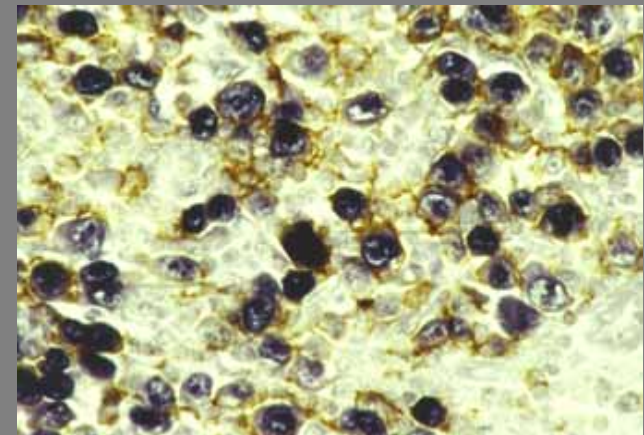


EBV, et LYMPHOPROLIFERATION
TRANSFORMATION CELLULAIRE
ET ONCOGENESE

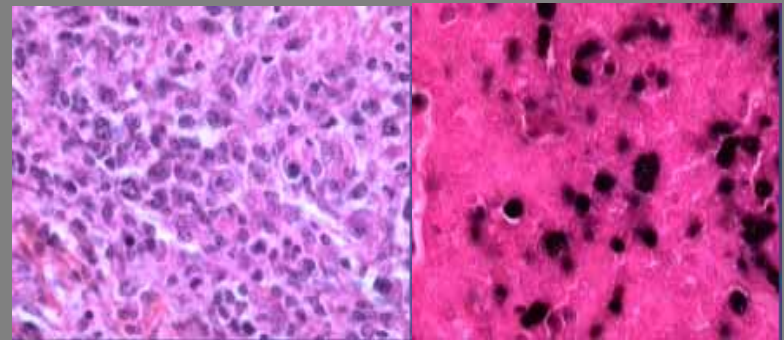
EBV

- 1964 : LNH Burkitt : découverte : Epstein, Achong et Barr
- 1968 : Agent de la mononucléose infectieuse : Henle
- 1970 : Carcinome du Naso pharynx : Zur Hausen
- 1980s : lymphomes des déficits immunitaires
Hodgkin
Lymphomes T



EBV et lymphomes

- < 5% des LNH de l'immunocompétent
- 10 - 85% des lymphomes de Burkitt
- 20 - 80% du lymphome de Hodgkin
- 60 - 100% des lymphomes des déficits immunitaires
- 5 - 100% des LNH T



WAS et granulomatose lymphomatoïde

EBV, lymphomes, transformation cellulaire et oncogénèse

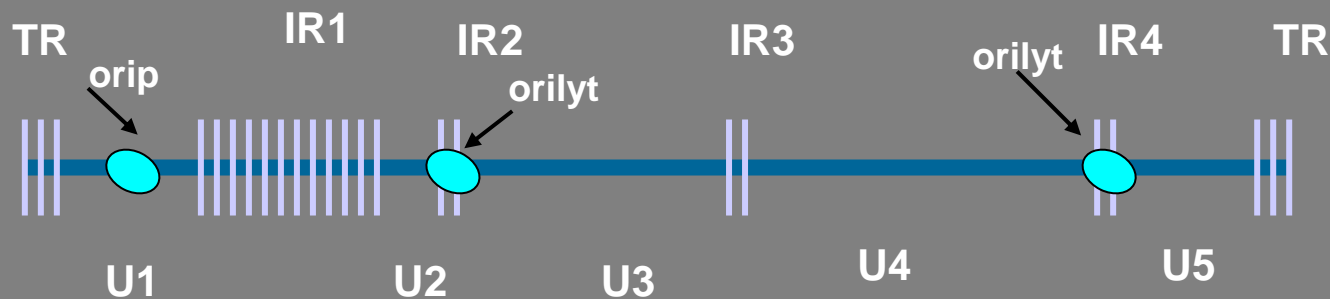
- Interaction persistante entre le virus et l'hôte
- Paradoxe apparent
 - EBV transforme les lymphocytes quiescents in vitro
 - Infection persistante et asymptomatique in vivo
- Deux explications
 - importance du contrôle du système immunitaire de l'hôte
 - Interaction entre l'EBV et la machinerie cellulaire
 - co régulation de l'expression des gènes cellulaires et viraux
- Prolifération et silence immunologique

EBV : réponse immunitaire cellulaire

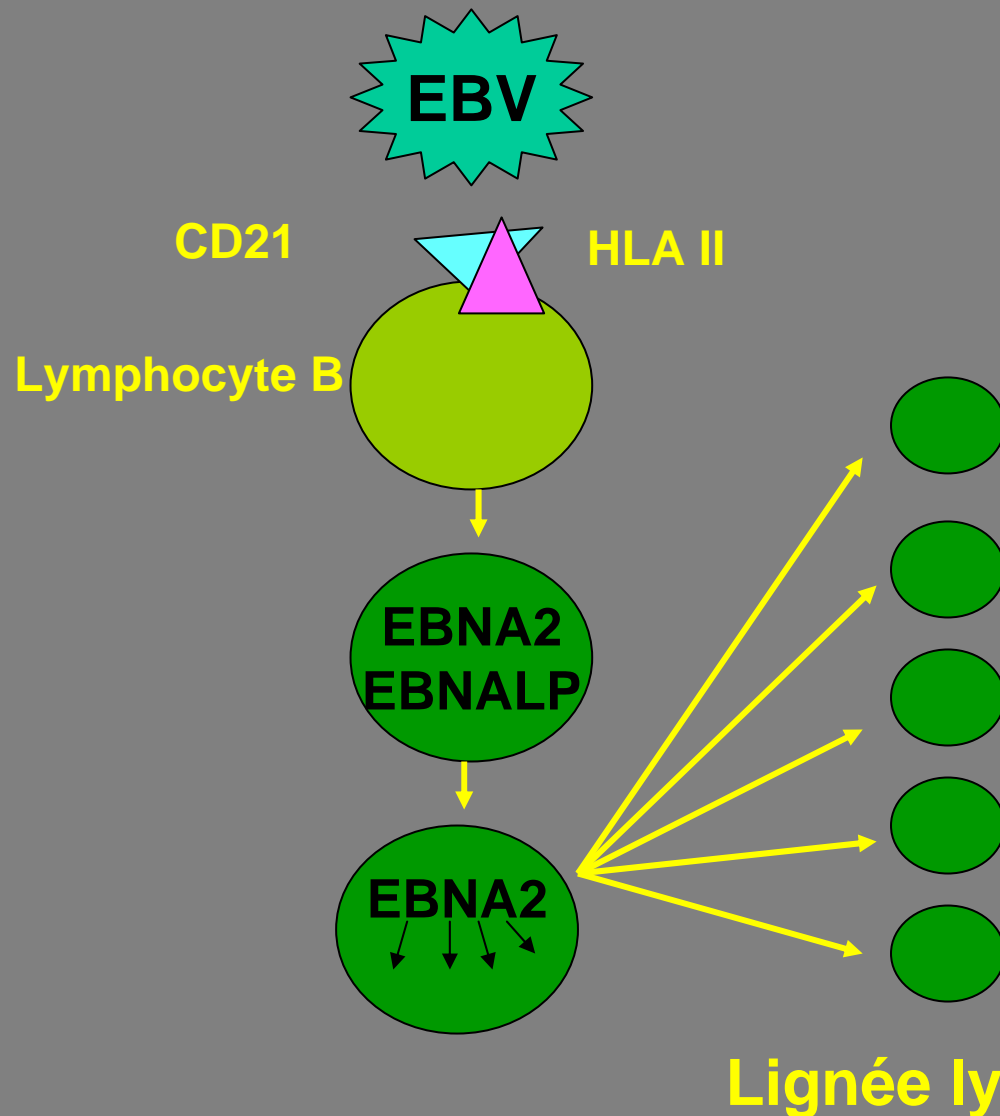
- **NK : réponse précoce suivant la réponse humorale non spécifique**
- **Cellules T CD8 cytotoxiques : présentation antigénique restreinte par le CMH de classe I**
peptide de 8 à 10 acides aminés : épitope immunodominant
cibles des CTL : antigènes du cycle lytique
antigènes de latence : EBNA1, LMP
EBNA1: réponse absente ou faible
- **CD4 : réponse type CTL restreinte par le CMH II**
cibles : EBNA1, EBNA3C
interaction CD40/CD40L

EBV : structure et génome

- Herpes virus humain 4
famille des Herpesviridae, lymphocryptovirus
groupe C
taille de 120 à 200 nm
ADN double brin de 172 kbp



EBV et lignées lymphoblastoïdes



Protéines de latence

- EBNA1
- EBNALP
- EBNA2
- EBNA3A
- EBNA3B
- EBNA3C
- LMP1
- LMP2A
- LMP2B
- EBER1, 2
- CST/BARTS

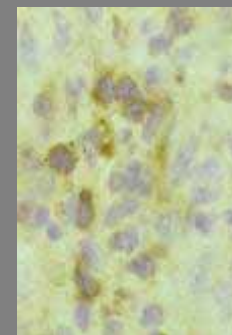
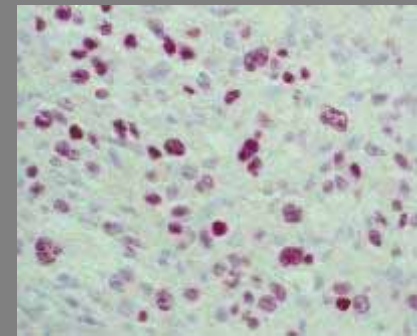
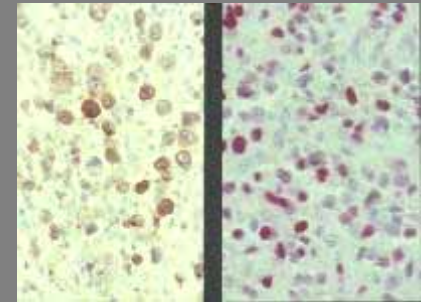
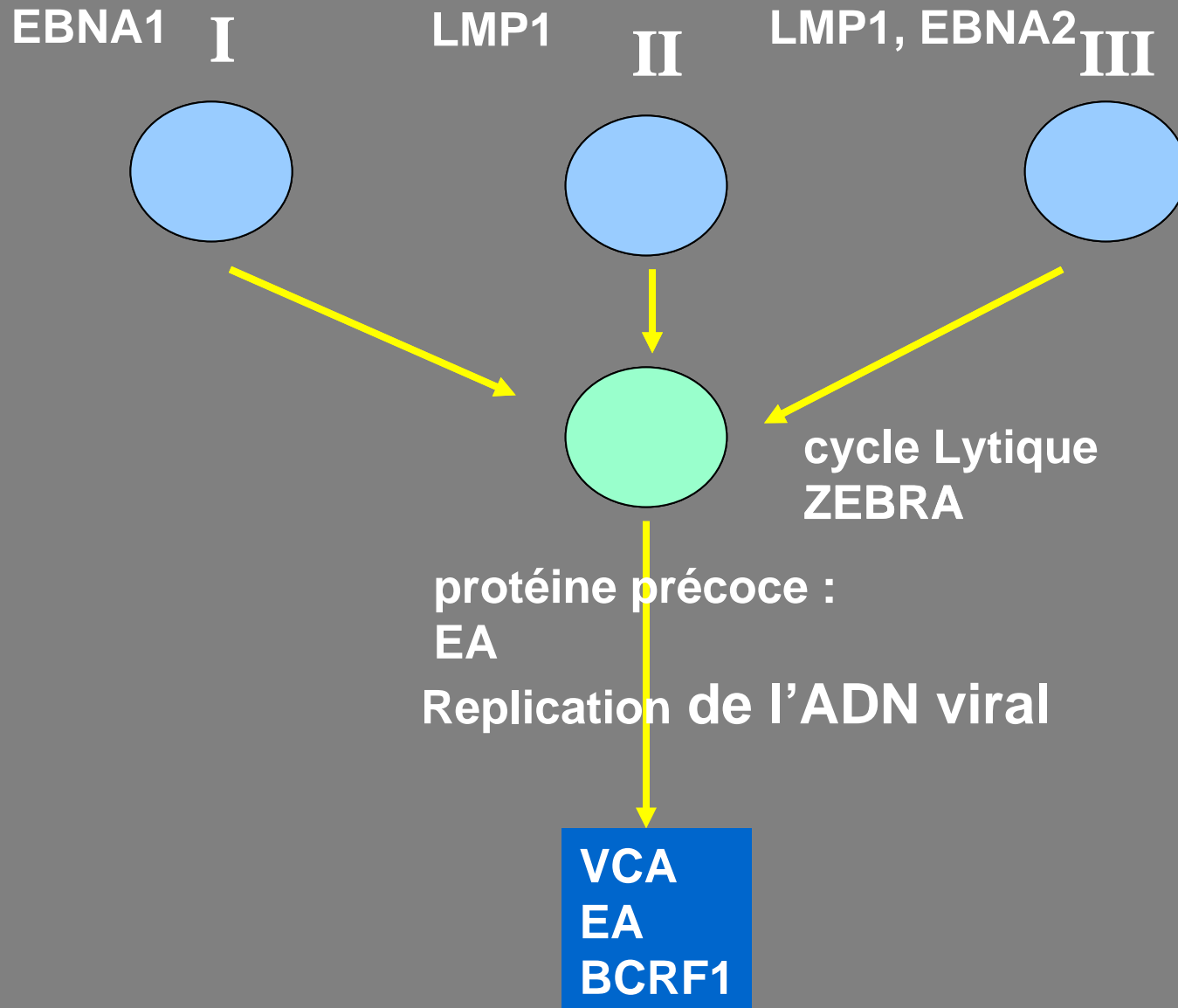
EBV

protéines de latence, fonctions principales les différents types de latence

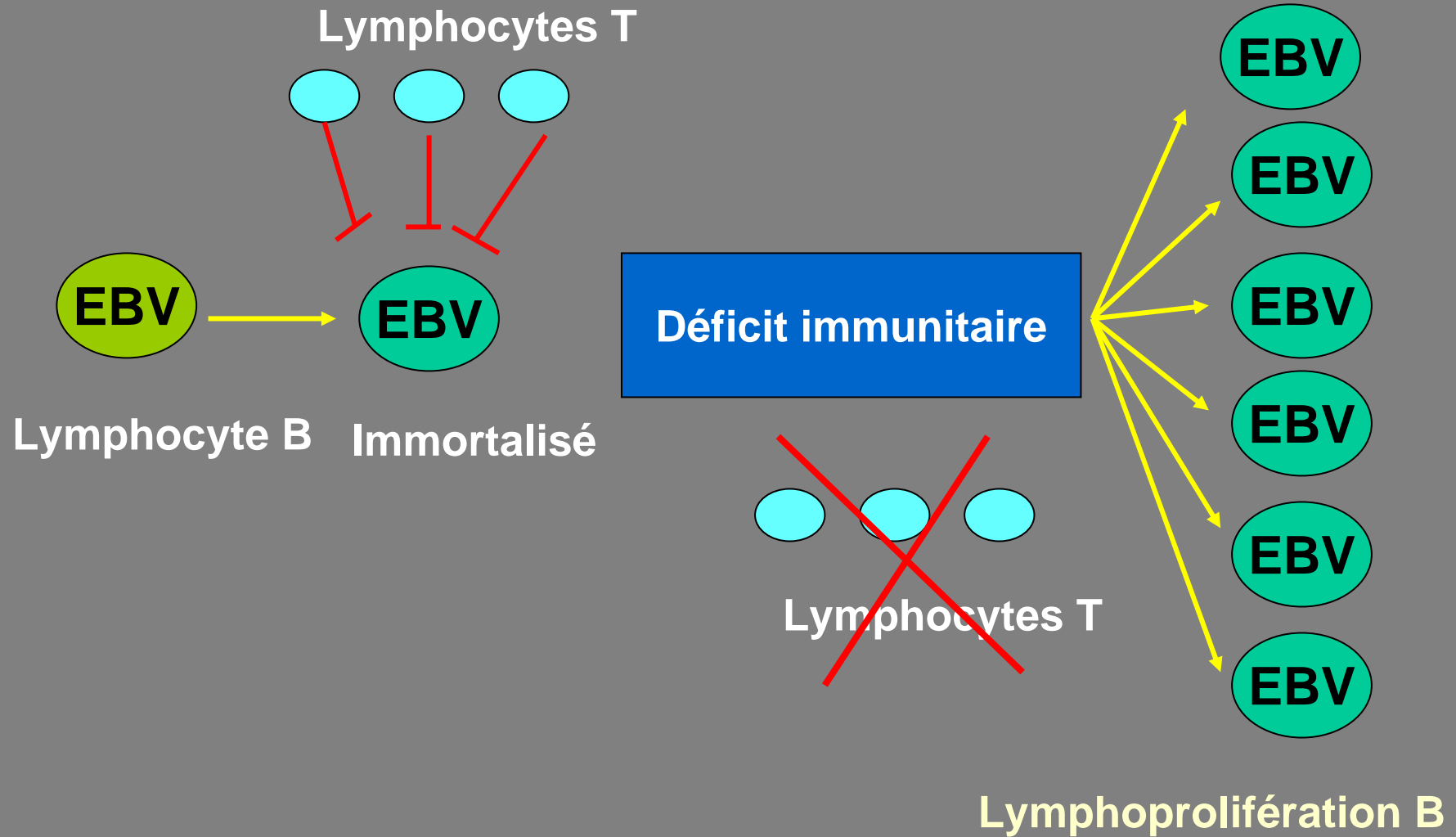
Protéines	Latences				fonctions
	0	I	II	III	
EBERS	+/-	+	+	+	réponse IFN
EBNA1	ARN	+	+	+	persistance génome
EBNA2	-	-	-	+	transcription, lien RBPjk
EBNA3A	-	-	-	+	transcription, lien RBPjk
EBNA3B	-	-	-	+	transcription
EBNA3C	-	-	-	+	activation cycle cellulaire
EBNA LP	-	-	-	+	coopération EBNA2, cycle
LMP1	-	-	+	+	activation, NFkB, STAT1
LMP2A	ARN	-	+	+	bloquage: BCR, réactivation
LMP2B	-	-	+	+	?

Cellules B mémoire, BL, Hodgkin, LCL, MNI, LP des immunodéprimés
d'après V Maréchal 2001

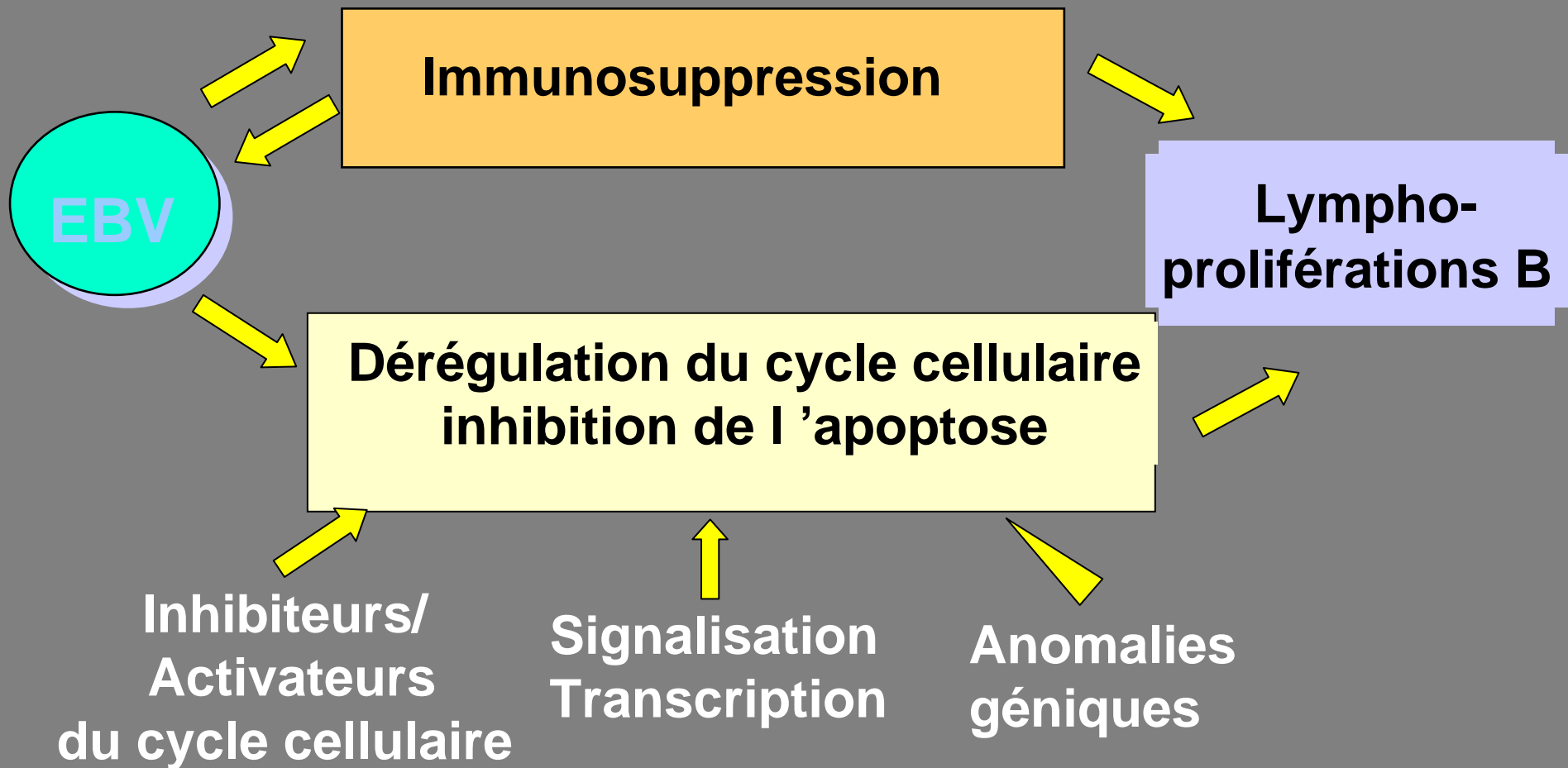
EBV et cycle lytique



EBV et lymphoproliférations B après transplantation d'organe

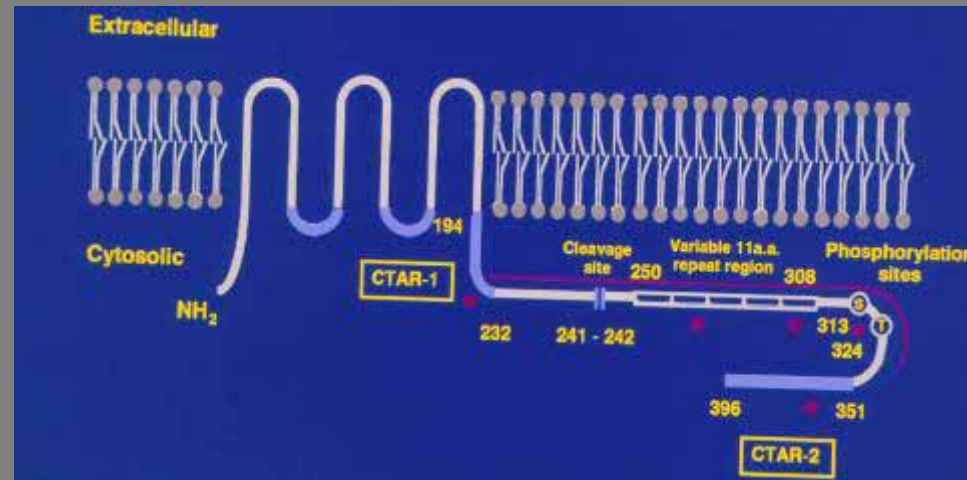


EBV et lymphoproliférations B



EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

EBV et lymphomes, LMP1



- La structure de la molécule confère une fonction de récepteur constitutivement activé : extrémité NH₂ et partie transmembranaire , agrégation et oligomérisation, identification d'une partie de LMP1 dans les rafts membranaires.
- Extrémité C terminale et transduction du signal :
CTAR1/TES1 et recrutement des facteurs associés au TNF-R, (TRAF1,2,3,5)
CTAR2/TES2 et association avec TRADD et RIP (signalisation TNF-RI),
mais pas de death domaine sur LMP1

EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

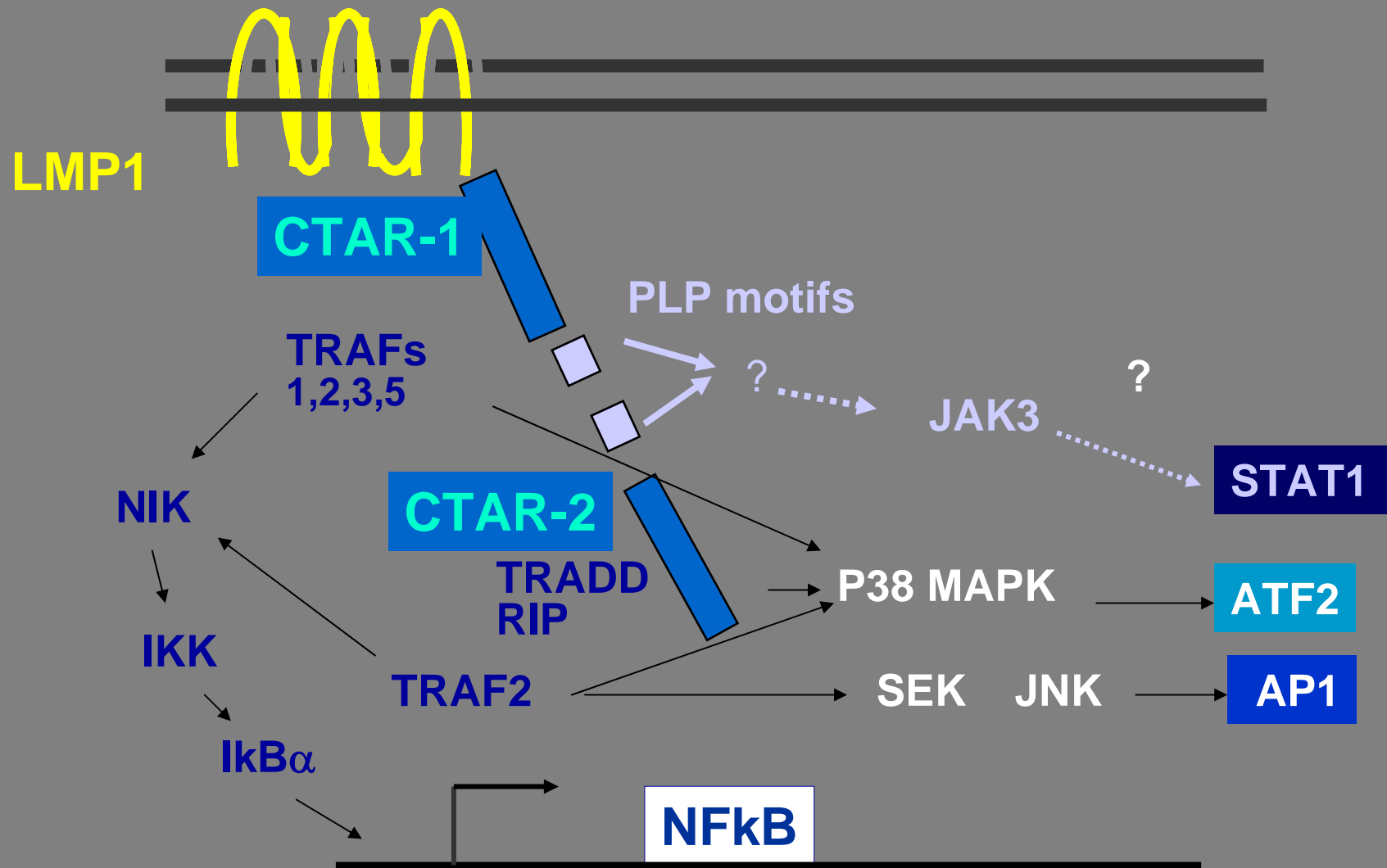
EBV et lymphomes, rôle de LMP1 dans la transformation cellulaire

- Wang D (Cell 1985), expression de LMP1 et transformation de fibroblastes de rat
- LMP1 : initiation et maintien de la prolifération

4 fonctions de LMP1 impliquées dans la transformation cellulaire

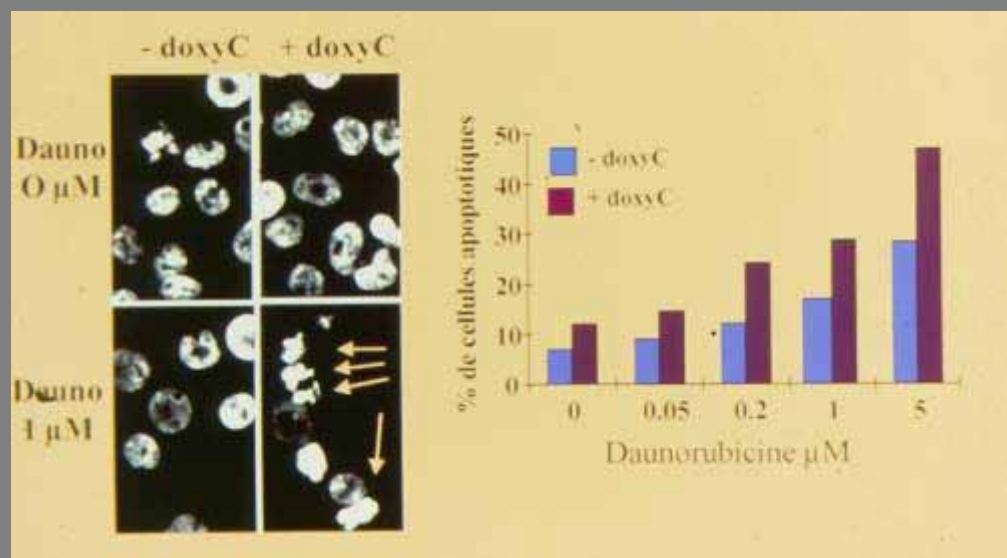
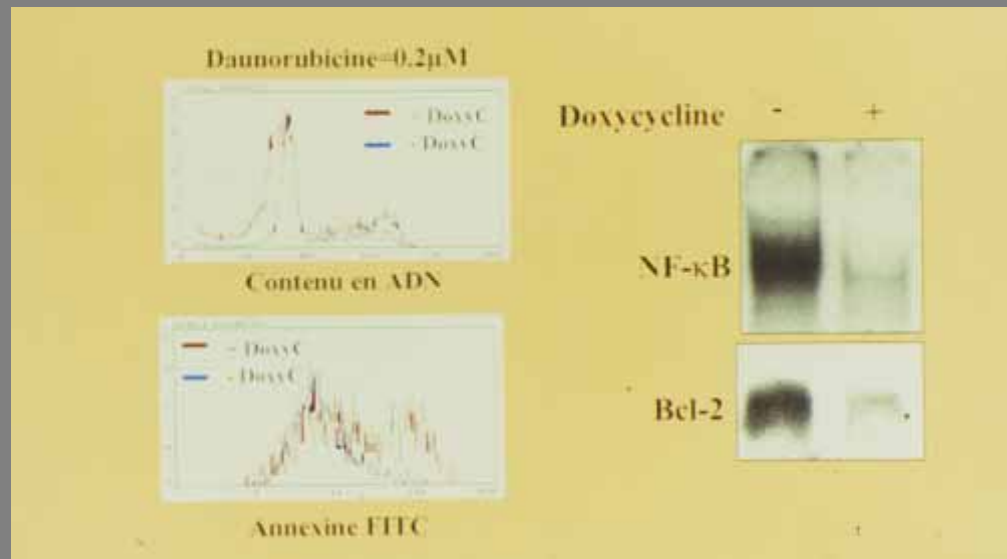
- Induction de la synthèse d'ADN
- Inhibition de l'apoptose :
 - surexpression de BCL-2, MCL-1, BFL-1, A20 et c-IAPs
- Interférence avec la régulation de la sénescence cellulaire
- Dérégulation de l'expression cytokinique :
 - IL-8, métalloprotéïnase, IL-6, IL-10

Signaux activés par LMP1

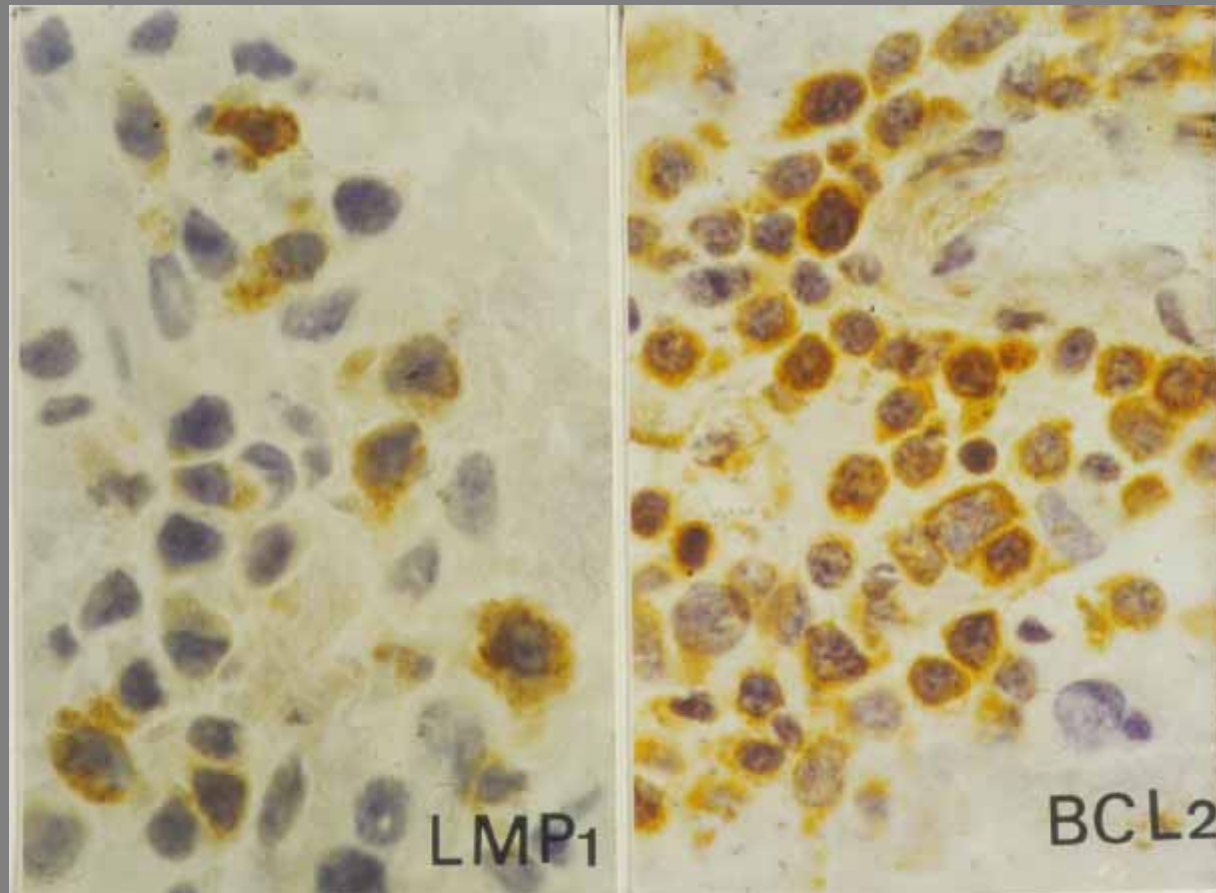


EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

EBV et lymphomes, LMP1, voie NF kappa B et apoptose



EBV, transformation cellulaire et oncogénèse
EBV et lymphomes
Lymphomes cérébraux primitifs VIH+ : LMP1 et BCL-2



EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

EBV et lymphomes

Voies de Signalisation et homéostasie cellulaire

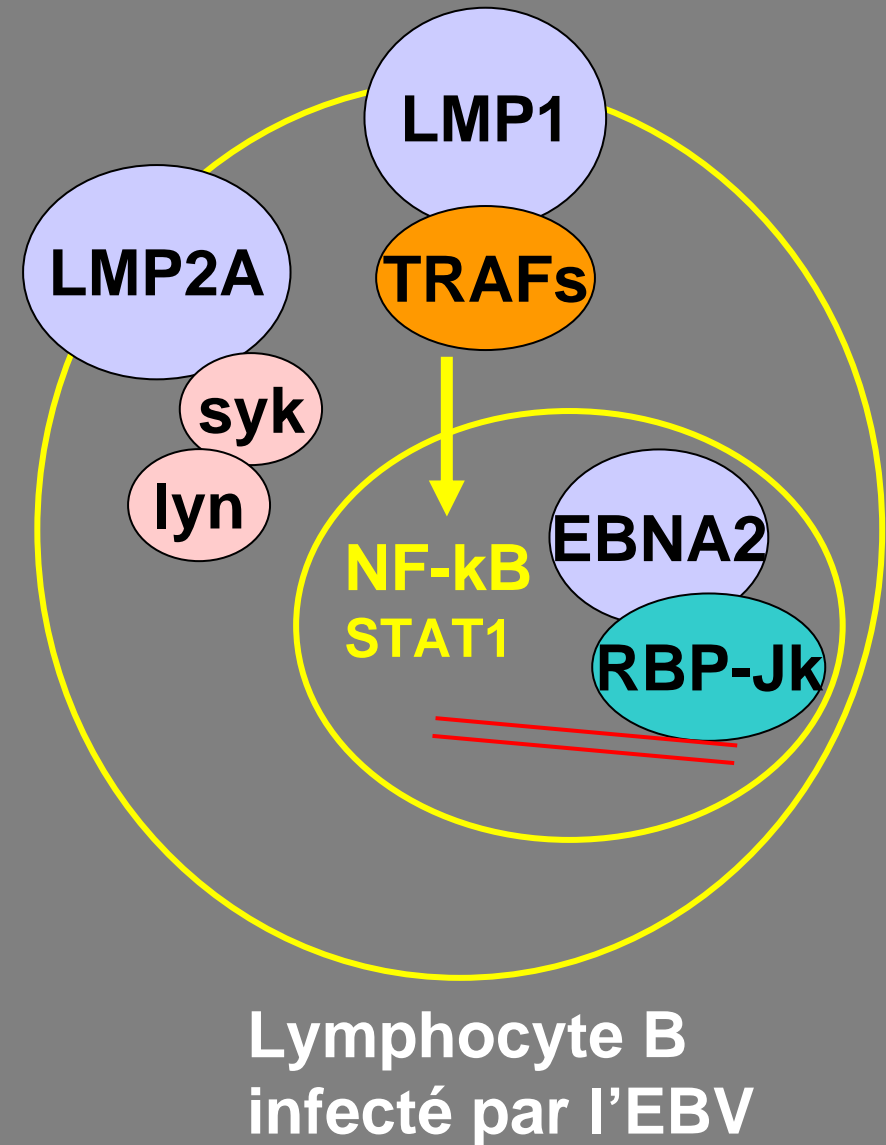
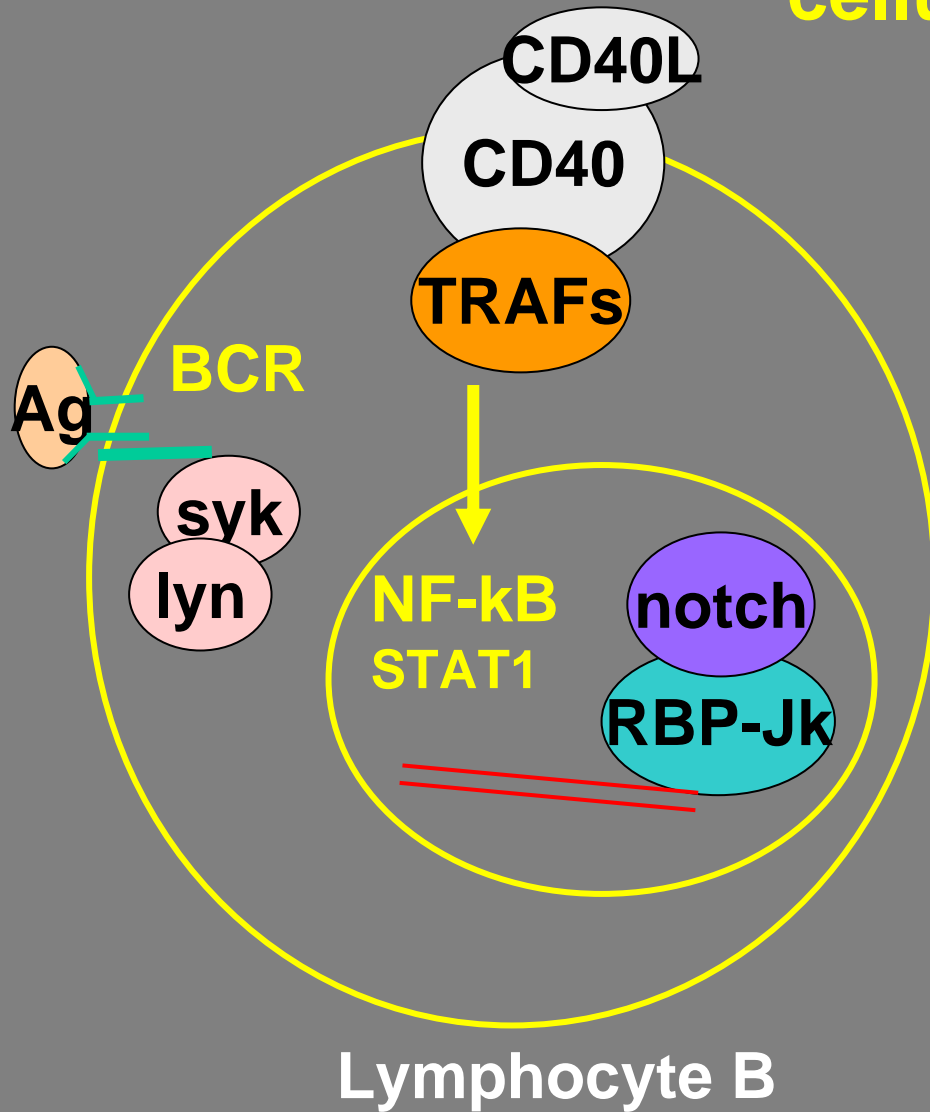
Survie cellulaire

- EBV et survie cellulaire : rôle de LMP1
se comporte comme un récepteur de la famille des TNF-R constitutivement activé utilisant les voies de signalisation CD40/CD40L
souris CD40^{-/-} LMP1tg (Science 1999)
- Transfection de LMP1 dans les lignées de Burkitt
surexpression de BCL-2
surexpression de A20, MCL1, BFL-1
Rôle de NF kappa-B

EBV, transformation cellulaire et oncogénèse EBNA2 et voie de signalisation NOTCH

- EBNA-2 est-il l'équivalent fonctionnel de Notch-1 (N-IC) dans les cellules B
 - N-IC transactive les promoteurs viraux : Cp, LMP1 et LMP2A
 - augmente l'expression de CD21
 - diminue l'expression de IgH
 - N-IC ne peut maintenir la prolifération B en l'absence d'EBNA-2
 - absence d'expression de LMP1
 - augmente l'expression de LMP2A
- N-IC et LMP1 maintiennent transitoirement la prolifération B sans EBNA-2
- Expression de jagged 1 induite par NF kappa B
- Gènes cibles de Notch1 et d'EBNA-2?
- Utilisation de la voie Notch dans les latences I ou II?
- Autres membres de la famille Notch?
- Autres voies de signalisation que Notch?

Virus d'Epstein-Barr et reprogrammation cellulaire



EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

Rôle des EBER dans l'oncogénèse?

EBER s'associe à des protéines cellulaires, cytoplasmiques
PKR (effet anti viral de l'IFN)

- Maintien du phénotype malin du lymphome de Burkitt, lignée Akata et BJAB, Komano J, J Virol 1999
transfection d'EBER dans des cellules Akata EBV-
croissance en gel d'agarose
tumorigénicité chez la souris SCID
résistance à l'apoptose
surexpression de BCL-2
- Induction de la transcription de l'IL10, Kitagawa, EMBO J, 2000

EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

EBV et lymphomes

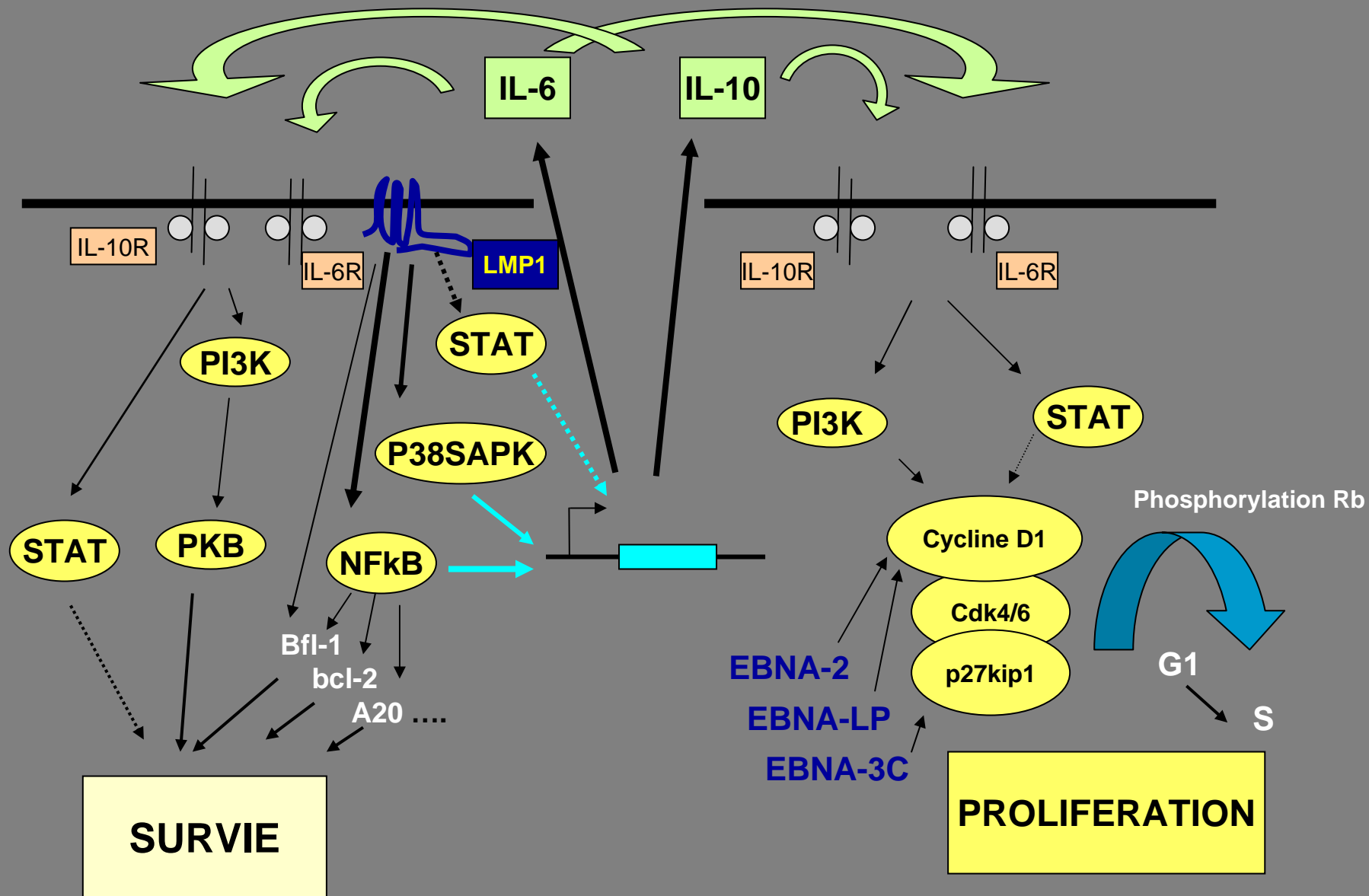
Voies de Signalisation et homéostasie cellulaire

- L'immortalisation des lymphocytes B par l'EBV requiert la coopération de nombreux gènes de latence et leur interaction avec la survie et la prolifération cellulaire.

EBV et dérégulation du cycle cellulaire

- EBNA2 et EBNA1P induction de la cycline D2
- EBNA3C et dérégulation de p27
- EBV et dérégulation de la production de cytokines impliquées dans la croissance cellulaire : IL-6, IL-10
- Signalisation liée au cycle cellulaire:
JAK, PI3K et STATs, MAP-ERK, PBK/Akt

Interactions moléculaires entre les protéines de l'EBV et la machinerie cellulaire : survie et prolifération

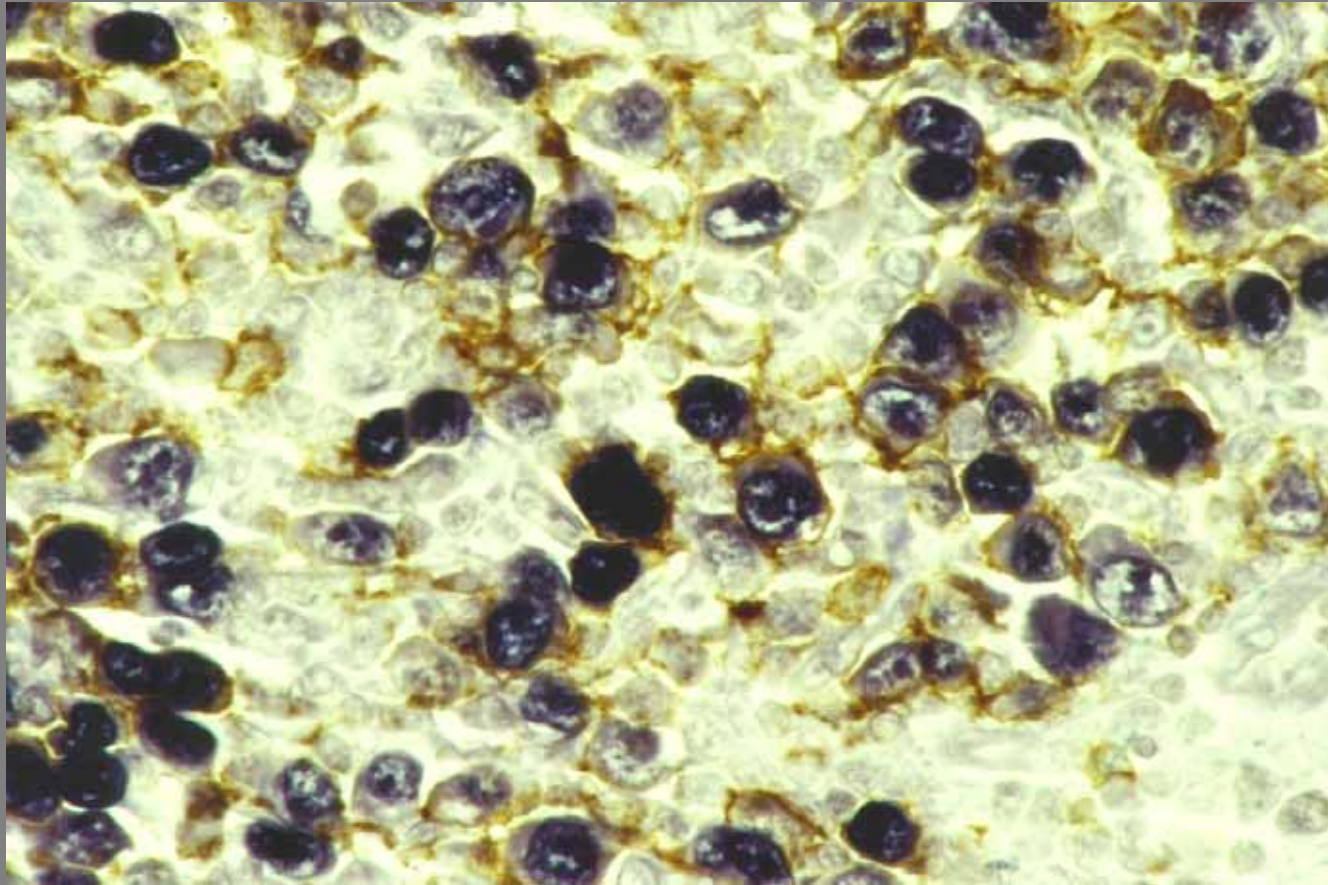


EBV, transformation cellulaire et oncogénèse

EBV et lymphomes

- Rupture de l'équilibre Hôte-Virus
- Re-programmation cellulaire par les protéines virales
 - Utilisation des voies de signalisation
 - Détournement de la transcription
 - Modification de l'homéostasie cellulaire
 - Prolifération/apoptose
- Différents programme de latence
 - Evènements génétiques ou mutationnels
 - jouant le rôle des protéines virales
 - Instabilité génétique?

EBV et Lymphome



LYMPHOMES ET IMMUNODEFICITS

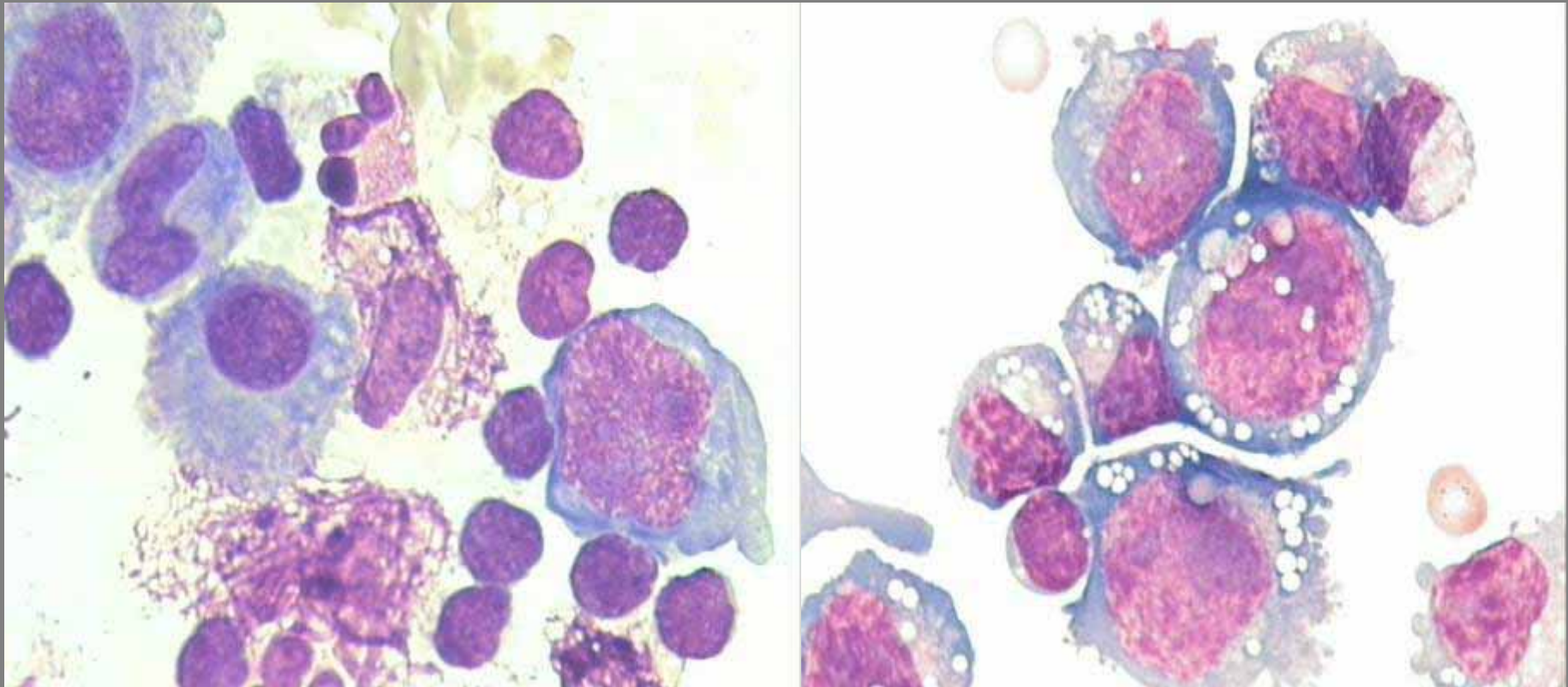
- La prévalence et le type de prolifération lymphoïde varie selon le contexte clinique.
- Les aspects histopathologiques
 - identiques à ceux des lymphomes de la population générale
 - particuliers à la situation de déficit immunitaire
 - reflètent les mécanismes physiopathologiques des déficits immunitaires
 - . **Défaut de l'immuno-surveillance virale, EBV**
 - . Anomalie de l'homéostasie du système immunitaire
 - . Altération de la réparation de l'ADN

SYNDROMES LYMPHOPROLIFÉRATIFS (SLP) ET PID

Immunophénotype, virus et génétique

- Cellules B : 90% des cas
- EBV : diminution de CD20, CD19, CD79a
expression de CD30
expression de LMP1 et des EBERs
- Clonalité : Ig, EBV
proliférations : polyclonales, oligoclonales
ou monoclonales
- Anomalies génétiques

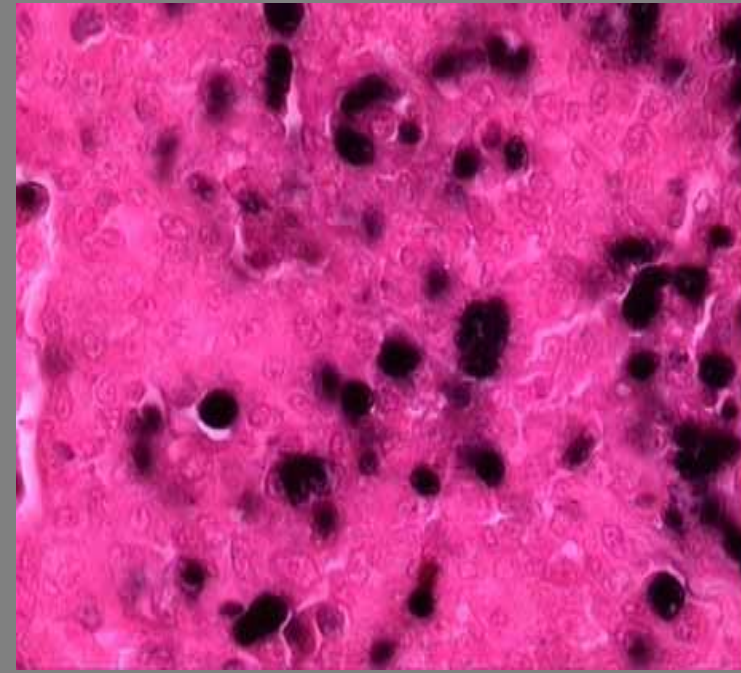
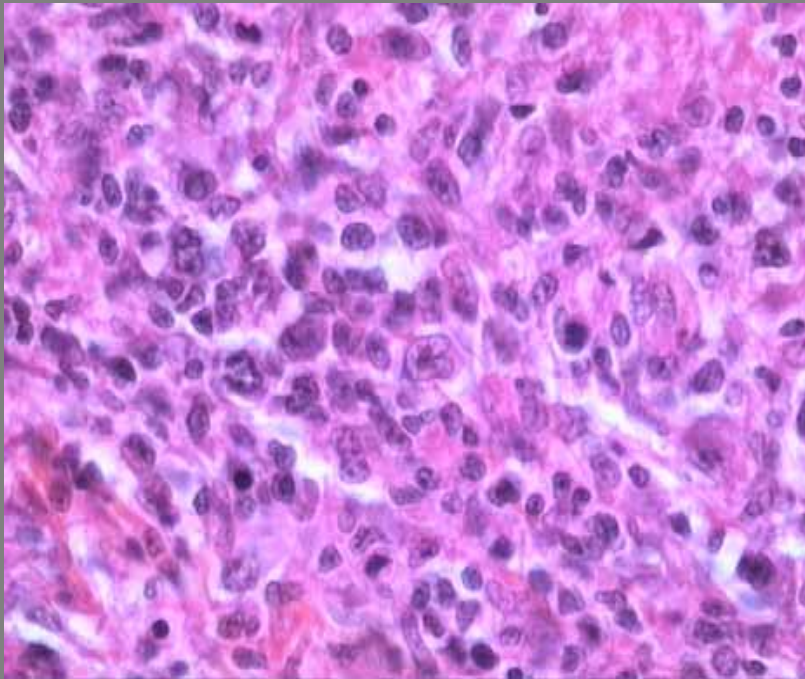
CVID et lymphome à grandes cellules B



Ascite

Enrichissement progressif en grandes cellules EBV+

WAS et granulomatose lymphomatoïde



Localisation pulmonaire

Les grandes cellules de phénotype B sont EBV+, EBER+

LYMPHOMES ET INFECTION VIH

ROLE DE L'EBV

- Hétérogénéité des lymphomes du SIDA
reflet de différents mécanismes physiopathologiques
- Intensité du déficit immunitaire et type histologique du lymphome différent
 - déficit modéré : lymphome de Burkitt
 - déficit profond : lymphome à grandes cellules
lymphome cérébral primitif
- Intensité du déficit immunitaire et virus
 - Herpes virus : EBV
HHV8
- Fréquence de l'EBV différente selon les types histologiques
- Stimulation antigénique chronique
- Dérégulation des cytokines
- Rôle des anomalies génétiques
 - oncogènes : *c-MYC*, *BCL6*

LYMPHOMES DU SIDA

catégories histopathologiques

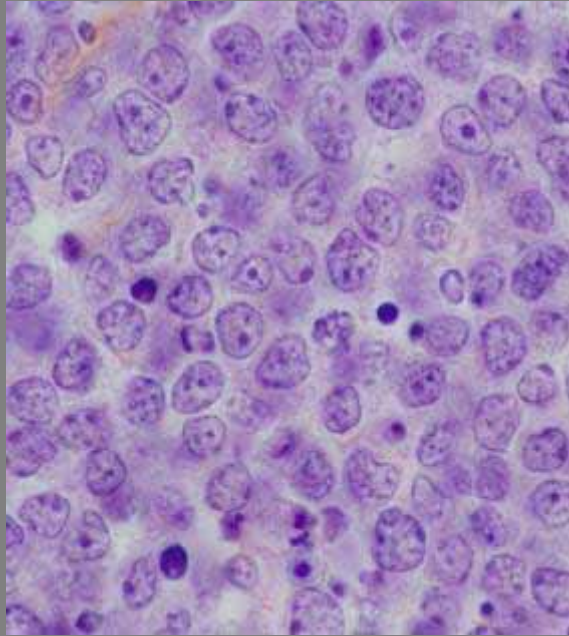
- Lymphomes survenant aussi dans la population générale
 - Lymphome de Burkitt
 - Diffus à grandes cellules B**
 - Extra ganglionnaire, zone marginale (rare)
 - Lymphome T périphérique
 - Lymphome de Hodgkin Classique**
- Lymphome survenant plus spécifiques chez les patients VIH
 - Lymphome primitif des séreuses**
 - lymphome plasmablastique de la cavité buccale
- Lymphomes survenant aussi dans d'autres immunodéficits
 - Lymphoprolifération B polymorphe (PTLD like)**

LYMPHOME DE BURKITT ET SIDA

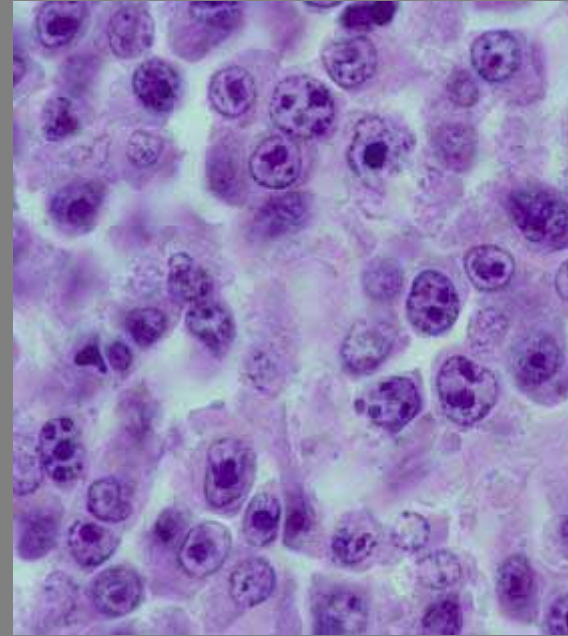
- Classification de l'OMS 2001: 3 aspects morphologiques
Morphologie, marqueurs de prolifération et apoptose
 - Burkitt classique
 - Burkitt avec différenciation plasmocytoïde
 - Burkitt atypique/Burkitt like
- Les 3 aspects morphologiques sont décrits
- Burkitt avec différenciation plasmocytoïde
 - Association avec l'EBV significativement plus fréquente
 - BL classique : 30 - 40 %
 - BL avec différenciation plasmocytaire : 70 - 80 %
 - Déficit immunitaire plus marqué :
 - BL classique : CD4 : 270/ mm³
 - BL avec différenciation plasmocytaire : CD4 : 119/ mm³

Groupe français des lymphomes du SIDA,
F. Davi et al J Clin Oncol 1998

Lymphome de Burkitt et infection VIH

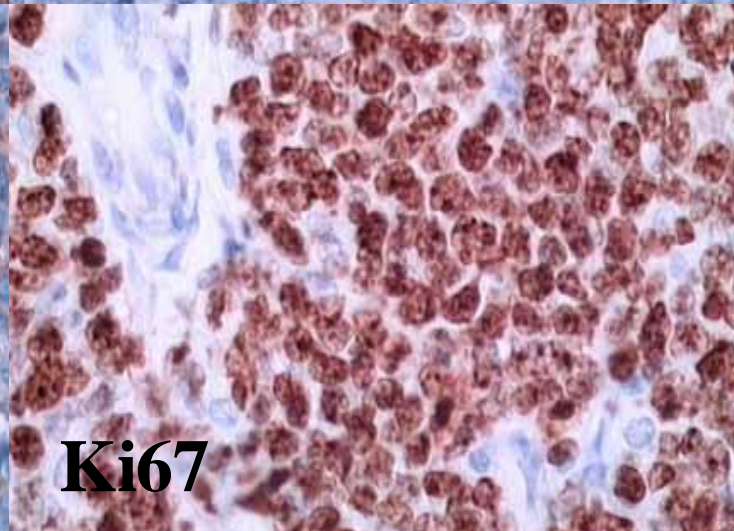
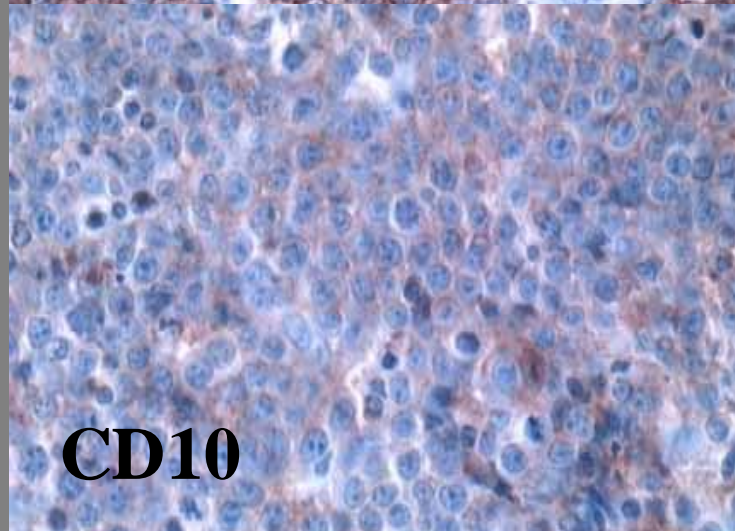
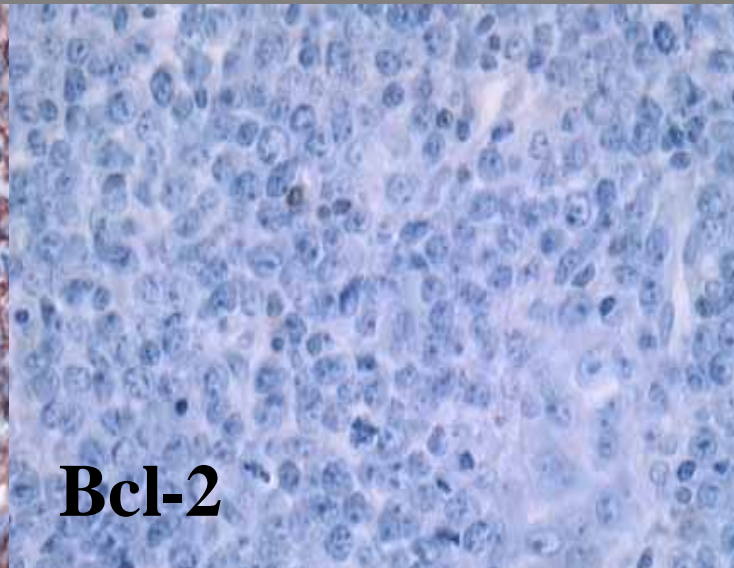
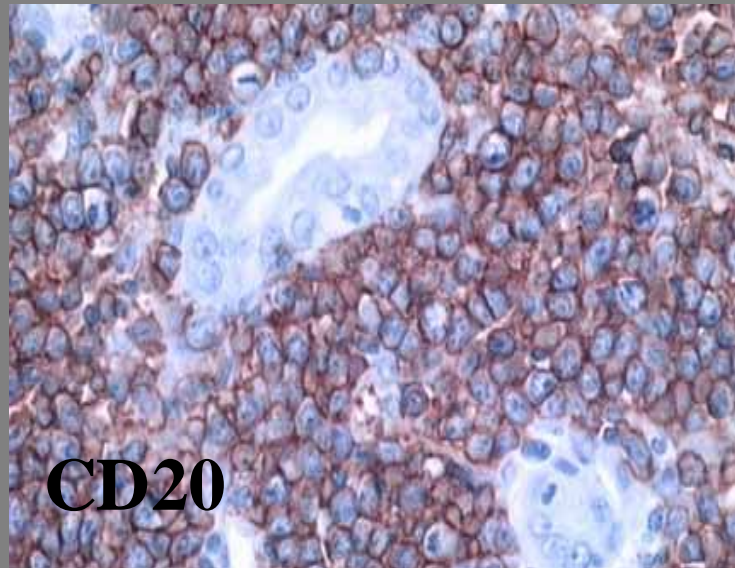


BL



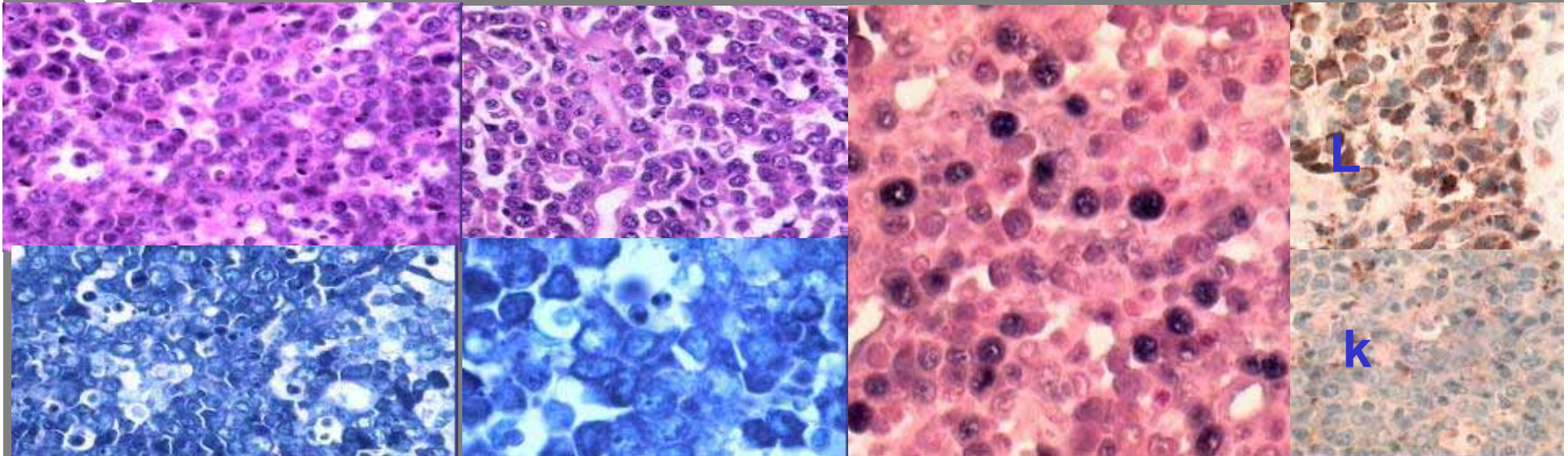
BL-PD EBV+

Lymphome de Burkitt et infection VIH



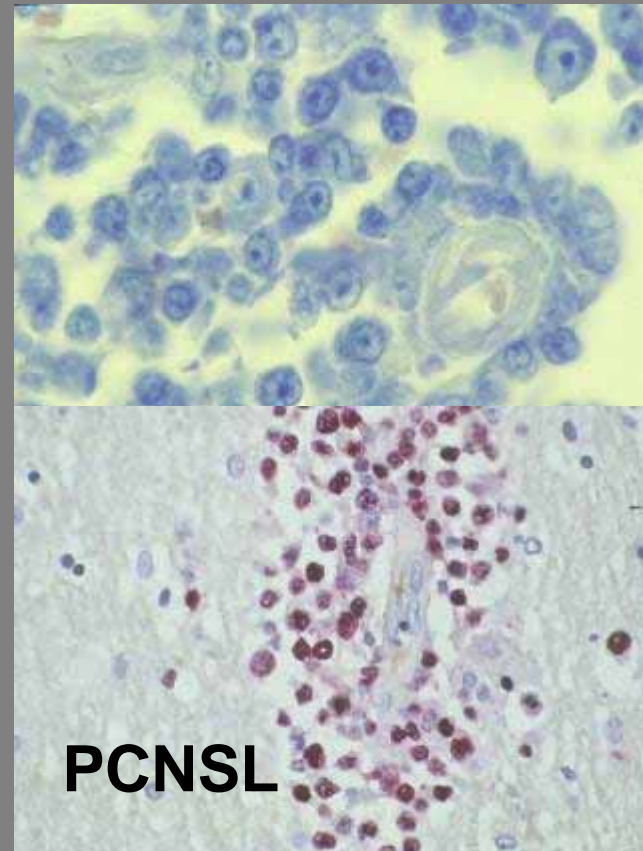
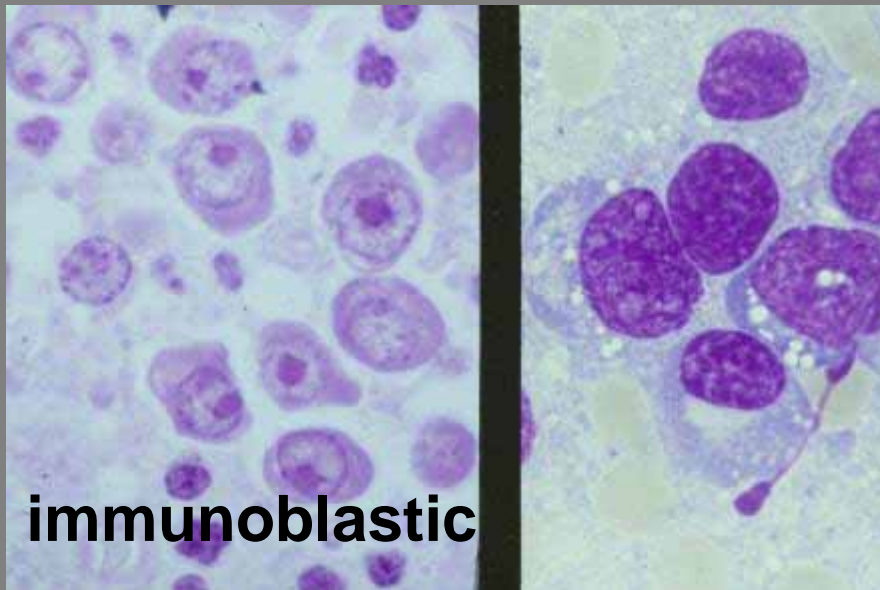
HIV infection-related Burkitt lymphoma *histopathological characteristics*

- B- cell Proliferation : CD19+, 20+, 79a, 10+, slg+, +/- clg
- > 99% cells are Ki67+
- Absence of BCL2 expression
- Classical translocation t (8 ; 14) (q24; q32)
variants : 2p11, 22q11, similar breakpoints to sporadic BL
- Mutations of c-MYC , mutations/délétion of p53
- Ig genes mutations and EBV



LYMPHOME DIFFUS A GRANDES CELLULES ET INFECTION VIH

- Centroblastique : marqueurs B: CD19, 20, slg, EBV : 20%
- Immunoblastique avec différenciation plasmocytaire
CD20+/-, clg, IRF4, CD138, EBV+ (90%), Latence II/III

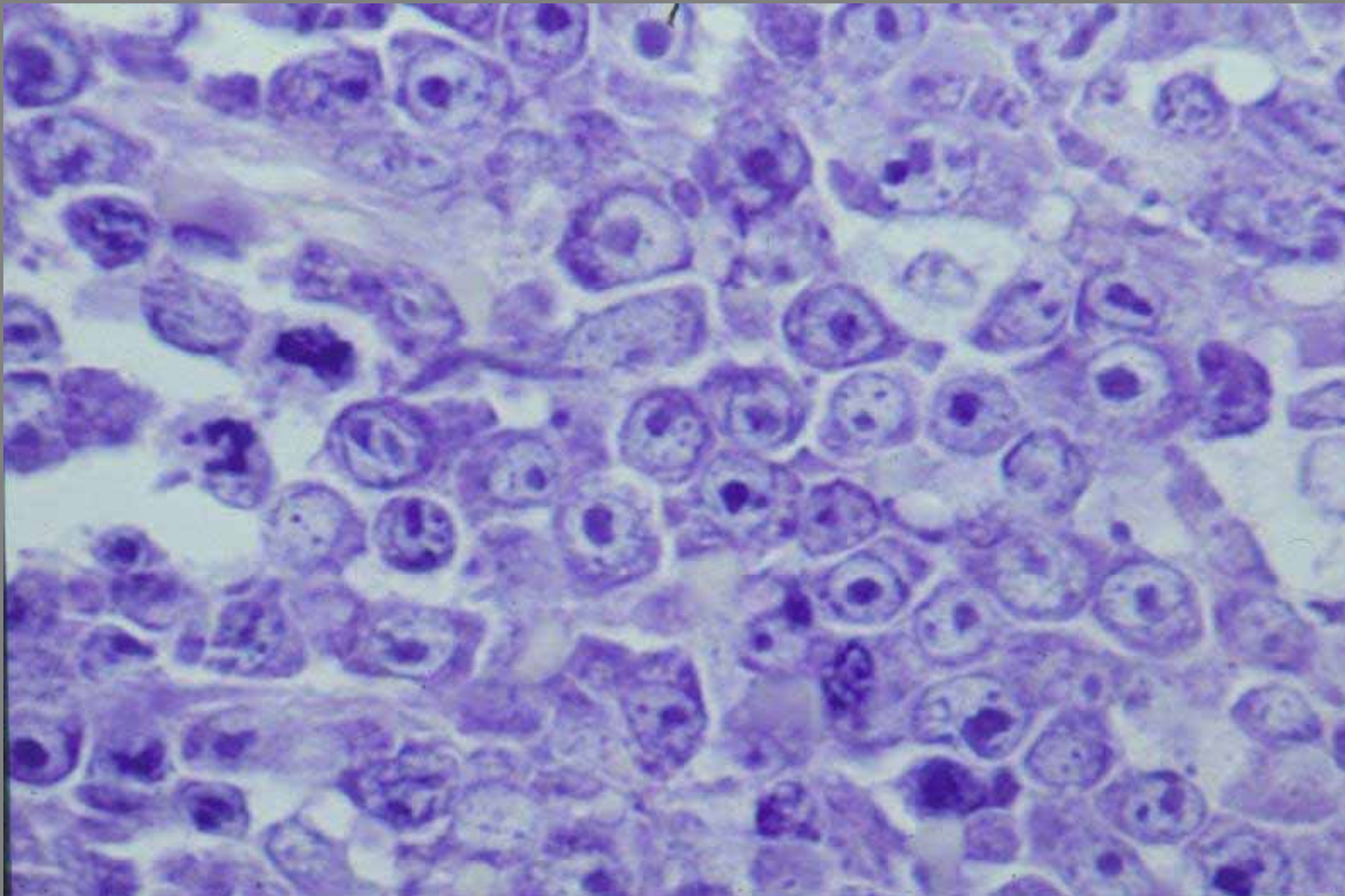


LYMPHOME et infection VIH

LYMPHOME PLASMOBLASTIQUE DE LA CAVITE BUCCALE

- Localisation dans la cavité buccale
- Prolifération diffuse
- Cellules B de type plasmoblastique
 - cellules de taille moyenne à grande
 - excentration nucléaire
 - chromatine finement mottée
 - un nucléole central
 - cytoplasme étendu et basophile
- CD20- ou très hétérogène
- EBV + : 50% des cas
- HHV8 : absent

Lymphome et infection VIH
LNH plasmoblastique de la cavité buccale

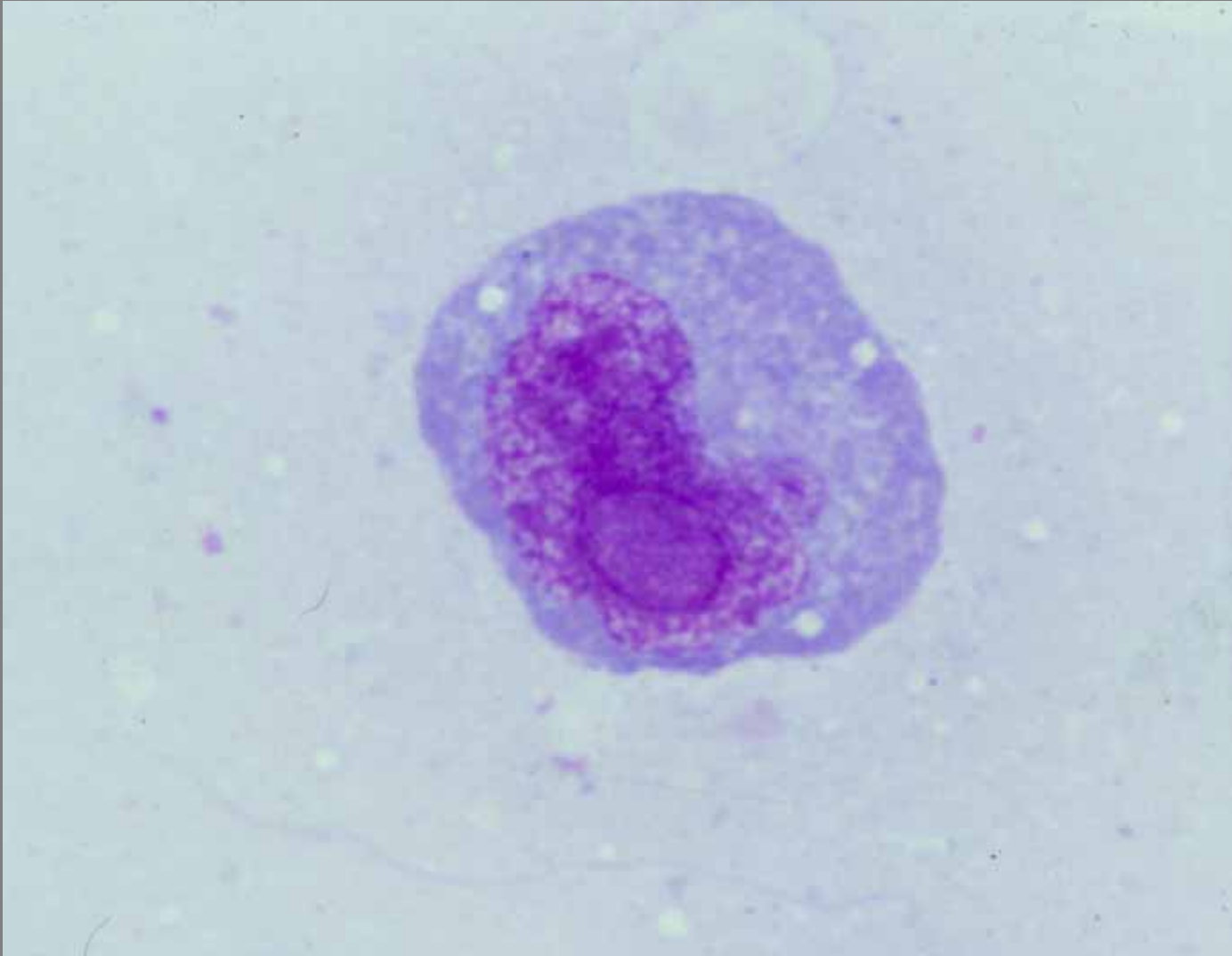


Lymphome et infection VIH

Lymphome primitif des séreuses

- Localisations primitives au niveau des séreuses
plèvre, péricarde, péritoine
- Tumeur solide
- Association constante avec HHV8
- Association avec EBV : 80- 90%, latence I : LMP1-
- Taux élevés de cytokines IL6 et IL10 dans les épanchements
- Grandes cellules intermédiaires entre des immunoblastes et des cellules anaplasiques
- Cellules B : CD45+, CD19-, 20-, 79a-, slg-, clg-, CD138+
gènes des Ig : mutés et réarrangés
- Cellules activées : CD30+, CD38+
- *c-MYC* : non réarrangé

Lymphome et infection VIH
Lymphome primitif des séreuses cytologie

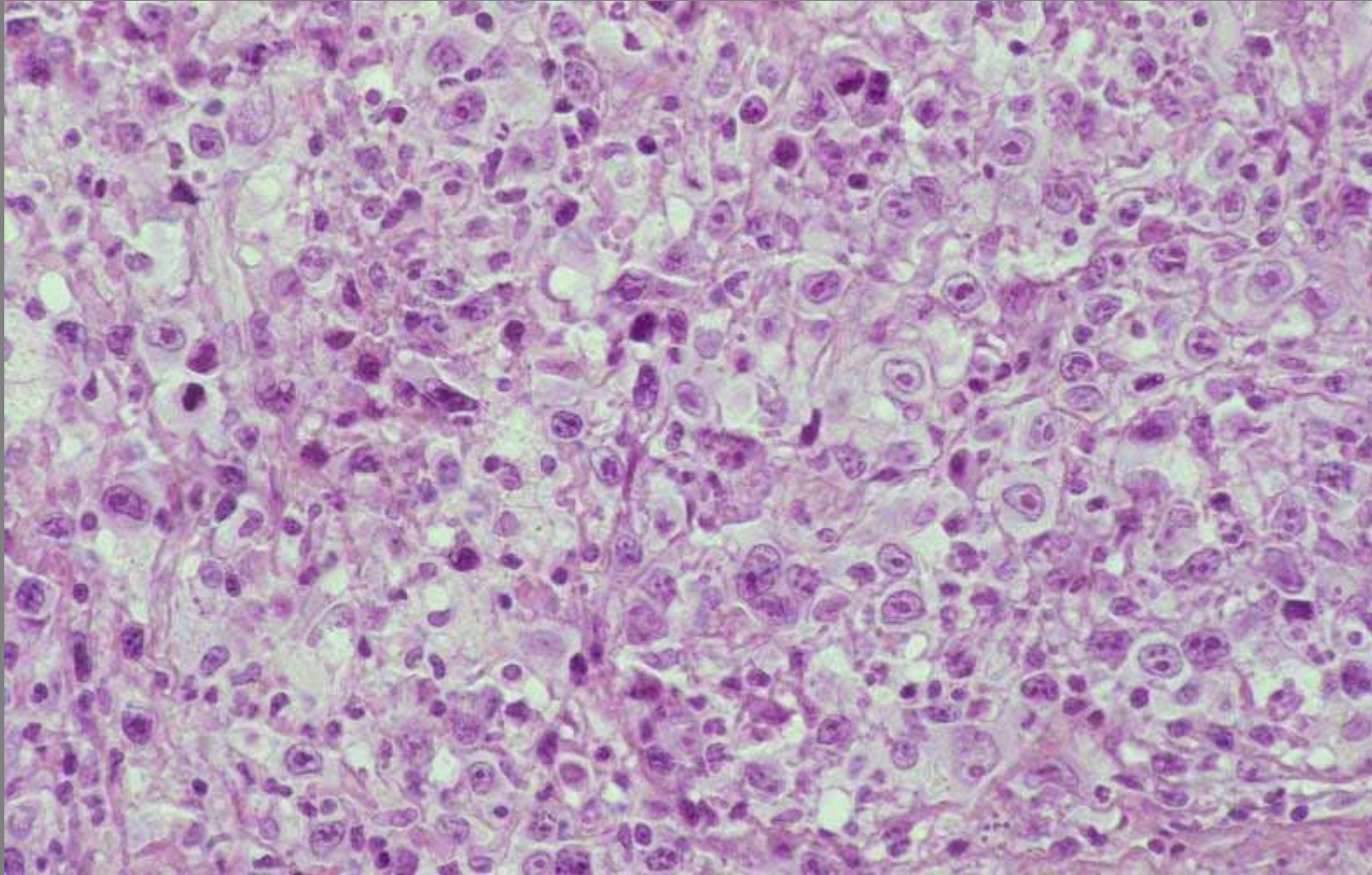


Lymphoproliférations polymorphes et infection VIH

- Identiques aux lymphoproliférations polymorphes après transplantation
- Représentent moins de 5% des lymphomes VIH
- Spectre morphologique des cellules lymphoïdes
petits lymphocytes T et B
immunoblastes à différenciation plasmocytaire
grandes cellules sternbergoïdes, CD30+/CD15-
- EBV présent dans près de 80% des cas
- Signification de la présence d'anomalies génétiques
mutations de p53

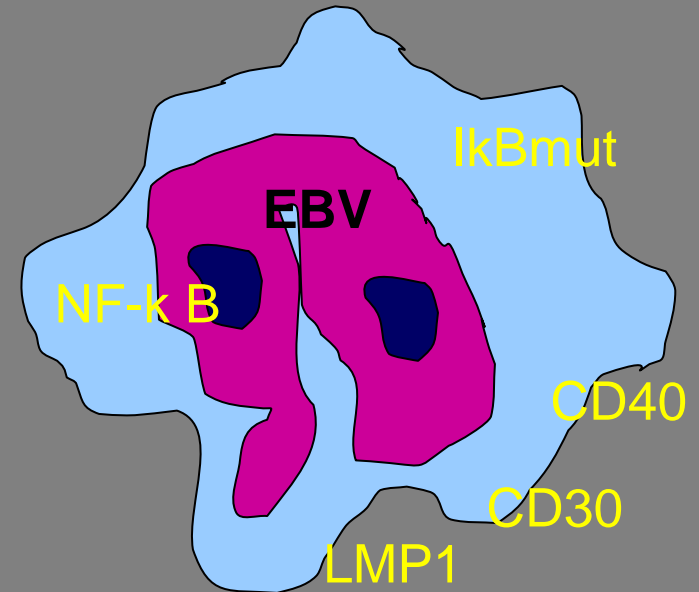
A Martin Brit J Haematol 1998

Infection VIH et Lymphoprolifération polymorphe



LYMPHOME DE HODGKIN et VIH

- Fréquence x 8
- Localisations extra ganglionnaires
- Gravité de l'évolution clinique
- Type cellularité mixte fréquent
- EBV associé dans pratiquement tous les cas, latence II : LMP1+
- Diagnostic différentiel: lymphoproliférations polymorphes
- Phénotype classique des cellules de Sternberg CD30+, CD15+



PROLIFERATIONS LYMPHOIDES APRES TRANSPLANTATION (PTLD)

- Conséquence de l'immunosuppression
- Incidence globale : 2% des patients transplantés
- Variation (<1% - 5%) selon le traitement immunosuppresseur et l'organe greffé, risque estimé : x20 : rein, x120 : coeur
- Diversité des proliférations

proliférations précoces très souvent liées à l'EBV

proliférations tardives associées ou non à l'EBV

Intervalle différent selon la présence de l'EBV

EBV	délai moyen
+	6 - 10 mois
-	4 - 5 ans

Large prédominance des proliférations B

Origine : receveur (>90%),

donneur (<10%) (foie, poumon)

infiltration préférentielle du greffon

PTLD : catégories histopathologiques

- **Lésions précoces**
 - Hyperplasie plasmocytaire
 - Lésions de type mononucléose infectieuse
- **PTLD polymorphe**
- **PTLD monomorphe**
 - **Proliférations B**
 - Lymphome B diffus à grandes cellules
 - Burkitt/Burkitt atypique (like)
 - Myélome
 - prolifération de type plasmocytome
 - **Proliférations T**
 - lymphome T périphérique
- **Lymphome hodgkinien ou de type hodgkin (like)**

NL Harris, S H Swerdlow, G Frizzera, DM Knowles, OMS 2001.

PTLD : lésions précoces

- Sujet jeune EBV-
- Ganglions, sphère ORL, amygdales fréquents
- Régression spontanée ou lors de la diminution de l'immunosuppression
- Hyperplasie plasmocytaire
préservation partielle de l'architecture
nappes de plasmocytes
- Lésions de type mononucléose infectieuse
remaniement diffus avec des immunoblastes
évolution possible vers une mononucléose fatale
- EBV +
- Lésions polyclonales ou oligoclonales

PTLD polymorphe

- Destruction de l'architecture
- Prolifération polymorphe
 - cellules lymphoïdes de taille variée
 - immunoblastes
 - plasmocytes
 - cellules sternbergoïdes
- EBV+, latence III : LMP1+, EBNA2+
- Régression
- Progression vers un lymphome monomorphe
- Monoclonales immunoglobulines ou EBV
- Rares anomalies génétiques

PTLD : B monomorphes

- Lymphome B diffus à grandes cellules centroblastique immunoblastique avec différenciation plasmocytaire expression hétérogène du CD20 EBV+, EBV- anomalies génétiques
- Lymphome de Burkitt classique et variants morphologiques EBV+, EBV- *c-MYC* et anomalies génétiques additionnelles
- Myélome et plasmocytome EBV +, EBV-

PTLD : T monomorphes/pléomorphes

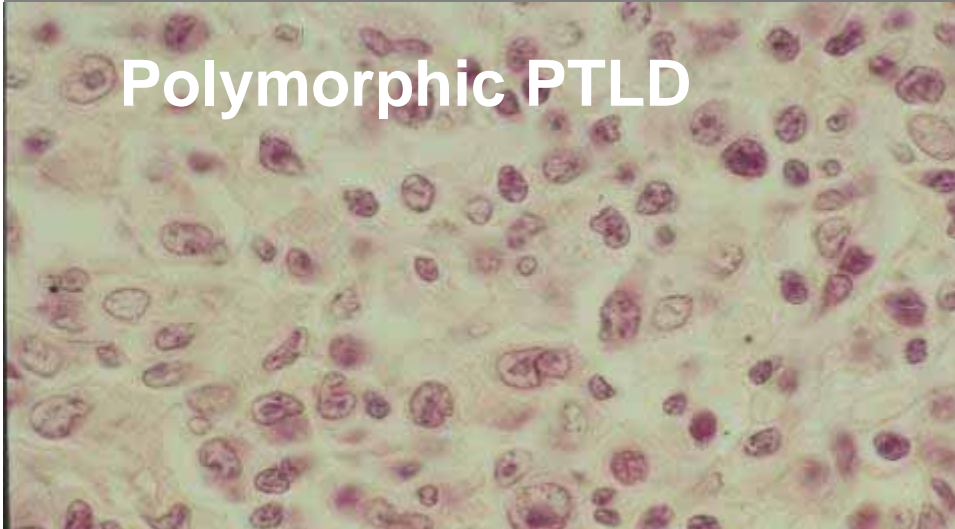
- Classification des lymphomes T périphériques
- 4 à 14% des PTLD
- Surviennent le plus souvent tardivement
- Spectre des lymphomes T
 - sous cutané de type panniculite
 - hépatosplénique $\gamma\delta$
 - cellules NK/T
 - grands lymphocytes granulaires
 - lymphome T périphérique sans spécification
 - EBV+ ou -
- CD3, CD4 ou CD8, CD30
- Monoclonaux

PTLD : lymphome de Hodgkin et Hodgkin « like »

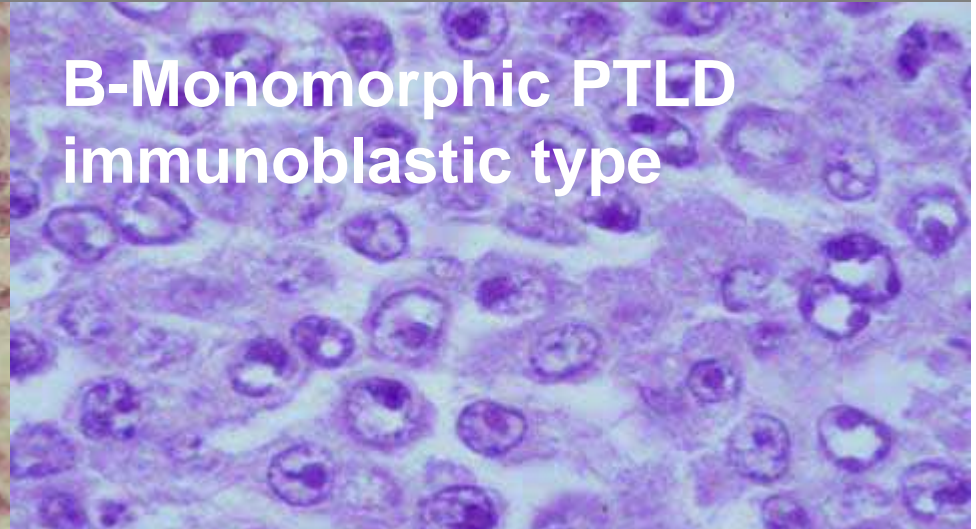
- Incidence x 6
- Lymphome de Hodgkin classique
morphologie
immunophénotype CD45-, CD20-, CD3-, CD30+, CD15+
EBV+
- Lésion de type Hodgkin :
similaire à celle après Méthotrexate
aspect polymorphe et cellules de type Sternberg
immunophénotype hétérogène : CD45+, CD20+/-, CD30+,
CD15-
EBV+, latence II (LMP1+, EBNA2-), ou III (LMP1+, EBNA2+)
progression tumorale

LYMPHO PROLIFERATIONS POST- TRANSPLANTATION (PTLD) Morphologie

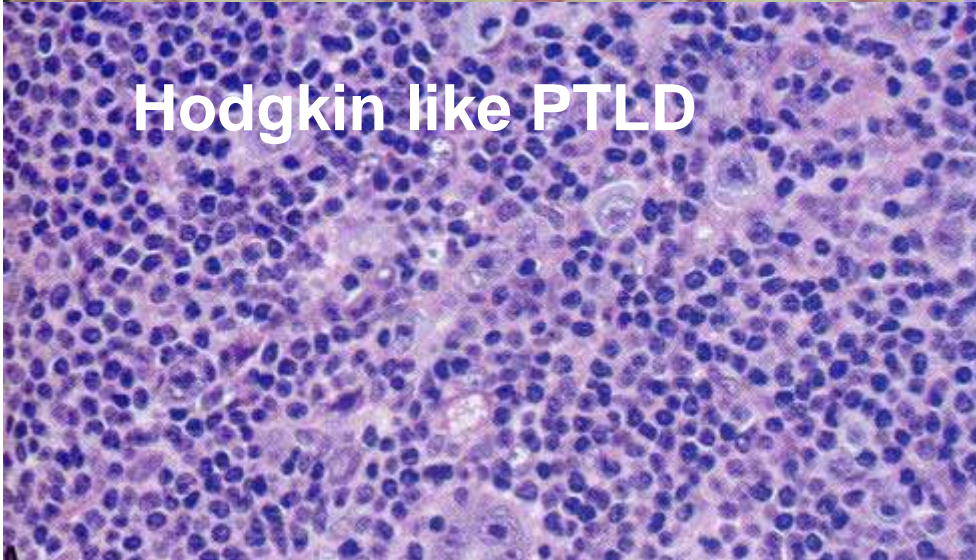
Polymorphic PTLD



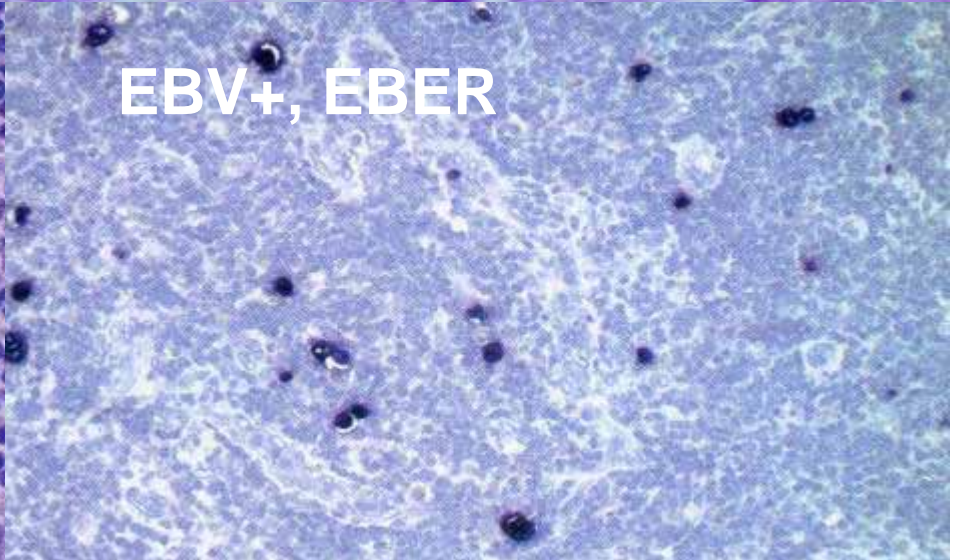
B-Monomorphic PTLD
immunoblastic type



Hodgkin like PTLD



EBV+, EBER



Aspects histopathologiques des lymphomes liés à l'EBV

Conclusion

- Reflet de mécanismes physiopathologiques complexes
Avantage prolifératif d'une population lymphoïde infectée par l'EBV :
« reprogrammation » cellulaire : activation, prolifération, inhibition de l'apoptose :
marqueurs morphologiques, immunophénotypiques moléculaires et génétiques
profil d'expression génique des proliférations induites par l'EBV

Processus de lymphomagenèse d'une catégorie de prolifération lymphomateuse et présence de l'EBV
rôle de l'EBV, modification de l'aspect histopathologique et des marqueurs
exemple du lymphome de Burkitt

Caractéristiques des lymphomes liées à l'EBV

Conclusion

- Importance du contexte de l'hôte
- Notion de déficit immunitaire

Caractérisation, intensité, modulation

Déficit immunitaire primitif

Sujet âgé

Déficit immunitaire iatrogène : PTLD

Immunomodulation

Restauration immunitaire infection VIH et trithérapies

- Emergence de proliférations lymphoïdes associées à l'EBV