée décisive. Différents éléments soutiennent l'hypothèse du JSRV comme agent causal de l'APO :

- ce virus n'a jamais été détecté dans les troupeaux non atteints et sans historique de cette tumeur
- l'ADN ou l'ARN de ce virus est détecté par PCR de manière constante chez les ovins malades, au niveau de la tumeur, des nœuds lymphatiques de drainage ou encore des cellules mononuclées du sang périphérique
- l'inoculation en intra-trachéal, de particules du JSRV à des agneaux nouveau-nés a entraîné le développement de tumeurs d'APO en 3 à 6 semaines seulement [Palmarini et al, 1999].

Ces observations ont permis d'affirmer que le JSRV était clairement exogène et exclusivement associé à l'APO.

Ainsi, l'agent inducteur de l'adénomatose pulmonaire ovine est un bêtarétrovirus. Ce groupe comprend également des virus tels que le MMTV (*mouse mammary tumor virus*) responsable de tumeurs mammaires chez la souris et l'ENTV (*enzootic nasal tumor virus*, ENTV-1 chez les ovins et ENTV-2 chez les caprins), agent étiologique de la tumeur nasale enzootique des petits ruminants (ENA pour *enzootic nasal adenocarcinoma*).

2. Présentation du génome du JSRV

Le génome du JSRV a pu être obtenu après purification de virions isolés à partir de lavages pulmonaires d'ovins naturellement infectés [Hofacre et al, 2010]. Il mesure 7,5 kb et possède une organisation classique avec les gènes *gag*, *pro*, *pol* et *env* (figure 27). Il a été isolé, cloné et séquencé en 1992 par l'équipe de Denis York [York et al, 1992]. Sa seule particularité est un cadre de lecture supplémentaire qui chevauche le gène *pol*. *Orf-x*, est transcrit en ARN et code pour une protéine X de 166 acides aminés [Hofacre et al, 2010]. Bien que ces fonctions soient encore inconnues, elles doivent être non négligeables car les études génétiques sur plusieurs souches de JSRV montrent une conservation importante de cette

séquence. Cependant elle n'est indispensable ni pour la transformation des cellules in vitro ni pour l'oncogenèse in vivo [Griffiths et al, 2010 ; Caporale et al, 2006].

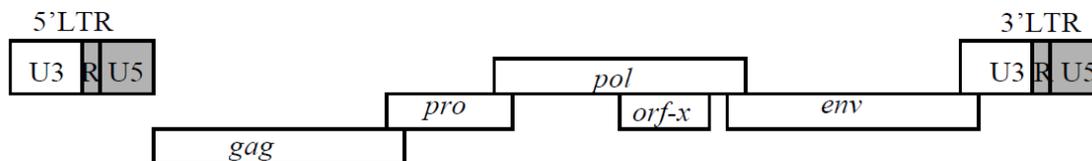


Fig. 27 : Organisation génomique du provirus JSRV. Source : Hofacre (2010).

3. Entrée dans les cellules cibles

L'entrée du rétrovirus est permise par l'interaction de la protéine Env avec un récepteur cellulaire particulier : Hyal-2 (également utilisé par l'ENTV). Cette protéine appartient au groupe des hyaluronidases, enzymes distribuées à travers le règne animal et impliquées dans le métabolisme de l'acide hyaluronique. Hyal-2 est ancrée dans la membrane plasmique par un lien glycosylphosphatidyl-inositol (GPI) [Rai et al, 2001]. L'expression ubiquitaire de Hyal-2 a été démontrée chez l'Homme et la souris (présence dans tous les tissus à l'exception du cerveau) et est donc supposée chez les ovins [Suau, 2006].

Le JSRV est par conséquent capable d'entrer dans de nombreux types cellulaires mais il ne se réplique que dans les pneumocytes de type II et les cellules de Clara (des protéines virales n'ont été détectées que dans les cellules constituant la tumeur et les cellules avoisinantes). Ainsi les tumeurs développées lors d'infection par ce rétrovirus ne sont que pulmonaires et chez les ovins atteints d'OPA, le JSRV est exprimé presque essentiellement dans les cellules tumorales [Griffiths et al, 2010].

C. Physiopathologie de l'oncogenèse

La première question à laquelle nous avons cherché à répondre concerne la classification du JSRV : est-ce un rétrovirus à faible ou à fort potentiel transformant ? Ses caractéristiques biologiques et moléculaires donnent des indications contradictoires [Liu et Miller, 2007] :

- Éléments en faveur d'un rétrovirus à fort potentiel transformant :

- La rapidité de l'oncogénèse suggère que le JSRV porte un oncogène. En effet, l'injection intra-trachéale, à des agneaux nouveau-nés, de fluides pulmonaires provenant de moutons malades provoque le développement d'APO dernier stade en 3 à 6 semaines (avec une clinique visible dès J10).
- Les lésions multi-focales observées sur les poumons d'un ovin atteint d'APO sont plus typiques des tumeurs induites par des virus à fort potentiel transformant (pour rappel, les virus à faible potentiel transformant sont généralement responsables de tumeurs monoclonale ou oligoclonale du fait de la faible probabilité d'apparition d'une insertion activatrice d'un proto-oncogène cellulaire).
- Élément en faveur d'un rétrovirus à faible potentiel transformant :
 - Aucun oncogène ni aucune séquence se rapprochant des oncogènes cellulaires connus n'ont été trouvés dans le génome du JSRV.

1. Présentation de l'oncoprotéine virale

La première étape de la compréhension du mécanisme d'oncogénèse du JSRV a été la mise en évidence du fait que son génome possédait un gène capable de transformer différents types de cellules in vitro.

Les études ont d'abord porté sur le cadre de lecture supplémentaire, codant pour la protéine X, qui très conservé au sein des souches de JSRV. Il pourrait s'agir d'un oncogène mais sa séquence ne se rapproche d'aucun oncogène connu et sa délétion ne supprime pas le potentiel transformant du JSRV in vitro [Morozov et al, 2007].

Par la suite, il a été démontré que la protéine Env était à elle seule, nécessaire et suffisante pour induire la transformation de cellules de souris in vitro [Palmarini et al, 1999]. Des études récentes (utilisation d'un virus défectif pour la réplication exprimant le gène *env* sous contrôle du LTR du JSRV), ont permis de montrer que *env* était un puissant oncogène [Caporale et al, 2006].

La découverte des capacités de la protéine d'enveloppe du JSRV (transformation de cellules en culture et développement de tumeurs in vivo) [Verwoerd et al, 1980 ; Hofacre et al, 2010] associée à la rapidité avec laquelle le

JSRV induit une APO, permettent de le classer parmi les rétrovirus à fort potentiel transformant. Sa particularité réside dans le fait que son pouvoir est lié non pas à un produit d'oncogène dérivé des cellules hôtes, comme pour la plupart des virus de ce groupe, mais à une de ses protéines de structure. Les seuls autres exemples dans lesquels les protéines d'enveloppe sont responsables de l'oncogenèse sont : l'ENTV (*enzootic nasal tumor virus*), l'AHV (*avian hemangioma retrovirus*) et le SFFV (*spleen focus forming virus*, déficient pour la réplication, contenant l'élément pathogène du virus de Friend responsable d'érythroleucémies).

2. Description de l'oncoprotéine

Après clivage, la protéine Env est composée de deux sous-unités reliées par des ponts disulfures : SU (de surface, en N-terminal) et TM (transmembranaire, en C-terminal).

La protéine TM est essentielle au mécanisme de transformation car une délétion de cette région abolit l'activité transformante du JSRV [Griffiths et al, 2010]. Par la suite, des expériences de délétion/mutation ont montré que la partie indispensable était la queue cytoplasmique (CT) du domaine transmembranaire [Hofacre et Fan, 2004 et Chow, 2003]. Elle est constituée de 44 acides aminés et elle contient un motif peptidique YXXM, correspondant à un site de liaison à la sous-unité régulatrice p85 de la phosphatidyl-inositol-3 kinase (PI3K). Ce motif peptidique est conservé dans toutes les souches transformantes de JSRV et d'ENTV mais il est absent chez la protéine d'enveloppe des enJSRV sur lesquels nous reviendrons plus tard [Hofacre, 2010].

La sous-unité SU semble également nécessaire avec deux rôles possibles dans la dérégulation conduisant à l'acquisition d'un phénotype tumoral : l'adaptation de la configuration d'Env ou l'activation de certaines voies de signalisation. En effet, des expériences de délétions ou d'insertion au niveau du domaine SU ont conduit à l'abolition de la transformation in vitro des fibroblastes NIH3T3 et 208F par JSRV Env [Hofacre et Fan, 2004].

3. Activation de voies de signalisation

Même si le mécanisme d'oncogenèse via la protéine Env du JSRV n'est pas encore totalement élucidé, il passe par l'activation d'un certain nombre de voies de signalisation intracellulaires.

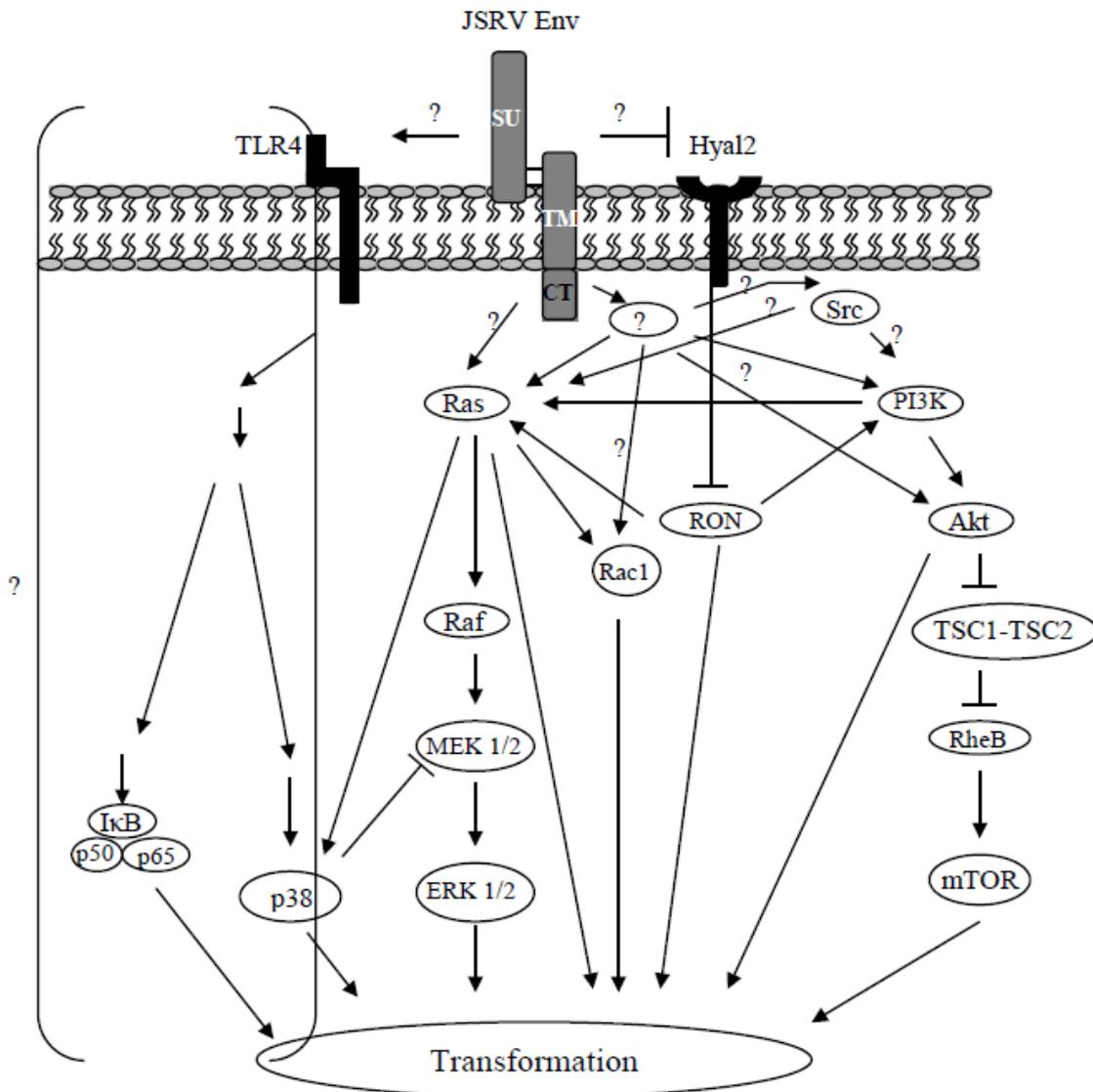


Fig. 28 : Voies de signalisation empruntées par Env JSRV pour aboutir à la transformation des cellules. Source : Hofacre (2010).

La figure 28 regroupe les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans la transformation induite par Env JSRV :

- La voie PI3K-Akt-mTOR qui est déterminante dans le maintien de l'homéostasie par sa fonction de régulation de la prolifération et de la survie cellulaire.

Le premier élément de cette voie, PI3K, est un hétérodimère à activité kinase constitué de deux protéines : une sous-unité régulatrice p85, et une sous-unité catalytique p110 [Dreyer et al, 2009]. La protéine p85 peut être fixée par les sous-unités intracellulaires d'un récepteur tyrosine-kinase qui ont été activées par transphosphorylation après dimérisation du récepteur suite à la fixation d'un facteur de croissance. Il va s'en suivre une cascade de phosphorylation aboutissant notamment à l'activation d'Akt, un proto-oncogène qui va à son tour pouvoir phosphoryler différents substrats impliqués dans le contrôle de la prolifération, de la survie et du métabolisme cellulaire. Certains sont ainsi activés, comme le régulateur de croissance mTOR (mammalian target of rapamycin) et d'autres sont inhibés (GSK-3 : glycogen synthase kinase 3, FOXO : forkhead box transcription factor et KIP1 : l'inhibiteur de cycle cellulaire p24 ou KIP1).

Cette voie est fréquemment dérégulée dans les cellules cancéreuses car la plupart des protéines qui la constituent sont des suppresseurs de tumeur ou des proto-oncogènes dont la mutation pourra entraîner le développement d'une tumeur.

Plusieurs éléments permettent de dire que l'activation d'Akt dépendante de PI3K est essentielle pour la transformation des cellules par la protéine Env du JSRV [Liu et Miller, 2007]. D'une part le fait que la phosphorylation d'Akt soit retrouvée dans plusieurs lignées cellulaires transformées par Env alors qu'elle était absente chez les cellules parentales [Suau, 2006]. D'autre part, l'action d'un inhibiteur spécifique de PI3K sur ces mêmes cellules inhibe la transformation induite par Env JSRV ainsi que la phosphorylation d'Akt.

Cependant aucune interaction directe entre la protéine Env et la principale sous-unité régulatrice p85 de PI3K n'a été mise en évidence. Il faut donc émettre l'hypothèse d'une activation indirecte de cette voie via des éléments encore non identifiés à ce jour même si la possibilité d'une interaction avec d'autres sous-unités régulatrices de PI3K (telle que p55 γ) reste envisageable [Liu et Miller, 2007].

- La voie Ras-Raf-MEK-MAPK qui joue également un rôle important dans la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation et de la migration cellulaire, ainsi que dans l'angiogénèse.

Sa stimulation est constatée dans un grand nombre de cancers, soit par activation de récepteurs membranaires, soit grâce à des mutations au niveau des gènes codant pour les protéines RAS ou RAF par exemple [Lièvre et Laurent-Puig, 2010].

Des études sur des cellules épithéliales de rats ont mis en évidence le fait que des inhibiteurs spécifiques de MEK (MAPK-ERK-kinase) inhibent la transformation induite par Env JSRV [Liu et Miller, 2007]. Ceci semble indiquer que la voie Ras-Raf-MEK-MAPK intervient dans la transformation par Env. Cependant la phosphorylation de MAPK (mitogen activated protein kinase, aussi appelée ERK pour extracellular signal-regulated kinase) n'est jamais observée dans ces mêmes cellules transformées.

Le mécanisme exact par lequel Env active cette voie de signalisation reste donc à définir, certains supposent que la phosphorylation d'ERK est transitoire et donc non détectable [Liu et Miller, 2007].

Récemment, la voie MAPK/p38, est apparue comme ayant un rôle de régulateur négatif de la transformation par le JSRV via une inhibition de la phosphorylation de MAPK. En effet des inhibiteurs de p38 stimulent la formation de foyers tumoraux [Maeda et al, 2005].

Il faut noter que l'étude de tissus issus d'APO naturellement et expérimentalement induits a permis de retrouver une phosphorylation de MAPK mais pas de p38 [Liu et Miller, 2007].

L'équilibre entre ERK et p38 a une grande importance dans la survie des cellules [Maeda et al, 2005] d'où l'intérêt pour le JSRV d'intervenir sur ces deux voies.

- Enfin une autre voie semble intervenir dans une lignée cellulaire particulière : les cellules BEAS-2B, provenant de l'épithélium bronchique humain. Dans ce cas, le mécanisme de transformation fait intervenir la voie RON-Hyal2.

Dans les cellules BEAS-2B normales, RON (récepteur d'origine nantais) et Hyal2 sont associés ce qui inhibe l'activation de RON. En cas d'expression d'Env JSRV, cette protéine va se lier à Hyal2 entraînant sa dégradation et donc la libération de RON. RON qui est un proto-oncogène de la famille de *Met*, va alors pouvoir s'activer et stimuler la transformation. Le rôle de cette voie est soutenu par l'observation d'une phosphorylation de RON dans les cellules transformées et par le fait que des mutants dont RON est inactif, sont capables de bloquer la transformation induite par Env [Liu et Miller, 2007].

Les études ont permis d'identifier de nombreuses voies d'activation de l'oncogenèse par le JSRV (comme c'est le cas pour beaucoup de virus oncogènes) et plus particulièrement les voies PI3K-Akt-mTOR et Ras-Raf-MEK-MAPK. Les modalités exactes d'action d'Env et notamment les cibles sur lesquelles elle se lie, restent encore à déterminer.

Il faut également souligner que les modalités de transformation semblent différentes selon la lignée cellulaire infectée. Des mécanismes additionnels, telle que la mutation insertionnelle, doivent sans doute jouer un rôle mais les résultats sur d'éventuels sites communs d'intégration sont encore imprécis [Liu et Miller, 2007].

4. Rôle des JSRV endogènes

Le génome ovin contient de nombreuses copies de séquences endogènes virales étroitement apparentées au JSRV (JSRV endogène : enJSRV). Les rétrovirus endogènes (ou ERV pour *endogenous retroviruses*) apparaissent lorsque, en de rares occasions, le rétrovirus d'origine infecte une cellule des lignées germinales. Les provirus intégrés font alors partie intégrante du patrimoine génétique de l'hôte.

Au total, vingt-sept enJSRV ont été identifiés dans le génome ovin avec environ 90% d'homologie avec l'exJSRV (JSRV exogène) [Griffiths et al, 2010]. Ces séquences ne sont pas oncogènes mais elles sont fortement exprimées dans le tractus reproducteur femelle et dans les tissus fœtaux.

Des études mettent en évidence un rôle protecteur d'enJSRV vis-à-vis d'exJSRV via un double blocage : l'un par compétition au niveau des récepteurs et l'autre en bloquant la sortie des cellules des particules virales d'exJSRV [Milot, 2008].

Ces séquences endogènes inhiberaient la réplication du virus et ceci aurait été responsable d'une modification du tropisme du JSRV, du tractus génital (lieu d'expression des enJSRV) vers l'appareil respiratoire [Griffiths et al, 2010].

En plus de leur activité « anti-virale », les JSRV endogènes pourraient jouer un rôle dans l'apparente absence de réponse immunitaire, que ce soit humorale ou cellulaire, des adultes envers le JSRV exogène (immunotolérance) [Liu et Miller, 2007].

D. Applications possibles des études sur le JSRV

1. Comparaison avec un autre rétrovirus proche : l'ENTV

Pour rappel, les ENTV-1 et 2 appartiennent à la même famille que le JSRV. Ils sont responsables de la tumeur nasale enzootique des petits ruminants, une maladie contagieuse se caractérisant par une transformation néoplasique des cellules de l'épithélium sécrétant du tractus respiratoire. Elle entraîne une production de liquide mucoïde et des déformations importantes de la face liées à une destruction des structures osseuses [De las Heras, 2003]. Cette pathologie est décrite dans de nombreux pays d'Afrique, d'Europe, d'Asie et d'Amérique [Griffiths et al, 2010].

Le génome de l'ENTV présente plus de 92% d'homologie avec celui du JSRV. Il utilise le même récepteur Hyal2 et sa protéine Env possède les mêmes propriétés transformantes [Liu et Miller, 2007].

Des cas de co-infection ENTV / JSRV ont été rapportés et suggèrent une relation synergique entre ENTV et JSRV [Ortin et al, 2004].

Ainsi les études menées sur le JSRV et les mesures de contrôle sont transférables aux ENTV-1 et 2.

2. OPA : modèle pour l'Homme

L'adénomatose pulmonaire ovine est apparentée cliniquement, radiologiquement et histologiquement au carcinome bronchioalvéolaire de l'Homme pour lequel une étiologie virale est suggérée depuis longtemps [Palmarini et al, 2001]. Ce dernier fait

parti des 25% de cancers pulmonaires qui ne sont que faiblement associés au tabagisme et son incidence augmente depuis quelques années [Coffin et al, 1997]. Environ 30-40% des adénocarcinomes bronchioalvéolaires expriment un antigène qui est fixé par les anticorps du JSRV [Griffiths et al, 2010]. Ceci pousse à envisager une étiologie virale pour ce cancer chez l'Homme mais aucun virus n'a pour le moment été identifié.

Le modèle de l'adénomatose pulmonaire ovine peut donc se révéler très intéressant pour mieux comprendre les mécanismes de l'oncogenèse pulmonaire chez l'Homme et pour tester d'éventuelles thérapies anti-cancer.

En conclusion, le JSRV est un modèle rare de tumeur épithéliale induite par un rétrovirus exogène induisant l'oncogenèse par le biais de sa protéine d'enveloppe. Les études expérimentales ont permis de le classer parmi les rétrovirus à fort potentiel transformant mais le développement de tumeurs chez des ovins naturellement infectés prend des mois voire des années. Ceci souligne un des paradoxes du JSRV qui possède un mécanisme d'oncogenèse qui semble varier en fonction du type cellulaire infecté.

L'approfondissement des études du JSRV permettrait de comprendre et d'envisager un traitement et un contrôle plus efficace de l'APO mais également de préciser le processus d'oncogenèse pulmonaire chez l'Homme.

Nous venons de présenter trois mécanismes différents d'oncogenèse chez les rétrovirus : l'intégration d'un oncogène d'origine cellulaire, l'activation de proto-oncogènes via les séquences LTRs, l'action de certaines protéines virales telles que Env ou Tax. La partie suivante va se pencher sur les virus à ADN et leurs stratégies de persistance qui peuvent entraîner le développement de tumeurs.

PARTIE 3 : VIRUS A ADN ET ONCOGENESE

I. RAPPELS SUR LES VIRUS A ADN

A. Structure

Comme le nom l'indique, leur matériel génétique est constitué d'ADN. Il peut être bicaténaire linéaire ou circulaire ou encore monocaténaire (plus rarement). Le génome est de taille très variable : de 3 à 300 kilobases.

B. Les différentes familles de virus à ADN

Les virus à ADN forment un groupe très hétérogène ; les principaux infectant les vertébrés sont présentés figure 29.

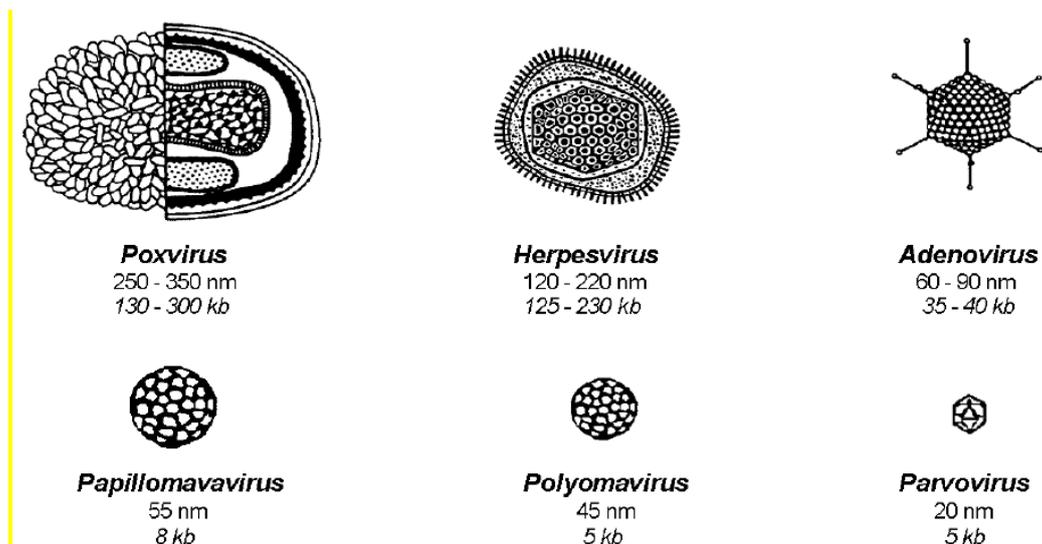


Fig. 29 : Les principaux virus à ADN. Source : Lemahieu et Decoster (2005).

C. Cycle de réplication

Pour la majorité des virus à ADN, et notamment ceux qui font partis de cette étude (papillomavirus, polyomavirus, adénovirus, herpèsvirus), la réplication est intranucléaire. Ceci leur permet d'utiliser les enzymes cellulaires pour leur propre transcription.

L'étape de multiplication est constituée de deux phases :

- La phase précoce au cours de laquelle seule une partie du génome viral est transcrite grâce aux ARN polymérases cellulaires. Les ARNm précoces ainsi formés vont être traduits en protéines régulatrices non structurales ou en enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN. Une ADN polymérase cellulaire ou virale va ensuite dupliquer et produire de nombreuses copies du matériel génétique viral.

La phase tardive : la traduction des ARNm tardifs va principalement générer les protéines de structure du virus.

II. LES PETITS VIRUS A ADN

Depuis la fin des années 90, l'étude des petits virus à ADN a donné un nouvel essor à l'hypothèse virale pour certains cancers. Adénovirus, Papillomavirus et Polyomavirus produiraient des facteurs capables, entre autres, d'interagir avec des régulateurs cellulaires majeurs et d'altérer leurs fonctions [Felsani et al, 2006]. Ces virus à ADN ont également permis des avancées considérables, sur la compréhension de processus cellulaires tels que la transcription, la réplication de l'ADN ou encore l'épissage alternatif des ARNm, ainsi que sur l'identification des gènes suppresseurs de tumeur.

C'est en 1930 que Richard Shope met en évidence l'existence de virus oncogènes à ADN. Il s'agit des virus du fibrome du lapin et du papillome de Shope qui sont également les premiers virus transformants découverts chez les mammifères [Howley et Livingston, 2009].

Cette partie a pour objectif de présenter les mécanismes de l'oncogenèse communs et spécifiques des trois familles de petits virus transformants à ADN.

A. Présentation des différentes familles virales

Les petits virus à ADN forment une famille hétérogène mais avec de nombreux points communs dans le mode de transformation des cellules infectées et les mécanismes mis en jeu.

1. Les papillomavirus

Les *Papillomaviridae* forment une famille de petits virus (45-55 nm de diamètre) qui infectent de très nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux (figure 30). Ils sont épithéliotropes stricts et responsables de proliférations cutanéomuqueuses le plus souvent bénignes mais parfois malignes (c'est le cas chez au moins trois espèces). Ceux sont des virus ubiquistes, nus (donc fortement résistants dans le milieu extérieur), avec une forte spécificité d'hôte. Ils le contaminent en profitant de microlésions de la peau ou des muqueuses afin d'atteindre leurs cellules cibles : les kératinocytes (couche la plus superficielle de l'épiderme, cellules mortes, pas de multiplication virale possible) [Duarte, 2012].

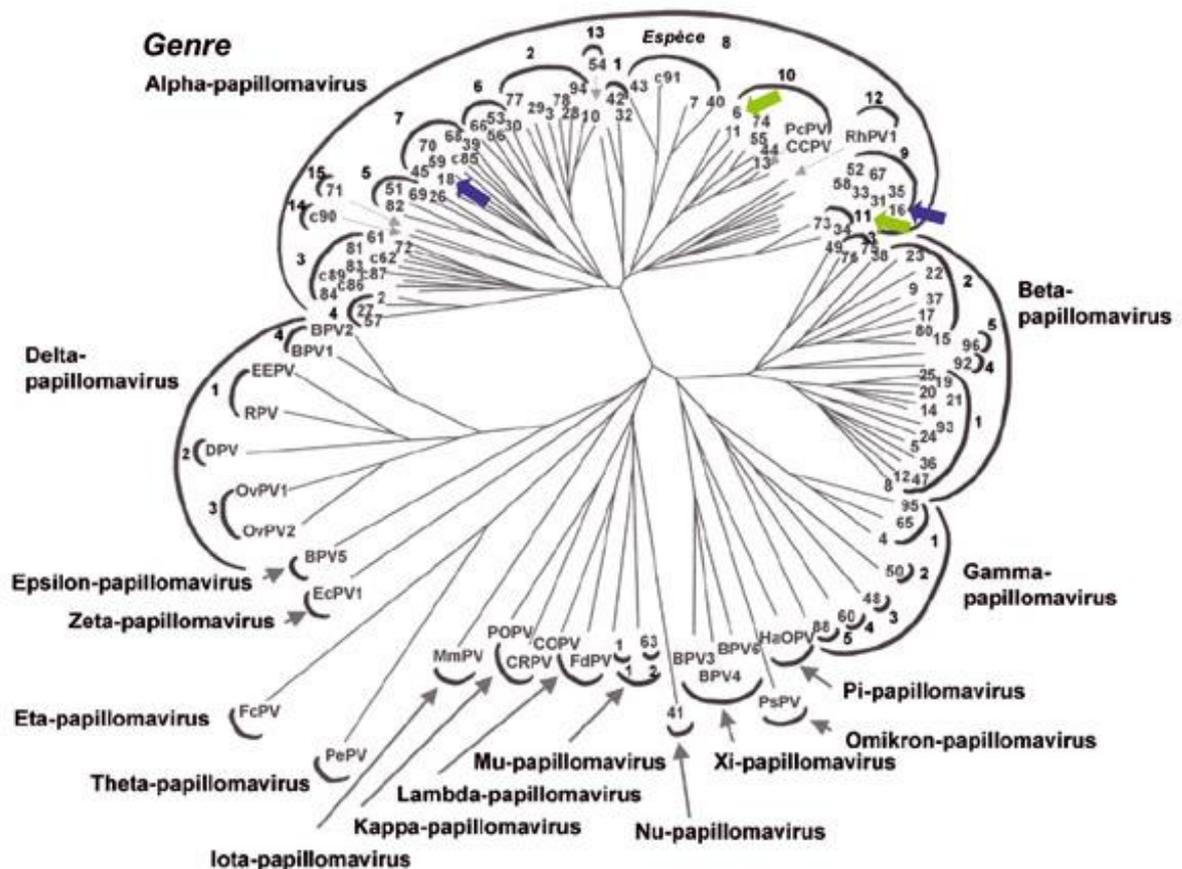


Fig. 30 : Arbre phylogénétique illustrant la classification des papillomavirus. Source : Beaudin, 2014. Réalisé sur la base du gène codant la protéine majeure de la capside L1. Les flèches vertes indiquent des HPVs faiblement oncogènes et les bleues des HPVs à haut risque.

Il apparaît que la famille des *Papillomaviridae* est actuellement divisée en 49 genres puis en espèces (représentées par un chiffre) au sein desquelles des types de papillomavirus se différencient [ICTV, 2015]. Plusieurs types de papillomavirus peuvent infecter chaque espèce animale.

i. Présentation des Papillomavirus humains

Chez l'Homme, on distingue des papillomavirus à haut risque, à haut risque probable et à bas risque (tableau 8). La plupart des HPVs (*Human papillomavirus*) appartiennent aux Alphapapillomavirus, ils constituent la principale cause d'infection sexuellement transmissible. Parmi eux, 13 des quelques 200 HPVs ont été identifiés comme ayant un potentiel cancérigène élevé (cancer du col de l'utérus, du vagin, du pénis, de l'œsophage...). Par exemple, le cancer de l'utérus est le deuxième plus fréquent chez les femmes ; il est responsable d'environ 250 000 décès par an [Institut Pasteur, 2013]. L'OMS le reconnaît comme étant 100% attribuable à

l'infection virale même s'il n'est qu'une complication rare d'une infection commune [Beaudin et al, 2014].

Classification	Types
Haut risque	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
Haut risque probable	26, 53, 66, 68, 73, 82
Bas risque	6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89

Tabl. 8 : Classification des principaux HPVs. *Source : Barth (2011).*

Le pouvoir pathogène des HPVs dépend :

- du statut immunitaire de la personne infectée
- de facteurs génétiques favorisant la transformation maligne des lésions dues au HPV
- du type d'HPV : élément essentiel de l'évolution vers un cancer. Les HPVs à haut risque, éléments fondateurs de la carcinogénèse, possèdent une plus grande capacité de persistance sur laquelle nous reviendrons.

ii. Présentation des Papillomavirus bovins

A ce jour, 13 types de BPV sont identifiés et séquencés. Ils sont très hétérogènes et majoritairement regroupés en 3 genres. Les δ -BPV, ou fibropapillomavirus, qui infectent à la fois l'épithélium et le derme pour donner des fibropapillomes (verrues). Les ξ -BPV qui infectent uniquement l'épithélium cutané (ou la muqueuse digestive dans le cas de BPV-4) : ils sont épithéliotropes et produisent des papillomes épithéliaux. Les ε -BPV qui peuvent être responsables du développement de fibropapillomes comme de papillomes épithéliaux [Lamblin, 2010]. Ainsi, les différents types de BPVs sont à l'origine de papillomatose de localisation variée (tableau 9).

Genre	Espèce	Tumeurs associées
δ-BPV	BPV-1	Fibropapillomes cutanés Fibropapillomes des régions paragénitales Papillomes des trayons et de la mamelle Cancers de la vessie
	BPV-2	Fibropapillomes cutanés Fibropapillomes de l'œsophage et du rumen Cancers de la vessie
ε-BPV	BPV-5	Fibropapillomes cutanés Papillomes des trayons et de la mamelle
ξ-BPV	BPV-3	Papillomes cutanés
	BPV-4	Papillomes et cancers du tractus gastro-intestinal supérieur
	BPV-6	Papillomes des trayons et de la mamelle

Tabl. 9 : Nature et localisation des tumeurs associées à certains BPV. *Source : Lamblin (2010).*

Des co-infections sont possibles. Par exemple, dans 86,2% des cas de papillomatose des trayons, une association BPV-5 / BPV-6 est observée [Lamblin, 2010].

iii. Les Papillomavirus chez les autres espèces

Les papillomavirus sont également connus comme étant les agents causaux des papillomes cutanés équins. Récemment, Lange et son équipe ont établi un lien de causalité entre EcPV-2 et les carcinomes épidermoïdes dans cette espèce [Lange et al, 2013]. De plus, le rôle favorisant des papillomavirus dans les carcinomes épidermoïdes cutanés est reconnu chez l'Homme, le chien, le singe et le chat [Medan, 2010].

En effet, des antigènes structuraux spécifiques de ces virus ont été détectés par immunohistochimie sur des prélèvements de carcinomes spinocellulaires. Des hypothèses ont été émises pour expliquer le fait que seuls certains échantillons semblaient infectés. Tout d'abord il peut s'agir d'un type viral différent, non détecté par la méthode utilisée. L'infection peut aussi avoir profité de la diminution de l'immunité de l'hôte et donc être secondaire au développement de la tumeur. La

dernière proposition est que le virus utilise le mécanisme du « hit and run » ou délit de fuite virale. Il agit comme facteur provoquant des altérations puis il disparaît et n'est plus détectable [Isnard, 2010].

D'autres études ont montré que certains chiens avaient développé des carcinomes épidermoïdes cutanés au site d'injection d'un vaccin vivant contre la papillomatose orale [Isnard, 2010].

Ainsi l'association entre carcinome des cellules squameuses et papillomavirus est certaine mais le lien de causalité doit encore être déterminé.

Des parallèles ont été faits entre le carcinome épidermoïde oral du chat et celui de la tête et du cou chez l'Homme. Dans les deux cas, le tabagisme (actif ou passif) semble être un co-facteur important. Par exemple, un chat vivant chez un fumeur aurait 2 à 4 fois plus de risque de développer un tel cancer [Wypij et al, 2013].

Les papillomavirus sont normalement très spécifiques d'espèces mais l'implication de papillomavirus d'autres espèces dans les sarcoïdes équin et félins est fortement suspectée [Munday et al, 2010 ; Lange et al, 2013].

2. Les Polyomavirus

Le premier membre de la famille, le polyomavirus murin (MPyV) a été découvert en 1953 par l'équipe de Ludwig Gross. Quelques années plus tard, Stewart et Eddy, ont infecté expérimentalement deux lignées de souris de laboratoire. Dans l'une le MPyV était infectieux mais non pathogène et dans l'autre, il n'y avait pas de circulation du virus mais les souris infectées développaient des cancers [Laude, 2012]. Par la suite, le SV40 a été identifié comme non pathogène chez le singe mais oncogène chez les hamsters. Ainsi, dans leur cycle naturel chez les mammifères, les *Polyomaviridae* persistent de manière asymptomatique (chez les oiseaux, ils ont un pouvoir pathogène différent : ils sont responsables d'infections aiguës mortelles). Mais dans certains cas, rares et imprévisibles, lors d'infection de cellules non permissives, ils peuvent être responsables de cancers. Leur rôle d'agent carcinogène est connu depuis longtemps chez les animaux mais il a fallu attendre 2008 pour le mettre évidence chez l'Homme, en association avec le carcinome à cellules de Merkel [Feng et al, 2008].

L'ICTV a classé la plupart des espèces en 4 genres (*Alpha*, *Beta*, *Gamma*, *Delta polyomavirus*) constituant la famille des *Polyomaviridae*. Ces nombreux virus

infectent des oiseaux et des mammifères (singes, bovins, Hommes, souris, hamsters, rats, lapins).

3. Les Adénovirus

Ces virus ont un diamètre de capsid d'environ 90 nm (soit légèrement supérieur à ceux des deux familles précédentes). Ils ont été identifiés pour la première fois en 1953 sur des prélèvements provenant d'amygdales et de sécrétions respiratoires d'hommes atteints d'infections respiratoires aiguës [El Bakkouri et al, 2008]. Les *Adenoviridae* sont très oncogènes chez les animaux de laboratoire mais pas chez leur hôte naturel (l'Homme) chez qui l'infection conduit à la lyse cellulaire et à des affections variées (infections des voies respiratoires supérieures, de l'intestin et de l'œil). Ceci a été mis en évidence par John Trentin en 1962 avec l'induction de cancers liés à l'adénovirus humain de type 12 chez les hamsters [Laude, 2012]. Chez les bovins et ovins, ils sont à l'origine de maladies respiratoires bénignes. Chez le chien, les deux sérotypes découverts, CAV1 et CAV2, sont respectivement responsables de l'hépatite de Rubarth (symptômes respiratoires, oculaires et entériques souvent sévères) et d'une maladie respiratoire bénigne [El Bakkouri et al, 2008].

La famille compte à ce jour 5 genres :

- Les *Mastadenovirus* qui infectent de nombreux mammifères dont l'Homme, le chien, le cheval et les ruminants.
- Les *Aviadenovirus* qui n'infectent que les oiseaux
- Les *Atadenovirus*, ajoutés en 1998, dont les hôtes sont les mêmes que les deux genres précédents mais dont l'organisation génomique varie
- Les *Siadenovirus* isolés chez la grenouille et différentes espèces d'oiseaux
- Les *Ichtadenovirus* qui ne comportent qu'un seul membre, génétiquement assez éloignés des précédents et qui infecte les poissons.

Avant de développer les mécanismes de l'oncogenèse induite par ces petits virus à ADN, voici une présentation de leur structure et de leur génome.

B. Structures des petits virus à ADN

Tous sont des virus nus à capsidre icosaédrique et à ADN double brin.

1. Les Papillomavirus

Leur particule virale est constituée d'une capsidre icosaédrique à symétrie cubique composée de 72 capsomères (figure 31). Leur génome, ADN bicaténaire d'environ 8000 pb, est entouré d'une nucléocapsidre constituée de deux protéines : L1 (protéine majeure de la capsidre, qui sert à établir la phylogénie de la famille) et L2 (protéine mineure de la capsidre).

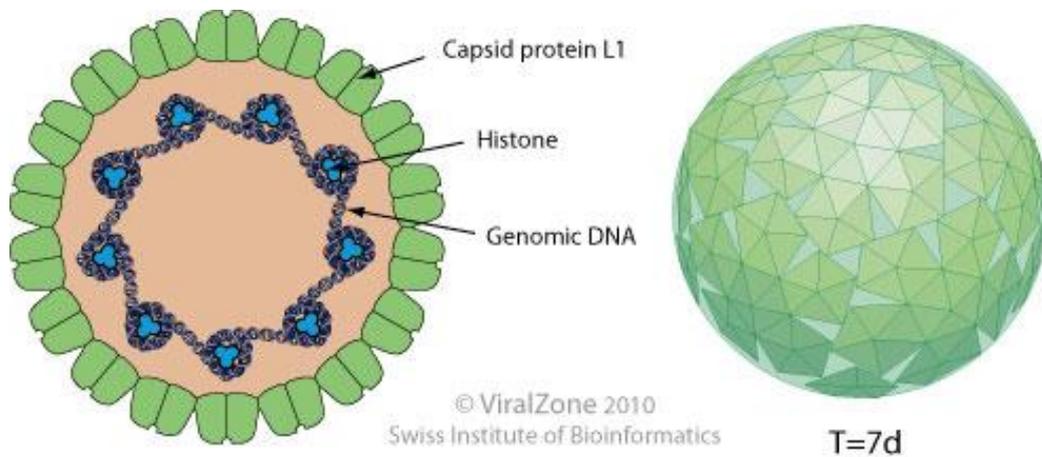


Fig. 31 : Représentation schématique de la structure des papillomavirus. Source : Viral zone (2010).

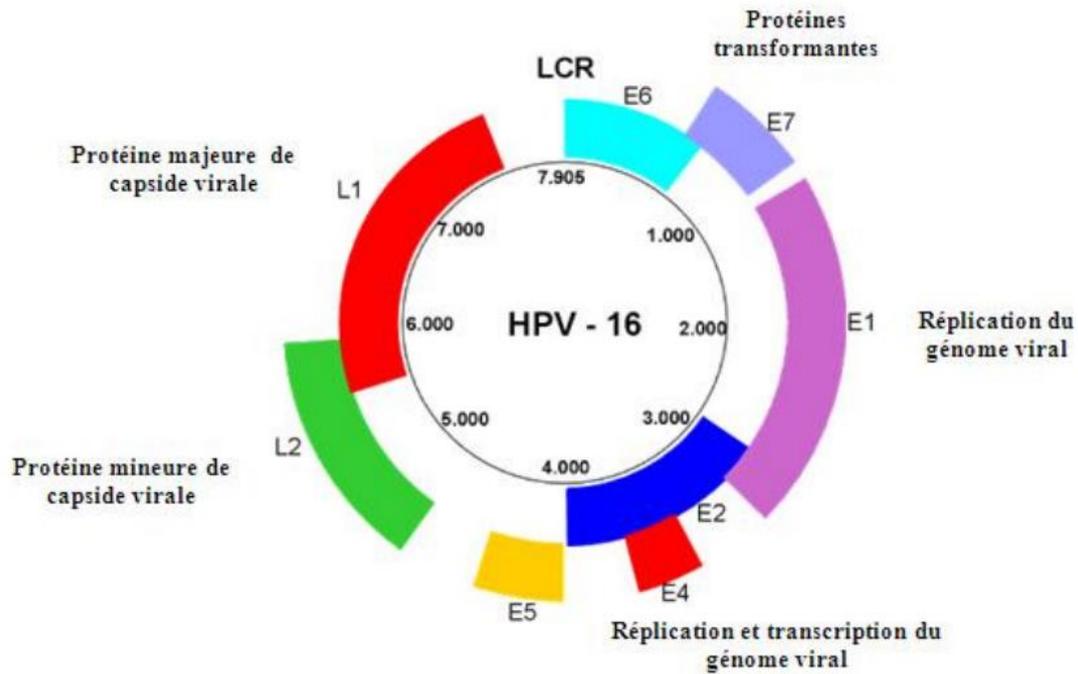


Fig. 32 : Représentation schématique du génome de HPV-16. Source : Barth (2011).

Comme observé sur la figure 32, le génome des papillomavirus est divisé en trois sections :

- La région précoce (E, « early ») qui code pour des protéines non structurales (E1 à E7)
- La région tardive (L, « late ») qui contient les gènes L1 et L2 (protéines de capsid)
- La région régulatrice (LCR, « long control region ») qui contrôle la réplication et la transcription des gènes viraux.

Le génome des virus à ADN, et donc des *Papillomavirus*, est transcrit en ARNm par l'ARN polymérase II de la cellule hôte avant d'être traduit en différentes protéines (tableau 10).

Protéine Fonction des protéines virales	
E1	Impliquée dans la réplication de l'ADN viral Très conservée au cours de l'évolution
E2	Impliquée dans la régulation de la réplication et dans la transcription virale Répression des gènes E6 et E7
E3	Pas de fonction connue
E4	Maturation et relargage des particules virales
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire par un mécanisme d'activation du récepteur à l'EGF et au PDGF
E6	Protéine oncogène se liant à p53
E7	Protéine oncogène se liant à pRb
E8	Pas de fonction connue
L1	Protéine structurale majeure de la capsidie indispensable à la formation des particules virales Se lie au récepteur de la cellule cible Source d'antigènes pour le développement de tests sérologiques ELISA et pour la production de vaccins
L2	Protéine structurale mineure de la capsidie Moins conservée que L1 Permet l'assemblage du virus et la stabilisation de la capsidie (en association avec L1)

Tabl. 10 : Les principales protéines du HPV-16 et leurs fonctions. *Source : Beaudin (2014).*

Les études in vitro et in vivo ont montré que les gènes E6 et E7 constituent les oncogènes majeurs pour les HPVs alors que c'est E5 qui joue ce rôle dans le cas des BPVs [Venuti et al, 2011].

2. Les Polyomavirus

Il s'agit de petites particules hexagonales de 40-45 nm de diamètres (figure 33). Ces petits virus fonctionnent avec moins de 10 protéines suffisantes pour détourner la machinerie cellulaire et leur permettre de se répliquer.

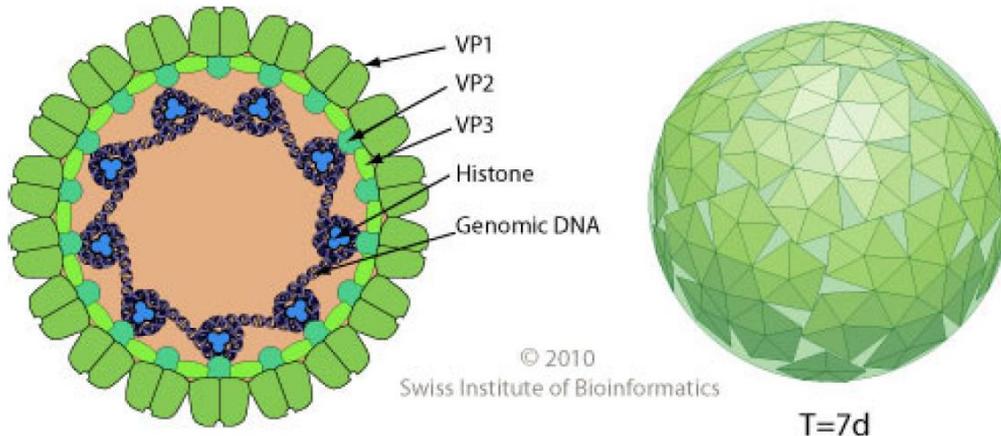


Fig. 33 : Représentation schématique de la structure des Polyomavirus. Source : *Viral Zone* (2010).

La capsid virale est ainsi formée de trois types de protéines (les protéines VP1, 2 et 3). Elle est constituée de 72 capsomères, unités comprenant 4 ou 5 molécules de VP1 associées avec une molécule de VP2 ou 3. Ainsi VP1 est majoritaire : c'est la protéine majeure de capsid. Elle joue également le rôle le plus important comme par exemple celui d'élément indispensable à l'assemblage de la capsid [Laude, 2012].

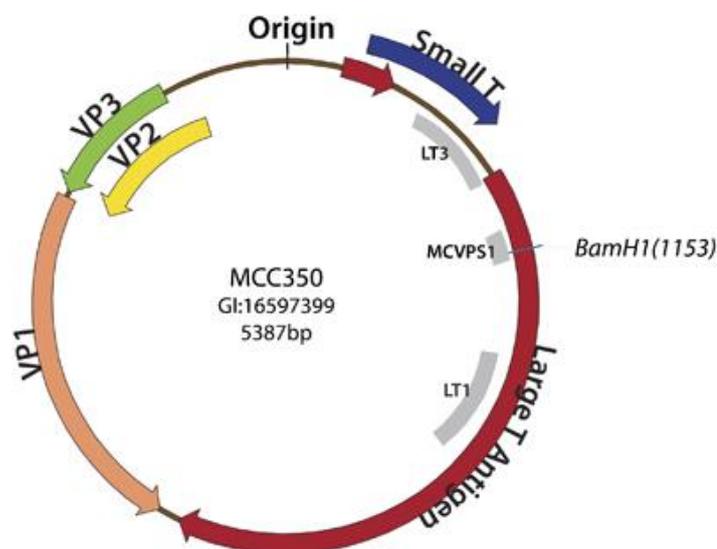


Fig. 34 : Représentation schématique du génome du polyomavirus de Merkel. *Source : Duncavage (2009).*

Le génome des Polyomavirus des mammifères porte une information génétique très réduite mais capable manipuler le cycle cellulaire de l'hôte. Il est divisé en trois régions distinctes (figure 34) :

- Deux régions codantes, non chevauchantes de taille équivalente
 - o La région précoce codant pour les antigènes tumoraux dont l'expression est indispensable à la transformation des cellules infectées : les antigènes « grand T » (LT) et « petit t » (ST)
 - o La région tardive pour les protéines de la capsid (VP1, VP2/3)
- Une région non codante : la NCCR (Non Coding Region Control ou région non codante de contrôle). Elle contient les éléments cis-régulateurs nécessaires à la réplication et à l'expression du génome viral. Elle serait également impliquée dans le tropisme cellulaire [Laude, 2012].

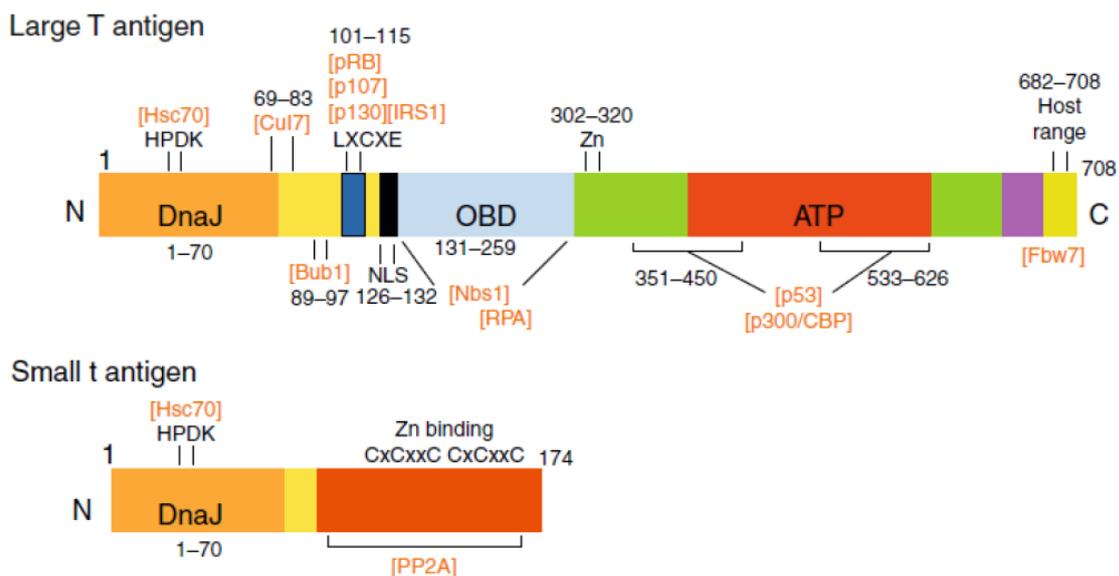


Fig. 35 : Représentation schématique des oncoprotéines des Polyomavirus. *Source : Laude (2012).*
En noir, le nom des différents domaines protéiques et en rouge les protéines cellulaires avec lesquelles ils interagissent.

Les deux protéines précoces communes à tous les Polyomavirus, LT et ST, sont multifonctionnelles et reconnues comme étant les oncoprotéines virales. Toutes deux possèdent un domaine commun à leur extrémité N-terminale, DnaJ, qui permet le recrutement de diverses protéines cellulaires (notamment celles de la famille des protéines à poche) (figure 35).

LT joue le même rôle que les protéines E6 et E7 des HPV à fort potentiel transformant : il s'agit de l'oncoprotéine majeure. Il est nécessaire et suffisant pour la transformation des cellules non permissives [May et May, 1998]. Elle possède à la fois une activité enzymatique intrinsèque et des fonctions extrinsèques via des interactions avec différentes protéines cellulaires. Ces interactions sont permises par différents domaines en plus de DnaJ et assurent des fonctions de stimulation de la prolifération cellulaire et de la transcription/réplication du génome viral [Laude, 2012] :

- un domaine de fixation à l'ubiquitine ligase Cul7 qui assure l'inhibition de la dégradation des protéines cellulaires par le protéasome
- un domaine qui interagit avec Bub-1, protéine cellulaire responsable de la ségrégation des chromosomes lors de la mitose. Cette interaction semble jouer un rôle dans le processus de transformation via l'induction d'une instabilité génomique.
- le domaine LxCxE assurant la liaison à pRb
- OBD (Origin Binding Domain) qui permet à LT de se fixer sur la NCCR et donc de stimuler la réplication de l'ADN viral. Pour cela, LT recrute également l'ADN polymérase [Hunt et McIlroy, 2014].
- un domaine hélicase-ATPase qui est responsable de la dissociation des brins d'ADN viraux lors de la réplication
- un domaine assurant l'interaction avec p53

ST joue un rôle accessoire dans la réplication du génome viral. Grâce à son domaine particulier, il inhibe l'activité enzymatique de la famille de phosphatases PP2A. Ces phosphatases sont des facteurs de régulation négatifs du cycle cellulaire donc leur inhibition lève l'arrêt du cycle cellulaire [Hunt et McIlroy, 2014].

3. Les Adénovirus

Les structures des différents adénovirus ne sont pas exactement les mêmes en terme de composition en protéines majeures et mineures [El Bakkouri et al, 2008]. Les protéines structurales majeures, qui constituent la plus grande partie de la capsid, sont les suivantes (figure 36 A) :

- l'hexon ou protéine II, la plus abondante

- la base du penton, protéine III, qui permet aussi l'internalisation du virion
- la fibre, protéine IV, assure la première fixation du virus à la cellule hôte.

Les protéines mineures (IIIa, VI, VIII et IX) permettent la stabilisation et l'étanchéité de la structure. La dernière, présente uniquement dans le genre Mastadénovirus, aurait également un rôle transactivateur de la transcription des ARNm viraux.

L'ADN viral est complexé avec différentes protéines : V, VII, Tp (pour « Terminal protein ») et X. La protéine Tp protège le génome contre la dégradation et permet sa réplication au cours du cycle. La protéine VII recouvre l'ADN et assure son compactage au sein de la capside en association avec la protéine X. Seuls les *Mastadenovirus* comportent une protéine V qui semble intervenir dans le maintien du nucléoïde dans la capside [El Bakkouri et al, 2008].

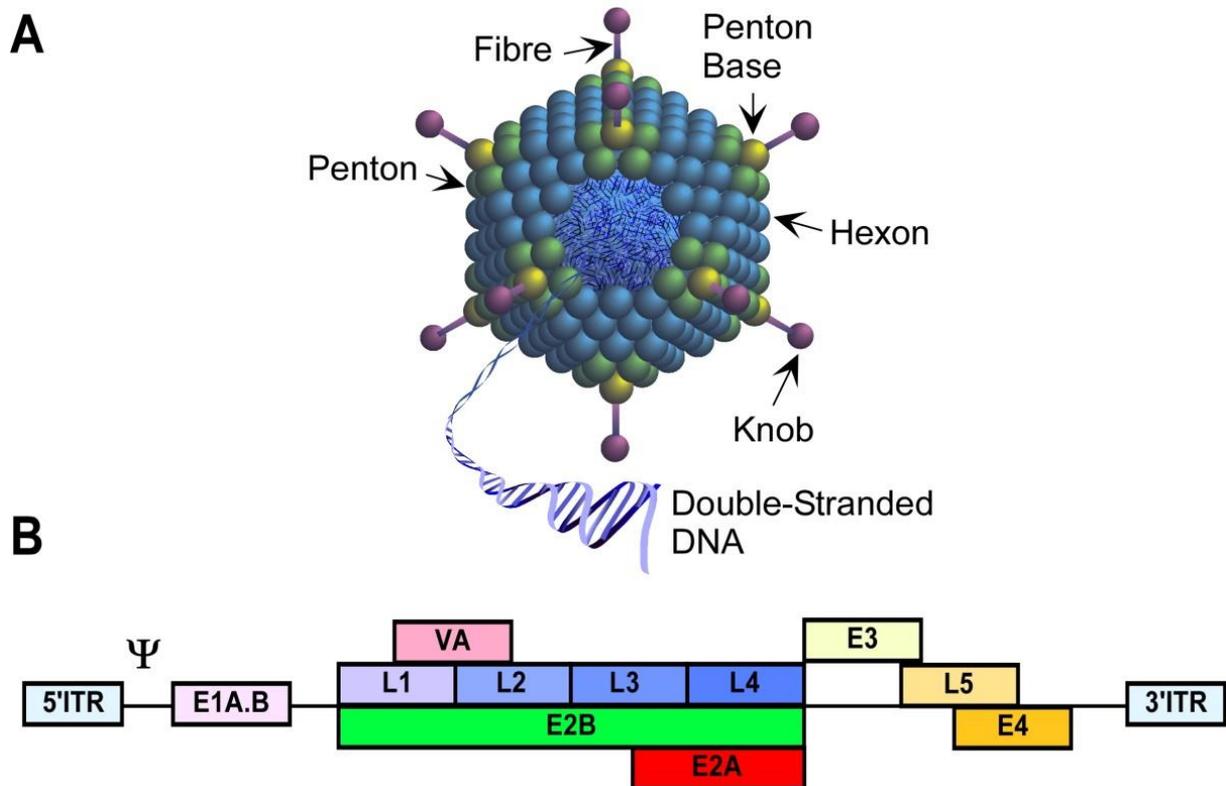


Fig. 36 : Représentations schématiques de la structure et du génome des adénovirus. Source : Al-Allaf (2010).

Comme observé sur la figure 36 B, le génome des adénovirus possède différentes régions. La plus importante pour nous est *E1* qui comprend les deux oncogènes *E1A* et *E1B*.

E1A est le principal oncogène des adénovirus. Il code pour deux protéines qui entraînent : l'induction de l'expression d'autres gènes viraux précoces, la stimulation de la synthèse d'ADN cellulaire et l'accumulation de p53. Ainsi *E1A* peut provoquer une entrée non régulée en phase S et l'immortalisation des cellules infectées. Par contre ses transcrits, qui sont respectivement de 289 et 243 acides aminés, ne sont pas suffisants pour obtenir des cellules transformées stables [Branton et Querido, 1997]. L'analyse des séquences d'E1A-289R et E1A-243R dans différents sérotypes a révélé l'existence de trois régions très conservées indispensables pour les interactions avec les protéines cellulaires. CR1 (*conserved region*) et CR2 présentes dans les deux produits et CR3 spécifique d'E1A-289R.

Les produits d'E1B interviennent pour bloquer l'apoptose normalement relayée par p53. Les deux principaux sont une protéine de 55kDa qui se lie à p53 pour l'inactiver et une autre, de 19kDa, qui agit de la même manière que la protéine cellulaire Bcl-2. Il faut noter que ces deux transcrits sont suffisants pour obtenir une transformation complète [Branton et Querido, 1997].

La partie suivante vise à expliciter les mécanismes par lesquels ces petits virus à ADN, grâce à leurs oncogènes, parviennent à « détraquer » le cycle cellulaire.

C. Mécanisme d'oncogénèse

Avant d'essayer de clarifier les mécanismes par lesquels ces virus deviennent transformants, il semblait indispensable de revenir sur la notion de cellule permissive.

1. Notion de cellule permissive ou non

Dans une cellule permissive, l'infection est dite productive car elle aboutit à la libération de nouveaux virions. L'ensemble des gènes viraux vont s'exprimer tour à tour. D'abord les gènes précoces qui vont conduire à la réplication du génome viral. Ensuite les gènes tardifs, codant pour les protéines structurales. Ces-dernières vont

permettre la formation de nouveaux virions qui seront libérés par la lyse de la cellule infectée. Ce cycle réplcatif est dit lytique.

Dans d'autres cas, lorsque le virus infecte des cellules dites non permissives, cela peut conduire soit à leur transformation, soit à l'élimination de l'agent pathogène. Le cycle est alors dit abortif (ou non productif) et survient généralement chez un hôte qui n'est pas l'hôte naturel du virus (figure 37). En effet, ce dernier ne peut alors pas recruter tous les facteurs cellulaires nécessaires à sa réplication. Les gènes tardifs ne sont pas exprimés : pas de synthèse des protéines structurales et donc pas de libération de nouveaux virions. Les oncoprotéines (E6, E7, LT, E1A, E1B), quant à elles, sont produites de façon persistante [Alain et al, 2010].

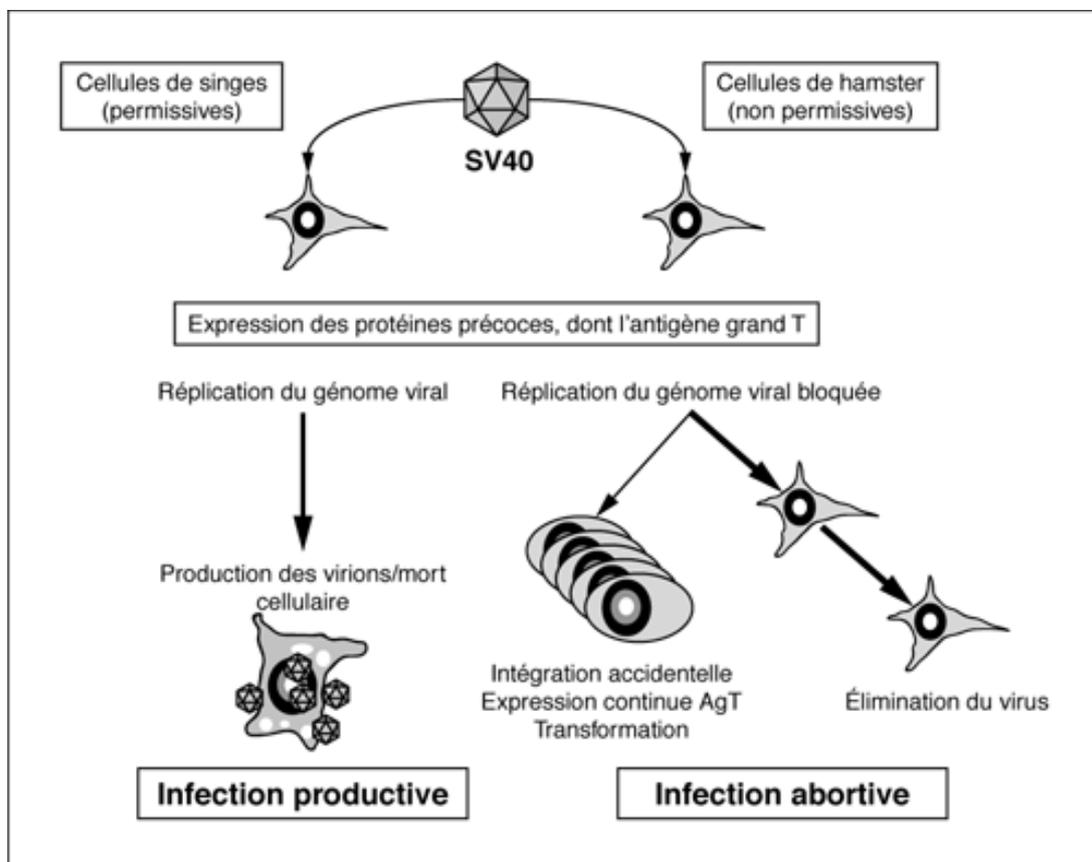


Fig. 37 : Cycle lytique ou abortif lors d'une infection par le SV40. Source : Maréchal et Piolot (1999).

2. L'intégration du génome viral : première étape de l'oncogénèse

L'intégration du génome viral dans le génome cellulaire constitue un élément clé dans l'évolution vers un cancer.

En effet, dans la majeure partie des infections par un *Papillomavirus*, le cycle est lytique et l'ADN viral est sous forme épisomale dans la cellule hôte. Il est circularisé, capable de se répliquer mais non intégré au génome hôte. Mais il est prouvé que dans 90% des cas de cancer induit par ces virus chez l'Homme le génome viral est intégré et que cette intégration est systématique lors de cancer lié à HPV-18 [Beaudin et al, 2014]. Ce lien entre intégration virale et cancérisation s'explique par le fait que la zone de clivage se situe généralement au sein de la séquence *E2* [Beaudin et al, 2014]. Or cette protéine joue le rôle de régulateur négatif de l'expression des gènes *E6* et *E7*. Ainsi l'intégration du génome viral conduit à une levée de la répression et donc à une hyperexpression des oncogènes viraux.

De manière générale les oncoprotéines virales ciblent des régulateurs de la prolifération, de l'apoptose, de la stabilité génomique et de l'immortalisation. Une des contributions majeures de la recherche sur les petits virus à ADN est la découverte des oncogènes viraux capables de se lier et de perturber le fonctionnement de certains gènes suppresseurs de tumeur. Ceci a été démontré pour la première fois avec la protéine E1A et le produit du gène *RB* [Howley et Livingston, 2009].

3. Interaction avec les membres de la famille des protéines à poche

Pour rappel, les gènes de la famille *RB* codent pour des protéines possédant un domaine en poche leur permettant d'assurer des interactions fonctionnelles avec d'autres protéines (notamment de la famille E2F). Elles ont une activité anti-proliférative de par leur capacité à réguler négativement le cycle cellulaire. Une altération des fonctions de ces protéines à poche a été observée du fait d'interférence avec de nombreux produits des petits virus à ADN (*E7*, *E1A* et *LT*). Il faut noter que c'est la forme hypophosphorylée de pRb qui peut interagir avec ses cibles physiologiques et avec les oncoprotéines virales [Branton et Querido, 1997].

Prenons l'exemple des adénovirus dont la région précoce *E1A* est une des plus étudiée en oncologie humaine. Comme nous l'avons présenté précédemment, cette région code pour deux protéines majeures (243R et 289R) qui possèdent deux régions fortement conservées, CR1 et CR2, leur permettant d'interagir avec les protéines à poche de la famille de pRb [Felsani et al, 2006].

E1A va dissocier les complexes entre pRb et E2F via un mécanisme en deux étapes [Felsani et al, 2006]:

- L'interaction initiale avec le complexe pRb-E2F est liée à la très haute affinité de CR2 pour pRb. CR2 possède le motif LxCxE indispensable pour cibler le domaine B de pRb et assurant la formation d'un complexe E1A-pRb-E2F. Ce dernier entraîne une augmentation de la concentration de CR1 à proximité de son site de liaison à pRb.
- CR1 entre alors en compétition avec E2F dans la liaison à pRb. Tous deux interagissent avec la même région de pRb et avec à peu près la même affinité.

Les effets cumulés de CR1 et CR2 permettent à E1A d'avoir une affinité pour pRb plus forte qu'E2F. Les complexes pRb-E2F vont alors se dissocier pour respecter l'équilibre, E2F va être libéré et va pouvoir activer la transcription de nombreux gènes dont ceux intervenant dans le passage en phase S et aboutissant à la synthèse d'ADN. E2F sous forme libre peut aussi se complexer au produit du gène viral précoce *E4* lui permettant de se fixer au promoteur *E2* du virus et de le stimuler, ou avec des équivalents cellulaires de *E4* afin d'activer l'expression de proto-oncogènes (*c-fos*, *c-myc*) [Rustgi et al, 1991]. L'activation d'E2F conduit aussi à une accumulation de p53 qui devrait induire l'apoptose.

LT et E7 agissent comme E1A en altérant les fonctions des facteurs de la famille Rb [Felsani et al, 2006]. Ces protéines virales ont des structures très proches dans certains domaines (comme par exemple le motif LxCxE) mais interviennent dans des mécanismes moléculaires différents. Les petits virus à ADN auraient acquis des structures moléculaires via différentes voies évolutives afin d'effectuer différentes tâches pour remplir un objectif commun : celui de se fixer à la protéine pRb et d'inactiver sa capacité à réguler l'activité E2F [Howley et Livingston, 2009].

Les petits virus à ADN présentés ici, sont dépendants de multiples facteurs cellulaires pour assurer la réplication de leur génome et doivent induire l'entrée de la cellule en phase S. Ce démarrage forcé en cycle de réplication cellulaire déclenche normalement une apoptose que les virus doivent réguler pour poursuivre leur propre cycle.

4. Régulation de l'apoptose

Comme décrit dans la partie précédente, la protéine E1A des adénovirus stimule la synthèse de l'ADN et donc de *p53* qui va induire l'apoptose. Une autre région des adénovirus, la région *E4*, trans-active l'expression de certains gènes conduisant à la synthèse de protéines létales qui vont déclencher une apoptose indépendante de *p53* [Branton et Querido, 1997]. Cette apoptose, si elle est trop précoce, empêcherait le cycle viral de s'achever (et donc la réplication du virus) et ne permettrait pas la transformation des cellules de rongeurs infectées par un adénovirus.

Pour rappel, l'apoptose est sous contrôle génétique. Elle implique de multiples effecteurs et joue un rôle majeur dans le contrôle de l'homéostasie, le développement et la défense de l'hôte. Le principal signal apoptotique est l'activation de *p53* en réponse à divers stimuli (dommages à l'ADN, activation de l'expression d'oncogènes...) ; mais il existe d'autres voies qui n'impliquent pas *p53*.

Après avoir défini de manière très synthétique le processus de mort cellulaire programmée, nous allons revenir sur l'implication des petits virus à ADN.

Chez les adénovirus, les deux produits de *E1B*, E1B-55K et E1B-19K, interviennent pour empêcher l'apoptose. E1B-55K se lie à *p53* et l'inactive, empêchant ainsi l'activation de l'apoptose. E1B-19K quant à elle, fonctionnerait comme un analogue de Bcl-2 en bloquant les stades terminaux par ses liaisons avec des inducteurs de la mort cellulaire programmée tels que Bax. La région *E3* semble également intervenir dans l'apoptose liée aux signaux extracellulaires. En effet, elle code pour des protéines qui bloquent la réponse inflammatoire normalement induite par l'infection virale [Branton et Querido, 1997] (figure 38).

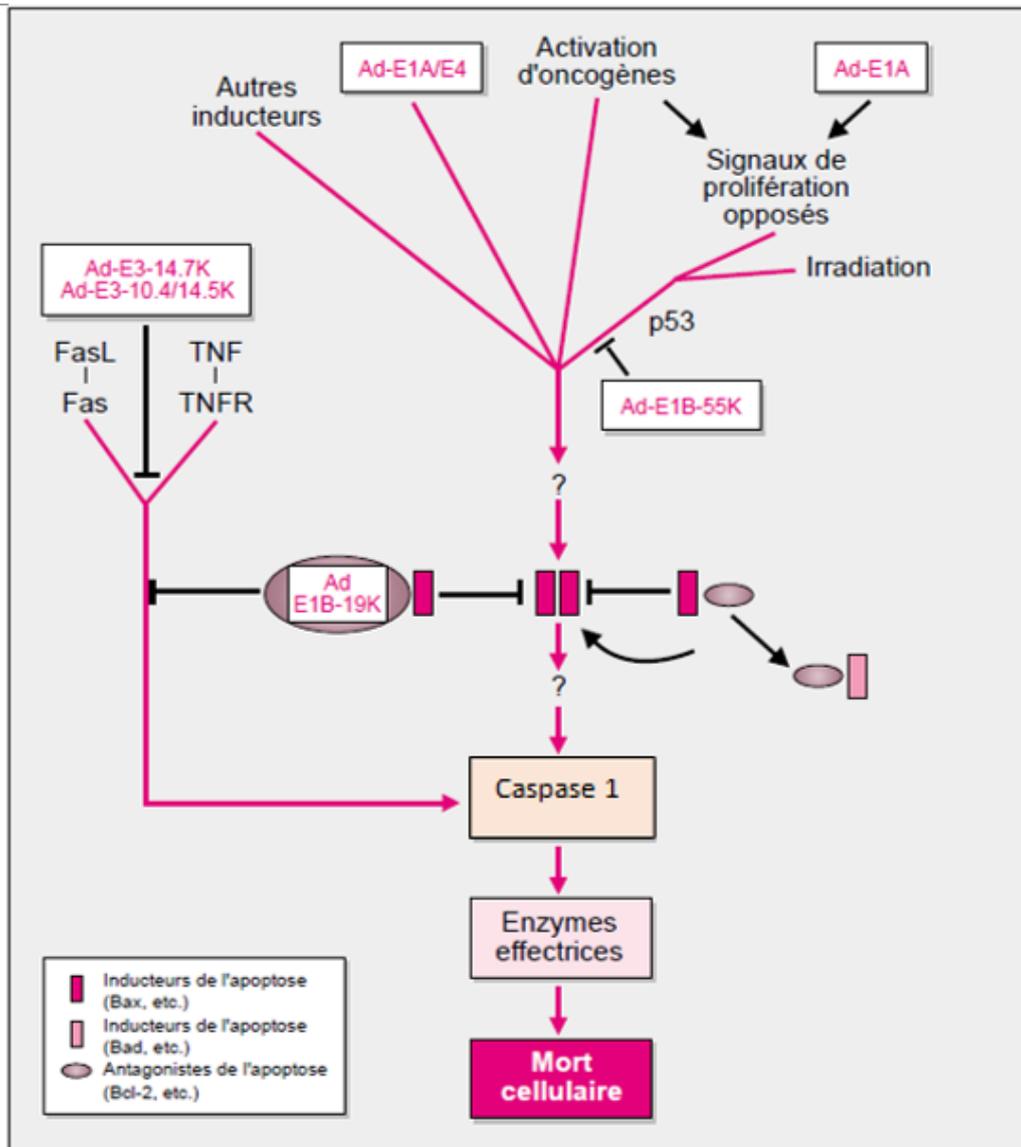


Fig. 38 : Induction de l'apoptose par les adénovirus. Source : Branton et Querido (1997).
Caspase 1 pour cysteine-dépendant aspartate-directed proteases.

L'antigène T agit comme E1B en séquestrant p53, causant ainsi son inactivation. L'oncoprotéine des papillomavirus E6 intervient en dégradant p53 par la protéolyse contrôlée par le système ubiquitine [May et May, 1998] (tableau 11).

Famille de virus	Liaison à pRb	Liaison à p53
<i>Adenoviridae</i>	E1B	E1A
<i>Papillomaviridae</i>	E7	E6
<i>Polyomaviridae</i>	LT	LT

Tabl. 11 : Interactions entre les oncoprotéines des petits virus à ADN et pRb, p53.

Ainsi les oncoprotéines virales majeures interagissent avec pRb et p53. Ces deux suppresseurs de tumeur essentiels sont alors inhibés et donc inactivés ce qui permet de stimuler l'entrée en phase S tout en empêchant la destruction des cellules transformées. Nous allons maintenant voir, à travers l'exemple des papillomavirus, comment ces protéines virales coopèrent afin de permettre la prolifération des cellules infectées.

5. Coopération des oncoprotéines virales

En se liant à différentes protéines cellulaires, E6 est à elle seule, capable d'entraîner l'immortalisation des cellules infectées. Par contre, la transformation des kératinocytes par les papillomavirus nécessite l'intervention d'une deuxième protéine virale : E7 [Beaudin et al, 2014]. Sa liaison aux pRb les empêchent de jouer leur rôle de régulateurs des E2F d'où une expression anormale des gènes de transition G1/S et donc une prolifération cellulaire. Celle-ci devrait normalement constituer un signal inducteur d'apoptose mais celui-ci est bloqué par les actions d'E6 (figure 39).

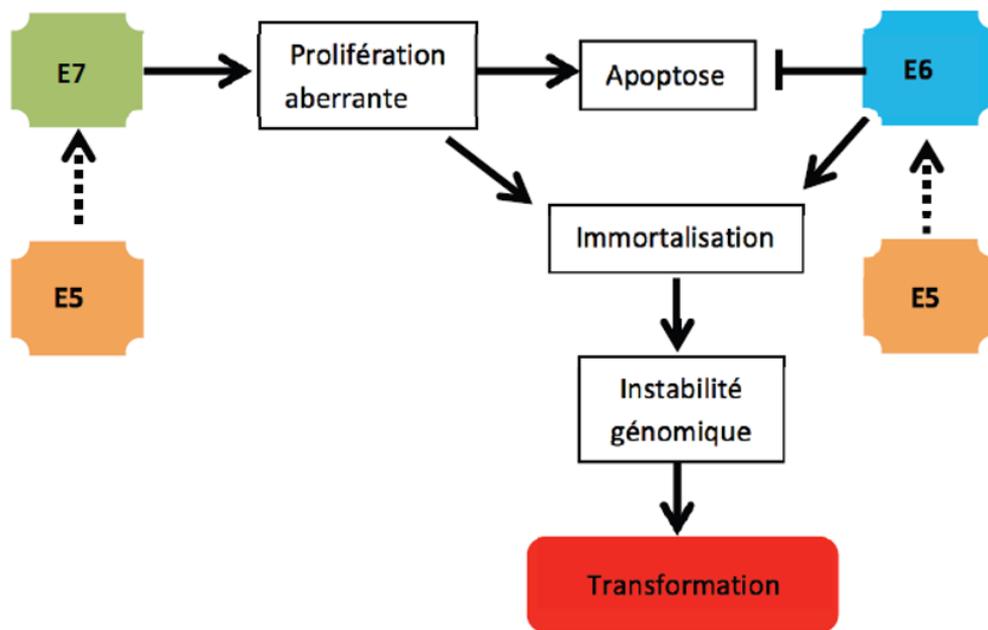


Fig. 39 : Coopération entre E6 et E7 dans le processus de cancérisation par les papillomavirus.
 Source : Beaudin (2014).

Une coopération efficace entre ces deux oncoprotéines conduit à l'immortalisation des cellules infectées par un papillomavirus.

Une troisième protéine précoce E5 amplifie le processus. Mais des études sur les papillomavirus bovins et canins tendent à montrer qu'elle pourrait aussi être une oncoprotéine vraie dont l'expression suffirait à induire le développement d'un cancer [Venuti et al, 2011 ; Di Maio et al, 2001]. E5 serait impliquée dans différents processus biologiques tels que l'activation des récepteurs aux facteurs de croissance, l'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte et la koilocytose [Condjella et al, 2009].

Cette petite protéine hydrophobe d'une quarantaine d'acides aminés (44 pour BPV-1, 42 pour BPV-4) localisée dans la membrane de l'appareil de Golgi [Borzacchiello et al, 2010] va se lier au domaine transmembranaire de la sous-unité β du récepteur PDGF. Ceci va entraîner la dimérisation puis l'autophosphorylation du récepteur qui va alors pouvoir recruter des protéines de signalisation cellulaire pour activer différentes voies qui vont intervenir dans le développement du cancer induit par BPV.

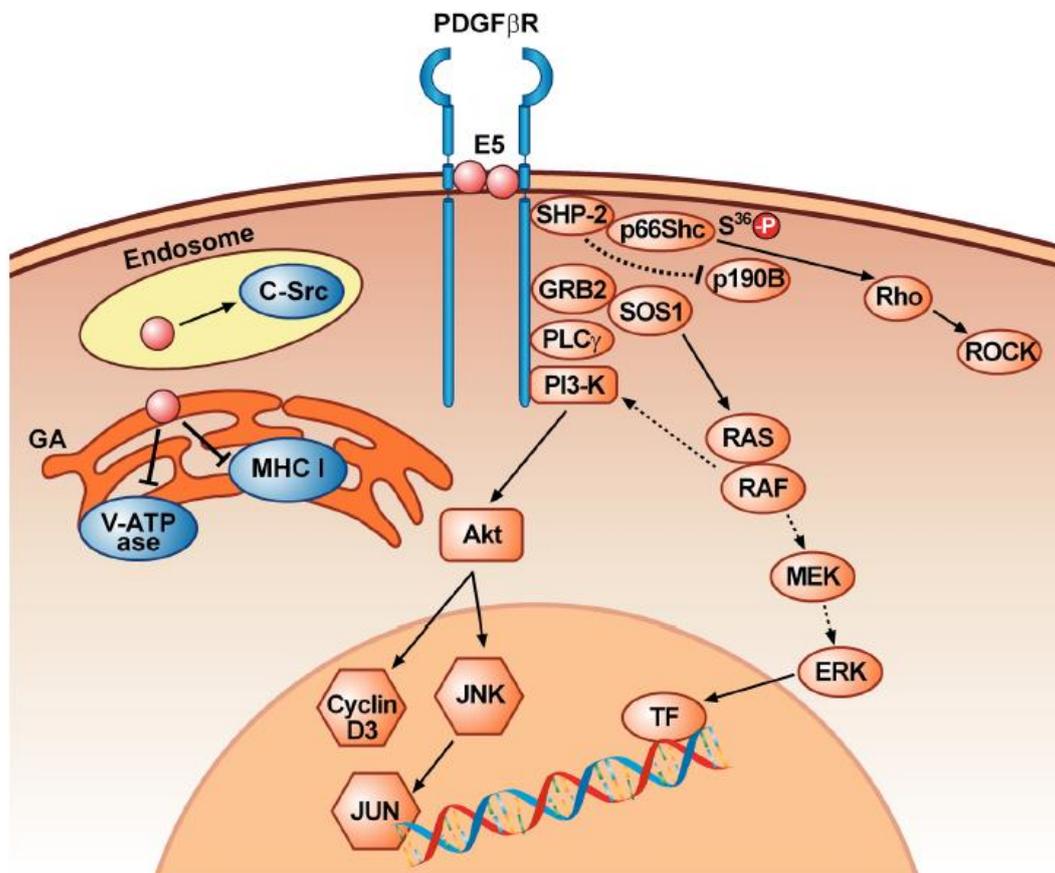


Fig. 40 : E5 et la transformation cellulaire. Source : Venuti (2011).

Ainsi le complexe formé par E5 n'a pas d'activité enzymatique intrinsèque mais va intervenir dans la transformation en modulant l'activité de protéines cellulaires connues comme étant des régulateurs du cycle cellulaire [Di Maio et al, 2001] (figure 40).

E5 peut aussi interagir avec *c-src* dans l'appareil de Golgi et entraîner son activation constitutive. Elle perturbe également l'activité physiologique de l'ATPase vacuolaire. En se liant à la sous-unité transmembranaire de cette enzyme responsable du contrôle du pH des différents organites intracellulaires, E5 inhibe son assemblage correct avec les pompes à protons. L'alcalinisation persistante de l'appareil de Golgi va être à l'origine de modifications de l'activité de nombreuses protéines qui transitent par cet organite et qui sont importantes dans la régulation.

Le rôle de la protéine virale précoce E5 a également été étudié chez le papillomavirus canin CfPV-2. Celui-ci est responsable de tumeurs de l'épiderme mais en cas de persistance, des carcinomes spino-cellulaires se développent. Il possède de grandes similitudes avec le HPV-16 et l'étude de sa protéine E5 permet d'en préciser l'implication y compris chez l'Homme.

Cette coopération entre les oncoprotéines virales se retrouve chez les autres petits virus à ADN. Chez les polyomavirus par exemple, LT serait suffisant mais il coopère avec ST et des produits d'oncogènes cellulaires pour être plus efficace dans la dérégulation de la prolifération et de l'apoptose cellulaire.

6. Echappement au système immunitaire de l'hôte

La suppression de la réponse immunitaire semble importante dans le processus d'oncogenèse. Par exemple, les adénovirus échappent au système immunitaire de l'hôte en régulant négativement l'expression des gènes du CMH [Howley et Livingston, 2009]. Les cellules infectées ne sont alors plus reconnues par les cellules T cytotoxiques. Plusieurs mécanismes sont proposés : une inhibition de la synthèse des molécules de classe I du CMH pour l'adénovirus de type 12 ou une intervention de la protéine E3 de l'adénovirus de type 2 qui en se complexant avec ces mêmes molécules, empêcherait leur transport vers la surface cellulaire.

Après avoir explicité les rôles des différentes protéines des petits virus à ADN dans l'oncogenèse, il faut rappeler que la présence de certains co-facteurs environnementaux ou génétiques est souvent indispensable à l'évolution maligne. Par exemple, le tabagisme et l'alcoolisme chez l'Homme, ou la fougère aigle chez les bovins, semblent majeurs dans la carcinogénèse liée aux papillomavirus.

De plus il est important de rappeler que les recherches toujours en cours sur les virus oncogènes permettent de clarifier ou de découvrir des mécanismes. En 2010, un nouveau polyomavirus oncogène est identifié : le *raccoon polyomavirus*, unique exemple de cette famille, entraînant naturellement des tumeurs dans une autre espèce que l'Homme [Brostoff et al, 2014]. Sa particularité est qu'il n'est retrouvé que sous forme épisomale lors de tumeurs : il ne semble pas y avoir d'intégration de son génome. Comme nous l'avons présenté, chez les autres virus carcinogènes, l'intégration du génome constitue une étape précoce et importante dans la transformation. Elle permet de stabiliser le génome viral et d'inhiber l'infection lytique en modulant l'expression des gènes viraux (diminution de l'expression des gènes codant pour des protéines de structure tout en favorisant l'expression des gènes

précoces). Ce polyomavirus pourrait constituer un modèle pour un nouveau mécanisme d'oncogenèse mais les études sont limitées par l'épidémiologie de ce type de tumeur chez les rats laveurs.

III. LES HERPESVIRUS

Nous allons maintenant aborder une partie sur les herpèsvirus dont plusieurs sont oncogènes chez l'Homme ou l'animal. Afin de décrire les mécanismes par lesquels ils induisent la formation de tumeurs, nous allons nous appuyer sur deux exemples : le virus d'Epstein-Barr (EBV) et le virus de la maladie de Marek (MDV).

A. Généralités sur les herpèsvirus

1. Une famille hétérogène

La famille des *Herpesviridae* compte environ 120 espèces qui infectent une grande variété d'organismes vivants et qui sont parmi les parasites intracellulaires les mieux adaptés à leur hôte. Etymologiquement, leur nom vient du grec *herpes* qui signifie ramper (comme un serpent) et qui fait référence à leur capacité à rester sous forme dormante dans différents types cellulaires de l'hôte. Dans cet état de latence qui fait suite à la primo-infection, leurs génomes se retrouvent sous forme épisomale avec expression d'un minimum de gènes (ceux nécessaires à leur maintien). Ceci limite la reconnaissance de la cellule infectée par le système immunitaire [Trempe, 2013].

Leur particule virale de 180 à 200 nm diamètre, est constituée d'une capsidie icosaédrique de 162 capsomères recouverte d'un tégument et entourée d'une enveloppe dérivée de la membrane nucléaire. Ces virus ont un génome à ADN double brin linéaire trois à cinq fois plus grand que celui des *Adenoviridae* (de 150 à 230 000 pb) qui code pour une centaine de protéines [Huraux, 2006]. L'organisation de ce génome est très variable d'un herpèsvirus à l'autre.

La division des *Herpesviridae* en trois sous-familles reposait initialement sur les seules propriétés biologiques des espèces puis elle a été confirmée par des analyses phylogéniques (figure 41). Les espèces intéressantes en matière d'oncologie, appartiennent à la sous-famille des *Gamma-herpesvirinae*.

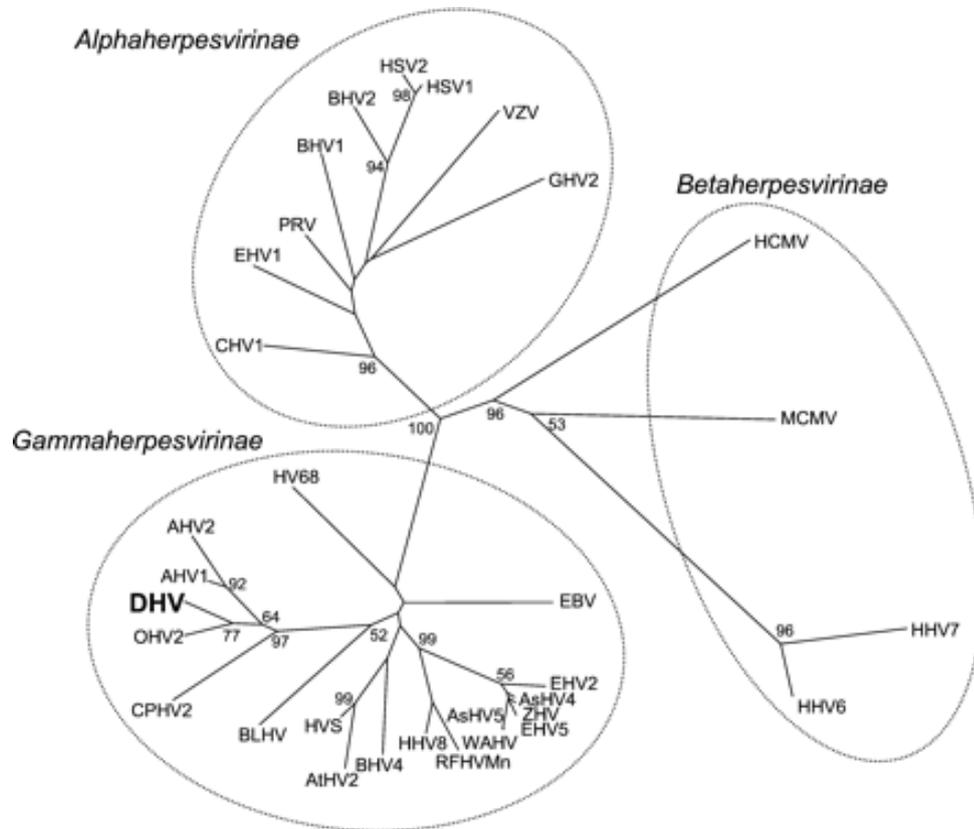


Fig. 41 : Classification simplifiée des Herpesviridae. Source : Kleiboeker (2002).

2. Une réplication en trois phases

Les bases de la réplication virale ont été rappelées dans le premier chapitre. Chez les herpèsvirus, celle-ci se fait en trois phases successives (figure 42) :

- très précoce : synthèse des protéines activatrices
- précoce : synthèse des protéines virales (dont une ADN polymérase virale)
- tardive : synthèse des protéines de structure

Entre les phases précoce et tardive, l'ADN polymérase virale synthétisée en deuxième phase, permet la réplication de l'ADN viral. Son rôle clé en a fait une cible de choix pour les antiviraux actuels.

Expression successive de trois lots de gènes viraux

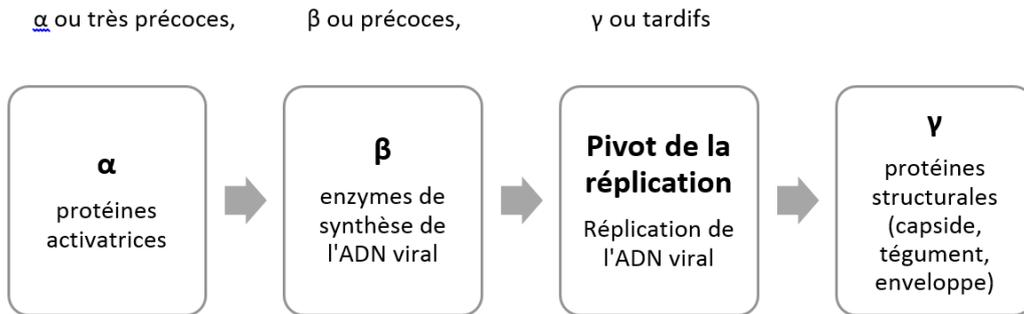


Fig. 42 : La réplication des *Herpesviridae*. Source : Huraux (2006).

Les transcrits des gènes α sont dits « très précoces » (Immediate-Early genes). Ils sont importés dans le noyau où ils permettent l'activation des promoteurs β . Les ARNm β sont également des transcrits précoces car ils sont produits avant la réplication de l'ADN viral. Les protéines β , dont font parties l'ADN polymérase virale, des protéines de liaison d'ADN, la thymidine-kinase virale et la ribonucléotide réductase, sont impliquées dans la régulation de l'expression des gènes viraux et dans la synthèse de l'ADN. Par exemple, les deux dernières permettent la production des désoxyribonucléotides tri-phosphate (dNTP, substrats pour la synthèse de l'ADN). La réplication de l'ADN est alors possible dans les cellules quiescentes où les dNTPs ne sont normalement présentes qu'en très faible quantité. Les ARNm γ sont ensuite transcrits, exportés, puis traduits dans la plupart des cas, en protéines structurales, dans le cytoplasme. Au cours du stade tardif, l'expression des gènes β diminue, probablement du fait d'une régulation de leur transcription par l'une des protéines γ .

Il faut noter qu'il n'y a pas d'organisation apparente du génome des *Herpesviridae* en blocs de transcription précoce ou tardive : les gènes α , β , et γ sont distribués un peu partout [Hunt et McIlroy, 2013].

3. HPV et pathologies

Les Herpèsvirus sont responsables de différentes pathologies (nerveuse, respiratoire, reproduction...) et dans des circonstances particulières, certains (sujets de cette thèse), vont se révéler oncogènes. C'est le cas des virus d'Epstein-Barr (EBV ou HHV-4 pour Herpèsvirus humain de type 4) (figure 43) et de l'herpèsvirus

humain de type 8 (HHV-8) chez l'Homme ou encore du virus de la maladie de Marek chez les poulets.

B. Virus d'Epstein-Barr et lymphomes

1. Présentation du virus d'Epstein-Barr

Ce virus est l'agent de la mononucléose infectieuse mais il est également associé à différents cancers lymphoprolifératifs [Hunt et al, 2013 ; Hardivilliers, 2007 ; Gourzones, 2012] : lymphomes de Burkitt, lymphomes des cellules B chez les immunodéprimés, tumeurs épithéliales telles que les carcinomes nasopharyngés et gastriques, lymphomes hodgkiniens, tumeurs des glandes parotides chez les Inuits, syndrome de Duncan et lymphomes des cellules T.

L'EBV a été découvert en 1964 dans des lymphocytes B provenant d'individus africains atteints de lymphomes de Burkitt, un cancer de la joue. Il est le premier virus être clairement mis en cause dans la genèse de cancers chez l'Homme. Cette association s'est appuyée sur plusieurs arguments dont : une élévation des titres en anticorps dirigés contre les antigènes d'EBV chez les patients atteints de lymphome de Burkitt ou encore le développement de tumeurs chez les primates non humains après infection par EBV [Gourzones, 2012].

Cependant, il s'agit d'un virus ubiquitaire qui infecte 95% de la population mondiale, donc les cancers observés dans certaines conditions résultent d'une conjonction de différents facteurs (viraux, immunitaires ou environnementaux). Dans le cas du carcinome nasopharyngé, dont la prévalence est plus élevée en Chine et en Asie du sud-est, certains aliments tels que les poissons salés et les nitrosodiméthylamines semblent jouer ce rôle de co-facteurs [Hunt et al, 2013]. Concernant le lymphome de Burkitt, il a été remarqué qu'il était endémique dans les mêmes régions tropicales que le paludisme (Ouganda, Mozambique, Malaisie, Brésil...). Ainsi, l'infection à *Plasmodium falciparum* serait un co-facteur : elle provoque une immunosuppression qui semble prédisposer aux effets de l'EBV et au développement de lymphome des cellules B [Hardivilliers, 2007].

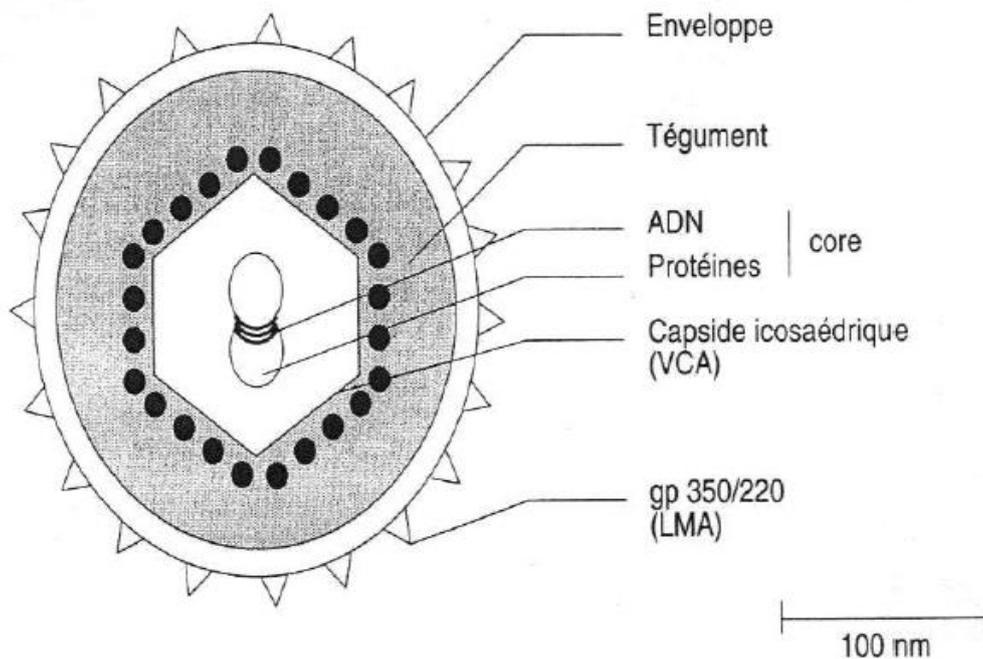


Fig. 43 : Représentation schématique du virus d'Epstein-Barr. Source : Barth (2011).

Le virus d'Epstein-Barr se transmet par la salive et peut infecter deux types de cellules : les cellules épithéliales et les lymphocytes.

i. Les étapes cellulaires de l'infection par l'EBV

Le récepteur permettant l'entrée d'EBV est le CD21 (le récepteur de faible affinité pour des produits de clivage du complément). Il est retrouvé sur les lymphocytes B et T et dans une moindre mesure sur les cellules épithéliales [Gourzones, 2012]. Après infection, deux mécanismes d'interaction entre l'EBV et la cellule sont possibles :

- L'infection latente, caractérisée par l'absence de production de particule virale, une expression d'antigènes viraux réduite et des cellules généralement prolifératives. Dans ce cas, le génome viral se maintient dans le noyau sous forme épisomale. Seuls les gènes de latence sont exprimés : leurs produits sont indispensables au maintien du génome viral et à la transformation. Différents programmes de latence peuvent être exécutés (0, I, II ou III). Chacun est spécifique de lignées cellulaires, donc de certains cancers et se caractérise par l'expression de protéines de latence particulières.
- L'infection lytique et productive au cours de laquelle l'expression d'un plus grand nombre de protéines virales permet la fabrication de nouveaux virions.

Elle favorise la dissémination du virus mais conduit à la mort de la cellule infectée.

Avant de détailler les protéines de latence du virus d'Epstein-Barr, nous allons présenter brièvement son génome.

ii. Le génome de l'EBV

Il est constitué de deux domaines uniques séparés par la région répétée interne 1 (IR1, internal repeat 1) (figure 44) :

- un domaine court de 15000 pb (US, short unique region)
- un domaine long de 150000 pb (UL, long unique region) : constitué de quatre domaines uniques (U1, U2, U3 et U4) séparés par trois séquences répétées internes (IR2, IR3 et IR4)

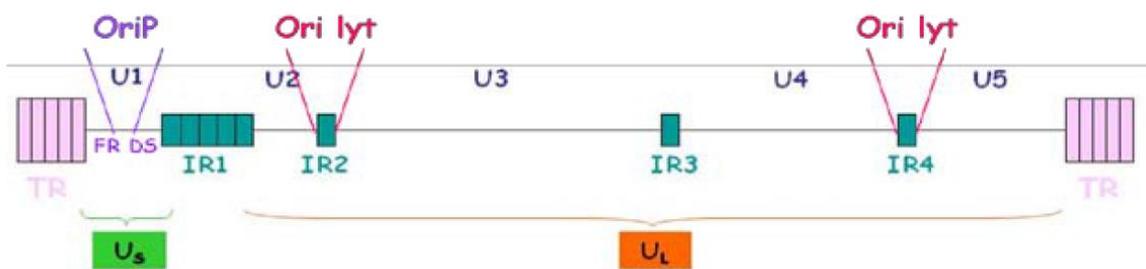


Fig. 44 : Organisation génomique linéaire de l'EBV. Source : Chanut (2010).

TR = Terminal Repeats, IR = Internal Repeats, U = Unique Region, OriP et Ori lyt.= origines de réplication.

Les deux séquences répétées (TR, terminal repeat) situées aux extrémités du génome sous forme linéaire vont, par leur fusion, assurer sa circularisation (figure 45).

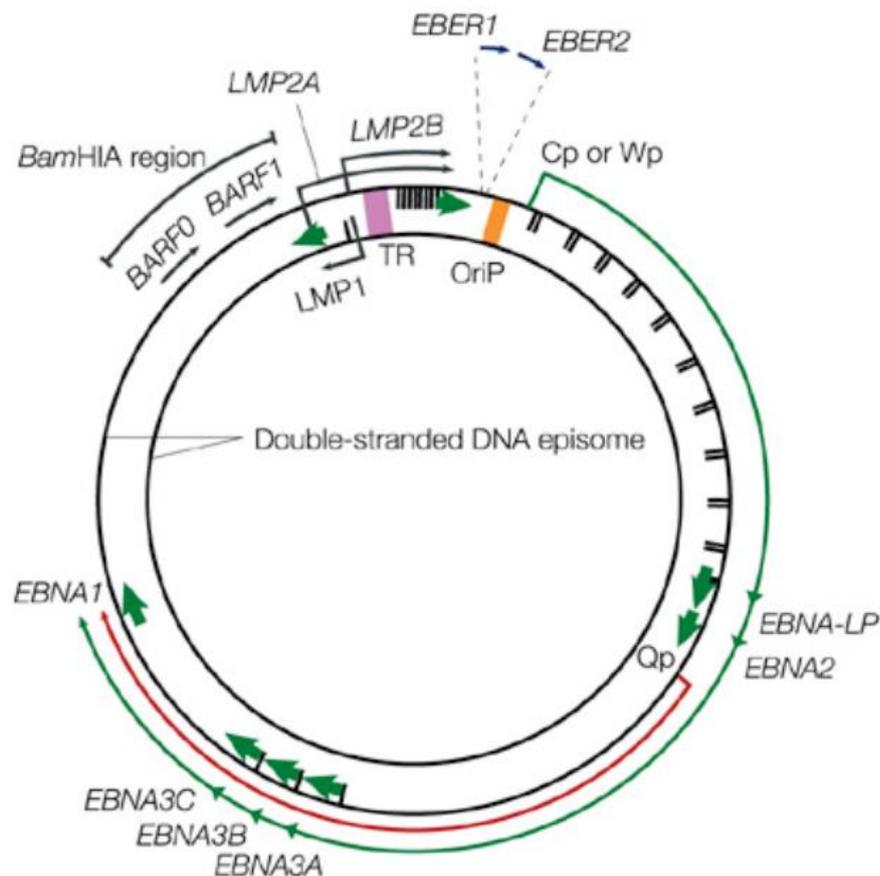


Fig. 45 : Le génome d'EBV circularisé avec la localisation des gènes de latence. *Source : Gourzones (2012).*

Ainsi, schématiquement, les gènes de l'EBV sont classés en deux catégories : ceux qui codent pour des protéines de latence et ceux qui codent pour des protéines du cycle lytique. Cependant il faut noter que cette distinction a été remise en cause par des études montrant que certains gènes « lytiques » étaient exprimés en phase de latence (sans entraîner de production de nouveaux virions) et semblaient nécessaires à sa mise en place [Larrat, 2010].

iii. Les protéines d'EBV et leurs rôles

Les produits des gènes de latence sont : les protéines nucléaires EBNA (Epstein-Barr Nuclear Antigen) ; les protéines membranaires LMP (Latent Membrane Protein) ; les ARN EBER (EBV Encoded RNAs) et BART (BamHI A region's Rightward Transcripts). Le tableau 12 présente brièvement leurs rôles ainsi que les programmes de latence au cours desquels ils sont produits.

Nom du produit	Latence	Fonctions principales
EBNA1	I, II, III	Maintien du génome sous forme épisomale Immortalisation des lymphocytes B Influence la transcription de gènes cellulaires et viraux (rôle dans la réplication virale)
EBNA2	III	Transactivateur de gènes viraux (LMP1, LMP2A) et cellulaires (<i>c-myc</i> , CD21)
EBNA3A	III	Participe à l'immortalisation des cellules lymphoblastoïdes Répresseur de l'action d'EBNA2
EBNA3C	III	Idem qu'EBNA2 Contrôle du cycle cellulaire en coopération avec Ras
EBNA3B	III	Régulateur de la réponse immunitaire ?
EBNA-LP (leader protein)	III	Régulation du cycle cellulaire (interaction avec pRb et p53) Potentialise les effets d'EBNA2 sur LMP1
LMP1	II, III	Oncogène majeur Activateur de différentes voies de signalisation cellulaire
LMP2A et B	II, III	Prévient la réactivation virale
EBER1 et 2	0, I, II, III	Maintien EBV dans la cellule cible (mécanismes anti-apoptotiques, suppression de l'effet antiviral des interférons) Stimulation de la croissance cellulaire par production de cytokines
BARTs	0, I, II, III	Codent pour des protéines dont le rôle n'est pas identifié Les introns codent pour des mi-ARNs (régulation du cycle viral, inhibition du cycle lytique)

Tabl. 12 : Les produits des gènes de latence de l'EBV et leurs principales fonctions. Sources : Larrat (2010) ; Gourzones (2012) ; Chanut (2010).

2. Oncogenèse par l'EBV

i. In vitro : EBV, un virus transformant

Le virus d'Epstein-Barr est capable d'immortaliser et de transformer presque 100% des lymphocytes B normaux en culture [Maréchal et Piolot, 1999]. Afin

d'éclaircir le rôle d'EBV dans la lymphomagenèse, les études ont principalement porté sur les protéines de latence de l'EBV. La plupart d'entre elles participent à la transformation mais deux se sont révélées indispensables au processus d'immortalisation : LMP1 et EBNA-2 [Gourzones, 2012].

Les expériences réalisées sur l'oncogène principal du virus d'Epstein-Barr ont montré d'une part, que la protéine LMP1 était capable de transformer des cellules en l'absence d'autre protéine virale, et d'autre part, qu'elle était exprimée dans la plupart des tumeurs associées à l'EBV [Chanut, 2010]. LMP1 est un homologue fonctionnel des récepteurs TNF (*Tumor Necrosis Factor Receptor*) et active de nombreuses voies de signalisation cellulaire. Parmi elles la voie Nf-B (comme pour le BLV) qui va protéger les lymphocytes B de l'apoptose et augmenter la prolifération cellulaire [Barth, 2011].

EBNA-2 quant à elle, est l'équivalent d'un facteur de transcription (Notch-1). En remplaçant, cette protéine transactive des gènes cellulaires et viraux via la stimulation de leurs promoteurs [Hardivilliers, 2007]. Parmi ses cibles, on peut citer : LMP1, LMP2A et 2B, *c-fgr* et *c-myc* [Maréchal et Piolot, 1999]...

Ainsi, *in vitro*, l'activation des lymphocytes B et leur prolifération viro-induite est liée à l'action concertée de différentes protéines de latence d'EBV. *In vivo*, la situation semble plus complexe notamment du fait de la réponse cytotoxique chez les sujets immunocompétents.

ii. In vivo : EBV et oncogenèse

L'association entre EBV et lymphomes est connue depuis plusieurs années. Certains types de cancers sont associés à l'EBV dans 100% des cas comme par exemple le lymphome de Burkitt dans sa forme endémique ou le carcinome nasopharyngé [Larrat, 2010].

Les cancers viro-induits liés à EBV ne se développent que dans des cas particuliers de défaillance du système immunitaire ou en présence de co-facteurs (génétiques, environnementaux...). Il a été montré que dans tous les cas de lymphomes de Burkitt, les cellules malignes présentaient comme anomalie chromosomique une translocation du gène *c-myc* le plaçant sous le contrôle des puissants promoteurs des immunoglobulines [Barth, 2011].

Le rôle exact du virus dans la lymphomagénèse reste encore à préciser : est-il agent initiateur (la prolifération des lympho B suite à la primo-infection favoriserait l'apparition d'anomalies chromo) ? Ou est-il un facilitateur (il donnerait un avantage sélectif à une cellule déjà porteuse de la translocation) ? [Chanut, 2010].

Comme présenté précédemment, la transformation est associée à une phase particulière du cycle viral : la latence. Lorsque cette dernière est mal contrôlée il pourra y avoir cancérisation [Maréchal et Piolot, 1999].

En plus des mécanismes liés à la phase de latence, il n'est pas exclu qu'EBV intervienne sur le cycle cellulaire comme les petits virus à ADN, via certaines protéines codées pendant la phase lytique. Cette hypothèse est d'ailleurs soutenue par l'existence parmi ses protéines très précoces, de deux transactivateurs Zta et Rta qui interagissent respectivement avec p53 et pRb [Maréchale et Piolot, 1999].

Ainsi le virus d'Epstein-Barr est, chez l'Homme, associé à différents sous-types de lymphomes mais son rôle exact n'est pas encore totalement élucidé, en partie du fait du manque de modèle animal.

3. Découverte d'un gamma herpesvirus chez le chien

Dans cette espèce, les connaissances sur les étiologies de ce groupe de cancers très hétérogène que forment les lymphomes (tumeur maligne hématopoïétique la plus courante chez le chien) sont encore faibles. Les canidés peuvent développer des lymphomes spontanés qui possèdent des similitudes biologiques, génétiques et cytogénétiques avec le lymphome de Burkitt et le lymphome malin diffus à grandes cellules. Le fait que les chiens soient sensibles aux herpèsvirus et la forte prévalence d'EBV dans la population humaine associée à la proximité entre ces deux espèces ont poussé les scientifiques à explorer l'hypothèse d'une influence du virus d'Epstein-Barr dans la lymphomagénèse canine [Hardivilliers, 2007].

En 2012, l'équipe d'Huang décide d'explorer l'hypothèse que les chiens de compagnie peuvent être infectés par un herpèsvirus proche de celui d'Epstein-Barr et que celui-ci contribuerait au développement de lymphome des cellules B. Cette hypothèse leur a été suggérée par des découvertes préalables sur un γ -herpèsvirus qui infecterait les chiens et qui serait à l'origine d'une infection asymptomatique dans

la majorité des cas (de la même manière que l'EBV pour l'Homme). En effet, des études avaient d'une part montré que les cellules épithéliales canines possédaient le récepteur de l'EBV (CD21); et d'autre part, elles avaient identifié, dans des échantillons de sérum et de sang périphérique de chiens en bonne santé, des anticorps dirigés contre un virus proche d'EBV et des séquences d'ADN ressemblant à celles de l'EBV [Chiou et al, 2005 ; Yang et al, 2000].

Huang et son équipe ont donc exploré l'hypothèse d'un γ -herpèsvirus spécifique à l'espèce canine ; leurs résultats sont les suivants :

- détection d'une réponse sérologique dirigée contre deux antigènes de capsid d'EBV (VCA) chez des chiens sains et chez des chiens ayant développé des lymphomes spontanés
- les chiens avec le plus haut taux IgG-VCA présentent des lymphomes spontanés des cellules B
- identification d'une séquence nucléotidique très proche de celle d'EBV dans des nœuds lymphatiques malins de chiens avec un lymphome diffus des cellules B
- expression de la protéine LMP1 dans les nœuds lymphatiques de certains chiens atteints de lymphome des cellules B
- mise en évidence, par microscopie électronique, de particules d'herpèsvirus dans des cultures de cellules B malignes de chien

Ils ont mis en évidence la présence de séquences d'ADN virales et de protéines virales dans les lymphocytes tumoraux de chiens atteints de lymphomes des cellules B. Leurs découvertes soutiennent l'hypothèse que les canidés domestiques pourraient servir de modèle pour l'étude de la lymphomagénèse associée à l'EBV.

Une autre équipe de chercheurs a par la suite investigué l'hypothèse de lymphomes viro-induits chez le chien. Ils recherchaient plus spécifiquement EBV ou un herpèsvirus proche. Ils ont utilisé des techniques sérologiques et moléculaires, sur un groupe de 234 chiens dont 195 atteints de cancer (158 avec un lymphome), les 39 restants formant le groupe contrôle [Waugh et al, 2015].

Des anticorps dirigés contre les antigènes de capsid d'EBV ont été détectés dans 41% des cas et plus fréquemment chez les chiens atteints de cancers mais sans aucune association particulière avec le lymphome des cellules B. Cette équipe n'a

pas détecté d'ARN ou d'ADN spécifique d'EBV ou d'un herpèsvirus proche dans les différents échantillons de tissus lymphomateux.

La conclusion de cette deuxième étude est qu'il n'existe aucune preuve quant à l'implication d'un γ -herpèsvirus dans la genèse de lymphomes canins classiques même si la présence d'un virus de ce type chez le chien ne peut pas être totalement exclue.

Ainsi, le modèle animal qui permettra de mieux comprendre le mécanisme par lequel l'EBV induit la lymphomagenèse n'est pas encore trouvé même si le chien reste un candidat sérieux.

C. Rôle des télomères dans la tumorigénèse : l'exemple du virus de la maladie de Marek

1. Les télomères, protecteurs du génome

Tous les chromosomes linéaires des eucaryotes sont terminés par des structures particulières nommées télomères (figure 46). Ce sont des régions hautement répétitives, non codantes qui jouent un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération cellulaire et le maintien de l'intégrité des chromosomes. En effet, plus une cellule se divise, plus ses extrémités télomériques se raccourcissent car l'ADN polymérase ne peut pas copier les derniers nucléotides. Les télomères protègent donc les séquences codantes de ce raccourcissement pendant un certain nombre de divisions au bout duquel la cellule entrera en apoptose.

La télomérase, transcriptase inverse spécialisée, va assurer la synthèse et la croissance des télomères permettant aux cellules de se répliquer à l'infini. Il s'agit d'un complexe ribonucléique constitué de deux sous-unités majeures :

- la TERT (telomerase reverse transcriptase), sous-unité protéique, ADN polymérase ARN-dépendante qui assure la synthèse des séquences télomériques

- la TR (telomerase RNA), sous-unité ARN constituée de 451 nucléotides répartis en différentes régions dont l'une contient la séquence servant de matrice pour la TERT.

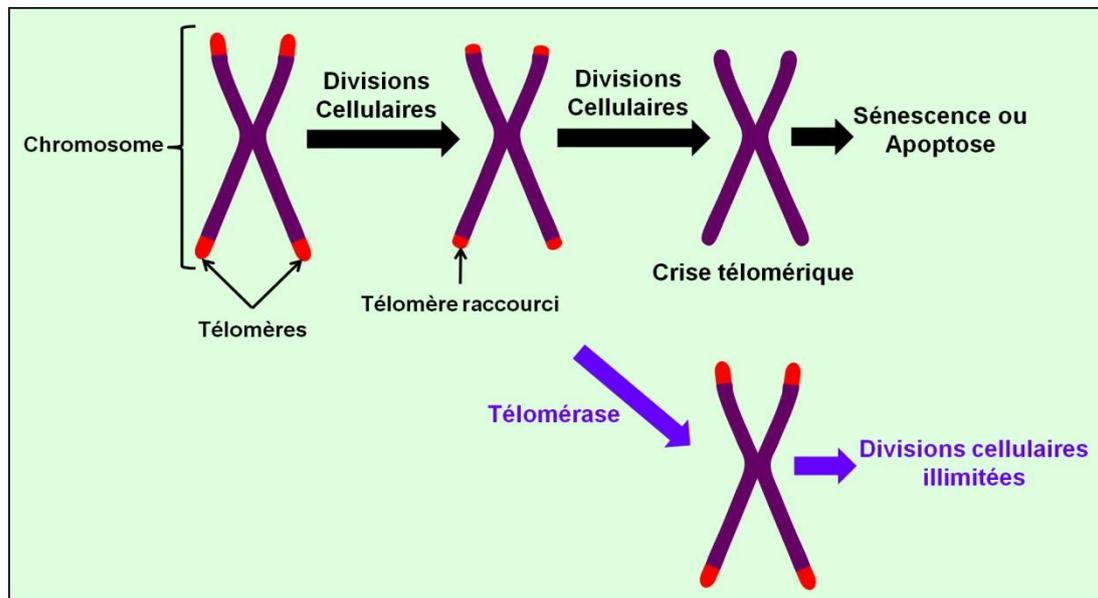


Fig. 46 : Evolution des télomères. Source : Ségala (2015).

Dans certains types de cellules, le niveau d'activité de la télomérase, très faible voire nul dans les cellules différenciées normales, est augmenté. C'est le cas par exemple des cellules souches et des cellules cancéreuses.

A titre informatif, il existe, dans certaines cellules, un mécanisme alternatif de maintien des télomères car leur longueur y reste constante mais sans expression de la télomérase. Ce processus utilise une machinerie cellulaire appelée "ALT" pour "Alternative Lengthening of Telomeres" qui fonctionne par recombinaison homologue.

2. Les télomères des Herpèsvirus

Le virus de la maladie de Marek (MDV pour Marek's disease virus ou GaHV-2 pour Gallid herpesvirus 2) est un alpha-herpèsvirus responsable de lymphomes des cellules T et de polynévrites généralisées chez le poulet. La maladie de marek est une maladie virale oncogénique très contagieuse répandue dans le monde entier et pouvant être responsable de pertes économiques importantes du fait d'un fort taux de mortalité (jusqu'à 80%). Il s'agit d'un modèle très étudié de lymphome viro-induit.

Comme pour tous les herpèsvirus, l'infection par le MDV comporte un état de latence au cours duquel seules quelques protéines sont produites. Parmi elles, la protéine MEQ semble être la plus importante : il s'agirait de l'oncoprotéine du MDV. Elle sert d'une part de répresseur à l'expression des gènes viraux lytiques, et d'autre part de transactivateur d'un certain nombre de gènes cellulaires. En plus de ces interactions avec p53 et RB, MEQ possède un motif leucine-zipper qui lui permet de se complexer avec les facteurs de transcription de la famille de la proto-oncoprotéine c-jun [Al Jawhari, 2014].

Nous ne reviendrons pas plus en détails sur le mécanisme d'action de MEQ qui mime des proto-oncogènes cellulaires. Elle agit donc comme les *v-onc* des virus sarcomateux décrits en première partie, en activant un certain nombre de voies de signalisation intracellulaire [Liu et Kung, 2000].

Le MDV, comme d'autres herpèsvirus lymphotropiques tel que le HHV-6 (Human herpesvirus 6), est capable d'intégrer son ADN dans celui de l'hôte [Kaufer et al, 2011]. Cette intégration est facilitée par la présence de séquences répétées télomériques (TR) aux extrémités du génome viral, qui vont réaliser une recombinaison homologue avec l'ADN télomérique de l'hôte.

Kaufer et son équipe ont montré, en créant des virus avec des séquences télomériques mutées ou délétées, que l'intégration de l'ADN viral était plus efficace en présence des TMRs (telomeric repeats) mais que celles-ci ne semblaient pas intervenir dans la réplication. Cette intégration joue un rôle important dans l'établissement de la latence et dans la formation de lymphomes [Kaufer et al, 2011]. D'autres études ont porté sur les rôles plus précis des TMRs du virus de Marek. Son génome comporte deux zones de répétitions télomériques (une à chaque extrémité de son chromosome linéaire) [Gréco et al, 2014] :

- mTMR (multiple telomeric repeat) qui compte un nombre variable d'une centaine de répétitions et qui joue un rôle important dans l'intégration du génome viral à celui de l'hôte.
- sTMR (short telomeric repeat) constituée d'un nombre fixe de 6 répétitions et qui aurait un rôle central dans la réplication du génome du MDV et sa pathogénèse. En effet, une délétion de sTMR abolit le pouvoir réplicatif du

MDV alors qu'une mutation même importante de cette séquence ne modifie pas cette capacité. Il semble donc que ce soit la présence de sTMR et non la composition de la séquence qui intervienne dans la réplication virale. De plus, des expériences avec des virus dont la séquence sTMR a été remplacée par une version mutée montrent une conservation du pouvoir réplcatif in vitro mais une diminution significative du pouvoir pathogène in vivo (moins de maladie et moins de tumeurs développées). Cette séquence télomérique ne semble pas essentielle pour l'intégration, mais en augmenterait l'efficacité.

Ainsi le MDV possède des séquences télomériques proches de celles de son hôte qui facilitent son intégration dans le génome, elle-même étant importante pour l'établissement d'un état de latence et la formation des lymphomes.

Le MDV possède une télomérase virale dont la sous-unité ARN (vTR) semble jouer un rôle dans la tumorigénèse. Suite au constat que lorsque la télomérase de l'Homme présente une mutation de sa séquence TR, cela inhibe la prolifération des cellules cancéreuses in vitro, des expériences similaires ont donc été réalisées sur la vTR du MDV. Dans ce cas, des mutations au niveau de la séquence servant de matrice de vTR entraînent une abolition complète du pouvoir tumorigène in vivo même si le virus est toujours capable de se répliquer. Par contre, lorsque la vTR mutée est absente du complexe télomérase (grâce à une mutation au niveau d'une région conservée de vTR essentielle aux interactions avec la sous-unité protéique de la télomérase), une restauration de la lymphomagénèse induite par le MDV est observée. Ceci suggère que l'effet d'une mutation de vTR sur la lymphomagénèse dépend de l'interaction de cette sous-unité avec le reste du complexe de la télomérase [Kaufer et al, 2011] (figure 47).

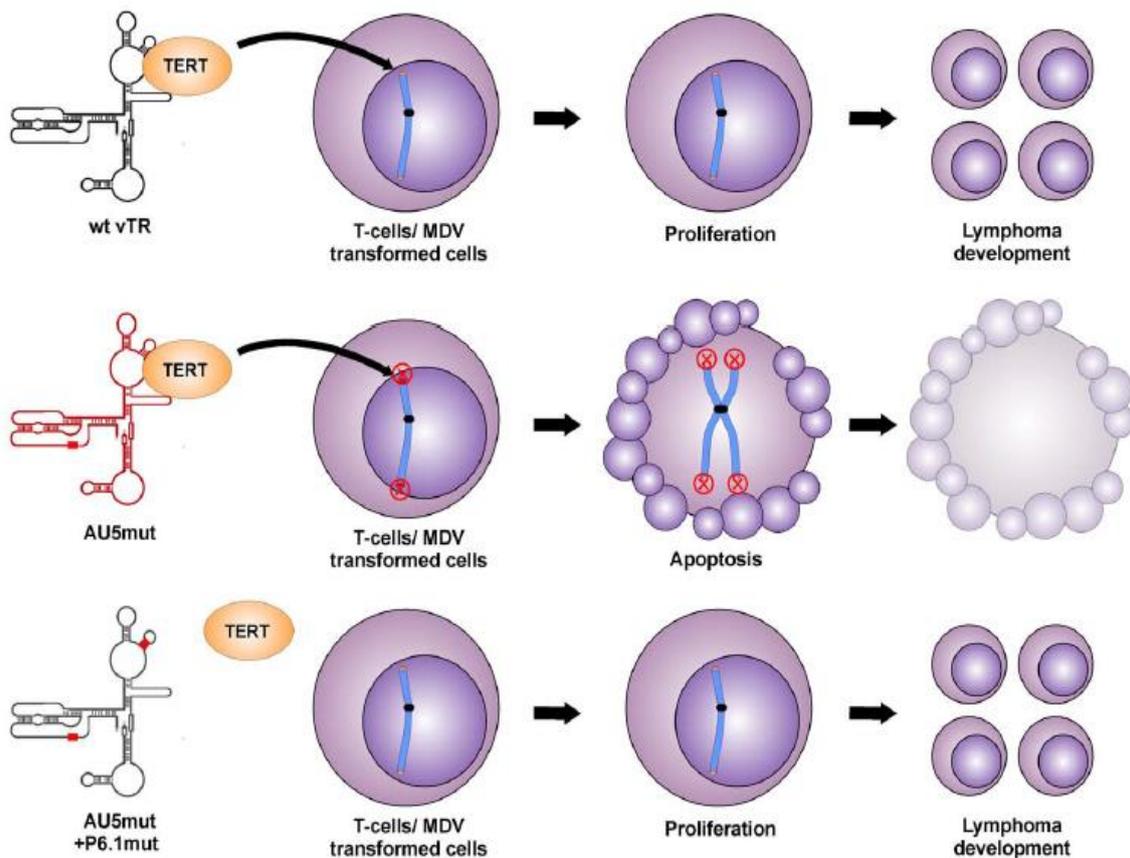


Fig. 47 : Le rôle de vTR dans la lymphomagenèse. Source : Kaufer (2011).

Ainsi vTR semble intervenir dans la lymphomagenèse de deux manières différentes.

La première est dépendante de l'activité télomérase : vTR étant la sous-unité matrice de l'enzyme elle lui assure une activité augmentée lors des stades précoces. Les cellules prolifèrent alors car elles évitent la crise télomérique. Cette fonction n'est cependant pas indispensable pour la tumorigénèse (cf mutants AU5 + P6.1).

La seconde a été mise en évidence grâce à la double mutation, vTR semble être un promoteur de tumeurs indépendant de l'activité télomérase. Cette fonction serait assurée par une région différente de celle mutée dans la première expérience [Al Jawhari, 2014 ; Kaufer et al, 2011].

D'autres virus oncogènes interviennent au niveau des télomères. Par exemple, les protéines LMP1 et E6 du virus d'Epstein-Barr ou des papillomavirus, favorisent directement l'activation de la télomérase [Al Jawhari, 2014].

En conclusion, cette partie a présenté les herpèsvirus oncogènes à travers le cas très étudié du virus d'Epstein-Barr. Le virus de la maladie de Marek a, quant à lui, permis de détailler un autre mécanisme intervenant dans les processus d'immortalisation : l'échappement à la crise télomérique. Les herpèsvirus vont maintenant servir d'exemple pour aborder les microARN, qui semblent jouer un rôle dans l'oncogenèse.

D. Les microARN des Herpèsvirus

Les microARN, découverts en 1993 par Ambros et son équipe chez le nématode *Caenorhabditis elegans* [Tréton, 2015], sont des courts acides ribonucléiques simple brin non codants retrouvés dans presque toutes les cellules eucaryotes. Ils sont constitués d'une vingtaine de nucléotides et participent à la régulation de nombreux processus biologiques (contrôle du cycle cellulaire, différenciation tissulaire, contrôle du développement des lignées hématopoïétiques chez les mammifères...) [Contrant et al, 2013].

Certains ont été impliqués dans le développement et la progression de cancers au cours desquels sont observées des altérations des niveaux d'expression de ces microARN [Tréton, 2015]. Parmi eux, certains sont des oncomirs, agissant comme des oncogènes et surexprimés en présence de cancer ; et d'autres sont des microARN suppresseurs de tumeurs, comme par exemple *let-7* qui réprime l'oncogène *ras* et qui voit son expression diminuer dans les tumeurs [Gourzones, 2012].

Ces propriétés en font des outils très intéressants pour les virus dont certains portent leurs propres gènes de microARN, identifiés pour la première fois en 2004 chez le virus d'Epstein-Barr. La famille des *Herpesviridae* compte le plus grand nombre de virus codant des microARN même s'ils sont également retrouvés chez les *Adenoviridae*, les *Polyomaviridae*, certains *Retroviridae* et prédits chez les *Papillomaviridae* [Contrant et al, 2013].

L'expression des microARN viraux dépend entièrement de la machinerie cellulaire de l'hôte et la plupart d'entre eux utilise la même voie de synthèse que les microARN d'origine cellulaire.

Celle-ci débute dans le noyau par la transcription de gènes spécifiques dont le résultat est un pri-microARN double brin. Ce précurseur sera ensuite clivé par la RNase Drosha dont le produit sera exporté dans le cytoplasme pour être clivé par une seconde RNase (Dicer). Suite à l'action de Dicer, le microARN toujours double brin est transformé en simple brin par une étape de maturation supplémentaire. Cette forme mature du microARN sera incorporée au complexe RISC (RNA-induced silencing complex) qui guidera le microARN vers la région 3' non codante (3'UTR) de l'ARNm cible. En s'appariant de manière partielle ou totale aux ARNm cibles, les microARN règlent leur expression génique : ils peuvent induire la dégradation, la séquestration ou encore l'inhibition de la traduction de ces ARNm [Contrant et al, 2013 ; Tréton, 2015] (figure 48).

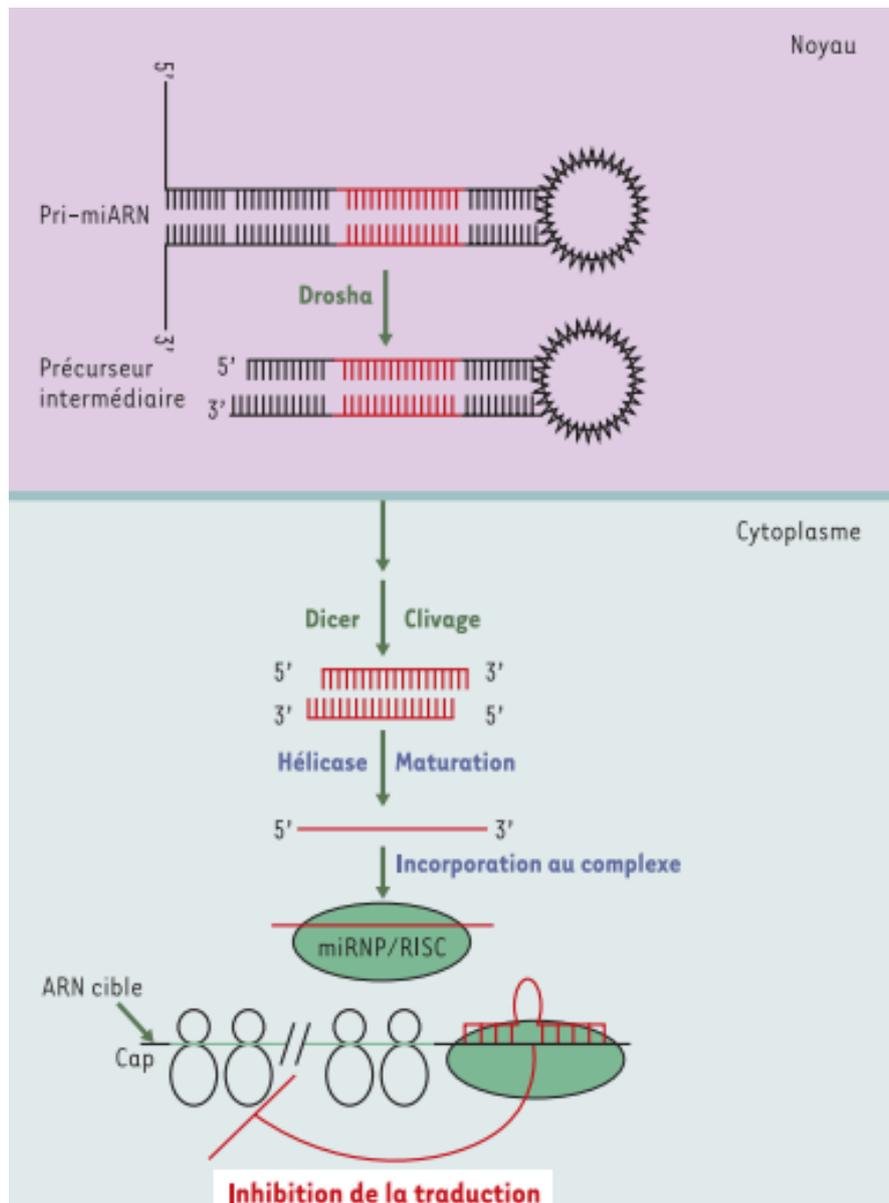


Fig. 48 : Synthèse et mode d'action des microARN. Source : Hartmann (2004).

Cette complémentarité souvent partielle entre un microARN et son ARNm cible explique le fait d'un seul microARN peut réguler plusieurs gènes. Il faut noter que l'inverse est également vrai : un seul gène peut être régulé par plusieurs microARN [Tréton, 2015].

Après cette brève description des mécanismes de synthèse et d'action des microARN viraux, nous allons revenir sur leurs rôles à travers les exemples des virus d'Epstein-Barr et de la maladie de Marek.

1. Les microARN du virus d'Epstein-Barr et leurs fonctions

Les miARN codés par EBV sont regroupés en deux groupes : les miARN BHRF1 et les miARN BART. Leurs cibles peuvent être des transcrits viraux tout comme des transcrits cellulaires (tableau 13). Ils sont abordés ici car certains contribuent aux propriétés oncogènes du virus telles que l'induction de la prolifération des cellules épithéliales, la production de signaux de survie pour les cellules infectées et l'échappement au système immunitaire.

i. Altération de l'expression de gènes cellulaires

Les miARN BHRF1 semblent jouer un rôle dans la transformation liée à l'infection virale. En effet, de virus délétés de la région codant pour ces microARN ont une capacité transformante vingt fois inférieure à celle du virus sauvage [Gourzones, 2012]. A l'inverse, les miARN BART ne semblent pas indispensables à l'oncogénèse mais certains protégeraient les cellules infectées de l'apoptose et de la reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte [Contrant et al, 2013]. L'un d'eux permet la persistance d'EBV en diminuant le taux d'une capsase essentielle à l'induction de l'apoptose (CASP3). Cette persistance va favoriser la progression à long terme des cancers associés à ce virus [Contrant et al, 2013]. Un autre exemple d'inhibition de l'apoptose est celui de miR-BHRF1 qui réduit l'excrétion d'une cytokine de la famille des chémokines (CXCL-11/I-TAC) évitant ainsi la mort cellulaire programmée qu'elle déclenche.

Il faut noter qu'une infection par EBV entraîne une diminution globale du niveau d'expression des microARN cellulaires dont certains sont des suppresseurs de tumeur. A l'inverse, en activant la voie NF- κ B, la protéine LMP1 augmente l'expression de deux microARN cellulaires qui activeraient les cellules B et T après une stimulation antigénique [Gourzones, 2012].

ii. Régulation de l'expression virale

Un des microARN de l'EBV cible l'ARNm de l'ADN polymérase virale, qui permet la réplication de son ADN. Il inhibe ainsi le déclenchement du cycle lytique, permettant au virus de rester en phase de latence et donc de persister dans la cellule

hôte. D'autres miARN limiteraient ce passage en cycle lytique en régulant l'expression de certains gènes précoces ou très précoces [Cély, 2014].

D'autres microARN BART atténuent l'expression des protéines oncogènes LMP1 et 2. Ils participent ainsi au camouflage des cellules infectées en les protégeant d'une trop grande quantité de ces protéines mal tolérées [Gourzones, 2012].

Cibles cellulaires		
miR	Cible	Fonction
miR-BART5	PUMA	Protéine pro-apoptotique
miR-BHRF1-3	CXCL11	Chimiokine, attire les lymphocytes T
miR-BART6	Dicer	Biogénèse des microARN
Cibles virales		
miR	Cible	Fonction
miR-BART2	BALF5	ADN polymérase virale
miR-BART cluster 1	LMP1	Principale protéine oncogène du virus
miR-BART22	LMP2	Prévient la réactivation virale mais toxique en grande concentration
miR-BART6-5p	EBNA2	Oncogène nécessaire à la transition en latence III

Tabl. 13 : Cibles de quelques microARN d'EBV. Sources : Gourzones (2012) ; Cély (2014).

2. Les microARN du MDV

Le virus de la maladie de Marek encode 25 microARN matures dont certains remplissent les mêmes rôles que ceux d'EBV notamment dans le maintien en phase de latence. La particularité du MDV est qu'il code pour miR-M4, analogue fonctionnel d'un microARN cellulaire impliqué dans l'échappement à l'apoptose (miR-155). En plus d'assurer la survie des cellules infectées, miR-M4 semble intervenir dans la lymphomagenèse et dans la tolérance immunitaire [Cély, 2014 ; Contrant et al, 2013].

Ainsi les virus et principalement les herpèsvirus utilisent les microARN pour détourner la machinerie cellulaire à leur profit. Ces derniers, qu'ils soient d'origine cellulaire ou virale, jouent un rôle indéniable dans la genèse des cancers même si des études sont encore nécessaires pour en comprendre toutes les finesses. Les virus modifient les profils d'expression des microARN cellulaires et pour certains, codent pour leurs propres microARN afin de favoriser leur persistance, de réguler la réponse immunitaire ou encore de stimuler le développement des pathologies associées à l'infection.

CONCLUSION

A travers ce travail, nous avons pu étudier différents mécanismes utilisés par les virus oncogènes pour initier ou promouvoir la carcinogénèse. L'ensemble des virus oncogènes peut être séparé en deux catégories.

D'une part, les virus qui apportent dans leur matériel génétique les éléments indispensables aux modifications induisant la cancérisation. La majorité des mécanismes présentés ici utilisent au moins en partie ces oncoprotéines virales qui interagissent et modifient l'activité de protéines cellulaires.

Dans d'autres cas, les virus ne portent aucun élément pouvant à lui seul entraîner la transformation des cellules. C'est alors l'intégration du virus, ou plus précisément le lieu où elle se produit, qui peut lui permettre de modifier l'expression de gènes cellulaires intervenant dans des processus clés.

Cependant, l'oncogénèse n'est généralement pas un processus simple n'impliquant qu'une voie unique de transformation. Le plus souvent la cancérisation résulte d'une succession d'événements : nécessité de co-facteurs génétiques, environnementaux ou autres et implication de nombreuses voies de signalisation intracellulaires.

Comme il a été souligné dans cette thèse, les découvertes sur les virus oncogènes ont permis des avancées considérables dans la compréhension des mécanismes cellulaires. La poursuite de ces études permet, notamment grâce aux modèles animaux, de faire avancer l'oncologie humaine et plus particulièrement la thérapie anti-cancéreuse.

D'une manière paradoxale, alors que certains virus sont responsables de l'oncogénèse, d'autres peuvent détruire les cellules cancéreuses. C'est le cas des virus oncolytiques qui infectent et lysent préférentiellement les cellules cancéreuses sans causer de dommage important au tissu sain environnant et qui initient une réponse immunitaire anti-tumorale. Les essais ont principalement été réalisés chez l'Homme. Or de nombreux cancers canins ou félins se rapprochent de leurs homologues humains. Il semble donc raisonnable de penser que ces essais sont transférables aux animaux domestiques [Gentschev et al, 2014]. Ainsi les virus oncolytiques constituent une nouvelle approche thérapeutique prometteuse dans le cadre de la lutte contre les cancers chez les carnivores domestiques.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Stéphane BERTAGNOLI, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **MUGNIER Amélie** intitulée « **Les virus oncogènes chez les principales espèces domestiques-Etude bibliographique.**» et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 18 novembre 2016
Professeur Stéphane BERTAGNOLI
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Christophe PASQUIER



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Melle MUGNIER Amélie
a été admis(e) sur concours en : 2009
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014
a validé son année d'approfondissement le : 03/11/2016
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

1. AIDA Y, MURAKAMI H, TAKAHASHI M, TAKESHIMA SN (2013). Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Frontiers in microbiology*, **4**, 328.
2. AL ALLAF FA, COUTELLE C, WADDINGTON SN, DAVID AL, HARBOTTLE R, THEMIS M (2010). LDLR-gene therapy for familial hypercholesterolaemia: problems, progress and perspectives. *International Archives of Medicine*, **12**, 3 (1) – 36.
3. AL JAWHARI M (2014). *Intégration génomique de l'herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6) : étude des modifications chromosomiques associées et de l'éventuelle réactivation en présence de drogues*. Thèse de doctorat, biologie – sciences – santé, Limoges, 175 p.
4. ALAIN S, HANTZ S, DENIS F (2010). Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine Thérapeutique Pédiatrie*, **13** (1), 5-19.
5. Allain. *Régulation de la division cellulaire* [en ligne]. Disponible sur : http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Therapie_geniquea3.php (consulté le 18/02/2015).
6. ANSES Agence nationale de sécurité sanitaire (2014). *Cancers et environnement*. Edition scientifique - novembre 2014.
7. BARTH H (2011). *Cancérologie virale*. Cours de master en physiopathologie, 26 p.
8. BEAUDIN S, NASPETTI M, MONTIXI C (2014). *Les papillomavirus humains : actualisation des connaissances*. Dossier scientifique à destination des enseignants, académie d'Aix-Marseille, 77 p.
9. BEAU-FALLER M (2012). *Le cycle cellulaire et sa régulation*. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU Strasbourg.
10. BERTAGNOLI S (2010). *Virologie, virus transformants*. Cours pour l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
11. BOLIN L, AHMAD S, LEVY L (2011). The surface glycoprotein of a natural feline leukemia virus subgroup A variant, FeLV-945, as a determinant of disease outcome. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **143** (3-4), 221–226.
12. BOLIN L, LEVY L (2011). Viral determinants of FeLV infection and pathogenesis: lessons learned from analysis of a natural cohort. *Viruses*, **3**, 1681-1698.
13. BORZACCHIELLO G, ROPERTO F, CAMPO MS, VENUTI A (2010). 1st International workshop on Papillomavirus E5 oncogene — a report. *Virology*, **408**, 135-137.
14. BOULLE N (2011-2012). *Oncogenèse – cancérogenèse*. Cours pour l'université de Montpellier.
15. BRANTON PE, QUERIDO E (1997). L'adénovirus humain : une fenêtre sur l'apoptose et le cancer. *Médecine/sciences*, **13**, 492 – 500.

16. BROSTOFF T, DELA CRUZ FN, CHURCH ME, WOOLARD KD, PESAVENTO PA (2014). The Raccoon Polyomavirus genome and tumor antigen transcription are stable and abundant in neuroglial tumors. *Journal of virology*, **88**, 12816 – 12824.
17. CAPORALE M, COUSENS C, CENTORAME P, PINONI C, DE LAS HERAS M, PALMARINI M (2006). Expression of the Jaagsiekte sheep retrovirus envelope glycoprotein is sufficient to induce lung tumors in sheep. *Journal of virology*, **80** (16), 8030 – 8037.
18. CELY I (2014). *Rôle des microARN lors des infections par les virus animaux et humains*. Thèse de doctorat vétérinaire, université Paul Sabatier, Toulouse, 97 p.
19. CHAIX A (2010). *Les spécificités de la signalisation oncogénique par rapport à la signalisation physiologique : le modèle de KIT, un récepteur à activité tyrosine kinase*. Thèse universitaire en biologie des eucaryotes, spécialités immunologie, Aix-Marseille 2, 299 p.
20. CHANUT A (2010). *Rôle des voies d'activation classique et alternative du facteur transcriptionnel NF- κ B dans la prolifération et la protection contre l'apoptose induite par l'oncoprotéine LMP-1 du virus d'Epstein-Barr*. Thèse de doctorat en biologie – santé, Limoges, 146 p.
21. CHAZAL N (2013-2014). *Oncogenèse virale*. Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé (CPBS) UE Pathologies bactériennes et virales, retrovirologie, transposons.
22. CHENG H, ANDERSON M, OVERBAUGH J (2007). Feline leukemia virus T entry is dependent on both expression levels and specific interactions between cofactor and receptor. *Virology*, **359**, 170–178.
23. CHIOU S-H , CHOW K-C , YANG C-H , CHIANG S-F , LIN C-H (2005). Discovery of Epstein–Barr virus (EBV)-encoded RNA signal and EBV nuclear antigen leader protein DNA sequence in pet dogs. *Journal of general virology*, **86** (4), 899-905.
24. CHIOU SH, CHOW KC, YANG CH, CHIANG SF, LIN CH (2000). Discovery of Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA signal and EBV nuclear antigen leader protein DNA sequence in pet dogs. *Journal of General Virology*, **86**, 899–905.
25. COLLEGE FRANÇAIS DES PATHOLOGISTES (2011-2012). Cellule cancéreuse et tissu cancéreux [en ligne]. Disponible sur : http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_8/site/html/1.html (consulté le 05/09/2015).
26. CONDJELLA R, LIU X, SUPRYNOWICZ F, YUAN H, SUDARSHAN S, DAI Y, SCHLEGEL R (2009). The canine papillomavirus E5 protein signals from the endoplasmic reticulum. *Journal of virology*, **83** (24), 12833-12841.
27. CONTRANT M, FENDER A, PFEFFER S (2013). Les micro-ARN, des acteurs essentiels de la relation hôte-virus. *Virologie*, **17** (6), 414 – 425.
28. COOPER G (1995). *Oncogenes*. 2e édition. Londres : Jones and Bartlett publishers. 384 p. ISBN 0867209372.
29. DE LAS HERAS M, GONZALEZ L, SHARP JM (2003). Pathology of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Current Topics in microbiology and immunology*, **275**, 25-54.

30. DE LAS HERAS M, ORTIN A, COUSENS C, MINQUIJON E, SHARP JM (2003). Enzootic nasal adenocarcinoma of sheep and goats. *Current Topics in microbiology and immunology*, **275**, 201-23.
31. DI MAIO D, MATTOON D (2001). Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. *Oncogene*, **20**, 7866-7873.
32. DOLIGER S, DEVAUCHELLE P (1998). Données actuelles sur les tumeurs du complexe du fibrosarcome félin. *Le point vétérinaire*, **29** (192).
33. DREYER C, RAYMOND E, FAIVRE S (2009). La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR. *Cancérologie digestive*, **1** (3), 187 – 189.
34. DUARTE C (2012). *Les dermatoses virales chez le chien : étude rétrospective de cas rencontrés à l'ENVA de 2000 à 2011*. Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, 93 p.
35. DUNCAVAGE EJ, ZEHNBAUER BA, PFEIFER JD (2009). Prevalence of Merkel cell polyomavirus in Merkel cell carcinoma. *Modern Pathology*, **22**, 516 – 521.
36. EL BAKKOURI M, FABRY CM, FENDER P, SCHOEHN G (2008). Structure des adenovirus. *Virologie*, **12** (4), 275 – 292.
37. ENGLER J (2007). *How RNA and DNA viruses help us understand oncogenes and tumor suppressors* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.microbio.uab.edu/Dental-Opt/dental/virology> (consulté le 25/03/2015).
38. FELSANI A, AM MILEO AM, PAGGI MG (2006). Retinoblastoma family proteins as key targets of the small DNA virus oncoproteins. *Oncogene*, **25**, 5277–5285.
39. FENG H, SHUDA M, CHANG Y, MOORE PS (2008). Clonal integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinoma. *Science*, **319** (5866), 1096–1100.
40. FLORINS A, DE BROGNIÉZ A, ELEMANS M, BOUZAR AB, FRANÇOIS C, REICHERT M, ASQUITH B, WILLEMS L (2011). Viral expression directs the fate of B cells in Bovine Leukemia Virus-infected Sheep. *Journal of virology*, **86** (1), 621-624.
41. FORMAN LW, PAL-GHOSH R, SPANJAARD RA, FALLER D V, GHOSH SK (2009). Identification of LTR-specific small non-coding RNA in FeLV infected cells. *FEBS Letters*, **583** (8), 1386–1390.
42. GENTSCHEV I, PATIL SS, PETROV I, CAPPELLO J, ADELFINER M, SZALAY AA (2014). Oncolytic Virotherapy of Canine and Feline Cancer. *Viruses*, **6**, 2122-2137.
43. GILLET N, FLORINS A, BOXUS M, BURTEAU C, NIGRO A, VANDERMEERS F, BALON H, BOUZAR AB, DEFOICHE J, BURNY A, REICHERT M, KETTMANN R, WILLEMS L (2007). Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*, **4**, 18.
44. GILLET N, KETTMANN R, WILLEMS L (2007). *Homologies entre les deux rétrovirus BLV et HTLV-1 et développement d'une nouvelle approche thérapeutique basée sur la levée de la latence virale* [en ligne]. Disponible sur : <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=723> (consulté le 06/09/2015).
45. GIRARD N (2012). *Cycle cellulaire*. Cours pour l'université Claude Bernard, Hôpital Louis Pradel, Lyon.

46. GOURZONES C (2011). *Libération extra-cellulaire de microARN et de complexes nucléo-protéiques par les cellules infectées par EBV : rôle des exosomes et d'autres transporteurs*. Thèse de doctorat en cancérologie, université Paris Sud - Paris XI, 142 p.
47. GOURZONES C (2012). *Libération extra-cellulaire de microARN et de complexes nucléo-protéiques par les cellules infectées par EBV : rôles des exosomes et d'autres transporteurs*. Thèse de doctorat en cancérologie, université Paris sud – Paris XI, 142 p.
48. GRECO A, FESTER N, ENGEL AT, KAUFER BB (). Role of the short telomeric repeat region in Marek's Disease Virus replication, genomic integration, and lymphomagenesis. *Journal of virology*, **88** (24), 14138 – 14147.
49. GRIFFITHS DJ, MARTINEAU H, COUSENS C (2009). Pathology and pathogenesis of Ovine Pulmonary Adenocarcinoma. *The journal of comparative pathology*, **142**, 260 – 283.
50. HALIN M (2009). *Caractérisation de la transcription antisens chez les rétrovirus humains HTLV-2, HTLV-3 et HTLV-4*. Mémoire de maîtrise de biologie, université du Québec - Montréal.
51. HARDIVILLIERS C (2007). *Comparaison de l'épidémiologie et de l'étiologie des lymphomes malins non hodgkiniens humains et canins – Place particulière du virus d'Epstein-Barr*. Thèse de doctorat, vétérinaire, Lyon, 149 p.
52. HARDY WD (1981). The Feline Sarcoma Viruses. *Journal of the American animal hospital association*, **17**, 981-997.
53. HARTMANN C, CORRE-MENGUY F, BOUALEM A, JOVANOVIC M, LELANDAIS-BRIERE C (2004). Les microARN Une nouvelle classe de régulateurs de l'expression génique. *Médecine/sciences*, **20**, 894-898.
54. HARTMANN K (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses* 2012, **4**, 2684-2710.
55. HERBEIN G (2003). *Définition, structure et classification des virus*. Cours DCEM 1, année 2003/2004, CHU Besançon.
56. HERBET A (2001). *Immunohistochimie des tumeurs mésoenchymateuses cutanées à cellules fusiformes du chat (Complexe du Fibrosarcome Félin) : études préliminaires des marqueurs de différenciation*. Thèse de doctorat vétérinaire, université Paul Sabatier, Toulouse, 88 p.
57. HOFACRE A, FAN H (2010). Jaagsiekte Sheep Retrovirus Biology and Oncogenesis. *Viruses*, **2**, 2618-2648.
58. HOWLEY PM, LIVINGSTON DM (2009). Small DNA tumor viruses: large contributors to biomedical sciences. *Virology*, **384** (2), 256 – 259.
59. HUANG S-H, J. KOZAK P, KIM J, HABINEZA-NDIKUYEZE G, MEADE C, GAURNIER-HAUSSER A, PATEL R, ROBERTSON E, J. MASON N (2012). Evidence of an oncogenic gammaherpesvirus in domestic dogs. *Virology*, **427**, 107–117.

60. HUNT R, MCLLROY D (2013). *Les virus transformants* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.microbiologybook.org/French-virology/virol-french6.htm> (consulté le 15/10/2015).
61. HUNT R, MCLLROY D (2013). *Virologie de base : définitions, structure et classification* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.microbiologybook.org/French-virology/virol-french1.htm> (consulté le 27/11/2015).
62. HURAUX JM, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. *Virologie* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/viro/poly/POLY.Chp.1.3.html> (consulté le 11/11/2015).
63. INSTITUT PASTEUR (2012). *HTLV-1* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/htlv-i> (consulté le 03/09/2015).
64. INSTITUT PASTEUR (2013). *Cancer du col de l'utérus et Papillomavirus* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/cancer-du-col-l-uterus-et-papillomavirus> (consulté le 16/09/15).
65. Institut Pasteur, unité des virus lents. Cours de virologie [en ligne]. Disponible sur : http://virologie.free.fr/documents/virologie/09-Pathogenese_infections_vir_neuro/Pathogenese_infections_vir_neuro.htm (consulté le 10/11/2015).
66. International Committee on Taxonomy of Viruses (2014). *Virus Taxonomy 2013* [en ligne]. Disponible sur : <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> (consulté le 15/04/15).
67. ISNARD V (2010). *Carcinome épidermoïde chez le chat, le chien et le cheval : étude bibliographique comparée*. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon 1, 132 p.
68. J. KIM F, MANEL N, BATTINI JL, SITBON M (2004). La capture d'enveloppe par les rétrovirus. *Médecine/sciences*, **20** (10), 876-881.
69. JASPARD E, MACHEREL D, HUNAULT G (2012). Computational and statistical analyses of amino acid usage and physico-chemical properties of the twelve late embryogenesis abundant protein classes. *PLoS One*, **7** (5), e36968.
70. KAUFER BB, ARNDT S, TRAPP S, OSTERRIEDER N, JAROSINSKI KW (2011). Herpesvirus Telomerase RNA (vTR) with a mutated template sequence abrogates Herpesvirus-induced lymphomagenesis. *PLoS Pathogens*, **7** (10), e1002333.
71. KAUFER BB, OSTERRIEDER N, JAROSINSKI KW (2011). Herpesvirus telomeric repeats facilitate genomic integration into host telomeres and mobilization of viral DNA during reactivation. *The journal of experimental medicine*, **208** (3), 605-615.
72. KLEIBOEKER SB, MILLER MA, SCHOMMER SK, RAMOS-VARA JA, BOUCHER M, TURNQUIST SE (2002). Detection and Multigenic Characterization of a Herpesvirus Associated with Malignant Catarrhal Fever in White-Tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) from Missouri. *Journal of Clinical Microbiology*, **40** (4), 1311-1318.

73. LAMBLIN B (2010). *Les tumeurs des bovins : revue bibliographique et étude rétrospective de 78 cas diagnostiqués à l'ENVT entre 2001 et 2008*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 133 p.
74. LANGE CE, TOBLER K, LEHNER A, GREST P, WELLE MM, SCHWARZWALD CC, FAVROT C (2013). EcPV2 DNA in equine papillomas and in situ and invasive squamous cell carcinomas supports papillomavirus etiology. *Veterinary pathology*, **50** (4), 686-692.
75. LARRAT S (2010). *Inhibition du cycle lytique du virus d'Epstein-Barr par ARN interférence*. Thèse de doctorat, virologie – immunologie – microbiologie, Grenoble, 189 p.
76. LAUDE H (2012). *Rôle du Polyomavirus de Merkel dans les carcinomes à cellules de Merkel*. Thèse de doctorat en Sciences et Vie de la Terre, spécialité infectiologie, université René Descartes – Paris V, 210 p.
77. LEMAHIEU JC, DECOSTER A (2005). *Classification des virus* [en ligne]. Disponible sur : <http://anne.decoster.free.fr/d1viro/vaccueil.html> (consulté le 23/11/2015).
78. LEVESQUE KS, BONHAM L, LEVY LS (1990). Flvi-1, a common integration domain of feline leukemia virus in naturally occurring lymphomas of a particular type. *Journal of virology*, **64** (7), 3455-3462.
79. LEWIN B (2000). Oncogenes and cancer. In *Genes VII*. 7e édition. Oxford: Oxford university press, p. 880 – 930.
80. LIEVRE A, LAURENT-PUIG P (2010). La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancero digest*, **2** (1), 38 – 42.
81. LIU JL, KUNG HJ (2000). Marek's disease herpesvirus: a c-Jun analogue with an alternative life style. *Virus Genes*, **21** (1-2), 51-64.
82. LIU SL, MILLER AD (2007). Oncogenic transformation by the jaagsiekte sheep retrovirus envelope protein. *Oncogene*, **26** (6), 789-801.
83. LUNARDI M, ALCINDO ALFIERI A, ARELLANO OTONEL RA, FERNANDES ALFIERI A (2013). Bovine Papillomaviruses — taxonomy and genetic features. *INTECH : Current Issues in Molecular Virology - Viral Genetics and Biotechnological Applications*, **5**, 113-136.
84. Maeda N, Fu W, Ortin A, Marcelo de las Heras M, Fan H (2005). Roles of the Ras-MEK-Mitogen-Activated Protein Kinase and Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt-mTOR pathways in Jaagsiekte sheep retrovirus-induced transformation of rodent fibroblast and epithelial cell lines. *Journal of virology*, **79** (7), 4440 – 4450.
85. MAY P, MAY E (1998). Protéine p53 : de l'interaction avec les protéines virales à la pathogénie des cancers humains. *Virologie*, **2** (5), 347 – 354.
86. MEDAN S (2010). *Formes oculaires du carcinome épidermoïde chez le cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 127 p.
87. MORGAN D (2010). *Le cycle cellulaire*. 1^e édition. Louvain-la-Neuve : De Boeck. 295 p. ISBN : 9782804101282.

88. MOROZOV VA, MOROZOV AV, LAGAYE S (2007). Endogenous JSRV-like proviruses in domestic cattle: analysis of sequences and transcripts. *Virology*, **367**, 59 – 70.
89. MULOT B (2008). *Etude bibliographique de l'implication des Retrovirus endogènes chez les mammifères et pathologies associées*. Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, 200 p.
90. MUNDAY JS, KIUPEL L (2010). Papillomavirus-associated cutaneous neoplasia in mammals. *Veterinary pathology*, **47** (2), 254-264.
91. OIE Organisation mondiale de la santé animale (2008). Adénomatose pulmonaire ovine (adénocarcinome). *Manuel terrestre de l'OIE*, chapitre 2.7.10.
92. OIE Organisation mondiale de la santé animale (2008). Leucose bovine enzootique. *Manuel terrestre de l'OIE*, chapitre 2.4.11.
93. PALMARINI L, FAN H (2001). Retrovirus-induced ovine pulmonary adenocarcinoma, an animal model for lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **93** (21), 1603-14.
94. PALMARINI L, SHARP JM, DE LAS HERAS M, FAN H (1999). Jaagsiekte sheep retrovirus is necessary and sufficient to induce a contagious lung cancer in sheep. *Journal of virology*, **73** (8), 6964-6972.
95. PANTGINIS J, BEATY RM, LEVY LS, LENZ J (1997). The Feline Leukemia Virus Long Terminal Repeat contains a potent genetic determinant of t-cell lymphomagenicity. *Journal of virology*, **71** (12), 9786–9791.
96. PEIGNE-LAFEUILLE H, NICOLAS JC, HURAUX M, AGUT H (2003). *Traité de virologie médicale*. Paris : Estem. 699 p. ISBN : 9782843712036.
97. PERK K, MICHALIDES R, SPIEGELMAN S, SCHLOM J (1974). Biochemical and morphologic evidence for the presence of an RNA tumor virus in pulmonary carcinoma of sheep (Jaagsiekte). *Journal of the National Cancer Institute*, **53**, 131-135.
98. PFISTER A (2010). *Démarche diagnostique de l'infection par le FeLV : synthèse et conseils aux praticiens*. Thèse de doctorat vétérinaire, université Claude-Bernard-Lyon I, 132 p.
99. POIREL H, BERNARD O (2000). Implication des gènes du CBF dans la leucémogénèse. *Hématologie*, **6** (1), 30-36.
100. PRABHU S, LOBELLE-RICH PA, LEVY LS (1999). The FeLV-945 LTR confers a replicative advantage dependent on the presence of a tandem triplication. *Virology*, **263**, 460 – 470.
101. Prescott LM, Harley J, Klein DA, Willey J, Sherwood L, Woolverton C (2010). Les virus et le cancer. In *Microbiologie*. 3e édition. Bruxelles : De boeck, p. 461. ISBN : 9782804160128.
102. RAI SK, DUH FM, VIGDOROVICH V, DANILKOVITCH-MIAGKOVA A, LERMAN MI, MILLER AD (2001). Candidate tumor suppressor HYAL2 is a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored cell-surface receptor for jaagsiekte sheep retrovirus, the envelope protein of which mediates oncogenic

- transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98** (8), 4443 - 4448.
103. REMY D, MOUSSAY B, GUIOILLIER L, MILLEMANN Y, BELBIS G (2009). Les leucoses bovines : étude de deux cas. *Le Point Vétérinaire*, **294**.
104. RUSTGI AK, DYSON N, BERNARDS R (1991). Gène du rétinoblastome, oncogènes, adénovirus et facteurs de transcription. *Médecine/sciences*, **7**, 864-866.
105. SUAU F, GIRARD N, ARCHER F, COTTIN V, CROZE S, MORNEX JF, LEROUX C (2006). JSRV (Jaagsiekte sheep retrovirus) et cancer du poumon associé chez le mouton. *Virologie*, **10** (4), 287-99.
106. TOMA B, ELOIT M, SAVEY M (1990). Les maladies animales à rétrovirus : leucose bovine enzootique, anémie infectieuse des équidés, arthrite/encéphalite caprine. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*, **9** (4), 983-1037.
107. TREMPE F (2013). *Etude du rôle de la protéine U94 de l'herpèsvirus humain de type 6 dans le processus de l'intégration chromosomique*. Mémoire de doctorat en microbiologie-immunologie, université Laval - Québec, 109 p.
108. TRETON X (2015). Micro-ARN : un futur outil en cancérologie. In : *Journées francophones d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive*, 19 au 22 mars 2015, Paris. Clichy-la-Garenne : hôpital Beaujon, p. 130.
109. VENUTI A, PAOLINI F, NASIR L, CORTEGGIO A, ROPERTO S, CAMPO MS, BORZACCHIELLO G (2011). Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Molecular Cancer*, **10**, 140-158.
110. VERWOERD D-W, DE VILLIERS E-M, TUSTIN R-C (1980). Experimental transmission to lambs by means of cultured cells and cell homogenates. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **47**, 13-18.
111. Waugh EM, Gallagher A, McAulay KA, Henriques J, Alves M, Bell AJ, Morris JS, Jarrett RF (2015). Gammaherpesviruses and canine lymphoma: no evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. *Journal of General Virology*, **96**, 1863-1872.
112. WYPIJ JM (2013). A naturally occurring feline model of head and neck squamous cell carcinoma. *Pathology research international*, **2013**, 7 p.
113. XERRI L (2011). *Cycle cellulaire et cancer*. Institut Paoli-Calmettes, cours M2 Oncologie « Module génomique tumorale ».
114. YANG L, MARUO S, TAKADA K (2000). CD21-mediated entry and stable infection by Epstein-Barr virus in canine and rat cells. *Journal of virology*, **74**, 10745-10751.
115. YORK DF, VIGNE F, VERWOERD DW, QUERAT G (1992). Nucleotide sequence of the Jaagsiekte retrovirus, and endogenous and exogenous type D and B retrovirus of sheep and goats. *Journal of Virology*, **66** (8), 4930-4939.
116. ZALDUMBIDE A, SEVILLA L, POGNONEC P, BOULUKOS KE (2001). Contrôle de l'expression de Bcl-x1 par les facteurs de transcription Ets. *Medecine Sciences*, **17** (12), 1356-57.

Nom : MUGNIER

Prénom : Amélie

Titre : Les virus oncogènes chez les principales espèces domestiques – Etude bibliographique.

Résumé. Les virus oncogènes sont capables d'induire ou de favoriser la formation de tumeurs au sein de l'organisme infecté. Chez les principales espèces domestiques, ils peuvent utiliser différentes méthodes. Les rétrovirus cis-activateurs agissent par mutation activatrice ou insertionnelle : activation d'un proto-oncogène cellulaire grâce à leurs LTRs (exemple : FeLV). Les rétrovirus transducteurs font intervenir un oncogène d'origine cellulaire qu'ils ont préalablement intégré dans leur ADN (exemple : FeSV). Les virus à ADN ainsi que certains rétrovirus mettent en jeu une ou des protéines intrinsèques (Tax pour BLV, Env pour JSRV, E6 et E7 pour les papillomavirus). Des co-facteurs environnementaux ou génétiques, l'échappement au système immunitaire de l'hôte sont souvent nécessaires à l'oncogenèse. Pour finir, les herpesvirus ont permis de présenter l'importance de la phase de latence, de l'échappement à la crise télomérique et des microARN dans le développement d'un processus tumoral.

Mots-clés. Oncogenèse, virus, oncoprotéine, tumeur.

Summary. Oncogenic viruses can induce or stimulate tumorigenesis. In main domestic species, these viruses may use different methods. Cis-acting retroviruses proceed by activation of cellular promoter gene by the enhancer of the retroviral LTR (example: FeLV). Acute transforming retroviruses carry genes causing cell transformation: integration of a cellular proto-oncogene in their genome (example: FeSV). DNA viruses and some retroviruses include one or more intrinsic proteins (Tax for BLV, Env for JSRV, E6 and E7 for papillomaviruses). With DNA tumor viruses and some retroviruses, the cell is transformed as a result of the expression of proteins that control viral and cellular DNA synthesis. Environmental or genetic co-factors and the evasion of the host immune system are often necessary for tumorigenesis. In the last part, herpesviruses can use different ways to transform the cell. In this study, they have been used to show the importance of the latence phase, the telomeris crisis escape and the use of microRNAs.

Key words. Oncogenesis, virus, oncoprotein, tumor.