

LES NOUVEAUX RÉTROVIRUS HUMAINS HTLV-3 ET HTLV-4

R. MAHIEUX, A. GESSAIN

• Travail de l'Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes (R.M., PhD, CR, INSERM; A.G., MD, PhD, Chef d'Unité) Institut Pasteur, Paris, France.

• Correspondance : R. MAHIEUX, Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, France • Courriel : rmahieux@pasteur.fr •

Med Trop 2005 ; **65** : 525-528

RÉSUMÉ • Le groupe des rétrovirus lymphotropes de primate (PTLV) comprend des virus humains (HTLV-1 et HTLV-2) et des virus simiens apparentés (STLV-1, STLV-2 et STLV-3). HTLV-1 infecte 15 à 20 millions de personnes, tandis que STLV-1 est endémique dans de nombreuses espèces de singes de l'ancien monde. Du fait d'homologies de séquences très élevées entre les virus HTLV-1 et les virus STLV-1, il est clairement établi que la plupart des sous-types humains ont une origine simienne. En revanche, il n'existe pas de virus STLV-2 phylogénétiquement proche des virus HTLV-2 humains, ce qui permet de penser que la transmission des virus STLV-2 à l'homme a eu lieu il y a beaucoup plus longtemps que dans le cadre des transmissions interspécies de STLV-1. Les virus STLV-3 sont très divergents à la fois des PTLV-1 et des PTLV-2. Ils sont endémiques chez un nombre non négligeable d'espèces de primates non humains vivants en Afrique de l'Ouest, Centrale et de l'Est. En 2005, deux équipes ont découvert l'existence du virus HTLV-3 chez des habitants du sud Cameroun qui présentaient des sérologies HTLV indéterminées. Avec les STLV-3, ces virus forment le groupe des PTLV-3. Par ailleurs, un virus HTLV-4 a aussi été découvert dans la même région. Les travaux en cours visent, d'une part à caractériser ces virus au niveau moléculaire avec, en particulier l'étude de leurs protéines transactivatrices virales Tax, et d'autre part à définir leur mode de transmission dans l'espèce humaine et leur éventuelle association avec une maladie.

MOTS-CLÉS • HTLV-3 - HTLV-4 - Rétrovirus humains - Transmission inter-espèces - Afrique Centrale - STLV.

NEW HUMAN RETROVIRUSES: HTLV-3 AND HTLV-4

ABSTRACT • Human T cell leukemia/lymphoma virus Type 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2), together with their simian counterparts (STLV-1, STLV-2 and STLV-3), belong to the Primate T lymphotropic viruses group (PTLV). HTLV-1 infects 15 to 20 million people worldwide, while STLV-1 is endemic in a number of simian species living in the Old World. Due to the high percentage of homologies between HTLV-1 and STLV-1 strains, it has now been widely accepted that most HTLV-1 subtypes arose from interspecies transmission between monkeys and humans. On the opposite, there is no close human homolog of the two STLV-2 strains that have been discovered in African bonobos chimpanzees. These results suggest that the interspecies transmission that led to the present day HTLV-2 must have occurred in a distant past. STLV-3 viruses are very divergent, both from HTLV-1 and from HTLV-2. They are endemic in several monkey species that live in west, central and east Africa. Recently, two laboratories independently reported the discovery of the human homolog (HTLV-3) of STLV-3 in two inhabitants from south Cameroon whose sera exhibited HTLV indeterminate serologies. Together with STLV-3, these two viruses belong therefore to the PTLV-3 group. In addition, a fourth HTLV type (HTLV-4) was also discovered in the same geographical area. Current studies are aimed at determining the molecular characterization of these viruses. In particular, the possible oncogenic properties of their viral transactivator Tax is being investigated, as well as their modes of transmission and their possible association with human diseases.

KEY WORDS • HTLV-3 - HTLV-4 - Human retroviruses - Interspecies transmission - Central Africa - STLV.

HTLV-1 (Human T cell Leukemia/Lymphoma Virus Type 1) fut le premier onco-rétrovirus exogène découvert chez l'homme, en 1980. Il infecte 15 à 20 millions de personnes dans le monde, avec des foyers de forte endémie comme le Japon, l'Afrique Intertropicale, la région Caraïbe, certains pays d'Amérique du Sud, du Moyen-Orient et de Mélanésie (pour revue (1)). Parmi les individus infectés, 3 à 10 % développeront une des maladies associées à l'infection. Il s'agit principalement de la leucémie/lymphome T de l'adulte (ATLL) et de la paraparésie spastique tropicale ou myélopathie associée à

HTLV-1 (TSP/HAM) (3,4). Le STLV-1, équivalent simien du HTLV-1, fut isolé en 1982 chez des macaques japonais (*Macaca fuscata*). Ce rétrovirus est endémique dans de nombreuses espèces de singes de l'ancien monde. Rapidement, les fortes similitudes de séquences entre ces virus STLV-1 et les HTLV-1 déjà connus permirent de suggérer que les virus présents chez l'homme avaient une origine simienne. Cette hypothèse fut ensuite confortée par la quasi-identité entre des séquences de STLV-1 de chimpanzés et des souches HTLV-1 présentes chez des habitants de la République Démocratique

du Congo et du Cameroun. Plus récemment, notre équipe a aussi établi que des virus STLV-1 de mandrills étaient eux aussi pratiquement identiques aux souches humaines de l'HTLV-1 du sous-type D présentes chez des villageois habitants dans les mêmes zones géographiques que les mandrills (sud Cameroun et Gabon).

On peut penser que la transmission des STLV-1 à l'homme se fait par le passage de lymphocytes infectés. Le contact infectant est probablement un événement rare dans la nature, qui peut cependant avoir lieu dans différentes conditions : morsures profondes par un animal, coupures acci-

Avancée

dentelles lors du dépeçage d'un animal chassé. Avec les STLV, les virus HTLV forment donc le groupe des PTLV (Primate T Lymphotropic Virus) et la distribution actuelle des PTLV-1 semble être la résultante d'au moins quatre événements :

- transmission dans la nature de STLV-1 entre différentes espèces de singes ;
- transmission de STLV-1 aux hommes ;
- persistance d'HTLV-1 dans des populations humaines isolées, sans possibilité de réinfection à partir d'autres STLV-1 ;
- distribution globale et plus récente d'HTLV-1 liée à des migrations à grande échelle de populations infectées par ce virus comme la traite des esclaves d'Afrique vers les Amériques (pour revue (4)).

HTLV-2, second membre de la famille des HTLV, fut isolé en 1982 et infecterait

de 1 à 3 millions d'individus selon les estimations. Il est surtout endémique dans les populations amérindiennes d'Amérique du Nord, Centrale et du Sud et "endémo-épidémique" chez les toxicomanes se droguant par voie intraveineuse. Des cas de maladies neurologiques similaires à la TSP/HAM ont été décrits chez plusieurs personnes infectées par ce virus. Contrairement aux STLV-1 qui sont fréquents dans de nombreuses espèces de primates non humains (PNHs) de l'ancien monde, seules deux souches de STLV-2 ont été isolées, toutes deux chez des chimpanzés bonobos (*Pan paniscus*) vivants en captivité. Même si l'origine des HTLV-2 est certainement simienne, la transmission de virus STLV-2 à l'homme semble avoir eu lieu il y a beaucoup plus longtemps que dans le cadre des transmissions interspécies de STLV-1.

La première souche de STLV-3

(STLV-3PH969) a été isolée en 1994 chez un babouin d'Erythrée (*Papio h. hamadryas*) (5). Les comparaisons de séquence entre STLV-3PH969 et les isolats prototypes des PTLV-1 et PTLV-2 démontrent que ce virus était très divergent des deux autres groupes de PTLVs. La séquence complète de STLV-3PH969 ne présente en effet que 63 % et 60 % d'identité nucléotidique respectivement avec HTLV-1 et HTLV-2. Ce virus restera le prototype unique des PTLV-3 jusqu'à la fin de l'année 2001. Récemment, plusieurs STLV-3 ont cependant été caractérisés chez d'autres babouins vivant en Afrique de l'Est. Mais les STLV-3 ne sont pas restreints à cette seule région géographique (Afrique de l'Est), ni à une espèce (babouins). En effet, d'autres études ont montré la présence de STLV-3 dans différentes espèces de singes d'Afrique Centrale (*Cercocebus tor. Torquatus*, *Cercopithecus nictitans*),

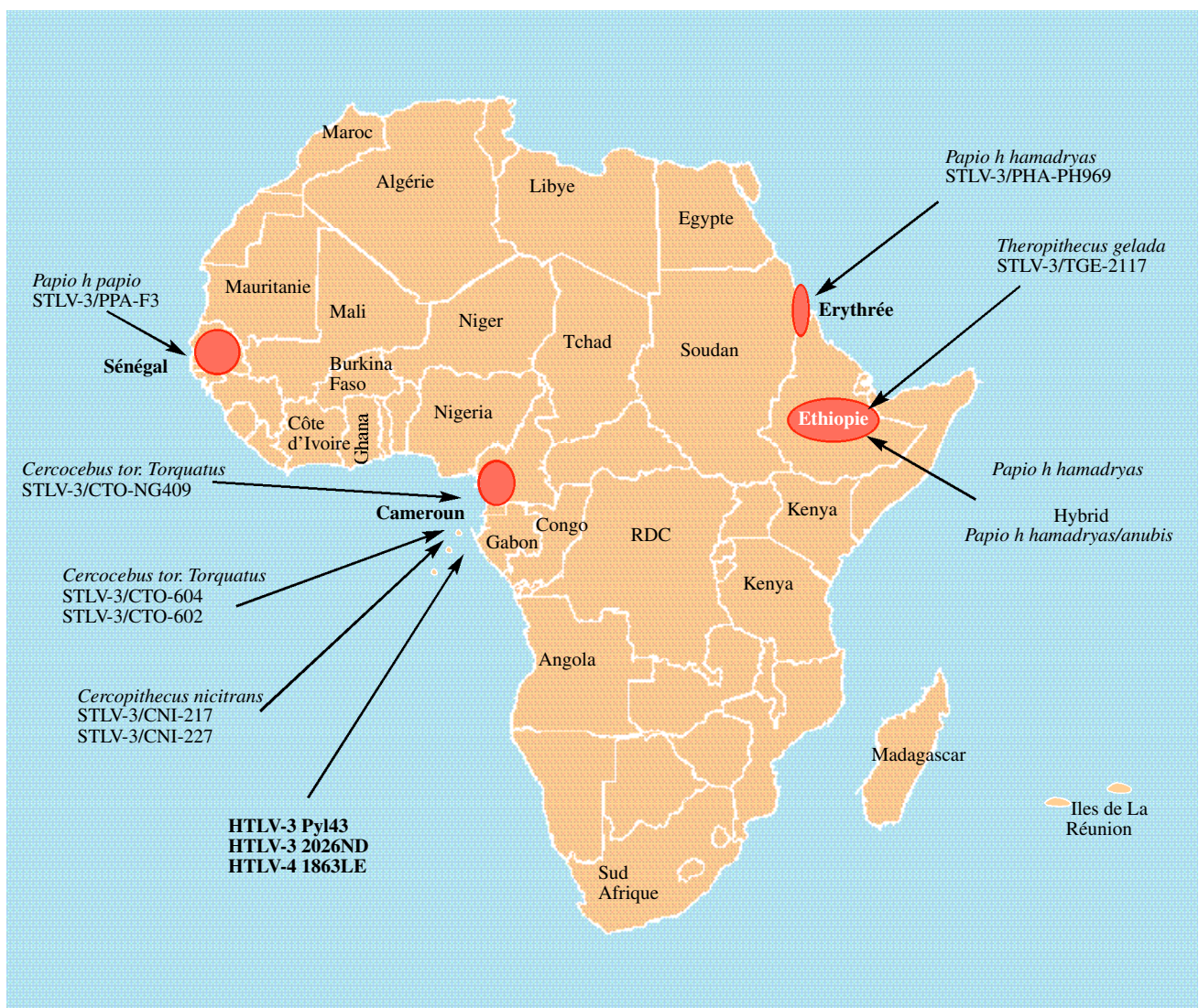


Figure 1 - Distribution géographique des virus STLV-3, HTLV-3 et HTLV-4 sur le continent Africain.

Avancée en Avancée

d'Afrique de l'Ouest (*Papio h. papio*) et d'Afrique de l'Est (*Theropithecus gelada*, hybrides *Papio h. hamadryas/anubis*). Ces virus sont donc largement disséminés et endémiques dans de nombreuses espèces de primates non humains d'Afrique (5-12) (Fig. 1). Ces observations suggèrent donc qu'il pouvait aussi exister, comme pour les STLV-1, un virus humain homologue de STLV-3, notamment dans les populations qui vivent actuellement, ou dont les ancêtres ont vécu dans les mêmes écosystèmes.

En utilisant des techniques de PCR très sensibles permettant d'amplifier des séquences de tous les PTLV connus, plusieurs équipes ont cherché à détecter la présence de virus apparentés aux PTLV dans des populations présentant des sérologies HTLV-1/2 indéterminées particulièrement fréquentes en zone tropicale (13-20). Deux types d'approches ont été entreprises. Dans la première, une recherche a été réalisée chez des donneurs de sang, principalement aux USA, et chez des patients souffrant de leucémies diverses (13-15,18). La grande majorité de ces personnes n'étaient probablement pas d'origine africaine. Dans la seconde, les personnes testées étaient asymptomatiques mais vivaient en Afrique centrale, zone d'endémie pour les virus HTLV-1 et HTLV-2 (16, 17, 19, 20). Malgré ces efforts importants, seuls de rares cas d'infection par des virus prototypes HTLV-1 ou HTLV-2 furent découverts, tandis que la plupart de ces échantillons HTLV séro-indéterminés en western blot étaient négatifs en PCR.

En utilisant une approche similaire, notre Unité a pourtant récemment découvert un nouveau type d'HTLV, l'HTLV-3, chez un Pygmée vivant dans un campement du sud Cameroun (21). Les 240 personnes testées dans cette étude étaient originaires de cette région forestière où les contacts avec des PNHs sont fréquents, lors de la chasse et/ou du dépeçage des animaux. Le sérum de cet homme infecté par l'HTLV-3 était positif en ELISA HTLV-1/2, et présentait une sérologie HTLV indéterminée en western-blot HTLV-2/4 (21). Au même moment, une équipe du CDC rapportait la découverte d'un second isolat, toujours au sud Cameroun, là encore dans une population étant fréquemment en contact avec des PNHs (22). De façon inattendue, les sérums de ces deux individus présentent des réactivités contre la protéine p19 d'HTLV-1 et contre le peptide d'enveloppe MTA-1 spécifique d'HTLV-1 en western-blot HTLV-1/2 (21-22), alors que les sera des singes infectés par des virus STLV-3,

très proches pourtant au niveau de leur séquence des deux souches HTLV-3, présentent pour la plupart des réactivités apparentées à HTLV-2 (p24 et peptide K55 d'enveloppe).

Les analyses phylogénétiques réalisées à partir des séquences partielles de ces deux virus (gènes *env* et *pol*) montrent qu'ils appartiennent tous deux aux groupes des PTLV-3, et sont donc nommés HTLV-3 puisqu'ils ont été isolés chez l'homme. Ces deux souches HTLV-3 ne sont pas identiques. Le virus HTLV-3 Pyl43 est très proche d'un virus isolé chez un *Cercocebus torquatus* du Cameroun (21), tandis que la souche HTLV-3 2026ND est légèrement divergente des souches STLV-3 déjà connues (22). Ces résultats, ainsi que la vaste distribution des virus STLV-3 dans le continent africain, permettent de suggérer que d'autres virus HTLV-3 puissent être représentés chez un nombre plus important d'individus.

La séquence complète des deux souches HTLV-3 est en cours d'obtention. Ceci permettra dans un futur proche d'étudier les propriétés moléculaires de ces rétrovirus humains. Nos premiers résultats indiquent que, comme pour les virus STLV-3, la structure du promoteur viral (LTR) des virus HTLV-3 est différente de celle des virus HTLV-1 et HTLV-2 (23). D'autre part, l'analyse de la séquence de la protéine Tax de l'isolat HTLV-3 Pyl43 suggère que celle-ci pourrait avoir des propriétés transformantes similaires à celle de Tax d'HTLV-1 (Calattini en préparation).

Dans son article, l'équipe américaine décrivait aussi la découverte de l'HTLV-4, quatrième virus humain de la famille des HTLV, chez un chasseur vivant dans la même zone géographique (22) (Fig. 1). Cet individu présentait une sérologie

HTLV indéterminée différente de celle des personnes infectées par l'HTLV-3, avec une forte réactivité contre la protéine p19_{gag} et une faible réactivité contre le peptide K55 spécifique de la glycoprotéine gp46 d'enveloppe d'HTLV-2. Au niveau du nucléotidique, HTLV-4 présente de 18 à 34 % de divergence avec les autres PTLVs selon la région du provirus étudiée. Il n'a pour l'instant été retrouvé que chez un individu et n'a pas d'équivalent simien. La séquence complète de cet isolat est en cours.

Du fait de leur récente découverte, la distribution géographique et le caractère pathogène des virus HTLV-3 et HTLV-4 chez les personnes infectées ne sont pas connus, mais sont actuellement l'objet d'études. Comme cela a été réalisé pour les virus HTLV-1 et HTLV-2, il est aussi fondamental de démontrer par des études familiales si ces virus peuvent se transmettre horizontalement et/ou verticalement. Il semble aussi utile de rappeler encore une fois que ces rétrovirus ont été découverts par des méthodes très sensibles (PCR nichée) chez des personnes ayant des réactivités sérologiques HTLV indéterminées. La présence d'anticorps anti-HTLV-3/4 a été détectée avec des tests sérologiques (ELISA et western-blot) qui contiennent soit des antigènes d'HTLV-1, soit des peptides d'HTLV-1 et d'HTLV-2 et sont destinées à mettre en évidence des anticorps dirigés contre les virus HTLV-1 et/ou HTLV-2 prototypes. La sensibilité des ces trousses pour détecter des anticorps dirigés contre les virus HTLV-3/HTLV-4 n'est pas connue, mais n'est certainement pas optimale. Il faudra donc mettre au point le plus rapidement possible des méthodes de dépistage sérologiques sensibles et spécifiques de ces nouveaux rétrovirus humains ■

RÉFÉRENCES

- 1 - PROIETTI FA, CARNEIRO-PROIETTI AB, CATALAN-SOARES BC, MURPHY EL - Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 2005; **24** : 6058-6068.
- 2 - POIESZ BJ, RUSCETTI FW, GAZDAR AF *et Coll* - Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; **77** : 7415-7419.
- 3 - GESSAIN A, BARIN F, VERNANT JC *et Coll* - Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 1985; **2** : 407-410.
- 4 - SLATTERY JP, FRANCHINI G, GESSAIN A - Genomic evolution, patterns of global dissemination, and interspecies transmission of human and simian T-cell leukemia/lymphotropic viruses. *Genome Res* 1999; **9** : 525-540.
- 5 - GOUBAU P, VAN BRUSSEL M, VANDAMME AM *et Coll* - A primate T-lymphotropic virus, PTLV-L, different from human T-lymphotropic viruses types I and II, in a wild-caught baboon (*Papio hamadryas*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; **91** : 2848-2852.
- 6 - MEERTENS L, GESSAIN A - Divergent simian T-cell lymphotropic virus type 3 (STLV-3) in wild-caught *Papio hamadryas papio* from Senegal: widespread distribution of STLV-3 in Africa. *J Virol* 2003; **77** : 782-789.

Avancée en Avancée

- 7 - MEERTENS L, MAHIEUX R, MAUCLERE P *et Coll* - Complete sequence of a novel highly divergent simian T-cell lymphotropic virus from wild-caught red-capped mangabeys (*Cercocebus torquatus*) from Cameroon: a new primate T-lymphotropic virus type 3 subtype. *J Virol* 2002; **76** : 259-268.
- 8 - MEERTENS L, SHANMUGAM V, GESSAIN A *et Coll* - A novel, divergent simian T-cell lymphotropic virus type 3 in a wild-caught red-capped mangabey (*Cercocebus torquatus torquatus*) from Nigeria. *J Gen Virol* 2003; **84**: 2723-2727.
- 9 - VAN BRUSSEL M, GOUBAU P, ROUSSEAU R *et Coll* - The genomic structure of a new simian T-lymphotropic virus, STLV-PH969, differs from that of human T-lymphotropic virus types I and II. *J Gen Virol* 1996; **77** : 347-358.
- 10 - VAN BRUSSEL M, GOUBAU P, ROUSSEAU R *et Coll* - Complete nucleotide sequence of the new simian T-lymphotropic virus, STLV-PH969 from a Hamadryas baboon, and unusual features of its long terminal repeat. *J Virol* 1997; **71** : 5464-5472.
- 11 - VAN DOOREN S, SALEMI M, POURRUT X *et Coll* - Evidence for a second simian T-cell lymphotropic virus type 3 in *Cercopithecus nictitans* from Cameroon. *J Virol* 2001; **75** : 11939-11941.
- 12 - VAN DOOREN S, SHANMUGAM V, BHULLAR V *et Coll* - Identification in gelada baboons (*Theropithecus gelada*) of a distinct simian T-cell lymphotropic virus type 3 with a broad range of Western blot reactivity. *J Gen Virol* 2004; **85** : 507-519.
- 13 - BUSCH MP, SWITZER WM, MURPHY EL *et Coll* - Absence of evidence of infection with divergent primate T-lymphotropic viruses in United States blood donors who have seroindeterminate HTLV test results. *Transfusion* 2000; **40** : 443-449.
- 14 - FOUCHARD N, FLAGEUL B, BAGOT M *et Coll* - Lack of evidence of HTLV-I/II infection in T CD8 malignant or reactive lymphoproliferative disorders in France: a serological and/or molecular study of 169 cases. *Leukemia* 1995; **9** : 2087-2092.
- 15 - LOUGHRAN TP, SHERMAN MP, RUSCETTI FW *et Coll* - Prototypical HTLV-I/II infection is rare in LGL leukemia. *Leuk Res* 1994; **18** : 423-429.
- 16 - MAHIEUX R, HORAL P, MAUCLERE P *et Coll* - Human T-cell lymphotropic virus type 1 gag indeterminate western blot patterns in Central Africa: relationship to *Plasmodium falciparum* infection. *J Clin Microbiol* 2000; **38** : 4049-4057.
- 17 - MAUCLERE P, LE HESRAN JY, MAHIEUX R *et Coll* - Demographic, ethnic, and geographic differences between human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I-seropositive carriers and persons with HTLV-I Gag-indeterminate Western blots in Central Africa. *J Infect Dis* 1997; **176** : 505-509.
- 18 - PERZOVA RN, LOUGHRAN TP, DUBE S *et Coll* - Lack of BLV and PTLV DNA sequences in the majority of patients with large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol* 2000; **109** : 64-70.
- 19 - VANDAMME AM, VAN LAETHEM K, LIU HF *et Coll* - Use of a generic polymerase chain reaction assay detecting human T-lymphotropic virus (HTLV) types I, II and divergent simian strains in the evaluation of individuals with indeterminate HTLV serology. *J Med Virol* 1997; **52** : 1-7.
- 20 - GARIN B, GOSSELIN S, DE THE G, GESSAIN A - HTLV-I/II infection in a high viral endemic area of Zaire, Central Africa: comparative evaluation of serology, PCR, and significance of indeterminate western blot pattern. *J Med Virol* 1994; **44** : 104-109.
- 21 - CALATTINI S, CHEVALIER SA, DUPREZ R *et Coll* - Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. *Retrovirology* 2005; **2** : 30.
- 22 - WOLFE ND, HENEINE W, CARR JK *et Coll* - Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102** : 7994-7999.
- 23 - CHEVALIER S, MEERTENS L, PISE-MASISON C *et Coll* - The Tax protein from the recently discovered Primate T-cell Lymphotropic Virus Type 3 is expressed in vivo and is functionally related to HTLV-1 Tax rather than HTLV-2 Tax. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005; **21** : 513.