

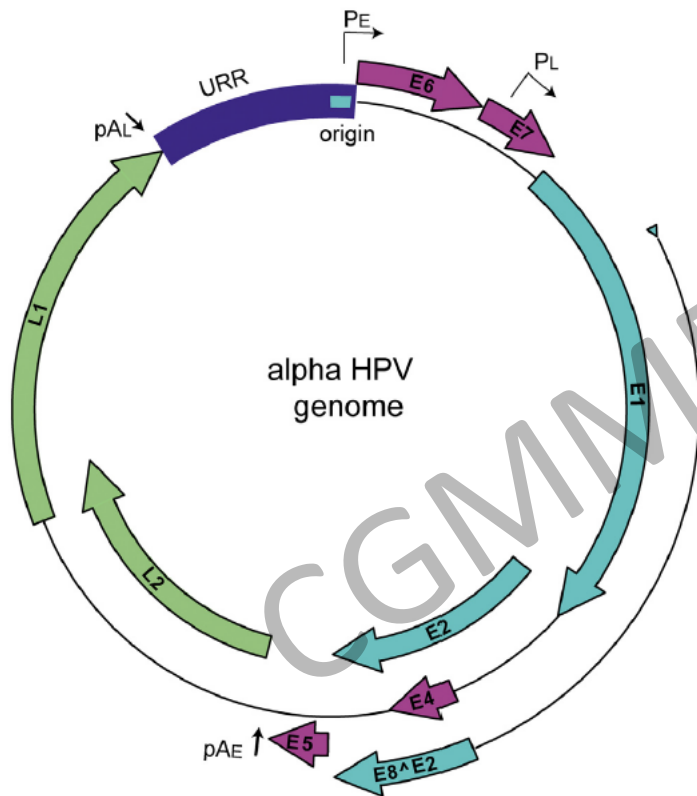
# **HPV et Immunité**

**Jean-Louis MEGE**

**IHU « Méditerranée Infection »**

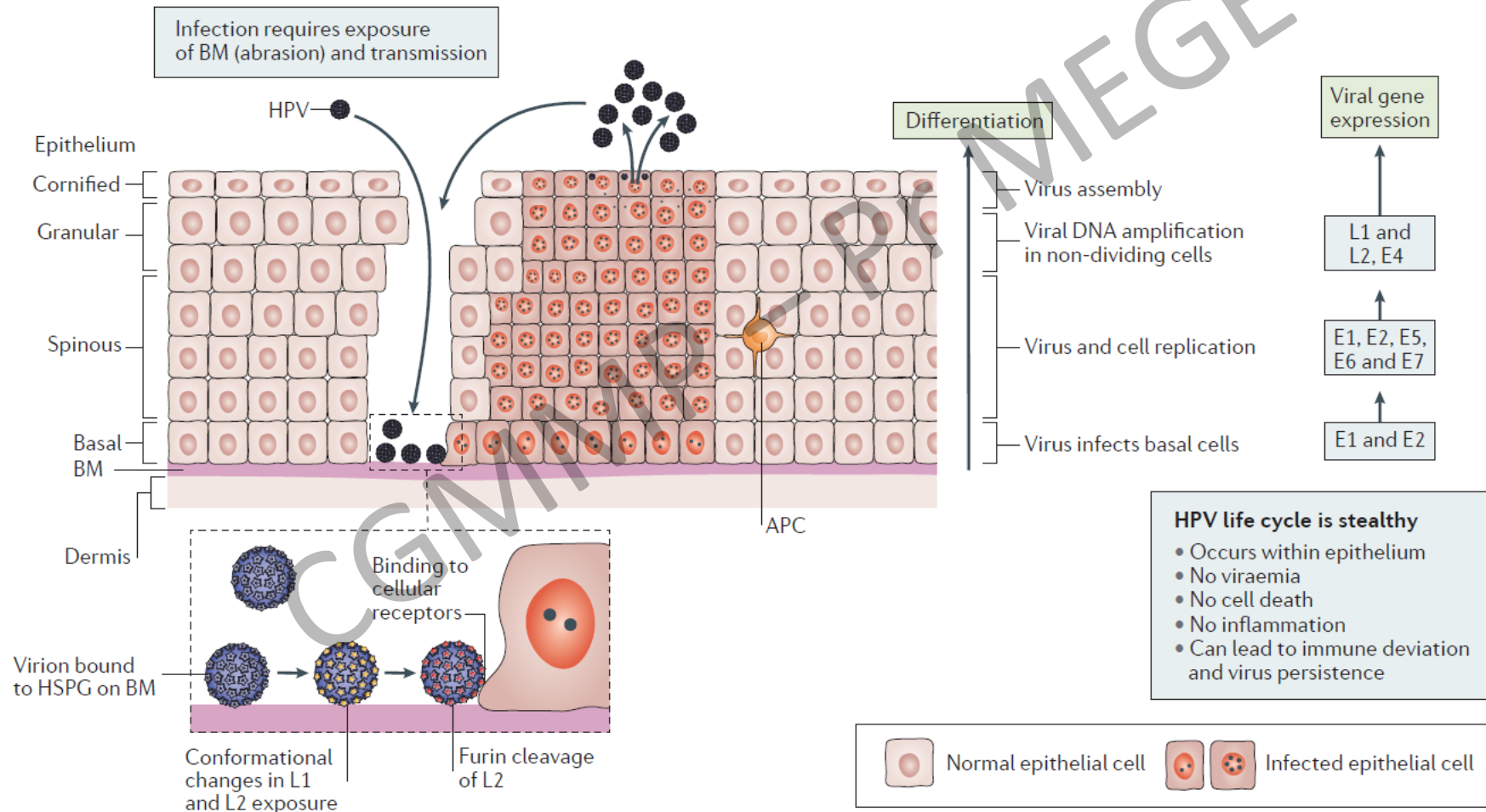
**Aix- Marseille Université**

## HPV: généralités



- Virus à ADN double brin non enveloppé
- Génome petite taille: 8000 bp
- 4 ORF conservées dans tous les génomes de papillomavirus:
  - E1: hélicase virale
  - E2: régulateur transcriptionnel
  - E8E2: répresseur transcriptionnel
  - L1 et L2: protéines de capsid
- ORF selon HPVs additionnels: E4, E5, E6, E7, E10

# HPV: cycle infectieux



## Questions posées à l'immunologie

Comment l'hôte contrôle l'infection à HPV?

Quels sont les mécanismes de la persistance et du risque carcinogène?

Comment la manipulation de la réponse immunitaire de l'hôte peut prévenir persistance et cancer?

# Réponse immune antivirale: généralités

- **Immunité intrinsèque**
  - Facteurs de restriction
- **Immunité innée**
  - Microbiote (peau/muqueuse)
  - Reconnaissance des acides nucléiques
  - Recrutement des cellules immunes innées et production de cytokines
- **Immunité adaptative**
  - Réponse anticorps
  - Réponse lymphocytaire: CD8 T cells

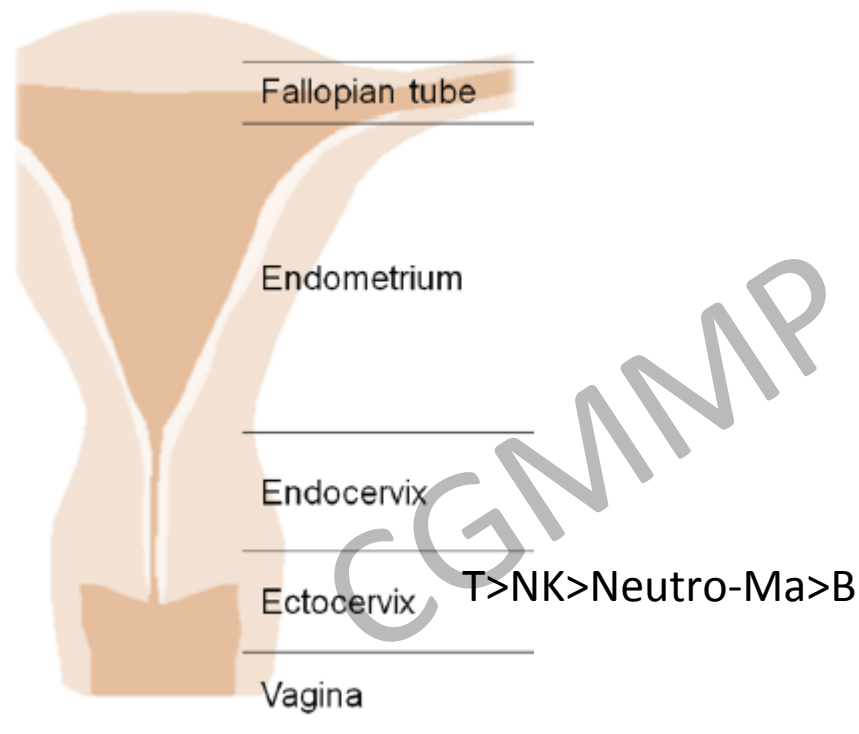
# Immunité anti-HPV: facteurs de restriction

HPV Restriction Factors and their viral targets.

Restriction Factor	Viral Target
Sp100	Viral transcription
miR-145	E1 RNA
p56	E1 Protein
IFI16	Early and Late Promoters
C/EBP $\beta$	URR, Late Promoter
p53	E2 Protein
EVERs	Viral transcription
APOBEC	unknown
FANCD2	unknown

- Molécules d'intérêt
- Sp100 réprime transcription et amplification ADN dans les phases précoces et tardive du cycle HPV
- IFIT16: spécifique aux kératinocytes et HPV18
- C/EBP $\beta$ : inhibe replication et transcription d'HPV
- APOBEC: induction de mutation dans l'ADN génomique

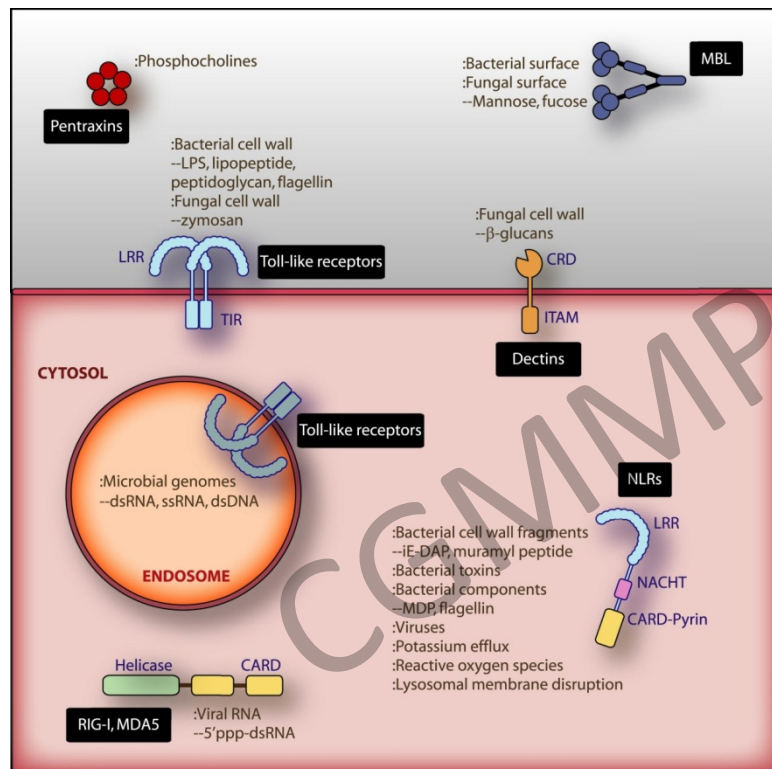
# HPV infection et microbiote cervico-vaginal



- Microbiote cervico-vaginal dominé par *Lactobacillus* sp prévient infection et maintien immunotolérance
- L'augmentation de la diversité microbienne associée à la perte de la représentation de *Lactobacillus* sp. induit réponse inflammatoire et dysbiose.
- CST-IV (*Gardnerella*, *Atopobium*) est un facteur de risque pour la persistance d'HPV et le risque carcinogène.
- L'inflammation chronique génitale promeut la carcinogénèse.

# HPV infection et réponse immunitaire innée

## Reconnaissance HPV



- HPV DNA est reconnu par des senseurs innés des cellules épithéliales:
- AIM2 (absent in melanoma), IFI16 (interferon inducible protein 16), cGAS et TLR3, 7, 8, 9 (Toll-like receptors): AIM2 et DNA viral activation caspase et IL-1 $\beta$
- Corrélation entre clearance virale dans l'infection initiale et expression plus importante des TLRs (reconnaissant les virus). Idem CIN2 évolution
- HPV diminue l'expression de TLR9. Polymorphismes TLR9 et risque accru de cancer. Pas de relation avec clearance virale.



## HPV infection et réponse immunitaire innée

- **HPV n'est pas un virus immunologiquement silencieux.**
- Microenvironnement infecté par HPV recrute cellules dendritiques, cellules de Langerhans, cellules NK.
- Cellules dendritiques plasmacytoïdes répondent aux particules virales HPV16 par  $\text{IFN}\alpha$  et cytokines inflammatoires.
- Réussite de la vaccination

## HPV infection et réponse immunitaire innée

- **Réponse anti-virale inefficace**
- Absence de réaction inflammatoire mesurable (dépression IL-1 $\beta$  et IL-6). Kératinocytes immortalisés par HPV18 perdent la sensibilité à l'effet anti-prolifératif du TNF.
- HPV inhibe l'activation des cellules de Langerhans d'où défaut de présentation antigénique
- HPV inhibe la voie IFN $\alpha$  (interaction directe HPV16 E6 et E7 avec les composants de la voie de signalisation) dans les kératinocytes
- HPV altère activité des cellules NK

## HPV infection et réponse immunitaire adaptative

### Réponse cellulaire efficace

- Condylomes anogénitaux et lésions CIN1 régressent quand réponse cellulaire contre les protéines E6 et E7. Traduction histologique par infiltration de **cellules CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>** et macrophages. Lymphocytes polarisés Th1.
- Présence de cellules **CD8<sup>+</sup> intra-épithéliales exprimant granzyme B et intégrine  $\alpha 4\beta 7$** : corrélation avec régression lésions CIN1

## HPV infection et réponse immunitaire adaptative

### Echec réponse cellulaire

- Réponses systémiques faibles
- 10 à 20% des individus développent infection cervicale persistante avec présence HPV DNA. Au niveau des lésions: absence de signes de mort cellulaire (cellules cytotoxiques produites mais migration dans l'épithélium faible).
- La réponse lymphocytaire est repolarisée: Th2.
- **Les cellules T régulatrices** prédominent (prévention de la cytotoxicité).

# HPV infection et réponse immunitaire adaptative

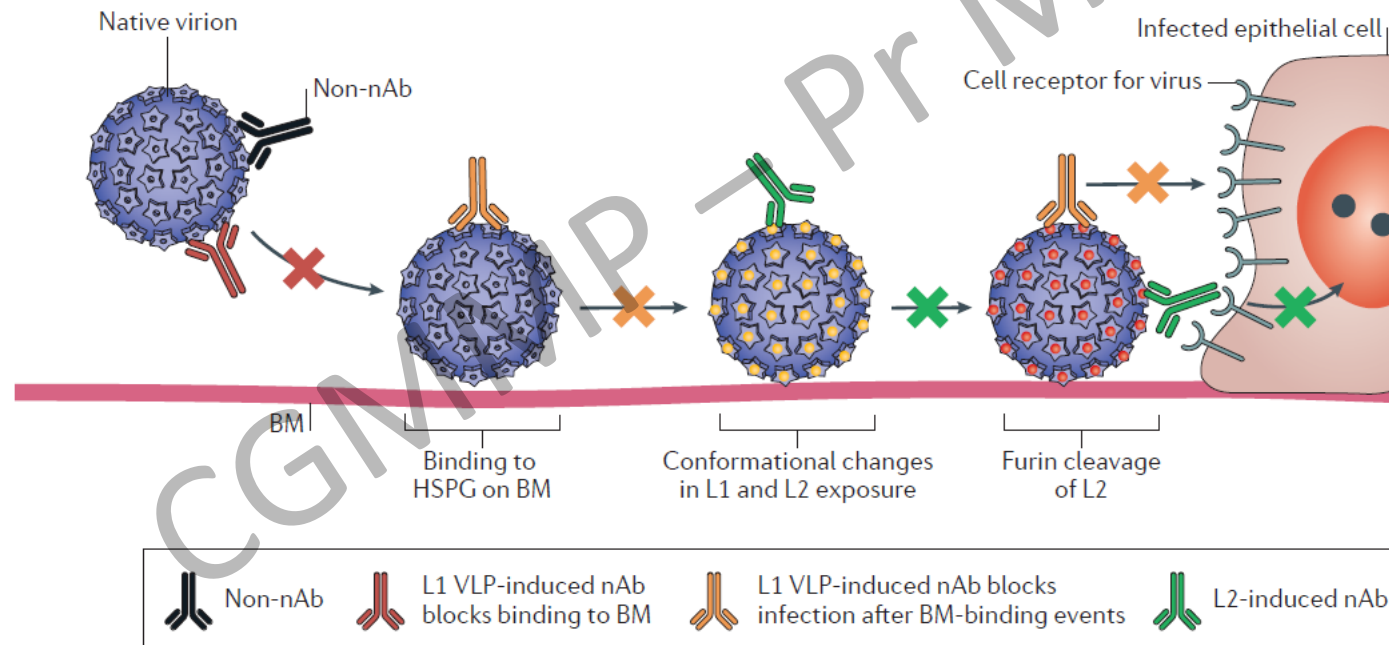
## Réponse anticorps

- La réponse cellulaire est suivie d'une séroconversion: production anticorps dirigés contre la protéine L1. Temps de séroconversion peut être long (4 mois à 5 ans).
- La concentration en anticorps est faible et nombreuses femmes ne séroconvertissent pas (sensibilité du test).
- Les anticorps anti-E7 apparaissent au stade de cancer invasif.
- HPV VLPs induisent de fortes concentrations (vs infection naturelle) **anticorps neutralisant anti-L1**. Animaux naïfs immunisés par IgG (animaux infectés ou vaccinés): protection complète.

# HPV infection et réponse immunitaire adaptative

## Réponse anticorps

- Les virus neutralisant bloquent l'entrée du virus dans les cellules.



- Les anticorps sont protecteurs dans une réponse vaccinale.

## La réponse immune à HPV est de faible intensité

- Pourquoi HPV est un faible immunogène?
- HPV sont des virus à ADN double brin sans intermédiaire ARN double brin pour stimuler le système immunitaire inné
- HPV code principalement pour des protéines non secrétées et donc pas de présentation croisée
- Le virus se réplique dans les cellules épithéliales dans un contexte faiblement inflammatoire voire anti-inflammatoire
- L'infection induit la prolifération cellulaire plus que la cytolyse d'où moins de signaux de danger
- L'absence de phase virémique réduit la présentation antigénique systémique

## Infection à HPV et immunodéficiência

- **Déficits immunitaires congénitaux**
- **Epidermodysplasie verruciforme**
- Autosomique récessif, mutations perte de fonction des gènes EVER1 et EVER2 (protéines membrane RE des kératinocytes)
- Susceptibilité aux infections cutanées à HPV
- Diminution cellules T, réponses aux mitogènes et réponses cellulaires aux kératinocytes infectés par HPV.
- **Syndrome de WHIM**
- Association verrues, infection, hypogammaglobulinémie et myélokathexis. Lymphopénie T mais préservation des fonctions.
- Autosomique dominant. Mutation gain de fonction de CXCR4 (récepteur CXCL2) responsable de déficit fonctionnels des cellules dendritiques.



## Infection à HPV et immunodéficience

- **Déficits immunitaires acquis**
- **HIV**
- Augmentation risque infection à HPV et persistance. Diversité des génotypes HPV des patients HIV<sup>+</sup>.
- Altération réponse cellulaire T lié à HIV: facteur de risque pour HPV. Traitement antirétroviral réduit réplication HPV si taux CD4<sup>+</sup> augmente et charge virale se normalise.
- **Transplantation**
- Prévention de la résolution chez les patients greffés et augmentation du risque d'évolution vers la malignité.

## HPV infection et vaccination

- **Objectif:** induire une réponse lymphocytaire T orientée vers un profil Th1. Les antigènes cibles: L1
- Les particules virales (VLP): base vaccinale anti-HPV. Gardasil quadrivalent (L1 VLP HPV 6, 11, 16, 18, Aluminium Hydroxyphosphate sulfate) Gardasil 9 (L1 VLP HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58, Hydroxyphosphate sulfate) et Cervarix (L1 VLP HPV 16, 18, Aluminium hydroxyde et monophosphoryl lipid A): fortement immunogènes
- Activation cellules NK
- Activation cellules CD4 et CD8 spécifiques de E6 et E7
- Augmentation des anticorps neutralisants: titre persistant
- Prévention lésions précancéreuses
- **Modélisation:** élimination possible HPV 16, 18, 6 et 11 si 80% couverture chez garçons et filles et maintien dans le temps

## HPV infection et vaccination: Adjuvant

- Aluminium Hydroxyphosphate sulfate et Aluminium hydroxyde - monophosphoryl lipid A
- Impact traitement local avec **imiquimod** et cancer vulvaire). Agoniste des récepteurs TLR7/8 et modification de l'environnement local. En complément de la vaccination ou des traitements photodynamiques: combinaison imiquimod et traitement local ou vaccination peptidique induit une réponse lymphocytaire à long terme corrélée au pronostic dans cancers vulvaires haut grade.

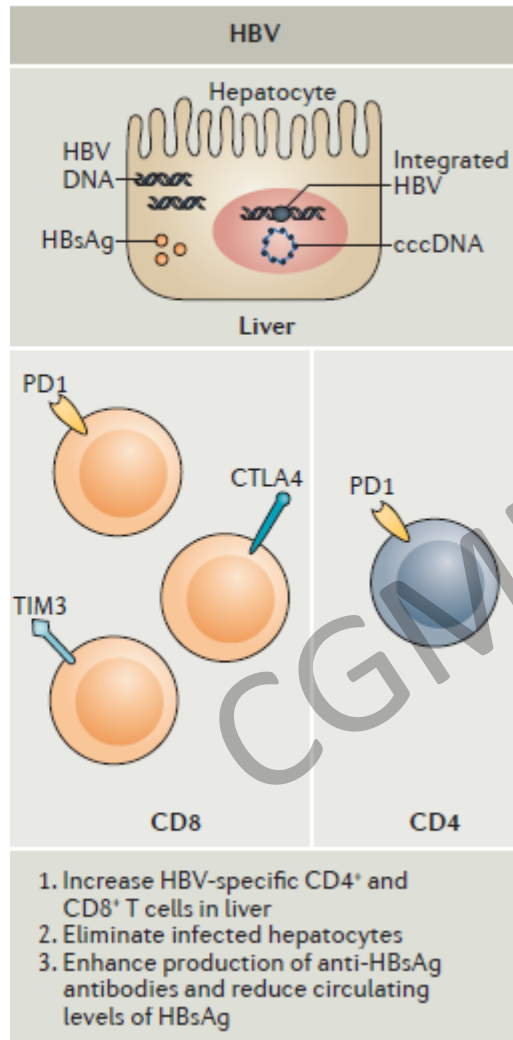
## HPV infection: vaccins thérapeutiques

- **Vaccin basé sur un ADN plasmidique** avec ciblage des protéines E6 et E7 HPV16 et 18 (administré par électroporation à CIN2/3: régression histologique et clearance virale (vs placebo)
- Vaccin basé sur ADN plasmidique avec des séquences E6 et E7 HPV 16 et HPV 18; fusion avec domaine extracellulaire d'une tyrosine kinase: réponse Th1 spécifique de E6 et E7 et réponse CD8 HPV16 polyspécifique; 7/9 patients CIN3 régression complète et clearance virale.
- **Vecteur *Listeria* atténué** avec un plasmide HPV16 E7 dans cancer ORL HPV+: bon résultat clinique mais un cas de listériose.

## HPV infection et vaccination: effets secondaires?

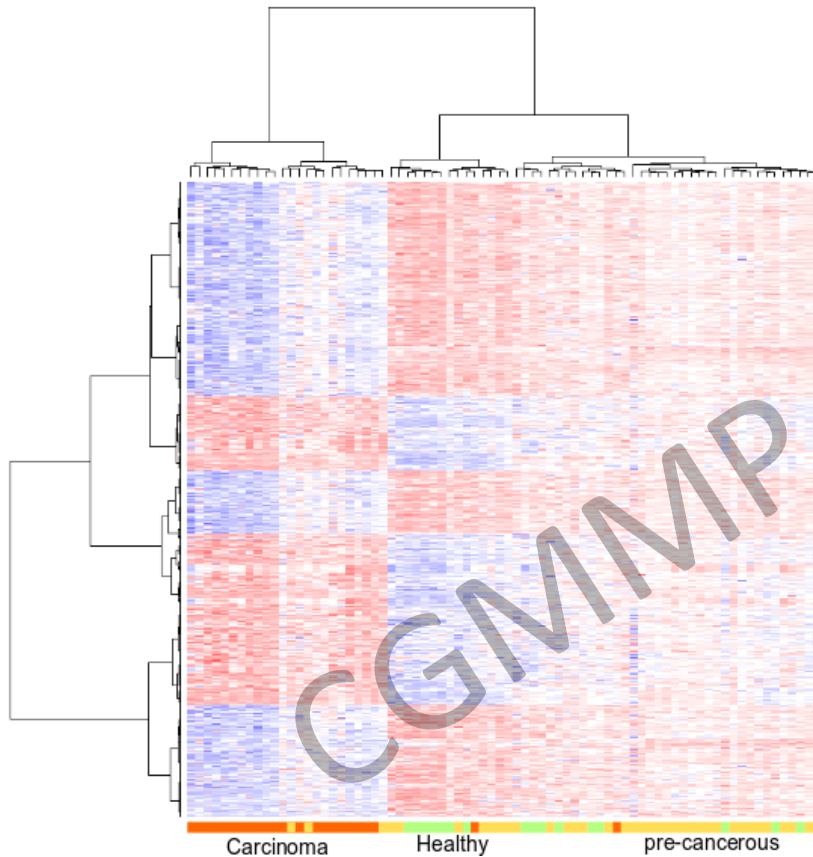
- **Syndrome de fatigue chronique** (céphalées, troubles orthostatiques, fatigue chronique, nausée): risque débattu
- **Syndrome de Guillain Barré**: risque faible (cohorte française)
- **Mécanismes immunologiques**: production de cytokines inflammatoires (inflammation chronique), altération cytotoxicité, auto-anticorps
- Mimétisme moléculaire: protéine L1 HPV16 82 heptapeptides et 2 octapeptides dans protéines impliquées dans prolifération cellulaire, immunomodulation, métabolisme lipidique et myélinisation
- Microbiote
- Biomarqueurs prédictifs du risque d'effets secondaires: approche multiparamétrique

# HPV infection: immunothérapie



- Rétablir une réponse immune vis-à-vis des tumeurs en ciblant les checkpoint inhibiteurs
- Essais thérapeutiques ciblant **CTLA-4** et **PD-1** dans les cancers du col
- Pronostic plus favorable chez les patients avec cancer ORL associés à HPV qui sont infiltrés par CD8<sup>+</sup> et ont un faible taux de PDL-1 tumoral
- Application de l'immunothérapie aux infections chroniques qui neutralisent l'action du système immunitaire

# Quel Biomarqueur?



## M2 Markers

	Pre-cancerous Lesions vs Healthy	Carcinoma vs Pre-cancerous Lesions
CCL18	↗	↗
CXCL1	↗	
IL-10		↗
IL-8		↗
ALOX15B	↗	
Dectin-1	↗	

## M1 Markers Carcinoma Only

## Conclusions

- **HPV: virus de la différenciation épithéliale**
- **HPV induit une réponse immune cellulaire qui rend compte de la régression des infections à HPV**
- **L'insuffisance de la réponse systémique rend compte de la persistance de l'infection et de la carcinogènese**
- **Les biomarqueurs immunologiques du risque de persistance sont à identifier**
- **La perspectives des immunothérapies dans le traitement des cancers génitaux et ORL, et l'infection chronique à HPV sont réalistes**