

Proliférations lymphoïdes associées à KSHV / HHV 8

Eric Oksenhendler

Département d'Immunologie Clinique

Hôpital Saint-Louis, Paris

eric.oksenhendler@sls.aphp.fr

Janvier 2007

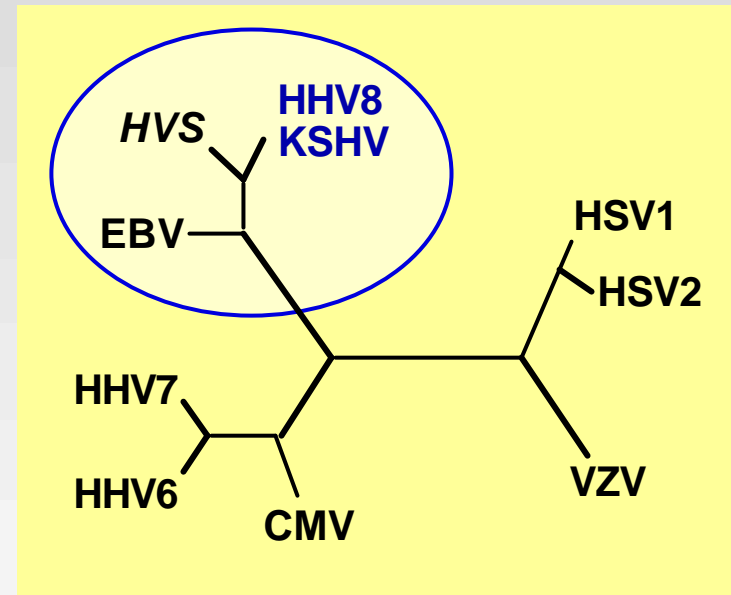
L'herpèsvirus humain 8 (KSHV/HHV-8)

- Premier et seul $\gamma 2$ herpesvirus humain connu
- **Traqué** depuis des décennies
- **Vu** en 1972
 - ✓ *Girardo et al.*
- **Découvert** en 1994 / lésions cutanées de KS
 - ✓ *Chang et al.*
 - Representational Difference Analysis
- **Séquencé** en 1996
 - ✓ *Russo et al.*



KSHV/HHV8: un virus « oncogène » ?

- ✓ Forte homologie de séquence avec 2 herpesvirus « transformants »:
 - ✓ EBV (homme)
 - ✓ HVS (singe)
- ✓ Association avec des tumeurs :
 - ✓ Kaposi Sarcoma
 - ✓ Primary Effusion Lymphoma
 - ✓ Multicentric Castleman Disease



Epidémiologie et mode de transmission

- **Infection non ubiquitaire**

Séroprévalence dans la population générale

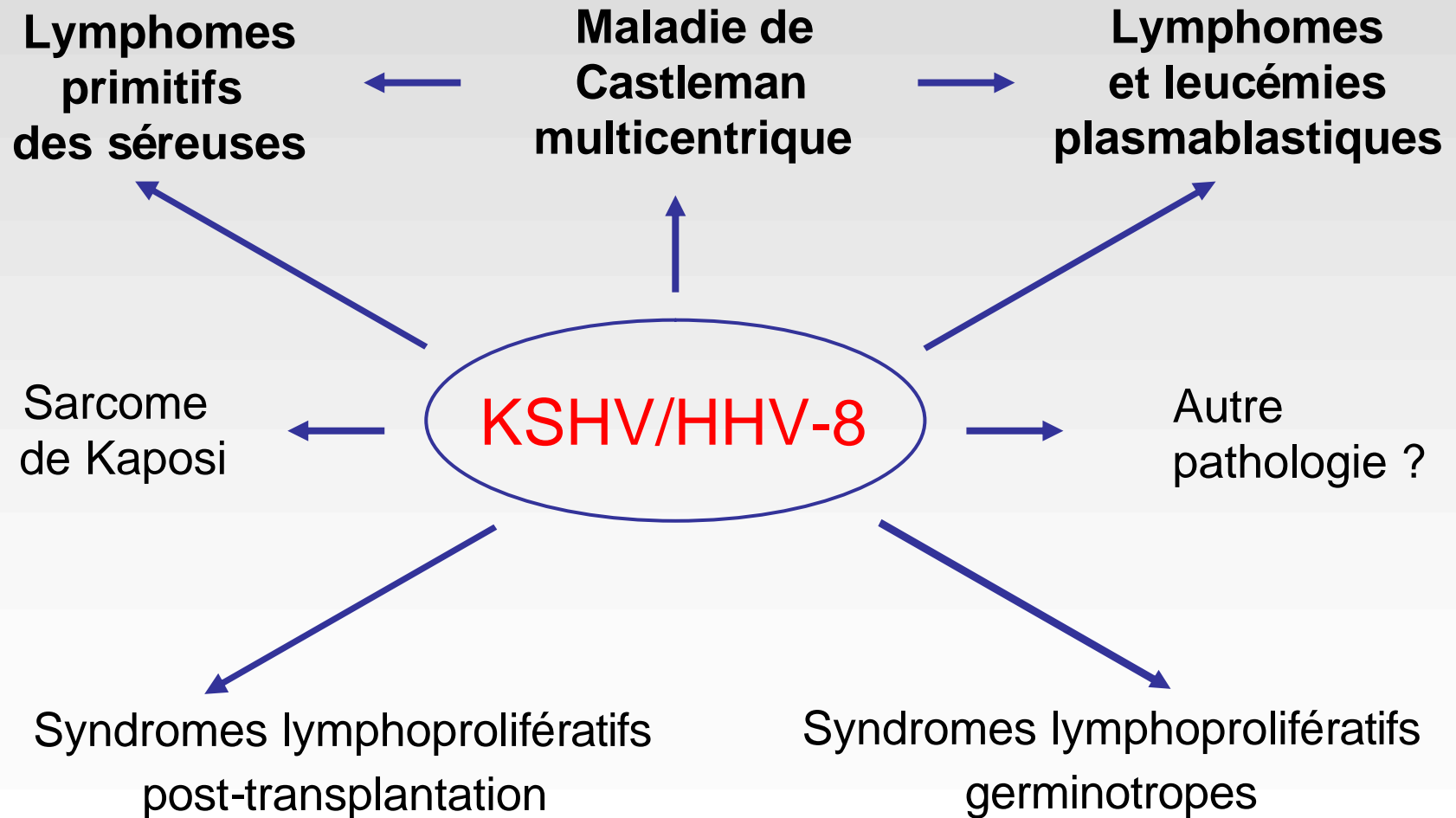
- **élevée en zones d'endémie** : Afrique Centrale, 50%
- **intermédiaire autour du bassin méditerranéen** : Italie-Grèce, 20-30%
- **faible dans les pays occidentaux** : USA, Europe du Nord <5%

Séroprévalence élevée chez les homosexuels VIH+ : 30-70%

- **Mode de contamination variable** selon les zones géographiques

- très probablement **salivaire en zones d'endémie**
de la mère au petit enfant, entre les enfants de la même fratrie
- **sexuelle chez les homosexuels VIH+**
- **possible par transplantation** d'organe et greffe de moelle
- probablement très peu transmissible par transfusion sanguine

Caractère pathogène de KSHV/HHV-8



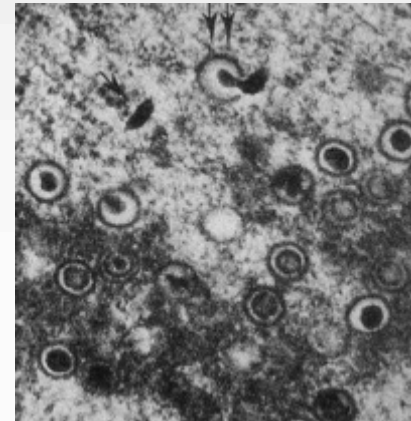
Latence virale ou infection lytique

- **Latence virale**

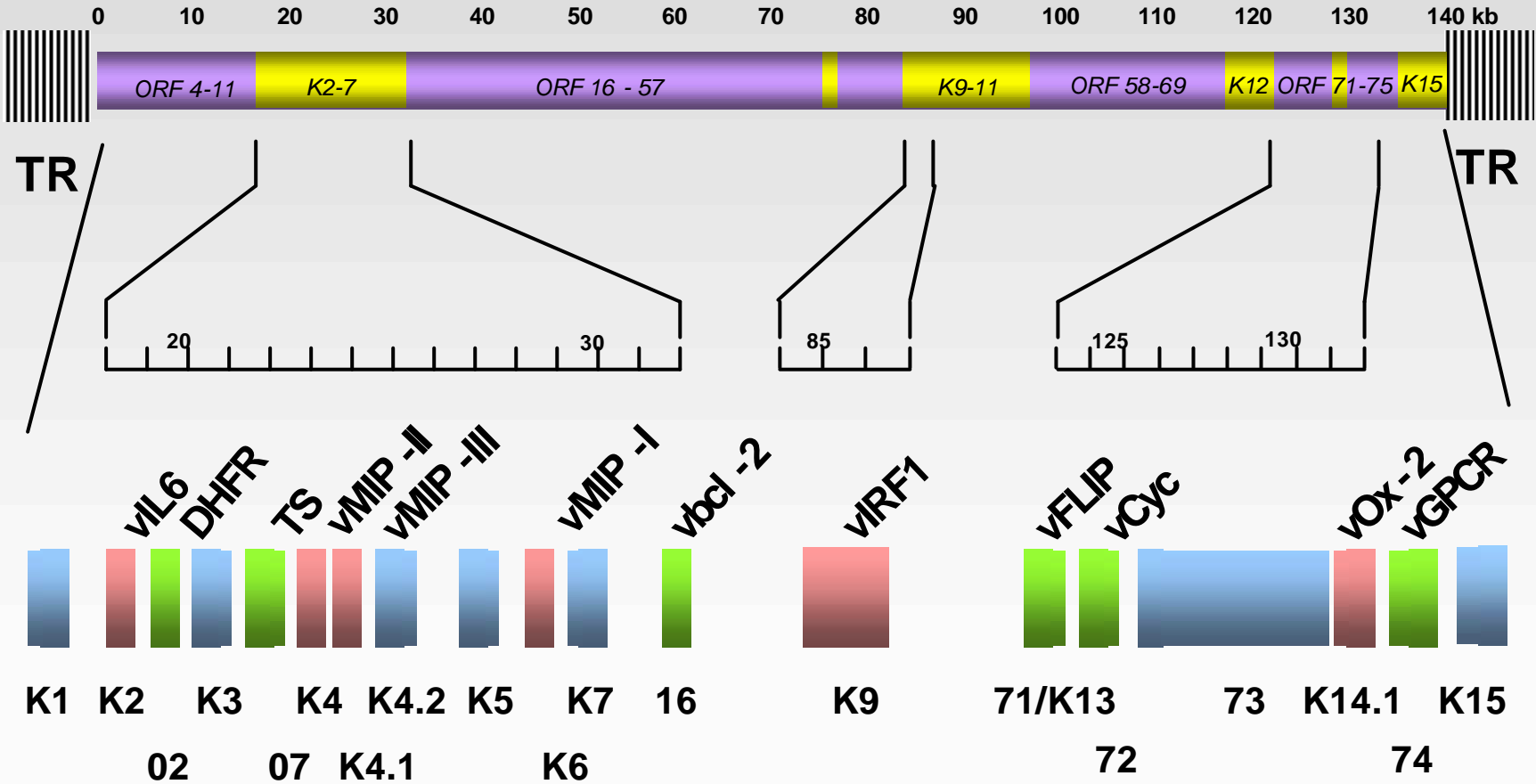
- génome circulaire extra-chromosomique : épisome
- expression virale restreinte à quelques gènes dont **LANA-1** (*latency-associated nuclear antigen-1*)
- échappement au système immunitaire de l'hôte
- persistance virale, transmission des épisomes aux cellules filles

- **Infection lytique**

- génome linéaire
- expression en cascade des gènes viraux
- production de particules virales infectantes
- lyse de la cellule infectée



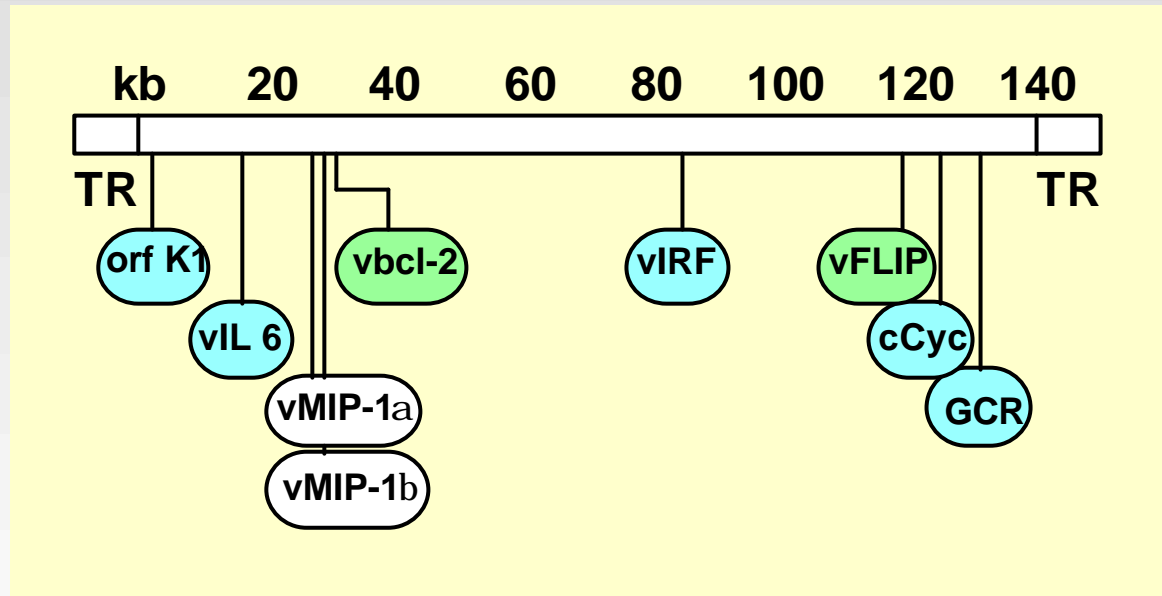
Génome KSHV/HHV-8



Fonction pro-oncogénique de gènes piratés

✓ Implication dans:

Prolifération cellulaire
Contrôle de l'apoptose
Différenciation B

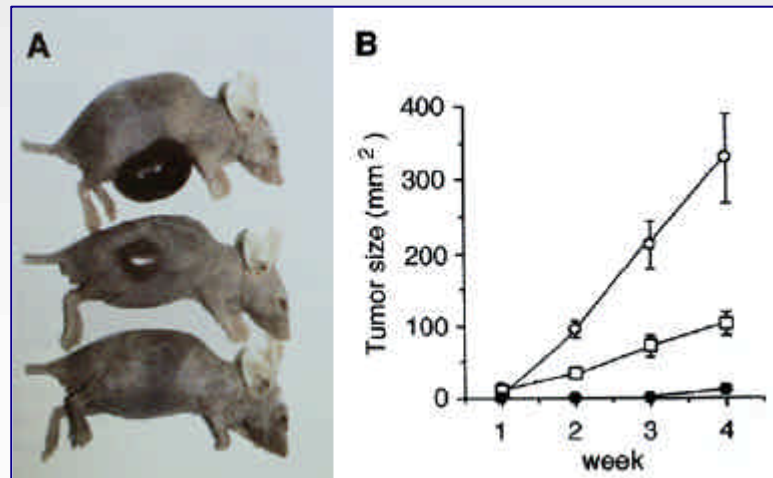


Fonction pro-oncogénique de gènes piratés

- ✓ L'expression de certains gènes est associée à la genèse de tumeurs:

vIL6
GPCR
vIRF

transfected NIH3T3 clones in nude mice



Kaposine

transformation de fibroblastes de rat

Lymphome primitif des séreuses (PEL)

Entité décrite après la découverte de KSHV (1995)

BCBL (*body cavity-based lymphoma*)

ou PEL (*primary effusion lymphoma*)

Lymphome non Hodgkinien de haut grade, d'origine B

Le plus souvent dans le contexte de l'infection HIV

Maladie rare (sous-estimée ?) 1-4% des LNH HIV+

Critères diagnostiques :

1. Présentation clinique évocatrice
2. Morphologie particulière des cellules tumorales
3. Infection latente par KSHV/HHV-8

Caractéristiques cliniques des PEL

Hommes de 30-60 ans, VIH+, homosexuels

Immunodéprimés (taux médian de CD4+ < 200/ μ L)

Association fréquente au sarcome de Kaposi (30-70% des cas)

Association possible à une maladie de Castleman multicentrique

Epanchements dans **une ou plusieurs cavités séreuses**

Signes généraux

Evolution locale agressive

Mauvais pronostic : survie médiane < 6 mois

Localisations extra-cavitaires des PEL

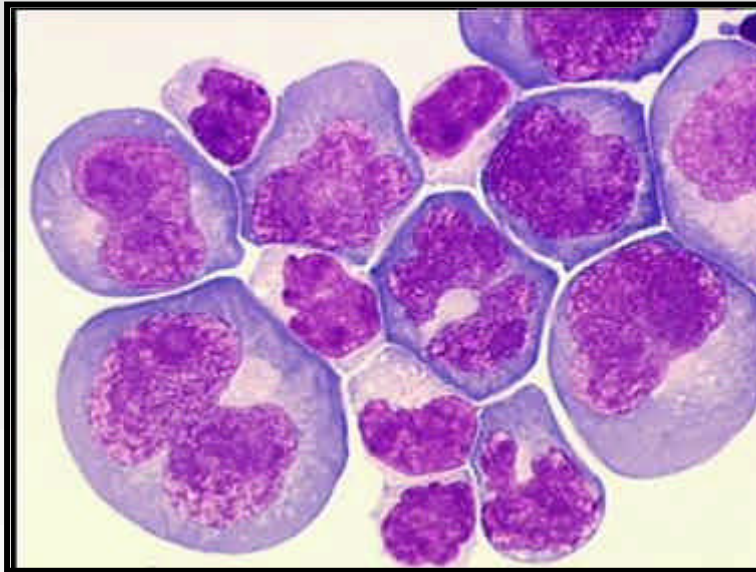
Assez fréquentes : jusqu'à 40% des patients

Au diagnostic, pendant l'évolution, à l'autopsie, ou avant le PEL

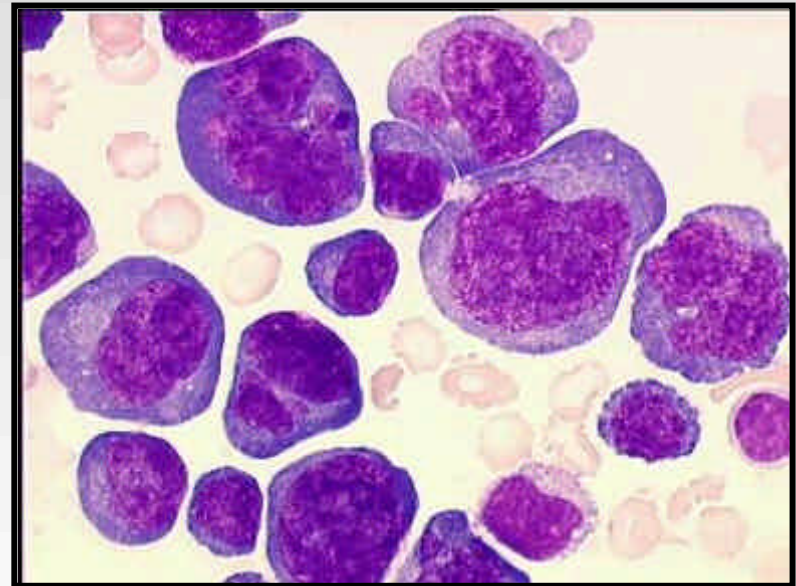
Localisations très diverses

- ganglionnaires ou spléniques
- cutanées ou des parties molles
- digestives : cavité buccale, intestin
- cardiaques
- pulmonaires
- neuro-méningées
- hépatiques

PEL : caractéristiques morphologiques



Hétérogénéité de taille, grandes cellules
Aspect polymorphe
Cytoplasme abondant et basophile
Noyau irrégulier, nucléoles volumineux
Nombreuses images de mitose



Liquide d'ascite, coloration MGG
Photographies MT Daniel
(Hôpital St Louis)

PEL : caractéristiques immunologiques

Phénotype habituel : **non-B, non-T, activé**

CD45+ (antigène leucocytaire commun, 90%)

CD30+ (75%) CD38+ HLA-DR+ CD71+

EMA+ (antigène épithélial de membrane, 80%)

Expression possible des marqueurs B (20-40%) mais souvent dissociée

CD19, CD20, CD22, CD79a

chaîne μ intra-cytoplasmique

chaînes légères d'Ig $\lambda > \kappa$

Expression fréquente du marqueur plasmocytaire CD138 / syndecan-1

Expression aberrante de marqueurs T (rare) : cCD3, CD4, CD7

Aspects moléculaires et cytogénétiques

Prolifération lymphoïde B monoclonale

- réarrangement monoclonal des gènes IgH

Origine B post-germinative

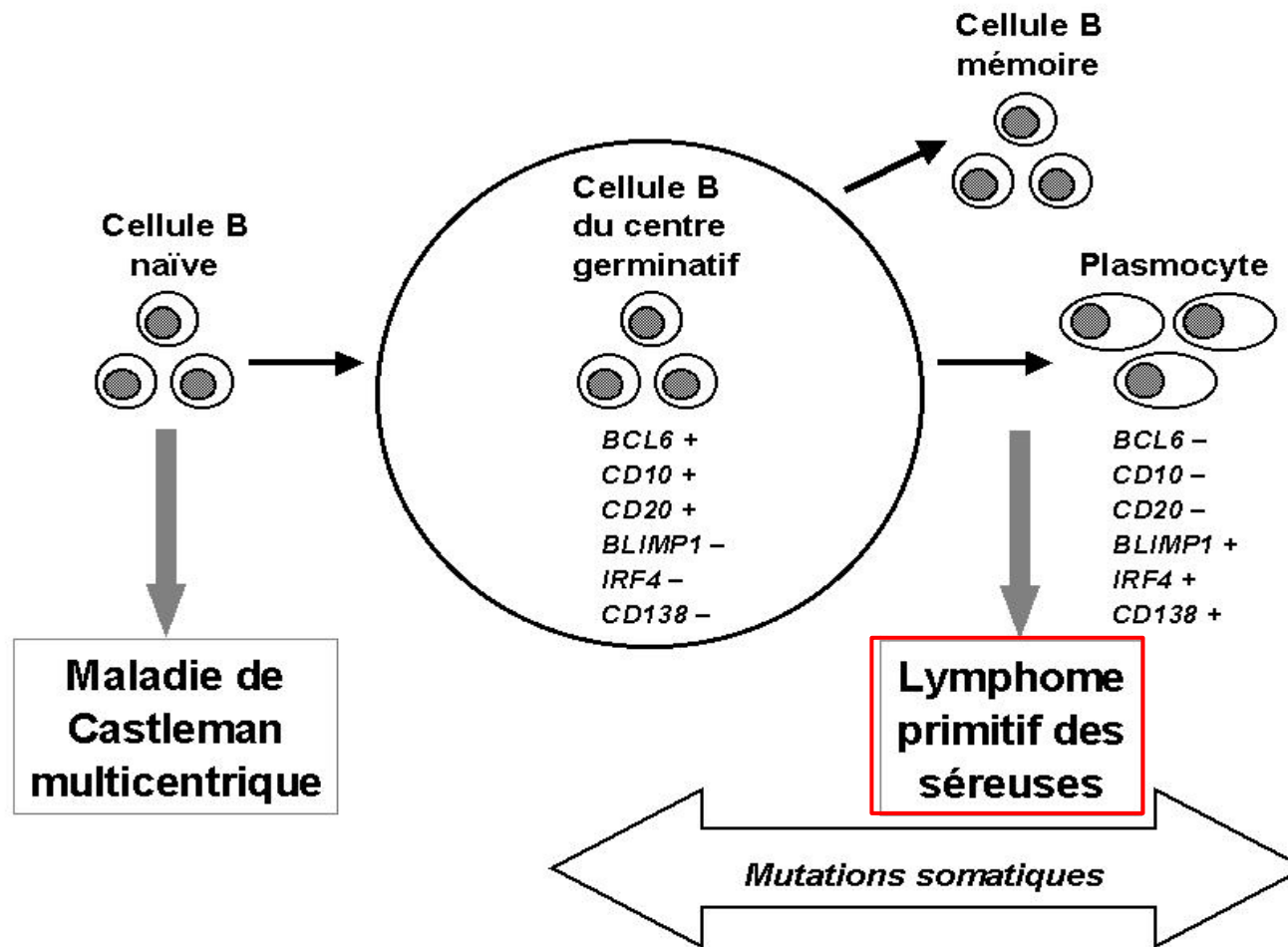
- mutations somatiques des gènes V réarrangés des Ig
- mutations de la région 5' non codante du gène Bcl-6

Profil d'expression d'un **stade tardif de maturation lymphoïde B**

- expression de CD30 et MUM1/IRF4 (comme LCL EBV+)
- expression de CD138 et BLIMP1 (comme dans les myélomes)

Anomalies chromosomiques multiples et complexes

Origine post-germinative des PEL



Aspects virologiques

Infection latente par KSHV/HHV-8 (constante)

De 20 à 100 copies KSHV/HHV-8 par cellule tumorale

Expression de la protéine nucléaire de latence **LANA-1**



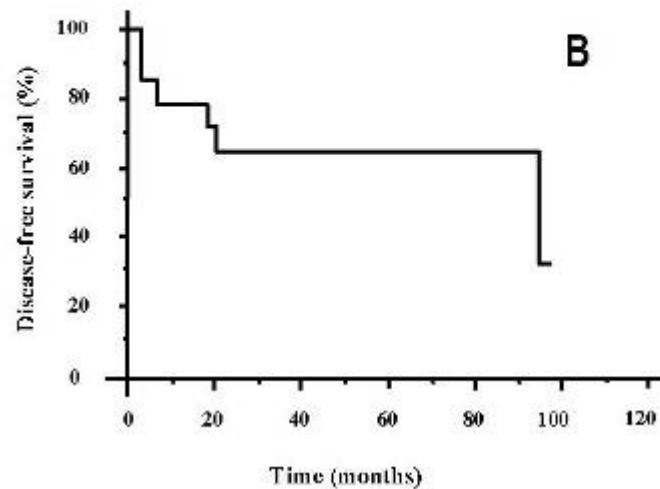
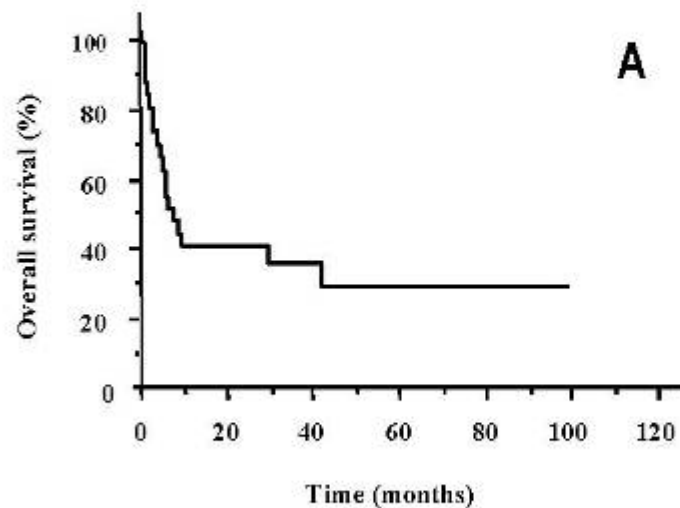
70 à 80% des PEL sont co-infectés par EBV

Infection EBV latente (épisomes) et monoclonale (Southern blot)

Expression de la protéine nucléaire EBNA-1 et des **ARN EBER**

Expression faible de LMP2A, et inconstante de LMP-1

Pronostic: 28 patients VI H+ avec PEL



A. Survie globale (28 patients)

39,3% à 1 an

B. Survie sans maladie (14 patients en RC)

78,6% à 1 an

Facteurs pronostiques des PEL VIH+

Analyse multivariée

Variables associées à une **survie plus brève**:

- absence de **HAART** au diagnostic de PEL
- **performance status** >2 selon l'échelle de l'ECOG
- **charge virale plasmatique HHV8** ?
- **utilisation du MTX-FD** ?

PEL chez des patients VIH-

Hommes ou femmes âgés : 60-90 ans
ou transplantés d'organe (greffe de cœur)

Association au KS plus rare (20%)

PEL le plus souvent **EBV négatifs**

Marqueurs B plus fréquents (**CD20**)

Présentation clinique identique

Même gravité

Chimiothérapie souvent impossible si âge élevé

Cas particulier des PEL extra-cavitaires

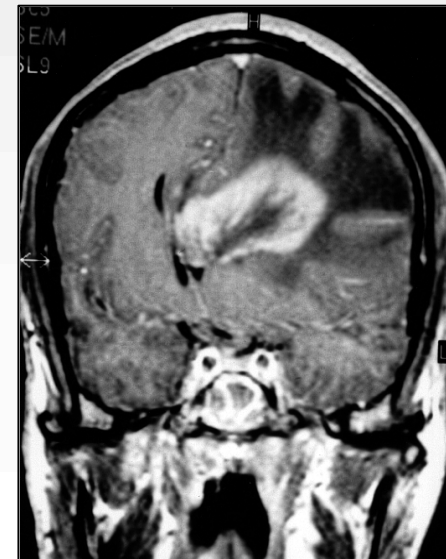
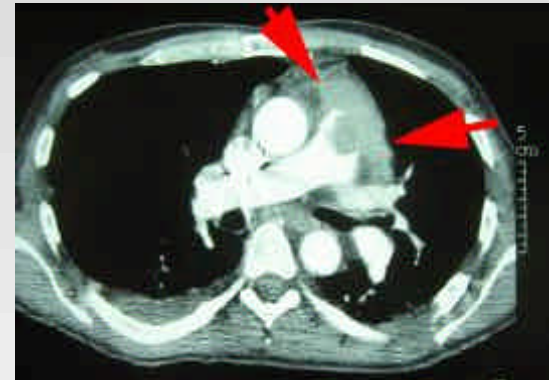
Même terrain : hommes jeunes, homosexuels,
VIH+

Lymphomes KSHV/HHV-8+ « solides »

Absence d'épanchements séreux

Localisations nodales ou viscérales

Même morphologie et immunophénotype que
les PEL



PEL : propositions thérapeutiques

HAART

- indispensable, mais rarement suffisant
- exceptionnelles RC

Antiviraux: Cidofovir intra-cavitaire

3 patients VIH- de 70 à 96 ans

2,5 à 5 mg/kg/semaine en intra-pleural ou intra-péritonéal

3 RC, 2 rechutes à 5 et 15 mois, 1 RC à 15 mois

toxicité rénale (1) et uvéite (1)

Poly-chimiothérapie

- peu efficace, souvent toxique (neutropénie, infections)
- Intérêt du MTX à fortes doses combiné au CHOP ?

PEL : intérêt du MTX-HD ?

CHOP/CHVP + Méthotrexate HD (2,5-3g /m²) :

11 patients (1-6 cycles)

7 RC : 2 rechutes,

5 RC prolongées de 19 à 97 mois

1 arrêt pour toxicité grave, 3 échecs

Toxicité hématologique importante, 12 épisodes infectieux

Maladie de Castleman Multicentrique associée au HIV

Prolifération lymphoïde particulière

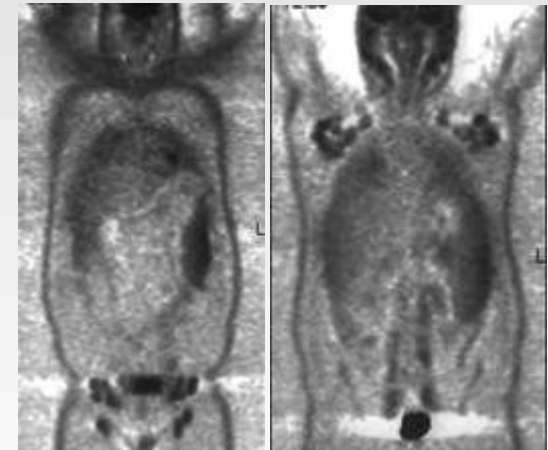
- La présentation clinique évoque un lymphome
- Apparition rapide des symptômes
- Rémission spontanée possible après 2 ou 3 semaines
- Rechute quasi-constante
- Evolution possible vers la défaillance multi-viscérale

Aspects cliniques des MCD VI H

Evolution par « crises » avec possible rémission spontanée

Possible évolution fatale en cas d'hémophagocytose grave

Signes généraux (dont fièvre)	95 %
Adénopathies	90 %
Splénomégalie	90 %
Hépatomégalie	70 %
Signes respiratoires / ORL	65 %
Oedèmes / épanchements séreux	55%



Association fréquente au KS (jusqu'à 70 %)

préalable ou concomitant

cutané, viscéral et/ou ganglionnaire

présence de micro-foyers de KS dans les ganglions de MCD

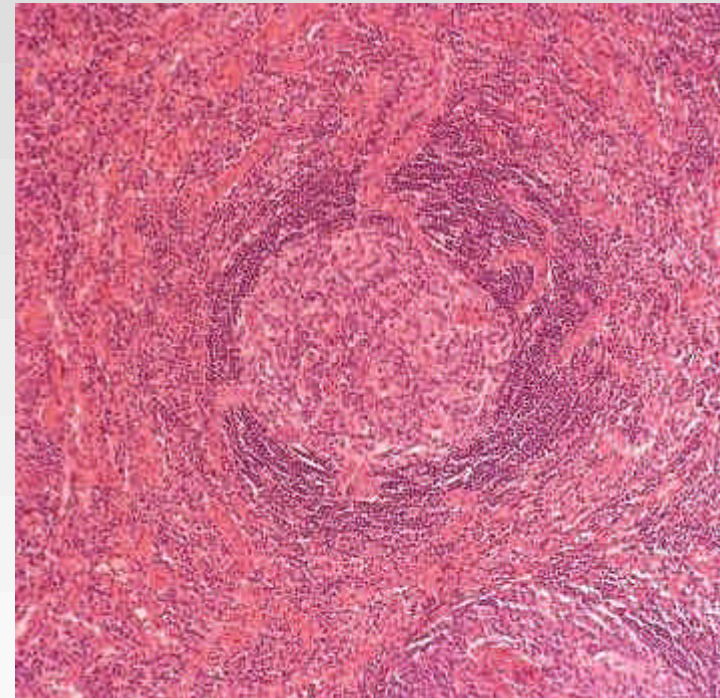
Aspects biologiques des MCD VI H

- ✓ Anémie quasi-constante, pancytopénie fréquente
- ✓ Hémophagocytose (1/3 des cas)
- ✓ CRP -
- ✓ Hypergammaglobulinémie polyclonale / Ig monoclonale
- ✓ Hypo-albuminémie
- ✓ Cholestase, troubles de coagulation
- ✓ Auto-immunité
 - Test de Coombs +
 - Antiphospholipides, anticardiolipides

MCD : un diagnostic fait par le pathologiste ...

Forme plasmocytaire ou mixte

- ✓ Hyperplasie folliculaire
- ✓ Hyalinisation des CGs
- ✓ Manteau en « bulbe d'oignon »
- ✓ Hyperplasie vasculaire interfolliculaire
- ✓ Hyperplasie plasmocytaire interfolliculaire

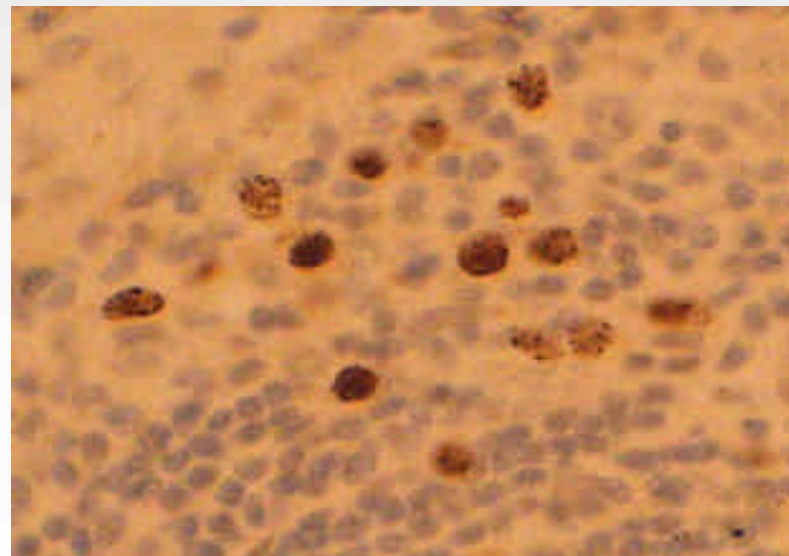
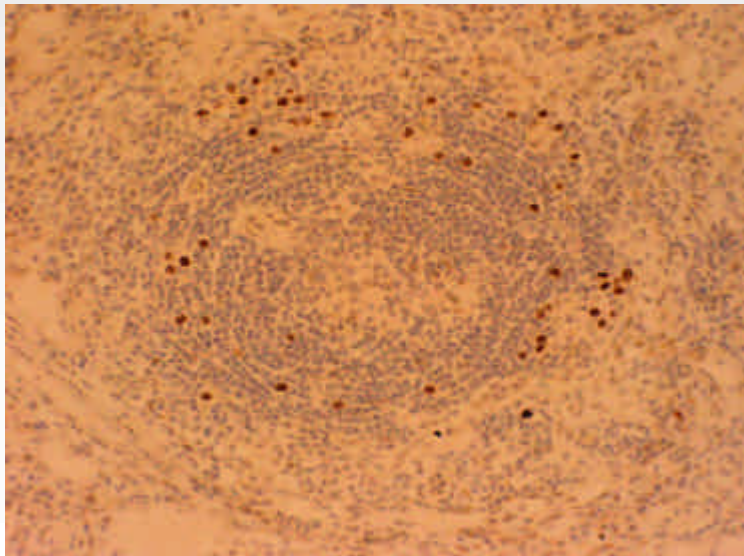


KSHV/HHV-8 et MCD

PCR : présence des séquences KSHV/HHV-8 dans
100 % des MCD VIH +
40 % des MCD VIH -

IHC : expression nucléaire de la protéine **LANA-1**

HIS : expression des gènes lytiques du virus (v-IL6)



Immunophénotype des cellules de MCD

Cellules du manteau infectées par KSHV/HHV-8

morphologie immunoblastique ou plasmablastique

phénotype B CD20+/-, IgM cytoplasmique+

monotypie mu lambda

N. Dupin, 2000

non infectées par EBV (EBER-)

parfois confluentes ® aspect de micro-lymphome

® transformation possible en macro-lymphome

Par opposition aux plasmocytes interfolliculaires

non infectés par KSHV/HHV8

IgM-

polytypiques (kappa ou lambda)

Génotype des cellules infectées

Etude de la clonalité B (13 GG, 6 rates)

Ming-Qing Du, 2001

13 MCD KSHV/HHV-8+ dont 8 micro-LNH et 2 lymphomes
(PCR IgH après microdissection des cellules LANA-1+)

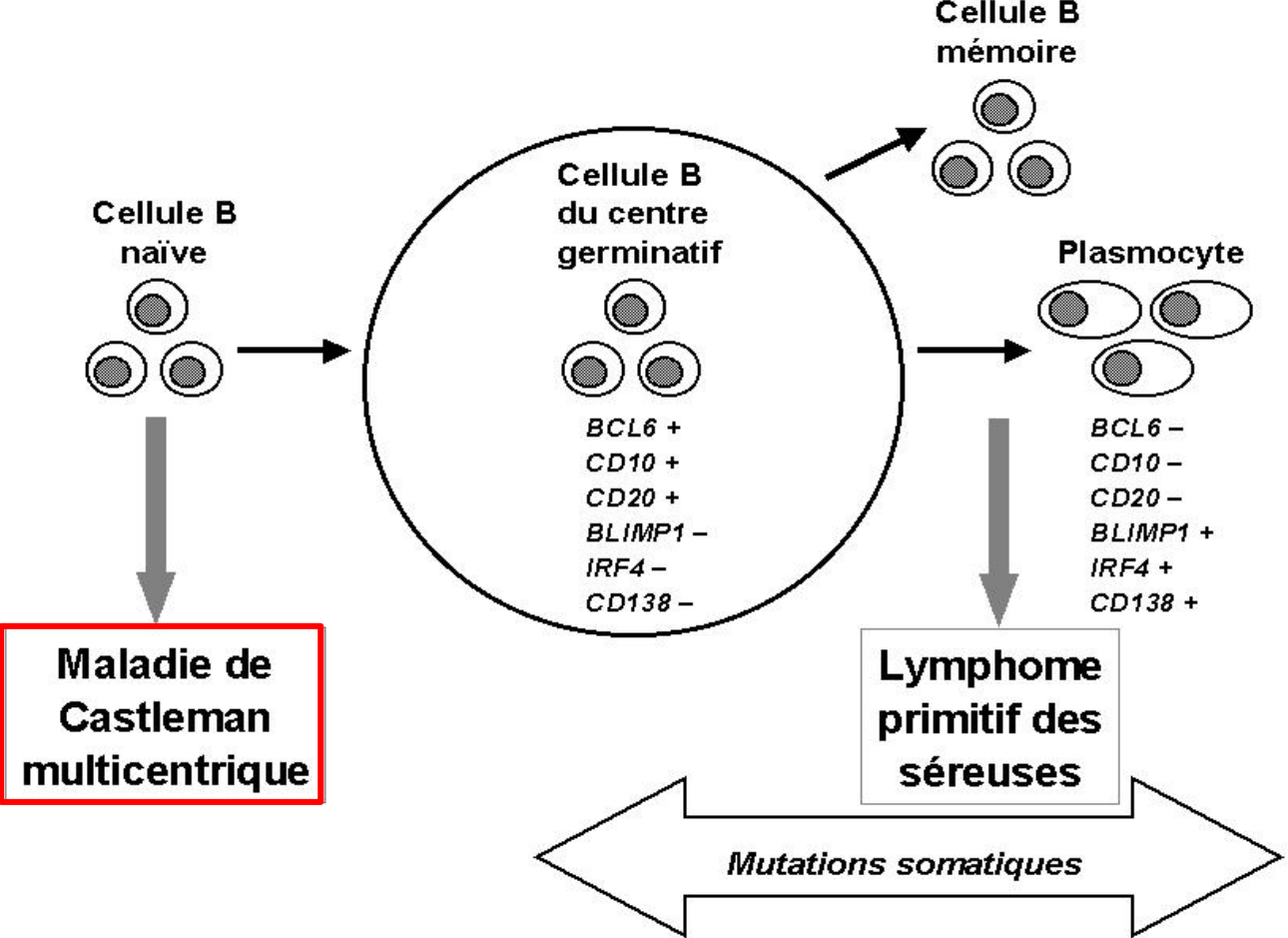
Prolifération lymphoïde B multiclonale

- multiples clones IgH dans la plupart des cas (6 μ -lymphomes / 8)
- présence d'un clone IgH dominant dans 2 micro-lymphomes / 8 et dans les 2 lymphomes

Origine B naïve (pré-germinative)

- Pas de mutations somatiques des gènes V réarrangés des Ig

Origine naïve des cellules de MCD



IL-6 et virémie KSHV/HHV-8

Lors des phases de rémission

sujet asymptomatique

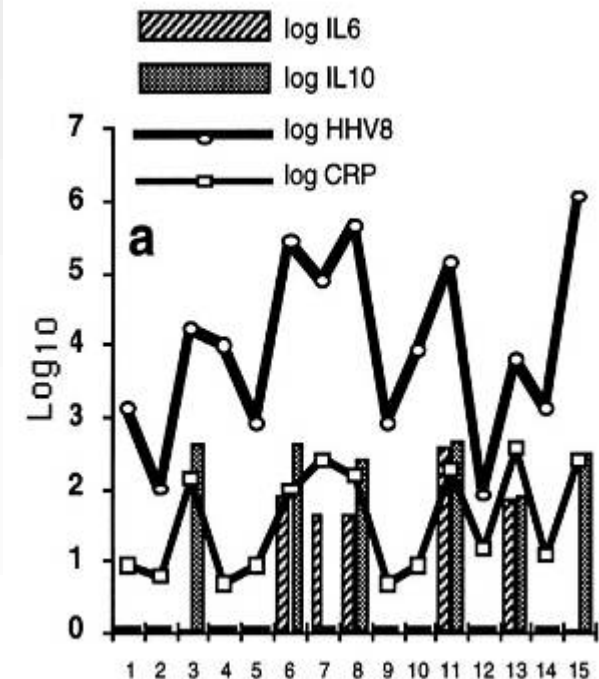
CRP sérique normale

charge virale KSHV/HHV-8 faible dans les PBMCs

Au cours des accès aigus

- huIL6, huIL10 *Oksenhendler 2000*
- vIL6 *Parravicini 2000, Aoki 2001*

Corrélations: IL-6, IL-10, CRP et charge virale KSHV/HHV-8 dans les PBMCs



Modèle de MCD-HHV8+ chez le singe

- ✓ Un homologue de KSHV/HHV8 induit une prolifération lymphoïde chez le macaque infecté par SIV mais pas chez les singes non co-infectés ...

Wong SW. 1999

- ✓ Maladie très proche de la **Multicentric Castleman Disease**
 - Adénopathies, splénomégalie,
 - Hyperplasie Angiofolliculaire, plasmocytose,
 - Hypergammaglobulinémie,
 - Anémie Hémolytique Autoimmune.

Cauchemar pour immunologiste ...

HHV8 infecte des cellules B du manteau

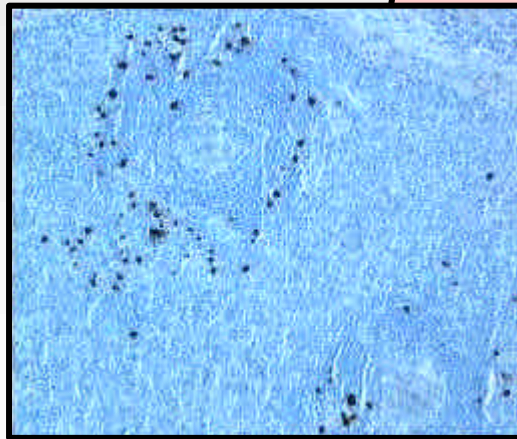
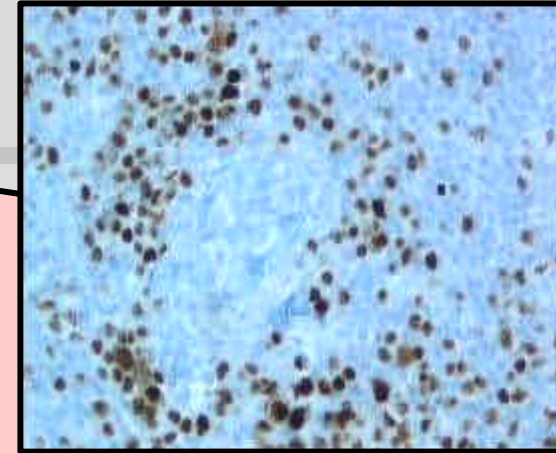
Ces cellules sont:

- monotypiques (IgM lambda) ...
... mais polyclonales
- en différenciation plasmocytaire ...
... mais naïves

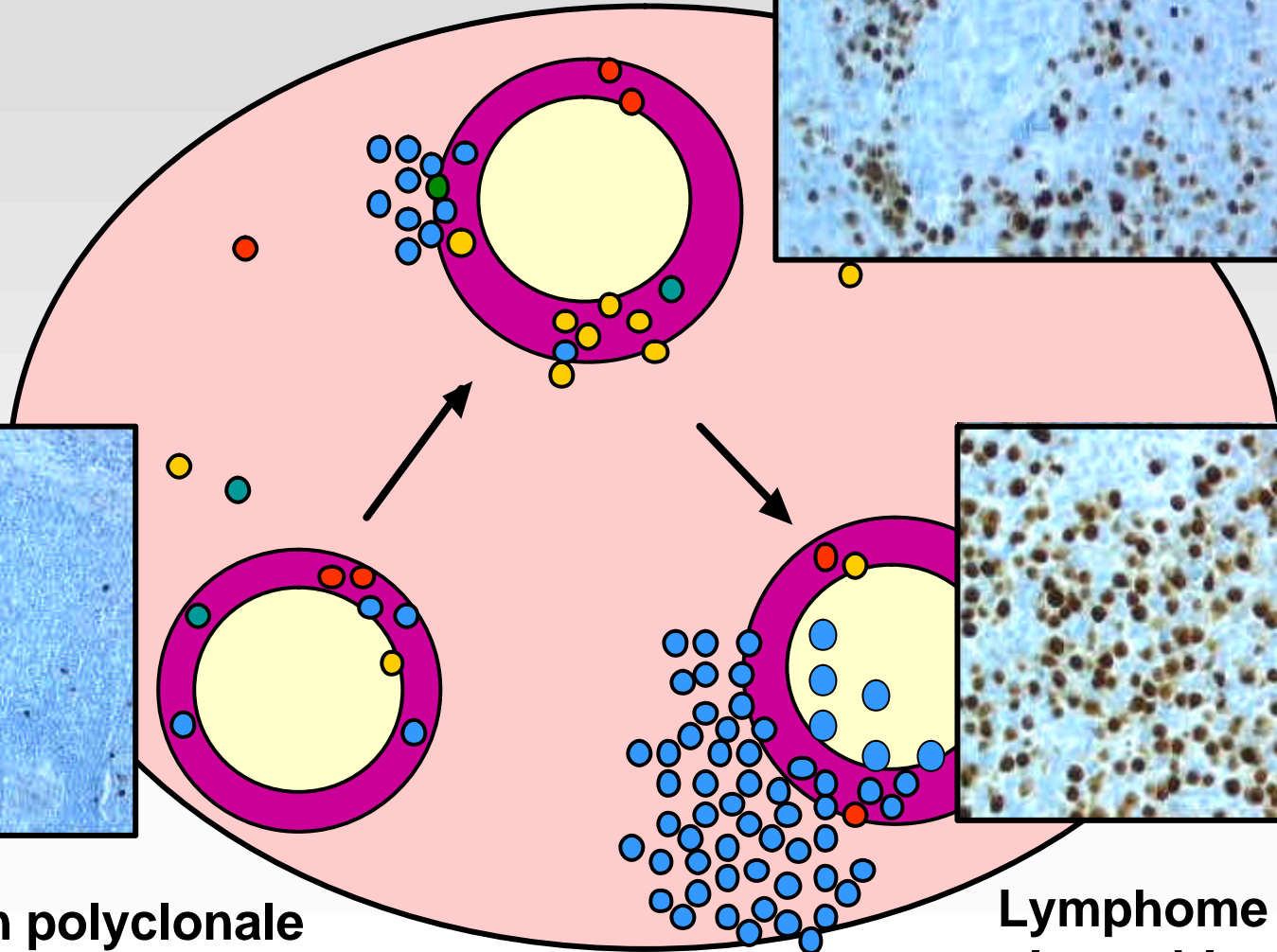


Scénario possible ...

Microlymphome



Prolifération polyclonale

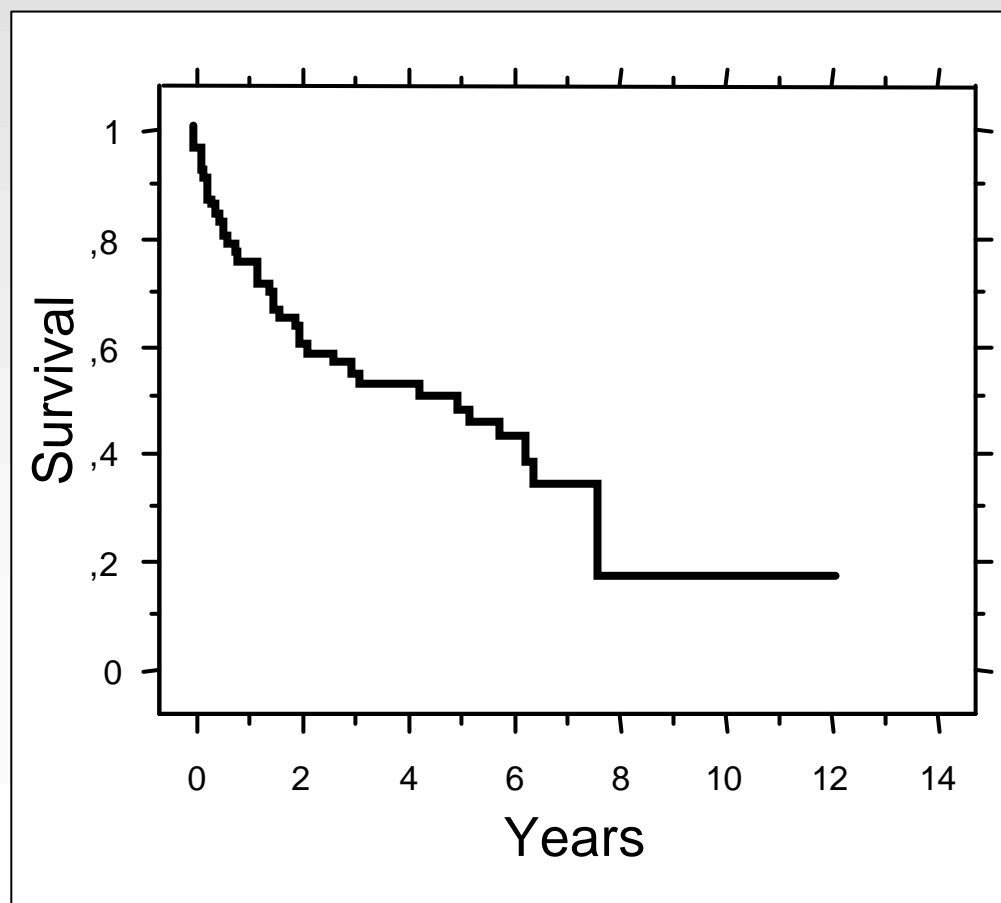


**Lymphome
plasmablastique**

HIV-MCD Etude de Cohorte (n=77)

- Médiane de Survie: 50 mois
- Survie à 5 ans: 47% ± 13%

Décès	39 / 77
• LNH	20
• MCD	9
• KS	4
• Autre	6



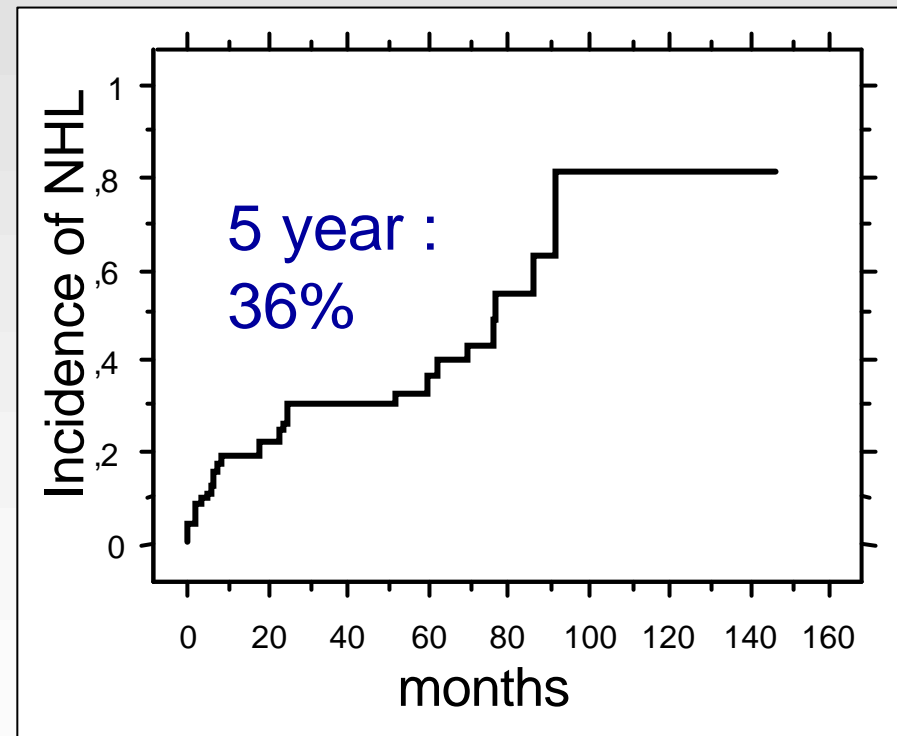
HIV- MCD

Incidence des lymphomes: 29 chez 77 patients

Infection HIV

- * Médiane CD4: 163 (1-1567)
- * HIV-RNA < 500: 11 / 44

- ✓ Follow-up: 26 mois
- ✓ **27 / 77 : 161 / 1,000 pt.y**
(RR x 20)



Tous sont des Lymphomes HHV8+

Lymphomes/leucémies plasmablastiques

Trois types de lymphomes KSHV/HHV-8 au cours de la MCD VIH+

- **PEL classiques** (en majorité EBV+)
- **PEL variants extra-cavitaires et extra-nodaux** (en majorité EBV-)
- **Lymphomes / leucémies plasmablastiques**

Atteinte ganglionnaire et splénique

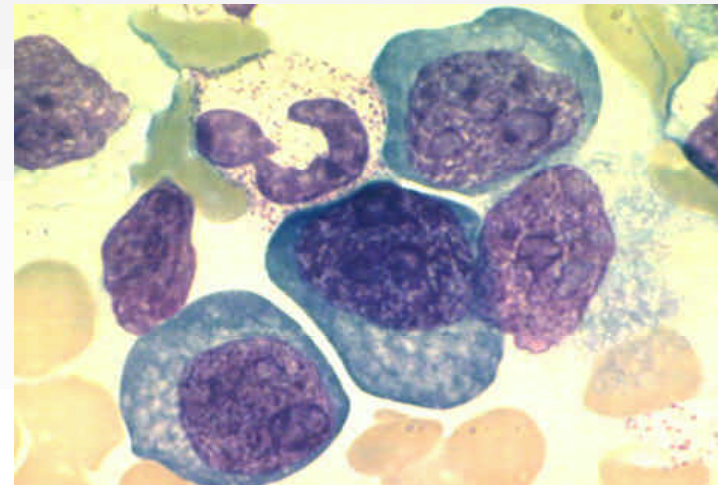
Cellules plasmablastiques circulantes

KSHV/HHV-8+, EBV-

Monotypie lambda

Evolution rapidement fatale

Expansion clonale d'un micro-lymphome ?

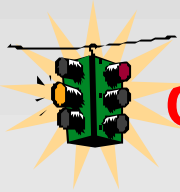


PEL et lymphomes plasmablastiques

	PEL	L. plasmablastique
Site	extra-nodal : séreuses	ganglions, rate
Morphologie	immunoblastique	plasmablastique
EBV	en majorité EBV+	EBV-
Antigènes B	souvent absents	faibles ou -
Ig cytoplasmique	souvent absente	IgM +
Chaîne légère	lambda > kappa	monotypie lambda
Gènes V d'Ig	hyper mutés	non mutés
Origine	B post-germinative	B naïve

MCD : Propositions thérapeutiques

HAART nécessaire le plus souvent insuffisant



Corticoïdes : peu efficaces, contre-indiqués (Kaposi, infections)

Splénectomie : Diagnostique et amélioration des cytopénies
Possible atténuation (transitoire) des accès aigus

Chimiothérapie

Etoposide (IV ou **PO**) toutes les 2 à 3 semaines

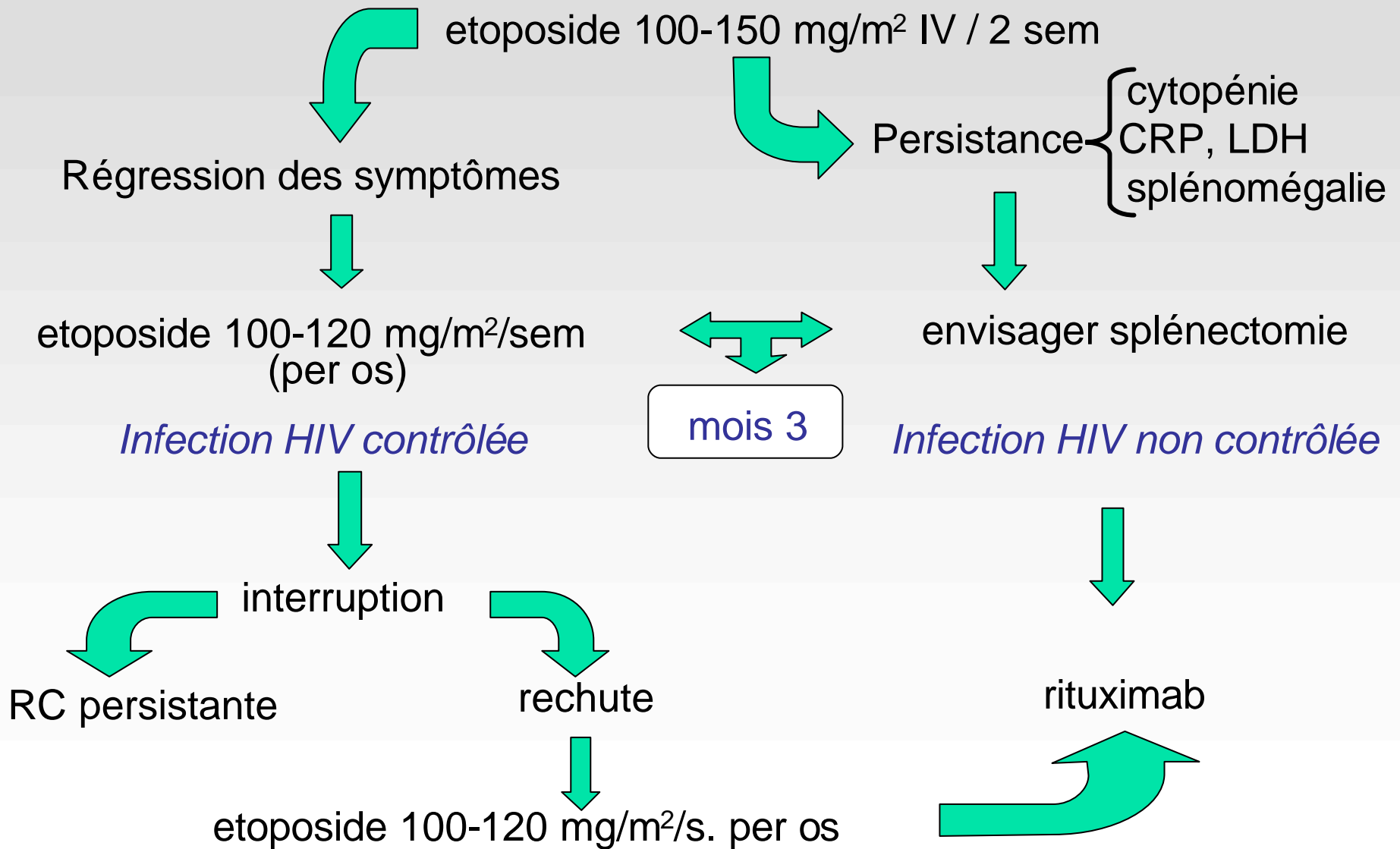
Antiviraux : Ganciclovir, cidofovir ?

Anticorps monoclonal humanisé anti-CD20 (Rituximab)

Risque d'échec en phase aiguë de MCD

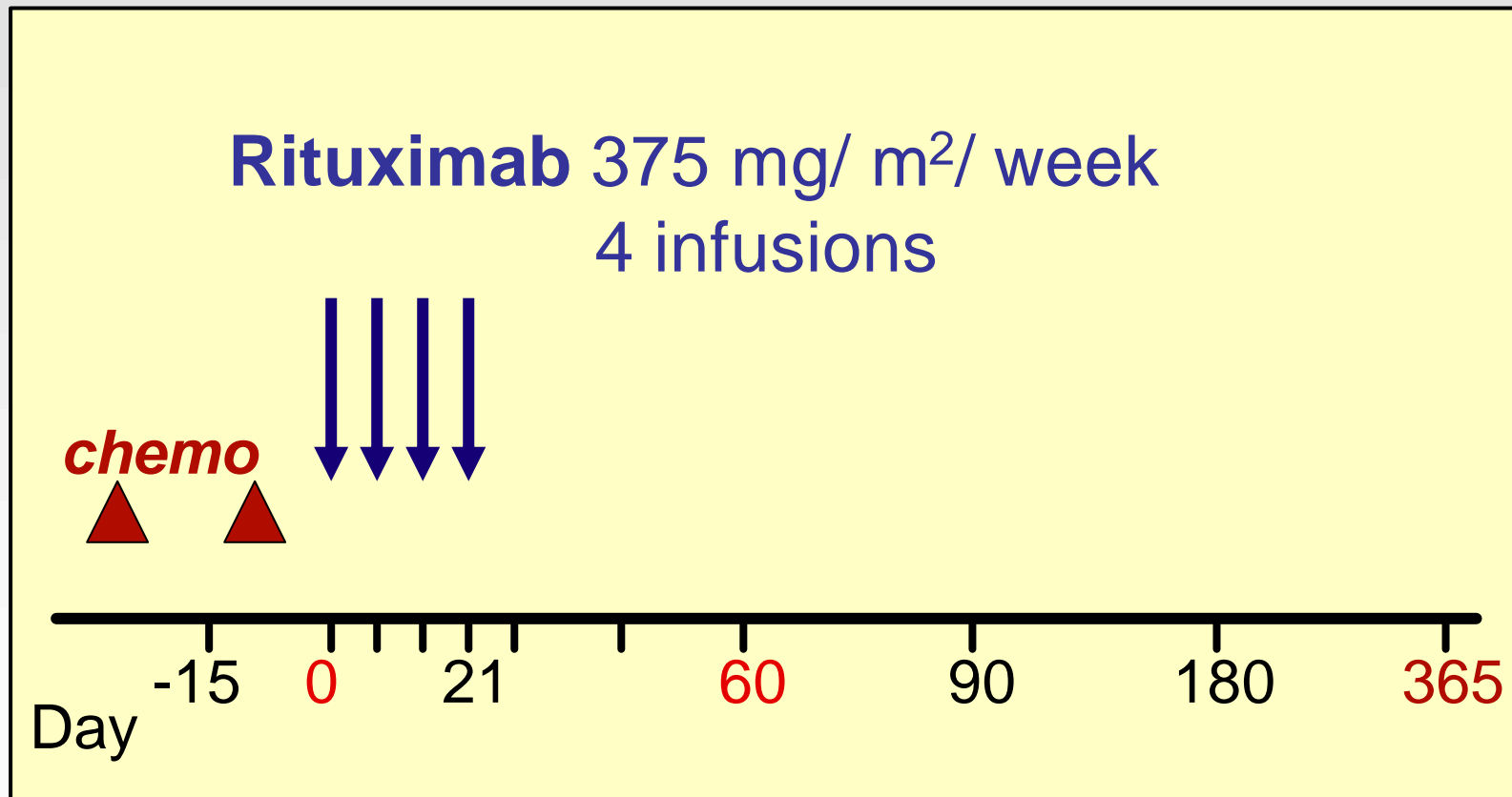
Risque d'aggravation des lésions de KS

MCD - Guidelines

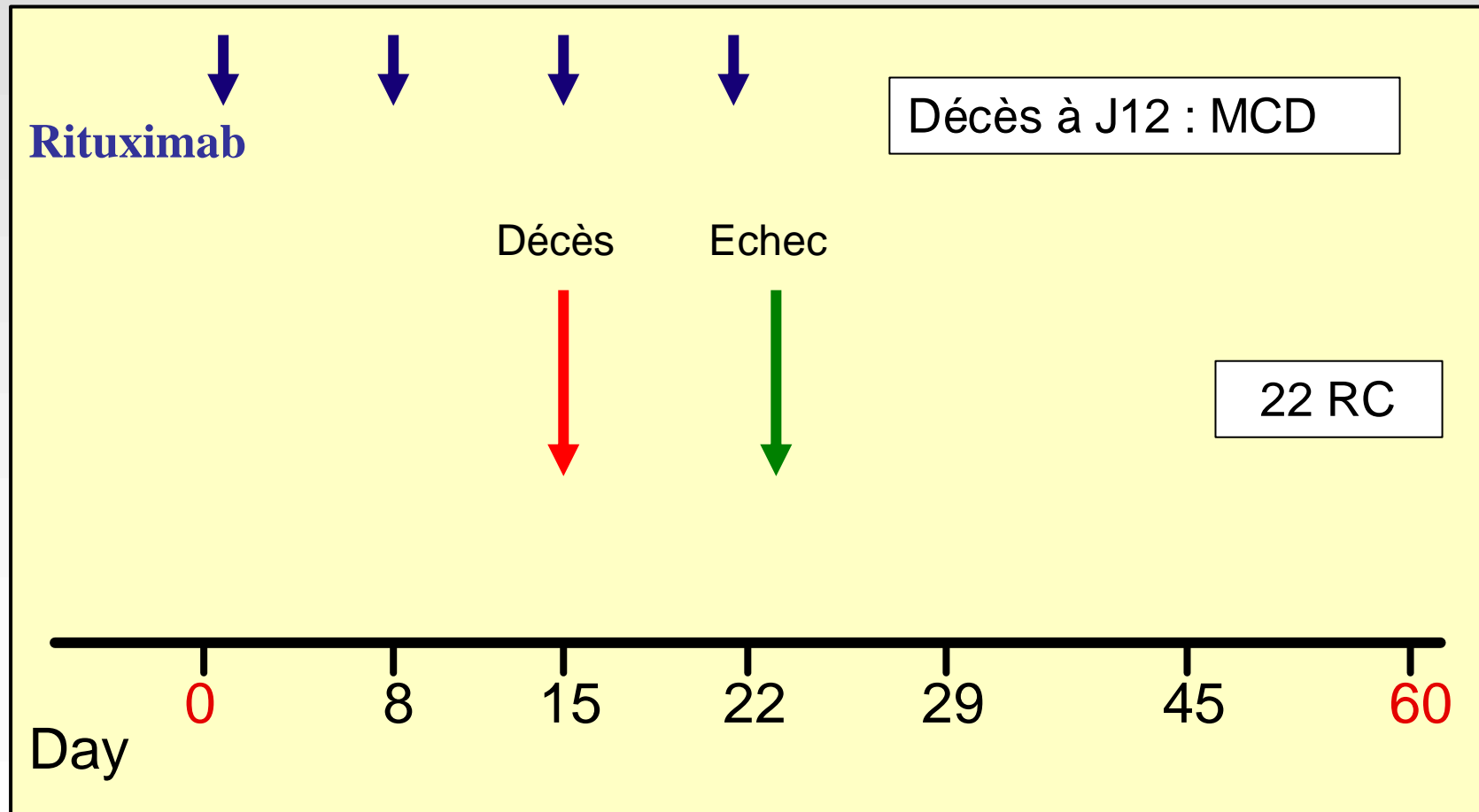


CastlemaB - ANRS117

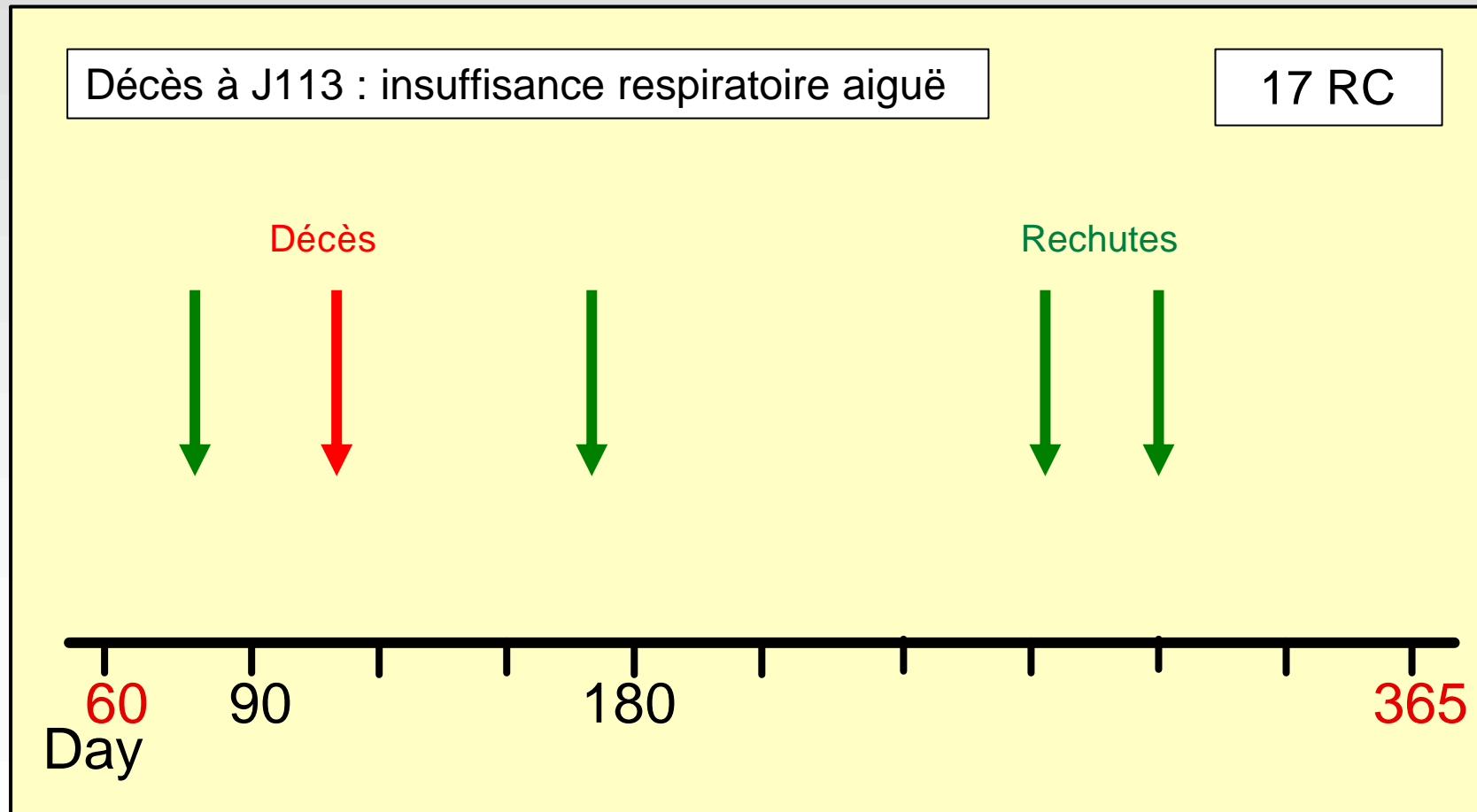
24 patients



CastlemaB - J60

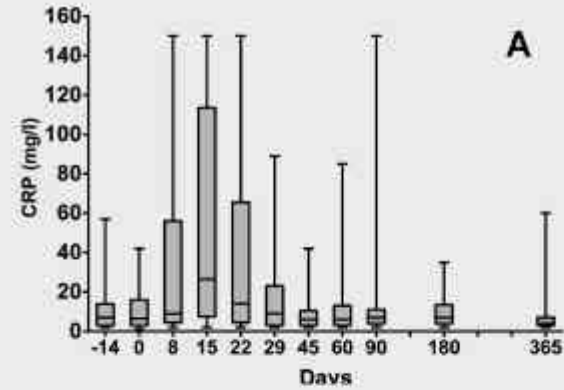


CastlemaB - J365

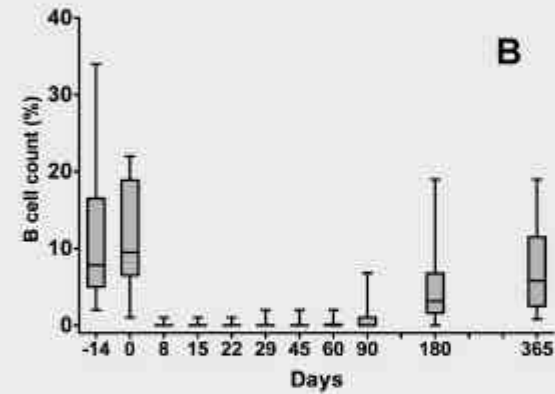


CastlemaB -ANRS117

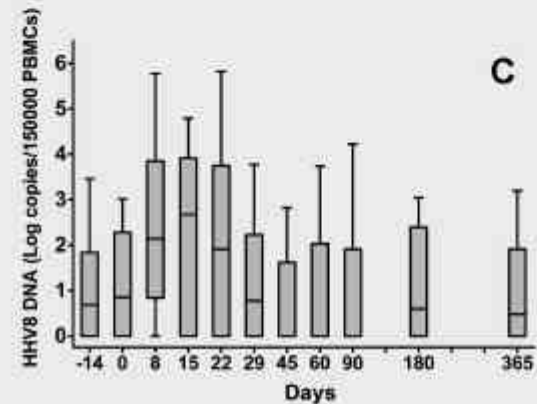
- « mini-poussées » pendant la période de traitement par Rituximab®



CRP



B cells

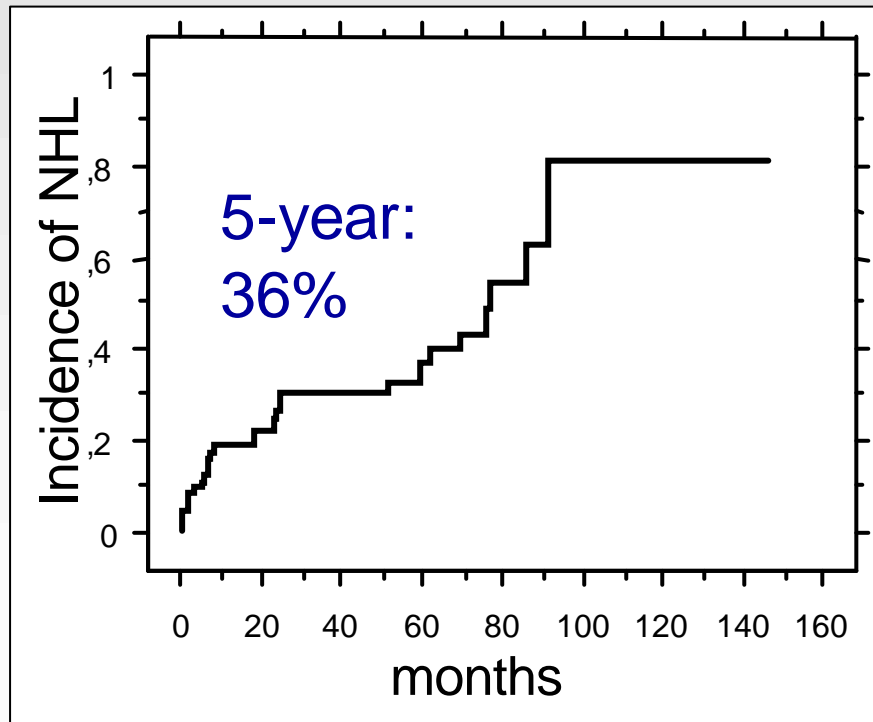


HHV-8

CastlemaB - Lymphome

Attendus: 2 ?

CastlemaB



0

KSHV/HHV-8 : Conclusions

HHV8 a tout pour être « oncogène »

Tropisme pour le lymphocyte B

Différents types de proliférations lymphoïdes selon:

- cellule infectée
- déficit immunitaire
- co-infection (hôte ou cellule)
- environnement cytokinique
- mode/voie/âge de la primo-infection (?)

Mais affirmer que HHV8 est un véritable virus « oncogène » reste ouvert à discussion ...