

Papillomavirus et cancer du col de l'utérus

Joseph Monsonogo

Certains types de papillomavirus humains (HPV) sont des agents étiologiques probables du cancer du col utérin et de ses précurseurs. L'infection virale et l'expression de certains gènes viraux apparaissent comme des facteurs nécessaires mais non suffisants de la transformation tumorale. Les progrès en biologie moléculaire nous éclairent sur les mécanismes par lesquels ces virus contribuent au développement du cancer. Seules les oncoprotéines E6-E7 des papillomavirus à risque (HPV 16-18) se lient spécifiquement et avec une forte affinité aux protéines p53 et pRb. Cette liaison perturbe le cycle cellulaire et conduit à une instabilité chromosomique et à une aneuploïdie. Cet événement est probablement le point de départ de l'intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules hôtes. Ces modifications biologiques, rapportées aux événements morphologiques et aux aspects colposcopiques des dysplasies, apparaissent comme des étapes très importantes dans la pathogénie des dysplasies et des cancers du col utérin, ainsi que dans la progression tumorale.

Les papillomavirus humains (HPV) sont un groupe de virus qui entraînent des proliférations cutanéomuqueuses le plus souvent bénignes, mais parfois malignes. Plus de 70 types viraux ont été identifiés ce jour dans l'espèce humaine. Une vingtaine de génotypes sont à tropisme ano-génital. Parmi eux, certains types sont détectés dans les dysplasies et les cancers épidermoïdes, ils sont considérés comme des virus à risque (HPV 16 et 18). Les HPV6-11 sont retrouvés dans les lésions bénignes (condylomes acuminés) et presque jamais dans les cancers; ces virus sont dits « à bas risque ». D'autres types

viraux dits « à risque intermédiaire » [1] sont détectés dans les lésions dysplasiques mais exceptionnellement dans les cancers.

L'ADN viral comporte des zones de lecture de fonctions différentes: les ORF E (*open reading frames early*) (E1-E2-E4-E5-E6-E7), ou zones de lecture précoce, qui contiennent l'information de la réplication virale et de la transformation néoplasique et les ORF L (pour *late*) (L1-L2), ou zones de lecture tardive, qui codent pour les polypeptides de structure des virions (capside). Ces deux zones de lecture sont séparées par des zones non codantes qui jouent un rôle dans la transcription virale.

ADRESSE

J. Monsonogo : docteur en médecine, responsable du département de colposcopie de l'Institut A.-Fournier. Institut A.-Fournier, 25, boulevard Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

RÉFÉRENCES

1. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 328-37.
2. Zur Hausen H. Papillomaviruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 4677-81.
3. Pirisi L, Yasumoto M, Feller J, Doniger J, DiPaolo JA. Transformation of human fibroblasts and keratinocytes with human papillomavirus type 16 DNA. *J Virol* 1987; 61: 1061-6.
4. Woodworth CD, Doniger J, DiPaolo JA. Immortalization of human foreskin keratinocytes by various human papillomavirus DNAs corresponds to their association with cervical cancer. *J Virol* 1989; 63: 159-64.
5. Mûnger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R. The E6 and E7 genes of human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989; 63: 4417-21.
6. Pecoraro G, Lee M, Morgan D, De Fendi V. Evolution of *in vitro* transformation and tumorigenesis of HPV16 and HPV18 immortalized primary cervical epithelial cells. *Am J Pathol* 1991; 138: 1-8.
7. Davies R, Hicks R, Crook T, Morris J, Vousden K. Human papillomavirus type 16 E7 associates with a histone H1 kinase and with p107 through sequences necessary for transformation. *J Virol* 1993; 67: 2521-8.
8. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-38.
9. Mûnger K, Werness BA, Dyson N, Harlow E. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J* 1989; 8: 4099-105.
10. Wolowicz D, Ffrench M. Kinases dépendantes des cyclines: rôle biologique et implications dans la pathologie humaine. *médecine/sciences* 1996; 12: 165-73.
11. Clavel Ch, Zerat L, Binniger I, Boutterin MC, Polette M, Monsonogo J, Birembaut P. DNA content measurement and *in situ* hybridization in condyloamatous cervical lesions. *Diag Mol Pathol* 1992; 1: 180-4.

De nombreuses études indiquent que les papillomavirus à risque sont impliqués dans la carcinogenèse des cancers épidermoïdes ano-génitaux, et particulièrement dans celle des cancers du col utérin.

Trois notions fondamentales se dégagent de la biologie moléculaire de ces cancers [2]: (1) L'ADN viral des HPV à risque est présent dans 90 % de ces tumeurs. (2) Dans la plupart des cancers, l'ADN viral est intégré au génome. Cette intégration interrompt la zone de lecture ORF E2 des seuls HPV à risque. (3) Dans la majorité des cancers ano-génitaux, des gènes viraux spécifiques des HPV à risque s'expriment, puisque les transcrits des ORF E6-E7 peuvent être mis en évidence dans ces lésions.

Le rôle des gènes viraux *E6-E7* comme oncogènes est clairement démontré. Toutefois, la longue période de latence entre la première acquisition et l'apparition des lésions, le nombre faible de femmes porteuses d'HPV qui développent finalement un cancer et les effets carcinogènes des agents chimiques et physiques suggèrent que l'infection à HPV, bien que nécessaire, n'est pas suffisante pour une transformation maligne. Les études *in vitro* indiquent qu'à eux seuls les gènes *E6-E7* des HPV à risque sont immortalisants et non transformants, laissant suggérer le caractère à risque des lésions qu'ils induisent. C'est ainsi que les gènes *E6-E7* des seuls HPV à risque (donc pas des HPV à bas risque) immortalisent les kératinocytes cervicaux *in vitro*, transforment les fibroblastes des rongeurs et immortalisent les kératinocytes humains [3, 4]. On constate alors que ces cellules ont un nombre illimité de divisions mais qu'elles n'ont pas acquis le phénotype malin. Dans les cultures cellulaires, les caractéristiques de la croissance de ces cellules immortalisées *in vitro* ressemblent à celles de la prolifération cellulaire observée dans les néoplasies intraépithéliales cervicales (CIN ou dysplasies) [5]. Toutefois, les cellules immortalisées par les gènes *E6-E7* n'engendrent pas de tumeur chez la souris *nude*. Une longue période de culture est nécessaire pour faire apparaître des clones malins, témoignant des modifications cellulaires probablement

induites par les virus [6]. Cette longue période peut être rapprochée de celle observée pour les dysplasies du col, dont l'histoire naturelle montre un risque évolutif sur une période relativement longue.

Relations entre gènes suppresseurs du cancer et papillomavirus humains

L'ADN des différents types d'HPV comporte des analogies génomiques. Pourtant, seul le groupe des HPV à risque élevé (16-18) est impliqué dans la transformation, alors que le groupe des HPV à bas risque (6-11) ne l'est qu'exceptionnellement.

Les études de biologie virale ont permis de comprendre les circonstances et les différences fondamentales sur le risque transformant des gènes *E6-E7* des HPV à risque élevé qui les différencient des ORF *E6-E7* des HPV à bas risque. Les oncoprotéines des ORF *E6-E7* des HPV 16 et 18 se fixent spécifiquement à des protéines cellulaires codées par des gènes suppresseurs du cancer. En bref, l'oncoprotéine de l'ORF E7 des HPV 16 fixe le produit du gène de susceptibilité au rétinoblastome (pRb) [7] et l'oncoprotéine des ORF *E6* des HPV 16 ou 18 fixe la protéine p53 [8].

La protéine E7 des papillomavirus à risque élevé et à bas risque se lie à la protéine pRb mais l'affinité de liaison varie selon le type des HPV. Les protéines E7 des HPV 6 et 11 ont une affinité respectivement 20 et 5 fois plus faible que celle des protéines E7 des HPV 16 et 18 [9].

La liaison à la protéine pRb contribue au potentiel oncogénique. Il apparaît clairement que les kératinocytes immortalisés en culture requièrent la présence des HPV E6 et E7 des papillomavirus à risque pour la transformation maligne des cellules.

Régulation du cycle cellulaire

Le gène *RB* a un rôle régulateur négatif dans la réplication de l'ADN et le cycle mitotique [9, 10]. Le gène *p53* semble impliqué dans le contrôle de la croissance cellulaire des cellules «agressées»; on le considère comme un gène suppresseur de la transformation. Il est exprimé dans tous les tissus

sains. Au cours du cycle, la protéine p53 s'accumule dans le cytoplasme pendant la phase G1 et migre dans le noyau pendant la phase S (figure 1). Les cellules qui expriment le gène p53 sont bloquées en phase G1/S et ne peuvent donc plus se diviser. Cette pause donne aux mécanismes de réparation de l'ADN le temps d'agir; si ceux-ci sont défectueux, la p53 peut induire la mort cellulaire.

Toute interférence au niveau de ces gènes entraîne la transformation *in vitro*. C'est ainsi que l'interférence avec leur fonction, conséquence de l'expression des oncogènes viraux E6-E7 des HPV à risque (et eux seuls), entraîne une instabilité chromosomique et une aneuploïdie [11]. Par ailleurs, ces modifications de l'ADN sont classiquement observées lors de l'infection avec les seuls HPV à risque [12].

Le gène de susceptibilité au rétinoblastome (RB)

Le gène de susceptibilité au rétinoblastome (RB) fait partie d'une famille de gènes connus comme des gènes suppresseurs de tumeur qui ont pour propriété de régler le cycle cellulaire. Le gène RB a été localisé dans la région 13q14. La phosphorylation de la protéine pRb est contrôlée par au moins une kinase appartenant à un groupe d'enzymes qui ont des effets pléiotropiques sur le cycle cellulaire [10]. Récemment il a été démontré que pRb pouvait se fixer à un facteur transcriptionnel cellulaire, E2F. Ainsi libéré de ses répresseurs cellulaires, E2F est alors capable d'activer constitutivement la transcription des gènes qui contrôlent la phase de transition G1/S[10].

L'interaction entre pRb et E2F est probablement le mécanisme par lequel pRb et d'autres facteurs cellulaires (notamment la protéine p107) [10] pourraient moduler le cycle cellulaire (figure 2A).

Interaction entre E7 et pRb

HPV E7 est capable de moduler le cycle cellulaire en se fixant à pRb, empêchant ainsi la liaison normale de pRb avec E2F [10] (figure 2B). De ces observations il apparaît que l'oncoprotéine HPV E7 contribue à la transformation cellulaire par la liaison compétitive à des protéines cellulaires clés en se fixant à pRb et à

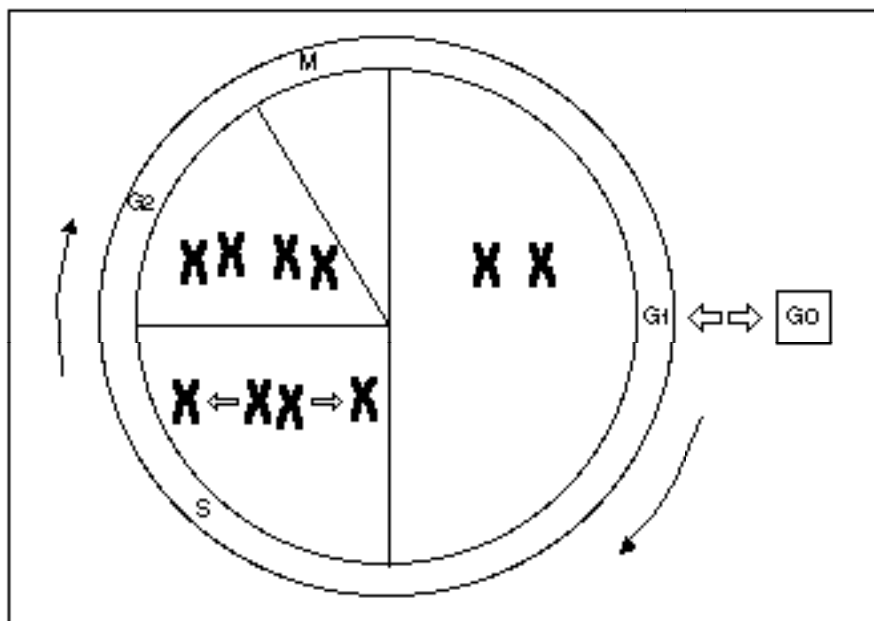


Figure 1. **Cycle cellulaire des mammifères.** Le cycle cellulaire est divisé en différentes phases. La réplication de l'ADN se produit lors de la phase S (synthèse). Avant et après la phase S, la cellule s'engage dans une activité métabolique et de croissance en phase G1 ou G2. La phase G2 est suivie de la phase M (mitose) durant laquelle se produit la division cellulaire. En l'absence de signaux spécifiques, la cellule entre dans une phase stationnaire ou phase G0. Un groupe de molécules contrôle les principales phases de transition du cycle cellulaire au niveau de 3 points de repère. Deux d'entre eux sont localisés à la frontière de G1/S et l'autre est situé à la frontière de G2/M.

p107 et en empêchant de former des complexes avec E2F. E2F est libéré de ses répresseurs cellulaires et contribue ainsi à son rôle activateur de l'expression des gènes, en particulier ceux impliqués dans les stades du cycle cellulaire. D'un point de vue viral, cette libération du contrôle négatif conduit le cycle cellulaire à la phase S, autorisant ainsi la réplication virale. Cela contribue à dérégler la multiplication cellulaire et à permettre le développement de la tumeur. Toutefois, la forme E2F libérée de son complexe avec pRb n'est pas constamment requise pour le maintien du phénotype malin des cellules cancéreuses positives pour le papillomavirus [13].

Le gène p53

La protéine p53 est une phosphoprotéine codée par un gène suppresseur de tumeurs. Elle a été la première protéine cellulaire se liant aux protéines des virus à ADN à être identifiée [14]. Le gène humain P53 est localisé dans le bras court du chro-

mosome 17. La protéine p53 a été initialement classée comme un antigène tumoral après l'observation de ses concentrations anormalement élevées dans une variété de tumeurs et de lignées cellulaires tumorales.

Toutefois ces premiers isolats contenaient des protéines mutées et des travaux ultérieurs ont montré que la p53 normale avait aussi une fonction suppressive de croissance tumorale. A la différence de pRb, la p53 ne semble pas avoir un rôle important dans le contrôle du cycle cellulaire [15], depuis qu'on a montré que chez les patients présentant le syndrome de Li-Fraumeni (qui ont des mutations germinales du gène P53), la croissance cellulaire n'est pas affectée (*m/s n° 5, vol. 8, p. 492*) [16]. Aussi la fonction précise de p53 dans les cellules normales n'est pas bien connue. Elle est probablement impliquée dans le contrôle de la croissance de certaines cellules « agressées ». Le mécanisme par lequel cette croissance cellulaire est interrompue n'est pas claire mais la protéine p53 présente un domaine spécifique de

RÉFÉRENCES

12. Monson J, Zerat L, Clavel C, Birembaut P. ADN ploïdie des CIN: confrontations histo-virologiques et intérêts pratiques. *Gynécologie* 1992; 43: 22-8.

13. von Knebel Doeberitz M, Rittmüller C, Aengeneyndt F, Jansen-Dürr P, Spitkovsky D. Reversible repression of Papillomavirus oncogene expression in cervical carcinoma cells : Consequences for the phenotype and E6-p53 and E7-pRb interactions. *J Virol* 1994; 68-5: 2811-21.

14. Lane DP, Crawford VL. T antigene is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-3.

15. Donehower LA, Harvey M, Slagle BL *et al* Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992; 356: 215-21.

16. Soussi T. p16, p21(WAF1/CIP1), P27(Kip1) et p53: rivales ou compagnes? *médecine/sciences* 1994; 10: 744-6.

17. Kern SE, Kinzler KW, Baker SJ *et al*. Mutant p53 proteins bind DNA abnormally *in vitro*. *Oncogene* 1991; 6: 131-6.

18. Farmer G, Bargonetti J, Shu H *et al*. Wild-type p53 activates transcription *in vitro*. *Nature* 1992; 358: 83-6.

19. Crook T, Tidy J, Vousden K Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and transactivation. *Cell* 1991; 67: 547-6.

20. Crook T, Wrede D, Tidy JA, Mason WP, Evans DJ, Vousden KH Clonal p53 mutation in primary cervical cancer: association with human-papillomavirus-negative tumours. *Lancet* 1992; 339: 1070-3.

21. Werness B, Levine AJ, Howley G. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; 248: 76-9.

22. Kaelbling M, Burck RD, Atkin NB, Klinger HP. Loss of heterozygosity on chromosome 17p and mutant p53 in HPV negative cervical carcinomas, *Lancet* 1992; 340: 140-2.

23. Riou G, Favre M, Jeannel D, Bourhis J, Le Doussal V, Orth G. Association between poor prognosis in early stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA. *Lancet* 1990; 335: 1171-4.

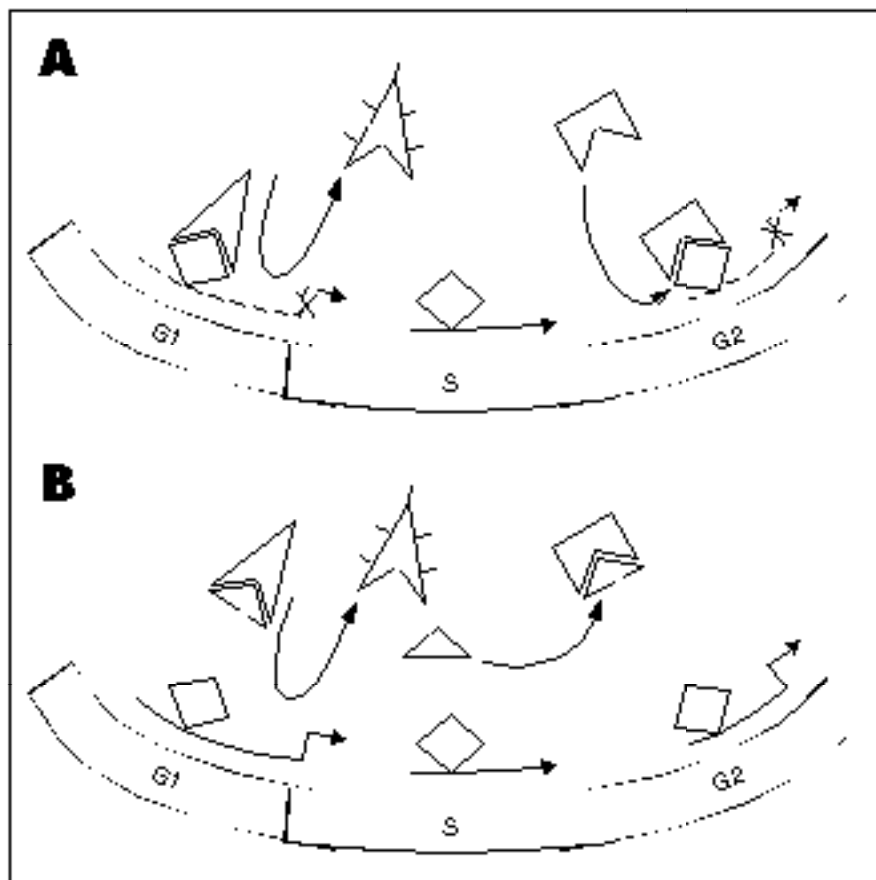


Figure 2. **Interactions du facteur transcriptionnel E2F avec les protéines cellulaires et les protéines E7 des papillomavirus.** A. En G1 et en l'absence d'HPV, la protéine pRb non phosphorylée est liée à E2F, inhibant ainsi la fonction transcriptionnelle: les gènes cellulaires contrôlés par E2F ne sont pas exprimés. En G1/S, pRb est phosphorylée sous l'action de kinases produisant la dissociation du complexe E2F-pRb et E2F restaure la fonction transcriptionnelle, réglant ainsi l'expression génique en phase S. Durant cette phase, la fonction est modulée par la liaison à la protéine p107. B. En présence d'HPV16, la protéine E7 se lie à la protéine pRb non phosphorylée, libérant le contrôle négatif de pRb sur la fonction transcriptionnelle d'E2F. Au fur et à mesure que le cycle progresse et que pRb est phosphorylée, HPV E7 est dissocié de ce dernier. Les protéines E7 libres se lient alors à la protéine p107, empêchant ainsi l'inactivation de E2F en phase S. Le cycle cellulaire est déréglé par la poursuite de la transactivation des gènes contrôlés par E2F.

liaison à l'ADN cellulaire et d'autres domaines de transactivation, indiquant qu'elle agit comme facteur transcriptionnel pour transactiver des gènes dont les produits ont une fonction de contrôle ou d'arrêt de la croissance cellulaire (figure 2B).

Abolition de la fonction de p53

Certaines protéines issues de la mutation de p53 se lient à l'ADN et contribuent à bloquer la fonction transcriptionnelle [17, 18]. Les changements conformationnels de la protéine

mutante augmentent sa demi-vie de quelques minutes à quelques heures. Ces événements suggèrent que la présence de la protéine mutante p53 est suffisante pour abroger la fonction de la p53 normale par un mécanisme dominant négatif, en formant des hétérotétramères inactifs qui entrent en compétition avec la protéine sauvage (figure 3B).

La fonction de la p53 peut aussi être perdue par surexpression de la protéine liée p53. La liaison à la protéine cellulaire MDM-2 inhibe la fonction transcriptionnelle du gène p53

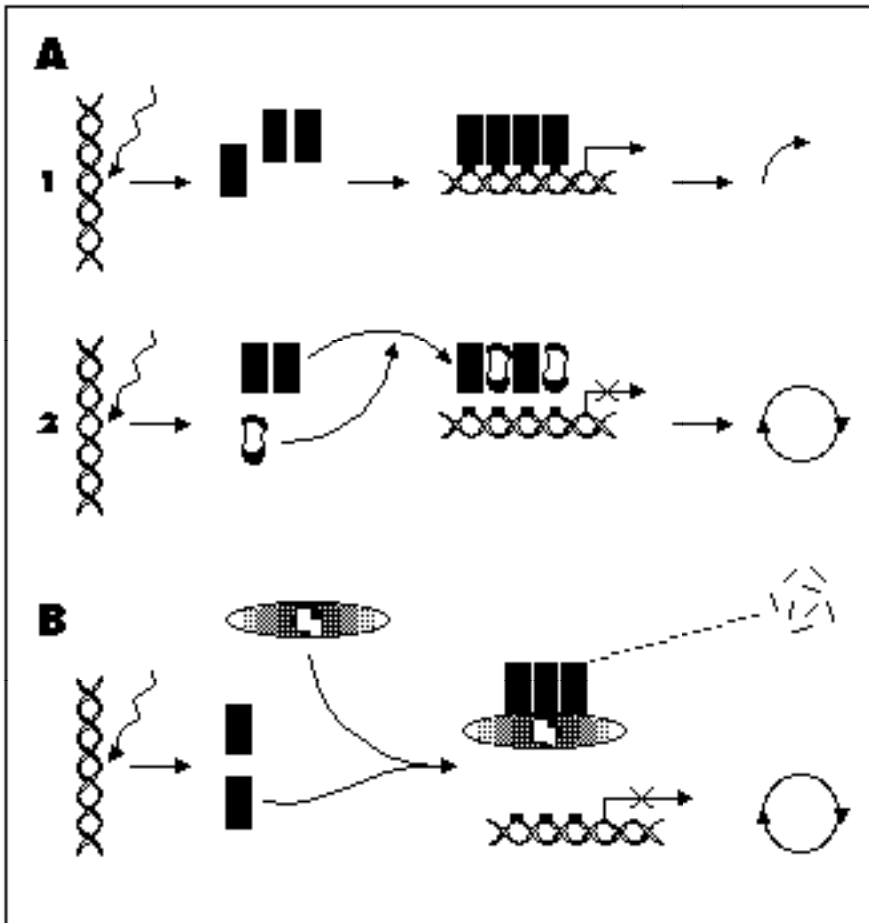


Figure 3. **A. Fonction de la protéine p53 dans le cycle cellulaire.** 1. Des altérations de l'ADN cellulaire entraînent une accumulation de la protéine p53 normale. La p53 se fixe à son site de la liaison de l'ADN et transactive les gènes suppresseurs, entraînant un arrêt du cycle cellulaire, permettant ainsi la réparation de dommages de l'ADN. 2. Les mutations du gène P53 entraînent la formation d'hétérotétramères entre les protéines mutante et normale. Ces complexes ne peuvent se lier au site nucléique de liaison de la p53; ainsi, ce processus ne peut bloquer le cycle cellulaire. **B. Interactions entre la protéine HPV E6 et la protéine p53 normale.** La protéine HPV E6 se lie à la protéine p53 et forme un complexe inapte à la liaison au site de fixation de la p53 à l'ADN; la régulation du cycle cellulaire est ainsi perturbée. La protéine E6 des HPV à risque, liée à la protéine p53, entraîne par ailleurs la dégradation protéolytique de cette dernière.

en formant un complexe (*m/s* n° 8, vol. 11, p. 1185) [16].

Le troisième mécanisme est représenté par l'inactivation fonctionnelle de la p53 après liaison des oncoprotéines virales comme HPV E6 des papillomavirus à risque élevé. Les protéines E6 des papillomavirus à risque ont comme propriété de se lier à la protéine p53 et contribuent ainsi à sa dégradation [19]. Les mutations géniques sont ainsi plus aisément transmises et propagées aux générations de cellules filles, ce qui pourrait

constituer un autre mécanisme de promotion tumorale (*figure 3A*).

Chez l'homme, le gène suppresseur P53 est modifié (muté) dans la majorité des cancers dans lesquels il a été recherché. Dans les cancers du col associés à HPV, il semblerait que le processus de cancérisation ne soit pas dû à une modification des gènes P53 ou RB, mais plutôt à la modification de l'activité de leurs protéines respectives par la liaison spécifique aux oncoprotéines E6-E7 des HPV à risque. Cette liaison entraîne la dégra-

datation protéolytique rapide, en particulier de la protéine p53 [20] avec, comme conséquence, une altération de la fonction régulatrice du cycle cellulaire. Le point important est que cette fixation est observée pour les protéines E6-E7 des HPV à risque et n'est pas constatée pour les HPV 6-11 [21]. A l'inverse, dans les rares cancers du col négatifs pour HPV, c'est une mutation des gènes P53 et RB qui est parfois observée (les produits de ces mutants ne sont que partiellement fonctionnels) [20-22]. Ce résultat fait l'objet d'avis contradictoires. Il a permis à quelques auteurs d'expliquer le mauvais pronostic des tumeurs HPV négatifs comparativement aux cancers du col HPV positifs. Il a été, en effet, démontré qu'il existe une association inverse entre l'infection HPV et la mutation sur le gène p53 et que les cancers du col HPV associés ont un pronostic plus favorable que les cancers du col HPV négatifs [23]. Ce facteur de bon pronostic associé aux papillomavirus tiendrait probablement à l'absence de mutation observée sur les gènes P53 et RB, alors qu'elle est révélée plus fréquemment dans les cancers du col HPV négatifs [23]. Depuis, certains auteurs ont rapporté que la mutation de P53 se rencontrait dans les cancers du col positifs aussi bien que négatifs pour HPV [24].

Démonstration de la fonction oncogénique des gènes E6-E7 des papillomavirus humains à risque

L'expression des gènes E6-E7 des HPV à risque élevé, si elle est nécessaire à la transformation, n'est vraisemblablement pas suffisante pour permettre la croissance tumorale. La contribution de facteurs mutagènes (tabac, facteurs infectieux et hormonaux) sur les lésions tumorales «promues» à la transformation, est probablement importante, comme le suggèrent les données cliniques et épidémiologiques [25]. Une des différences dans l'action carcinogénétique des HPV à bas risque par rapport à celle des HPV à risque élevé réside probablement dans la dépendance des HPV à bas risque vis-à-vis de facteurs exogènes (HPV 8 et ultraviolets dans l'épidermodysplasie verruciforme), alors que les facteurs endogènes contribueraient plus lar-

RÉFÉRENCES

24. Fujita M, Inoue M, Tanizawa O, Iwamoto S, Enomoto T. Alterations of the p53 gene in human primary cervical carcinoma with and without human papillomavirus infection. *Cancer Res* 1992; 52: 5323-8.

25. Monsonego J. HPV and cofactors in cervical carcinogenesis. In: *Papillomaviruses in human pathology*, New York: ed. Raven Press, 1990: 31-48.

26. Rösl F, Dürst M, zur Hausen H. Selective suppression of human papillomavirus transcription in non-tumorigenic cells by 5-azacytidine. *EMBO J* 1988; 7: 1321-7.

27. Rösl F, Achtstätter T, Bauknecht T, Futerman G, Hutter KJ, zur Hausen H. Extinction of the HPV 18 up-stream regulatory region in cervical carcinoma cells after fusion with non-tumorigenic human keratinocytes under non-selective conditions. *EMBO J* 1991; 10: 1337-45.

28. Haskell KM, Vuocolo GA, Defoe-Jones D, Jones RE, Ivey-Hoyle M. Comparison of the binding of the human papillomavirus type 16 and cottontail rabbit papillomavirus E7 proteins to retinoblastoma gene product. *J Gen Virol* 1993; 74: 115-9.

29. Jewers RJ, Hildebrandt P, Ludlow JW, Kell B, McCance DJ. Regions of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein required for immortalization of human keratinocytes. *J Virol* 1992; 66: 1329-35.

30. Zur Hausen H. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. In: Zur Hausen H, ed. *Human pathogenic papillomaviruses*. Berlin: Springer-Verlag, 1994: 131-56.

31. Bosch FX, Schwarz E, Boukamp P, Fuse-nig NE, Bartsch D, zur Hausen H. Suppression *in vivo* of human papillomavirus type 18 E6-E7 gene expression in non-tumorigenic HeLa-fibroblast hybrid cells. *J Virol* 1990; 64: 4743-54.

32. Chen TM, Pecoraro G, Defendi V. Genetic analysis of *in vitro* progression of human papillomavirus-transfected human cervical cells. *Cancer Res* 1993; 53: 1167-71.

33. zur Hausen H. Disrupted dichotomous intracellular control of human papillomavirus infection in cancer of the cervix. *Lancet* 1994; 343: 955-7.

34. Cromme FV, Snijders PJF, van den Vrule AJC, Kenemans P, Meijer CJLM, Walboomers JMM. CMH class I expression in HPV 16 positive cervical carcinomas is post-transcriptionally controlled and independent from *c-myc* overexpression. *Oncogene* 1993; 8: 2969-75.

gement à l'action transformante des HPV à risque élevé. *In vitro*, les cellules immortalisées par les gènes *E6-E7* ne sont pas cancéreuses au départ. L'introduction de l'oncogène *v-ras* (transfection) leur confère le phénotype malin [5].

Par ailleurs, il existe très probablement une régulation inter et intracellulaire de l'expression de ces gènes viraux. La fusion de cellules normales avec des cellules de cancers du col positifs pour HPV donne des cellules hybrides non tumorales qui expriment une activité des ORF *E6-E7* [2]. L'inoculation de ces cellules hybrides chez la souris entraîne une réduction de l'activité *E6-E7*, alors que les cellules tumorales ont une intense activité *E6-E7*. Pendant une longue période, en particulier dans les étapes pré-cancéreuses, ces gènes transformants ne sont probablement pas exprimés, ou du moins seraient réprimés par des facteurs viraux ou cellulaires. Le contrôle négatif de la transformation semble impliquer des processus de répression [26] de gènes cellulaires par l'intermédiaire de la région régulatrice non codante LCR (*locus control region*) de l'ADN viral qui contrôle *E6-E7* [27].

Par ailleurs, la dissociation du complexe *E2F-pRb* en présence de la protéine *E7* des HPV à risque n'est pas suffisante pour maintenir le phénotype malin des cellules cancéreuses HPV associées [13]. De nombreux arguments existent aujourd'hui pour ne pas donner au complexe *E7-pRb* un rôle direct dans la carcinogenèse [28, 29]. De même, l'expression des gènes *E6* requiert pour l'immortalisation des gènes *E7* fonctionnels [15]. Des réarrangements chromosomiques, les mutations et une instabilité génomique induits par les oncogènes viraux *E6-E7* des HPV à risque ont été observés. Ces oncogènes viraux auraient un rôle plus important dans les étapes avancées de la progression tumorale que dans les événements précoces de la carcinogenèse [30].

Réaction immunologique de l'hôte

Si, comme il a été dit précédemment, le rôle oncogénique de *E6-E7* est clairement démontré, la latence relativement longue entre la primo-

infection et l'émergence éventuelle d'un cancer, le nombre faible de patientes infectées qui développent éventuellement un cancer, et l'action carcinogénique d'agents chimiques ou physiques suggèrent que, si les HPV sont des agents nécessaires, ils ne sont pas suffisants pour déclencher la transformation.

Dans les cellules non transformées, un mécanisme de contrôle inhibiteur de la transcription des gènes *E6* des papillomavirus à risque a été démontré qui fait intervenir des interactions intercellulaires impliquant les macrophages et d'autres types de cellules [26]. L'inoculation de cellules immortalisées par les HPV chez l'animal immunocompromis permet de constater la défaillance du contrôle intercellulaire de la transcription des oncogènes viraux [31]. Les cellules malignes infectées par les papillomavirus ne révèlent pas de suppression des oncogènes viraux après inoculation chez l'animal immunocompromis.

Quelques études ont permis de montrer qu'au moins quatre gènes différents assurent le contrôle des oncogènes viraux. En outre, la croissance cellulaire, conséquence de la synthèse des oncoprotéines virales, s'altère progressivement après une certaine durée de vie des cellules infectées [32]. Il a été suggéré que cette altération fonctionnelle des oncoprotéines virales pourrait être un second signal dans la suppression de la fonction oncogénique de ces virus dans les cellules transformées [33].

Dans le cancer du col utérin, l'interruption du contrôle intercellulaire est apparu nécessaire pour l'invasion tumorale. Le défaut de présentation des domaines antigéniques des protéines *E6-E7* ou l'expression insuffisante des molécules CMH est fréquemment observé [34], mettant en défaut l'action du système immunitaire.

On a présenté une hypothèse impliquant trois niveaux de protection contre la fonction oncogénique des protéines *E6-E7* des HPV à risque [33]. Le premier niveau de protection représente le contrôle intracellulaire de la fonction des gènes *E6-E7* (infection latente) dont l'interruption pourrait entraîner l'immortalisation cellulaire ou des lésions de bas grade (dysplasies légères). A ce stade, *E6-E7* sont réprimés ou peu exprimés.

Le second niveau de protection ferait

intervenir les macrophages ou d'autres cellules de l'immunité cellulaire dans l'inhibition transcriptionnelle des gènes *E6-E7*. Un défaut de protection intercellulaire entraînant l'expression *E6-E7* à un niveau plus élevé est observé dans les lésions de grade élevé (dysplasies sévères). Toutefois, à ces stades, l'antigénicité des oncoprotéines maintient un niveau de protection suffisant contre la transformation de ces virus et peut expliquer les régressions observées *in vivo*. A ce stade, *E6-E7* sont exprimés, mais la réponse immune est satisfaisante du fait de l'expression normale des complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH1).

Le troisième niveau de protection est aussi assuré par les molécules CMH. La présentation des antigènes viraux par les haplotypes spécifiques du CMH1, et leur reconnaissance par le système lymphoïde, entraînent à ce stade la mort cellulaire.

Lorsque les deux premiers niveaux de protection manquent, l'expression insuffisante des gènes du CMH ou le défaut de présentation des oligopeptides *E6-E7* seraient à l'origine de la transformation [34]. A ce stade, *E6-E7* sont largement exprimés et la défaillance de la réponse immune par défaut des molécules CMH1 peut expliquer la naissance du cancer. Ce processus expliquerait la période de latence relativement longue entre le début de l'infection et le développement du cancer, le pourcentage faible de cancer chez les femmes infectées et l'incidence plus élevée des néoplasies génitales chez les femmes immunodéprimées.

Intégration de l'ADN des papillomavirus humains à risque au génome des cellules cancéreuses

C'est une étape indispensable à la transformation. Ce processus est régulièrement observé dans les cancers, contrastant avec une majorité de formes épisodiques dans les lésions précancéreuses [30, 35]. L'intégration de l'ADN viral au génome de la cellule hôte est certainement importante dans la dérégulation de l'expression observée dans les cancers. En interrompant l'ORF *E1* ou *E2* (propriété répressive sur les ORF *E6-E7*) des HPV à risque, l'intégration virale au génome contribue à augmenter l'expression des gènes *E6-E7* [36] de même que leur capacité d'immortalisation *in vitro* [37]. Au total, le blocage de l'activité répressive des gènes *E1* ou *E2* sur les gènes transformants *E6-E7* qui en découle contribue à fixer spécifiquement les protéines suppressives de tumeurs p53 ou pRb et constitue le deuxième événement à l'origine de l'évolution probable du processus de transformation. Les modifications du génome cellulaire, et en particulier l'activation d'oncogènes consécutive à l'intégration, ont été également rapportées. Ainsi, des séquences d'HPV16 ou 18 sont trouvées intégrées au chromoso-

me 8 dans la région 8q24, site du gène *c-MYC*, laissant supposer une activation de proto-oncogène à la suite de l'intégration. Toutefois, des observations indiquent que les cancers du col négatifs pour HPV sont de mauvais pronostics, surtout lorsqu'ils sont associés à une surexpression du gène *c-MYC*, ce qui laisse supposer que l'activation du gène ne serait pas toujours associée à une insertion des séquences virales au voisinage [38]. Récemment on a pu rapporter que l'intégration est corrélée à l'expression des gènes *E6-E7* et au blocage de la fonction *E2* [39], confortant l'idée que ce processus constitue un événement directement lié à la transformation.

Applications des données biologiques aux aspects coloscopiques et histologiques

L'activité des papillomavirus à risque élevé diffère de celle des papillomavirus à bas risque dans leurs effets sur les lésions observées en coloscopie et en cyto-histologie. Ces différences concernent l'état des virus dans les lésions, l'expression des gènes viraux et de leurs protéines précoces et tardives et enfin leur interaction avec les gènes suppresseurs de tumeurs *P53* et *RB*.

En coloscopie (figure 4), les dysplasies sévères (CIN de grade élevé) sont plus souvent associées aux HPV à risques élevés (HPV 16-18). L'épithélium anormal est reconnu par une acidophilie (réaction blanche après application d'acide acétique) au niveau de la zone de transformation dans laquelle peuvent être observés des orifices de glandes cernés [40]. L'importance de la réaction blanche est fonction du degré de l'hyperplasie cellulaire et des anomalies nucléaires. Lorsque la lésion s'aggrave, on peut noter l'apparition d'une vascularisation anormale, d'une surface plus ou moins irrégulière et de modifications majeures dans le canal cervical. Lorsque la lésion devient invasive, l'épithélium pavimenteux est friable, irrégulier, bourgeonnant par endroits, voire ulcéré et nécrotique, les vaisseaux sont franchement atypiques. Comparativement aux lésions associées aux HPV 6-11 comme les condylomes acuminés (lésions bénignes) développés sur la zone de transforma-

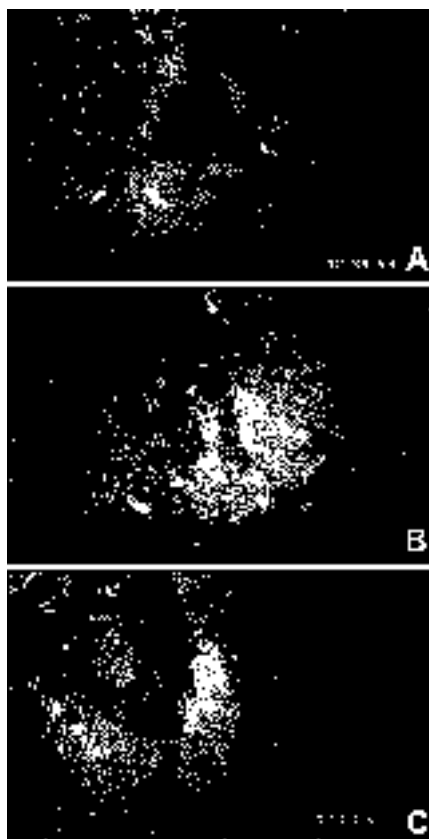


Figure 4. **Images de coloscopie.** **A. Zone de transformation atypique:** Noter la congestion et la réaction blanche d'intensité forte après application d'acide acétique. **B. Cancer invasif.** Noter l'aspect inhomogène de la réaction blanche, les secteurs bourgeonnants et nécrotiques. **C. Condylome acuminé (lésion bénigne):** La lésion est bourgeonnante mais régulière et homogène. La papillomatose est notable, la vascularisation en surface est régulière.

RÉFÉRENCES

35. Cullen AP, Reid R, Campion M, Lorincz AT. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNA's in intraepithelial and invasive cervical neoplasms. *J Virol* 1991; 65: 606-12.

36. Romanczuk H, Thierry F, Howley G. Mutational analysis of *cis* elements involved in E2 modulation of human papillomavirus type 16 P97 and type 18 P105. *J Virol* 1990; 64: 2849-59.

37. Romanczuk H, Howley G. Disruption of either the E1 or the E2 regulatory gene of human papillomavirus type 16 increases viral immortalization capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3159-63.

38. Couturier J, Sastre-Gareau X, Schneider-Maunoury S, Labib A, Orth G. Integration of papillomavirus DNA near myc genes in genital carcinomas and consequence on protooncogene expression. *J Virol* 1990; 65: 4534-8.

39. Saewha J, Allen-Hoffmann BL, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 into human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol* 1995; 69-5: 2989-97.

40. Monsonog J, Zerit L, Catalan F, Coscas Y. Genital human papillomavirus infections: correlation of cytological, colposcopic and histological features with viral types in women and their male partners. *Int J STD AIDS* 1993; 4: 13-20.

41. Ferenczy A, Winkler B.: Cervical intraepithelial neoplasia and condyloma In Kurman RK, ed. *Blainstein Pathology of the female genital tract*. New York: Springer Verlag, 1987: 177-217.

42. Cooper K, Herrington CS, Stickland JE, Evans MF, McGee JO'D. Episomal and integrated HPV in cervical neoplasia demonstrated by non isotopic *in situ* hybridisation. *J Clin Pathol* 1991; 44: 990-6.

43. Jenson AB, Lancaster WD. Association of human papillomavirus with benign, pre-malignant and malignant anogenital lesions. In: Pfister H ed. *Papillomaviruses and human cancer*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc, 1990: 12-21.

44. Graham AK, Herrington CS, McGee JO'D. Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies to human papillomavirus type 16 capsid protein: comparison with simultaneous viral detection by non isotopic *in situ* hybridisation. *J Clin Pathol* 1992; 44: 96-101.

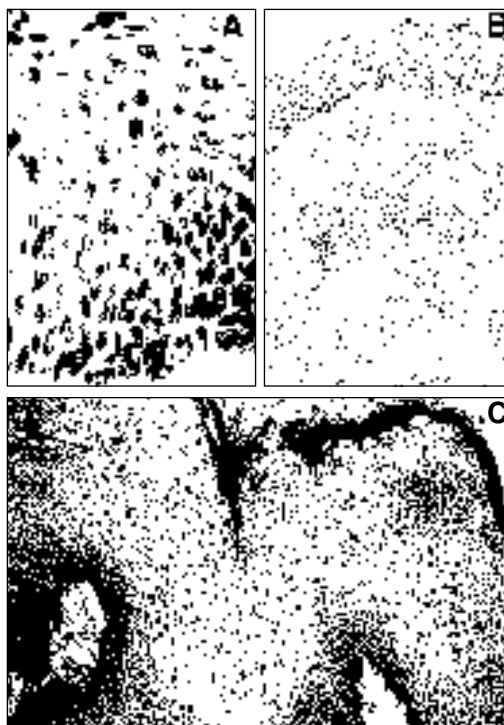


Figure 5. **Aspect histologique.**
A: dysplasie sévère (CIN III). Aspect d'une lésion tumorale strictement intraépithéliale. Noter la perte de la différenciation. Les atypies nucléaires étagées et l'absence de koilocytose* témoignent de l'absence de réplication virale.
B: cancer micro-invasif. Aspect identique à la CIN3 avec ici un boyau tumoral micro-invasif. Noter la réaction inflammatoire du stroma sous-jacent.
C: condylome acuminé. Noter la conservation de la différenciation, l'absence d'hyperplasie des couches basales, l'absence d'atypie nucléaire et la forte koilocytose en surface, témoignant d'une importante réplication virale en surface.

tion, on remarque que la tumeur est régulièrement acidophile avec parfois un aspect mammeloné ou papillaire. Le test au lugol reconnaît la lésion acuminée par sa recharge glyco-génique inhomogène.

En histologie (figure 5A-B-C), dans les CIN de grade élevé les HPV 16-18 induisent des anomalies de différenciation et de maturation de l'épithélium, des atypies nucléaires qui occupent les deux tiers ou la totalité de l'épithélium. Les CIN de grade élevé se caractérisent par la prolifération intra-épithéliale de cellules indifférenciées occupant les deux tiers ou la totalité de la hauteur épithéliale [41]. Les modifications koilocytaires* qui reflètent l'infection à HPV permissive sont inversement proportionnelles aux degrés des CIN et peuvent être présentes de façon limitée à la surface de l'épithélium ou adjacentes à une CIN de grade élevé. Au fur et à mesure que la CIN s'aggrave, les stigmates de la virose disparaissent au profit de la prolifération cellulaire. Quand la lésion devient invasive on peut observer des îlots irréguliers de cellules tumorales et une augmentation de

l'infiltration lymphoplasmocytaire du stroma sous-jacent. Dans les carcinomes *in situ*, les anomalies koilocytaires ne sont plus observées. Les HPV 6-11 associés aux condylomes acuminés induisent une infection franchement permissive avec d'importantes anomalies koilocytaires dans les cellules différenciées, une multinucléation, une acanthose, parakératose, dyskératose et papillomatose sans aucune mitose atypique.

L'hybridation *in situ* utilisant différentes sondes virales (figure 6A-B), testée sur des lésions de CIN de grade élevé et de cancers invasifs montre une réaction positive sous forme d'un marquage intense dans le noyau des cellules atypiques, uniquement pour les HPV à risque (16-18). Ainsi on retrouve un marquage au niveau des noyaux des cellules atypiques ou dans les koilocytes des CIN 2 et 3 [12]. Ce marquage est retrouvé également dans les cancers. Mais le nombre de copies d'ADN viral et le marquage sont moins importants dans les cancers invasifs, témoignant de l'intégration de l'ADN viral au génome des cellules cancéreuses. A l'opposé, dans les condylomes acuminés aucun marquage n'est observé avec les papillomavirus à risque et une intense réaction

* Les koilocytes sont des cellules de grande taille, multinucléées, présentant un halo clair périnucléaire, contenant du virus en réplication (voir figure 6B).

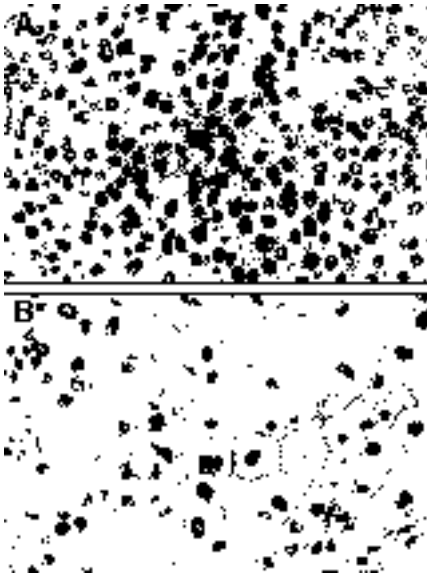


Figure 6. **Hybridation par immunohistochimie de l'ADN de l'HPV.** **A.** Marquage homogène de l'ADN HPV16 dans le noyau des cellules atypiques d'une CIN III. L'immunoréactivité s'observe par un marquage homogène sous forme d'une ponctuation plus ou moins dense dans quelques cellules atypiques seulement. **B.** Marquage intense et homogène de l'ADN HPV6 dans la majorité des koilocytes du condylome acuminé.

tion positive est notée avec les HPV 6-11 particulièrement dans les cellules koilocytaires, témoignant de l'intense réplication virale dans les cellules différenciées.

Le stade de maturation des virus est révélé par des méthodes d'hybridation *in situ*. Les séquences virales intégrées et non encapsidées ou épisomiques peuvent être reconnues par l'aspect du marquage. Des signaux nucléaires diffus indiquent la présence de séquences virales épisomiques, alors qu'un marquage nucléaire ponctiforme est corrélé à l'intégration virale [42]. Dans les CIN de grade élevé, les papillomavirus de type 16 ou 18 sont retrouvés dans les couches basales et intermédiaires, le plus souvent sous forme épisomique [43]. Les cellules basales ayant intégré le génome viral ne sont qu'en infime proportion. Les virus mûrs sous forme de virions avec réplication virale et koilocytose sont observés à la surface de l'épithélium, dans les couches cellulaires les plus différenciées (figure 7A-B-C), comme le suggère la présence des protéines de capsid et de l'ADN viral [44]. Les carcinomes *in situ* et les cancers du col ne présentent plus de virus à l'état mûr en surface, la majorité des cellules contenant des formes intégrées du génome viral à l'ADN des cellules transformées [45]. A l'inverse, dans les condylomes acuminés, l'état des virus

est représenté par des formes mûres avec capsides. Ces formes sont essentiellement retrouvées dans les cellules différenciées au niveau de la moitié et du tiers supérieur de l'épithélium.

L'expression des gènes viraux dans ces lésions a été rapportée [46, 47]. Les différences de distribution topographique des ARN viraux sont corrélées à la gravité des lésions (figure 8A-B-C). Dans les lésions squameuses de bas grade, seule est observée la transcription virale des zones de lecture précoce (ORF E), dans les cellules basales. L'intensité de ce marquage augmente nettement dans les cellules différenciées en même temps que s'intensifie la réplication de l'ADN viral en surface. L'expression de ces gènes viraux en même temps que la transcription virale des zones de lecture tardives (ORF L) dans les cellules différenciées, reflète la phase productive de l'infection virale. A l'opposé, dans les lésions de grade élevé, la transcription virale est plus importante dans les cellules basales et régulièrement distribuée dans les cellules indifférenciées. Cette différence de transcription virale dans les couches basales des CIN suggère une altération de la régulation de l'expression des gènes viraux lorsque les lésions progressent. La fonction des gènes *E2* peut être interrompue

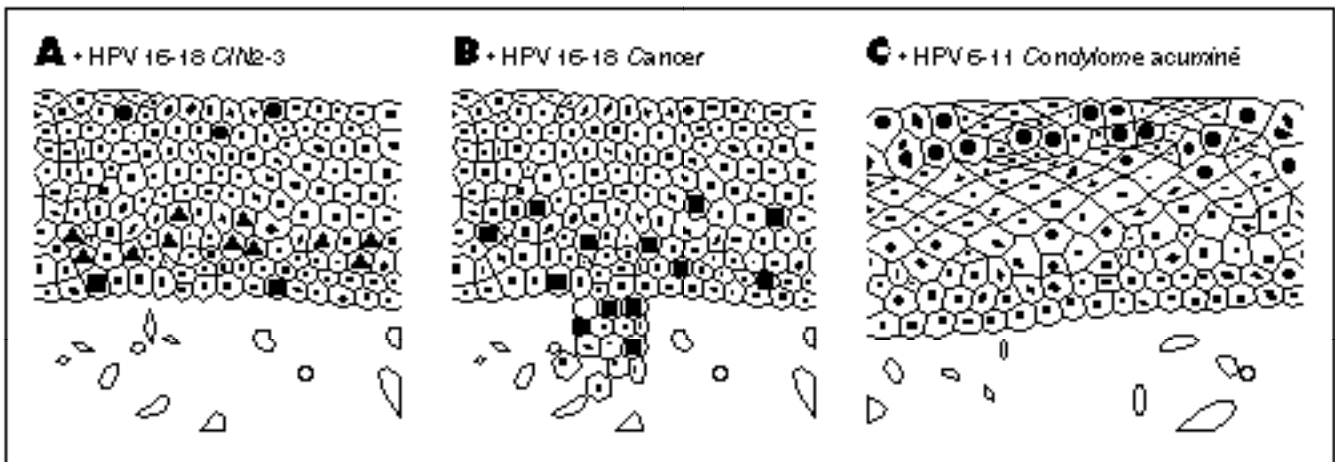


Figure 7. **États de l'ADN viral.** La production de virions est inversement proportionnelle au stade de la CIN. **A.** Dans les dysplasies sévères (CIN de grade élevé) l'ADN viral des HPV à risque est le plus souvent extrachromosomique (épisomique), détecté dans les cellules parabasales. La réplication virale en surface observée dans les cellules les plus différenciées est objectivée par la production plus ou moins intense de virions, comme en témoigne la koilocytose. Les formes intégrées dans les couches basales sont exceptionnellement observées à ce stade. **B.** Dans les cancers, les formes intégrées des HPV à risque sont observées. **C.** Dans les condylomes acuminés (lésions bénignes), les virus sont le plus souvent à l'état de virions en surface ou dans les cellules différenciées. ● : ADN en virions; ▲ : ADN épisomique; ■ : ADN intégré.

RÉFÉRENCES

45. Wada Y, Fujinaga K. The physical state of human papillomavirus 16 DNA in cervical carcinoma and cervical intra-epithelial neoplasia. *Cancer* 1990; 66: 2155-61.
46. Dagmar Dürst G, Schneider A, Zur Hausen H. Human papillomavirus type 16 (HPV16) gene expression and DNA replication in cervical neoplasia: analysis by *in situ* hybridization. *Virology* 1992; 189: 132-40.
47. Crum C, Symbula M, Ward B. Topography of early HPV16 transcription in high-grade genital precancers. *Am J Pathol* 1989; 134: 1183-8.
48. Iftner T, Oft M, Böhm S, Wolczynski SP, Pfister H. Transcription of the E6 and E7 genes of human papillomavirus type 6 in anogenital condylomata is restricted to undifferentiated cell layers of the epithelium. *J Virol* 1992; 66: 4639-46.
49. Holm R, Skomedan H, Åslaug H, Kristensen G, Børresen AL, Nesland J. Immunohistochemical analysis of p53 protein overexpression in normal, premalignant, and malignant tissues of the cervix uteri. *J Pathol* 1993; 169: 21-6.
50. Kainz C, Kohlberger P, Gitsch G, Sliutz G, Brettenecker G, Reinthaller A. Mutant p53 in patients with invasive cervical cancer stages 1B to 2B. *Gynecol Oncol* 1995; 57: 212-4.
51. Ter Harmsel B, van Belkum A, Quint W, Pronk A, Kuijpers J, Ramaekers F, Tandon A, Smedts F. p53 and human papilloma virus type 16 in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 1995; 14: 125-33.
52. Pilotti S, et al. HPV detection and p53 alteration in squamous cell verrucous malignancies of the lower genital tract. *Diag Mol Pathol* 1993; 2: 248-56.
53. Vecchione A, Cermele Ch, Giovagnoli MR, Valli C, Alimandi M, Carico E, Esposito DI, Mariani-Constantini R, French D. p53 expression and genetic evidence for viral infection in intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1994; 55: 343-8.
54. Srivastava S, Tong YA, Devadas K, Zou ZQ, Chen Y, Pirollo KF, Chang EH. The status of the p53 gene in human papilloma virus positive or negative cervical carcinoma cell lines. *Carcinogenesis* 1992; 13: 1273-5.
55. Bennett WP, Colby TV, Travis WD, et al. p53 protein accumulates frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res* 1993; 53: 4817-22.

dans certaines lésions de grade élevé et dans les cancers invasifs. A l'opposé, dans les condylomes acuminés, toutes les protéines virales, précoces et tardives, sont exprimées [48].

L'interaction des produits des gènes suppresseurs de tumeurs avec les protéines virales laisse supposer qu'elle peut varier selon les lésions. En extrapolant les données précédemment exposées d'hybridation *in situ* et de biologie moléculaire, on peut en effet penser que dans les CIN de grade élevé, les liaisons E6-p53 et E7-pRb indiquées par l'hybridation *in situ* ne seraient que rarement à prendre en considération dans les cellules atypiques [47]. Dans les cancers, cette liaison pourrait l'être plus fréquemment dans les cellules tumorales et métastatiques [49-51]. Toutefois, en toute rigueur, on ne peut suggérer cette association dans les cellules où on ne détecte pas leur présence simultanée. La p53 s'accumule anormalement dans les cellules atypiques au fur et à mesure que la lésion s'aggrave [50-54]. A la différence de la cellule normale, dans laquelle la protéine p53 est présente à faible concentration et a une courte durée de vie, dans les cellules cancéreuses, la protéine p53 mutante a une durée de vie plus longue; elle s'accumule ainsi dans le noyau des cellules atypiques et peut être aisément détectée en immunohistochimie [55]. En revanche, dans les condylomes acuminés, p53 et pRb ne sont pas détectées puisqu'elles exercent leurs fonctions répressives dans les cellules différenciées. La liaison entre la protéine E7 - HPV 6,11 et pRb est possible mais d'affinité extrêmement faible, n'entraînant pas de conséquence sur la régulation du cycle cellulaire [9].

Conclusion : schéma de carcinogenèse

L'environnement biologique des cellules infectées par les HPV à risque est déterminant dans l'expression ou non des gènes viraux transformants. Dans cet environnement biologique très particulier, il faudra encore des recherches moléculaires sur toute une série de cofacteurs exogènes ou endogènes (dont les facteurs hormonaux et immunitaires) pour com-

prendre les mécanismes d'interaction entre la cellule hôte, son génome et les gènes transformants des papillomavirus à risque.

Les figures 9A et 9B rapportent un schéma de carcinogenèse du col intégrant le processus biologique.

L'acquisition sexuelle des papillomavirus est l'élément déterminant observé le plus souvent lors des premiers rapports. En effet la prévalence et l'incidence des HPV sont particulièrement élevés chez la jeune femme sexuellement active et sont proportionnels au nombre de partenaires sexuels. La prévalence atteint un pic entre 15 et 25 ans et diminue sensiblement ensuite. Cette évolution reflète très probablement le processus suivant: Acquisition sexuelle des HPV lors des premiers rapports sexuels → Latence virale mettant en jeu des processus immunologiques spécifiques → Réactivation virale probablement en rapport avec la rencontre de nouveaux partenaires.

Cette notion d'intermittence de l'infection à HPV, ou de chronicité avec des phénomènes de résurgence, est une des caractéristiques de cette infection. Quatre facteurs de risque importants conditionnent par la suite l'apparition d'une dysplasie: les types viraux (HPV 16-18), le nombre de copies virales, la réponse immunologique de l'hôte face aux protéines virales impliquées dans l'expression des lésions et enfin les facteurs d'environnement que sont les hormones et le tabac essentiellement.

A ce stade, les gènes E6-E7 sont réprimés par le contrôle intra et intercellulaire. Certains sujets développent des lésions purement virales appelées condylomes plans ou lésions cervicales de bas grade (dysplasie légère). Dans ce type de lésions, les papillomavirus de type 16 arrivent à maturation et sont toujours extra-chromosomiques; ce sont surtout les gènes viraux impliqués dans la synthèse de la capside qui sont exprimés (ORF L1-L2) dans les couches différenciées de l'épithélium malpighien. A ce stade, les protéines E6-E7 sont produites en petites quantités, permettant leur reconnaissance antigénique et leur contrôle. Lorsque la lésion devient une lésion de grade élevé (dysplasie sévère ou carcinome *in situ*), on assiste progressivement à l'expression des gènes viraux E6-E7,

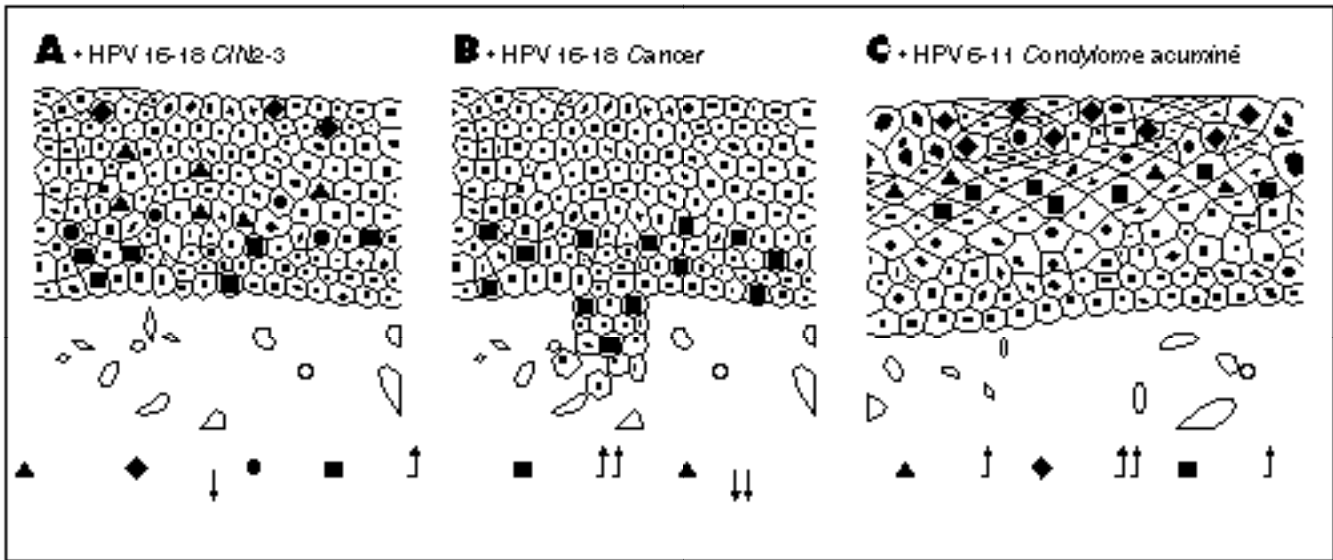


Figure 8. **Expression des gènes viraux (ARN-ARN hybridation in situ).** **A.** Dans les lésions de grade élevé, la transcription virale est plus importante dans les cellules basales et parabasales et régulièrement distribuée dans les cellules indifférenciées. Les protéines L1-L2 des HPV à risque sont détectées en faible quantité en surface alors que les protéines E6-E7 le sont dans les cellules basales et parabasales. **B.** Dans les cancers invasifs, les protéines tardives (L1-L2) ne sont plus détectées, alors qu'on note un marquage intense des ARN E6-E7 dans les cellules atypiques et parfois l'absence de marquage des ARN E2. **C.** Les condylomes acuminés expriment toutes les protéines virales des HPV 6-11 dans les différentes couches de l'épithélium.

Tableau I			
ASPECTS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DES NÉOPLASIES CERVICALES			
	CIN 2-3	Cancer du col	Condylomes acuminés
ADN HPV	16 - (18) les plus fréquents	16-18 les plus fréquents	6-11
Colposcopie	Anomalies de la zone de transformation	Vaisseaux atypiques, ulcérations, bourgeonnements	Prolifération régulière sans nécrose
Histologie	Hyperplasie intraépithéliale mitoses atypiques koïlocytose en surface	Infiltration du stroma par le processus néoplasique koïlocytose en surface	Koïlocytose-multinucléation parakératose papillomatose Absence de mitose atypique
ADN ploïdie	Aneuploïdie (50-80%)	Aneuploïdie (~ 95%)	Diploïdie (~ 80%)
État de l'ADN viral	Épisomal (++) dans les cellules basales et intermédiaires, virions en surface	Intégré au génome des cellules tumorales	Virions dans les cellules différenciées
Expression des gènes viraux	E6-E7 (+) dans les cellules basales indifférenciées E1-E2 E4-E5 (+) L1-L2 (+) dans les cellules différenciées	E6-E7 (+++) dans les cellules tumorales E2 (-) L1-L2 (-)	L1-L2 (+++) dans les cellules différenciées E6-E7-E2-E1 dans les cellules différenciées
Liaison avec les protéines des gènes suppresseurs (p53-pRb)	Rare E7 dans les cellules indifférenciées (hybridation <i>in situ</i>)	Spécifique dans les cellules cancéreuses de E6 avec p53 et de E7 avec pRb	Absence ou non spécifique
Contrôle de l'expression des protéines E6-E7	Macrophages Immunité à médiation cellulaire	Défaut de présentation des antigènes viraux au système MHC	Immunité à médiation cellulaire

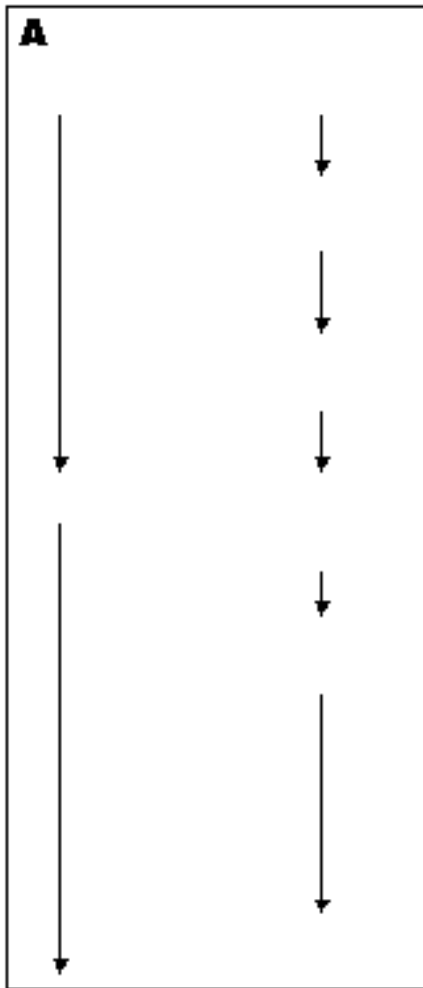
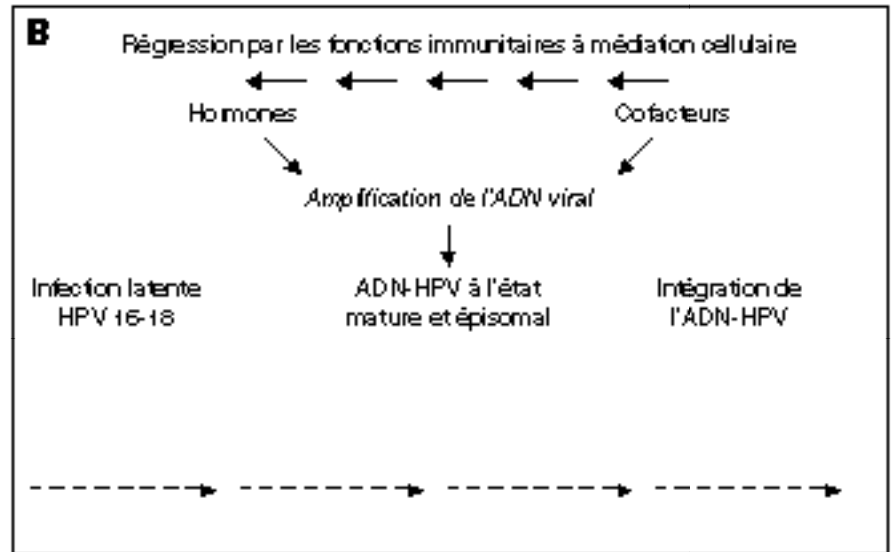


Figure 9. A. Histoire naturelle de l'infection à HPV.

mais les virus, toujours extrachromosomiques, n'arrivent pas à maturation; ils se trouvent le plus souvent à l'état épisomique (immature). A ce stade, le contrôle intercellulaire (macrophages, immunité à médiation cellulaire) de la transcription des gènes *E6-E7* est perturbé. Il s'agit là de lésions à risque dont les caractéristiques rappellent la croissance des cellules immortalisées *in vitro*. Cette immortalisation doit être assimilée, en réalité, aux lésions avec instabilité génique. Celle-ci est d'ailleurs objectivée par l'aneuploïdie, qui est classiquement observée dans 90 % de ces lésions à risque [8]. La production insuffisante des molécules spécifiques du CMH ou le défaut de présentation des peptides *E6-E7* entraînent un niveau de synthèse élevé des protéines *E6-E7*. Au fur et à mesure que les gènes *E6-E7*



B. Stade et transcription des HPV 16 et 18 dans les dysplasies et les cancers du col utérin.

sont exprimés en quantité importante, ils fixent à la longue les protéines pRb et p53 et bloquent ainsi la fonction suppressive de la transformation; c'est alors qu'on constate l'intégration de l'ADN viral des papillomavirus dits à risque au génome des cellules hôtes et ce phénomène est toujours associé à la cancérisation. Lorsque la lésion invasive devient agressive et se généralise, on a pu penser qu'une mutation des gènes *P53* et *RB* s'était produite, le plus souvent en l'absence d'HPV [17], mais cela n'est plus confirmé aujourd'hui. Les mutations sont observées dans les cancers tant négatifs que positifs pour HPV. Au stade des lésions précancéreuses, certains cofacteurs contribuent à l'amplification de l'ADN des HPV (hormones, etc.). Les facteurs immunologiques et le système HLA peuvent expliquer les régressions ou la stabilité de certaines lésions. Le *Tableau I* récapitule les données cliniques et biologiques des lésions cervicales à HPV.

Pour conclure, retenons que le processus de transformation des cancers du col utérin positifs pour HPV requiert l'expression de gènes viraux spécifiques et que celle-ci n'est habituellement observée qu'après une longue période, suggérant des interactions biologiques complexes et individuelles entre l'ADN viral et le génome cellulaire ■

Summary

Cellular and molecular pathogenesis of cervical carcinoma

There is now substantial evidence that specific human papillomavirus (HPV) types are probably an etiological factor of cervical cancer and its precursors. Virus infection, viral genes expression emerge as necessary but not sufficient for cell transformation. The *E6-E7* oncoproteins of «high risk» (HPV 16-18) papillomaviruses bind specifically, and with high affinity, to cellular tumor suppressor gene products p53 and pRb, in contrast to «low risk» (HPV 6-11) types. This binding disturbs the cell cycle and results in chromosomal instability, aneuploidy and is likely the starting point of the integration of viral DNA to the host genome. These endogenous modifications are related to the morphological and colposcopic events of cervical intraepithelial neoplasia and seem to be most important in the pathogenesis of cervical cancer precursors lesions and tumor progression.

TIRÉS À PART

J. Monsonogo.