

Connaissances récentes sur la pathogénie de la fièvre jaune et questions pour le futur.

P. Marianneau, P. Desprès & V. Deubel

Unité des arbovirus et virus des fièvres hémorragiques, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.

Manuscrit n°1963/PLS 18. Journée SPE en hommage à Paul-Louis SIMOND.

Summary: Recent Knowledge on the Pathogenics of Yellow Fever and Questions for Tomorrow.

Yellow fever is an arthropod-borne disease with symptoms ranging from mild fever to acute hepatonephritis, hemorrhages and shock often fatal. The pathophysiology of severe yellow fever in humans and in monkeys susceptible to the virus is largely unknown. Yellow fever virus replicates in Kupffer cells and in hepatocytes in the liver. The degree of severity in yellow fever disease is linked to different factors related to virus virulence and to host susceptibility. A better knowledge of the complex interactions between the virus and the host is requested before initiating new actions in prophylaxy and therapy against yellow fever.

Résumé :

La fièvre jaune est une arbovirose dont les formes cliniques varient de la forme asymptomatique à une hépatonéphrite fulminante, des hémorragies et un choc hypotensif mortel. La physiopathologie de la fièvre jaune chez les humains et les primates non humains permissifs n'est pas connue. Le virus de la fièvre jaune se multiplie dans les cellules de Kupffer et dans les hépatocytes. Le degré de sévérité de la maladie est sans doute lié à des facteurs relatifs à la virulence du virus et à la prédisposition génétique de l'hôte. Une meilleure connaissance des interactions complexes entre le virus et l'hôte est nécessaire avant de mener de nouvelles actions prophylactiques et thérapeutiques contre cette maladie.

yellow fever
pathophysiology
Flavivirus
virulence

fièvre jaune
pathophysiology
Flavivirus
virulence

Introduction

La fièvre jaune, connue depuis plus de 500 ans, représentait jusqu'à la fin du siècle dernier une des maladies humaines les plus redoutables. La transmission du virus d'un sujet infecté à un individu sain par l'intermédiaire d'un moustique a été suggérée par FINLAY en 1881 (7). La preuve apportée au début du siècle (13, 20) a entraîné des mesures antivectorielles qui ont réduit l'incidence de la maladie en Amérique centrale et du Sud (et en Afrique de l'Ouest). Mais la présence d'un cycle enzootique de transmission du virus impliquant des moustiques sauvages et des singes a empêché l'éradication de la maladie. L'isolement du virus de la fièvre jaune en 1927, au Sénégal, par l'équipe de l'Institut Pasteur de Dakar (French viscerotropic virus) et au Ghana par l'équipe de la Fondation Rockefeller (souche Asibi), allait rapidement aboutir à l'élaboration d'un vaccin, préparé en 1935 par passages successifs sur la souris (French neurotropic virus ou FNV) et, en 1937, sur tissus d'œuf embryonné (17D). Or, bien que les séquences des génomes des virus Asibi et FV et leurs dérivés atténués 17D et FNV soient connues (23, 27) et qu'il existe un clone d'ADN infectieux pour le virus 17D (22), les bases moléculaires de l'atténuation ne sont pas clairement établies. Par ailleurs, même si le singe est un bon modèle expérimental pour étudier la pathogénie de la fièvre jaune, les éléments

cellulaires et moléculaires qui sont à l'origine de la pathologie de la maladie ne sont pas encore bien définis. Quelques éléments nouveaux concernant la variabilité et la virulence des souches virales, ainsi que la permissivité cellulaire en terme d'activation et de réponse à l'infection, ont récemment été décrits et permettent d'avancer des hypothèses et d'ouvrir de nouvelles voies de recherche.

Structure

Le virus de la fièvre jaune est le prototype du genre *Flavivirus* dans la famille des *Flaviviridae* (21). Le virus, d'une cinquantaine de nanomètres de diamètre, se compose d'une nucléocapside entourée d'une enveloppe dans laquelle sont ancrées les protéines M et E. Le génome viral est un ARN monocaténaire de sens positif, constitué d'environ 11 000 nucléotides. Cet ARN code une polyprotéine d'environ 3 400 acides aminés dont les clivages co- et post-traductionnels génèrent dans l'ordre les protéines C de la capsid, et prM (précurseur de M) et E de l'enveloppe, suivies des protéines non structurales NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5, nécessaires à la réplication virale. L'ARN viral est flanqué à ses deux extrémités, 5' et 3', de séquences non codantes nécessaires à l'initiation de la réplication de l'ARN et de la traduction des protéines.

Clinique-pathologie

La fièvre jaune est une maladie fébrile aiguë, caractérisée essentiellement par une hépatonéphrite, des hémorragies et un choc hypotensif (5). Les altérations hépatiques classiques observées sur des foies prélevés post-mortem indiquent une perte de l'architecture lobulaire et une infiltration microstéatosique des hépatocytes. On observe également une réponse inflammatoire faible et un degré important de nécrose hépatique. Les cellules de KÜPFER sont généralement hypertrophiées et contiennent des pigments céroïdes (26). Les corps de COUNCILMAN, cellules arrondies éosinophiles au noyau condensé et contenant une membrane bien délimitée, sont observés au niveau des foyers de nécrose localisés en zone médiolobulaire. Des études immunohistochimiques ont montré la présence d'antigènes viraux dans les corps de COUNCILMAN, établissant un lien entre l'action du virus et cette forme particulière de nécrose des hépatocytes (3). Cependant, aucune particule virale n'a été observée dans les hépatocytes, les cellules de KÜPFER ou les corps de COUNCILMAN (26, 3). Les résultats pourraient indiquer une faible production de particules virales qui seraient rapidement éliminées. Il a été également suggéré que le cycle viral était abortif (17). Il est cependant possible d'isoler du virus à partir de biopsies de foie prélevées post-mortem de malades atteints de fièvre jaune. Des études expérimentales chez le singe *Macaca mulatta* infecté par la souche Asibi ont montré une multiplication virale dans les cellules de KÜPFER avant l'apparition des signes cliniques, puis une nécrose massive du parenchyme hépatique avec des corps de Councilman au moment de la maladie et de la mort de l'animal (19). Une élévation de la fièvre et des transaminases est observée de façon concomitante (25).

Hypothèses sur la pathogénie de la fièvre jaune

Les aspects moléculaires et cellulaires associés à la pathologie de la fièvre jaune ne sont pas bien connus. Lors d'études récentes sur les mécanismes impliqués dans la pathogénie de la dengue, nous avons observé que ce *Flavivirus* pouvait infecter les cellules hépatiques et induire rapidement une mort cellulaire par apoptose (14). Les études histologiques pratiquées sur des foies de sujets décédés de dengue hémorragique avec choc ont montré des foyers de nécrose (2) identiques à ceux observés dans les foies de singes infectés par le virus de la fièvre jaune, au moment de l'apparition des symptômes cliniques (19). Des études sur des hépatocytes humains de première explantation infectés *in vitro* et sur une lignée d'hépatome humain (HepG2) ont montré que ces cellules étaient également permissives au virus de la fièvre jaune (16; MARIANNEAU et GUILLOUZO, résultats non publiés). Cependant, à la différence de la dengue, les hépatocytes infectés par le virus de la fièvre jaune produisent une grande quantité de particules virales. Bien que l'infection conduise également à la mort de la cellule, les mécanismes impliqués ne sont pas aussi clairement définis que dans le cas de la dengue. Cependant, les corps de COUNCILMAN correspondent à des cellules hépatiques en apoptose (24) et on peut imaginer que la répllication du virus amaril dans les hépatocytes du foie soit à l'origine de la formation de ces corps apoptotiques. Dans le cas de la dengue, nous avons suggéré que les cellules de KÜPFER pouvaient éliminer par phagocytose à la fois une

quantité importante de virus circulant et les cellules apoptotiques environnantes, limitant ainsi l'infection du foie à des foyers de nécrose sans doute régénératifs durant la période de convalescence (15, 16). Dans le cas de la fièvre jaune, on peut imaginer un scénario différent où les cellules de Kupffer, productrices de virus infectieux, libéreraient un nombre suffisant de particules virales capables d'infecter un grand nombre d'hépatocytes. La mort, à la fois par apoptose et par nécrose des hépatocytes infectés, pourrait conduire à des lésions beaucoup plus importantes que dans le cas de la dengue. De plus, les cellules de KUPFFER, elles-mêmes infectées en grand nombre, ne pourraient plus exercer leurs fonctions d'élimination des hépatocytes infectés. Cette hypothèse demande à être vérifiée par des études complémentaires d'infection de cellules de KÜPFER humaines par le virus de la fièvre jaune *in vitro* et d'analyse séquentielle d'infection des cellules hépatiques dans un modèle expérimental *in vivo*.

Immunopathologie

Les hépatocytes présentent à la surface de leur membrane cellulaire des récepteurs de la famille des facteurs de nécrose des tumeurs (TNF) dont font partie les récepteurs CD95 (Fas/Apo 1) et CD120a (p55 TNF- α). L'interaction de ces récepteurs avec leurs ligands induit des signaux cellulaires régulant la viabilité des cellules, et conduisant en particulier à la mort cellulaire par apoptose (1, 12). Il conviendrait de vérifier si le TNF- α et le Fas ligand, qui sont des médiateurs potentiels induisant des signaux de mort cellulaire au cours des hépatites (9, 10), interviennent également dans l'atteinte hépatique observée dans la fièvre jaune et dans la dengue.

Virulence

La fièvre jaune est une maladie mortelle bien que le nombre de décès varie selon les épidémies (18). Bien que l'absence de diagnostic sérologique dans les zones endémiques puisse conduire à une sous-évaluation du nombre réel de cas, il semble que le taux de létalité des épidémies observées en Amérique du Sud soit généralement plus élevé qu'en Afrique (5). Il existe plusieurs raisons à cela, épidémiologiques et génétiques, liées au virus, à l'hôte et au vecteur, ces facteurs pouvant moduler le cycle de transmission. La virulence particulière de la souche virale impliquée dans une épidémie représente également un facteur important dans les manifestations pathologiques. Le fait qu'il existe des variations dans la virulence du virus amaril, notamment entre les virus d'Afrique et d'Amérique du Sud, est connu depuis longtemps par les travaux réalisés sur des singes (11) et sur des souris (8). Nous avons montré qu'il existait des différences génétiques importantes entre les souches d'Afrique de l'Ouest, d'Afrique centrale et de l'Est, et d'Amérique du Sud, associées à des phénotypes différents, comme la neurovirulence chez la souris, le niveau de transmission chez le moustique et la taille des plages de répllication virale en culture de cellules (voir (4) pour revue). Récemment, une étude génétique de certaines souches sauvages de fièvre jaune, atténuées par passages successifs sur des cellules humaines Hela en culture, a permis d'identifier des mutations caractéristiques des souches vaccinales atténuées (6). Cependant, il n'est toujours pas possible de relier ces variations génétiques et phénotypiques à la physiopathologie de la fièvre jaune.

Conclusion

Les objectifs de plusieurs équipes de recherche sont d'identifier les facteurs viraux responsables de la virulence du virus de la fièvre jaune et de comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires liés à l'expression de la virulence chez l'hôte infecté. Les résultats de ces recherches serviront à la mise au point de nouvelles méthodes de prévention de la maladie et de thérapeutiques spécifiques.

Remerciements

Nous remercions A.M. STEPHAN, C. GUILLOUZO, M.T. DROUET, C. ROYER et Denise GLAISE pour leur contribution importante dans les hypothèses décrites dans cet article.

Références bibliographiques

- BAKER SJ & REDDY EP - Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene*, 1998, **17**, 3261-3270.
- COUVELARD A, MARIANNEAU P, BEDEL C, DROUET MT, VACHON F *et al.*- Report of a fatal case of dengue infection with hepatitis: Demonstration of dengue antigens in hepatocytes and liver apoptosis. *Human Pathol*, 1999, **30**, 1106-1110.
- DE BRITO T, SIQUEIRA SAC, SANTOS RTM, NASSAR ES, COIMBRA TLM & ALVES VAF - Human fatal yellow fever. Immunohistochemical detection of viral antigens in the liver, kidney and heart. *Pathol Res Pract*, 1992, **188**, 177-181.
- DEUBEL V & DROUET MT - Biological and molecular variations of yellow fever virus. Emerging diseases: Factors in the emergence of Arbovirus diseases, 1997, "Les Pensières", Anney, France, Elsevier.
- DIGOUTTE JP, CORNET M, DEUBEL V & DOWNS WG - Yellow fever. In: *Exotic Viral Infections* (Porterfield JS, ed). 1995, Chapman & Hall Medical, London.
- DUNSTER LM, WANG H, RYMAN KD, MILLER BR, WATOWICH SJ *et al.*- Molecular and biological changes associated with HeLa cell attenuation of wild-type yellow fever virus. *Virology*, 1999, **261**, 309-318.
- FINLAY C - El mosquito hipoteticamente considerado como agente de transmisión de la fiebre amarilla. *An Acad Sci Med La Habana*, 1881, **18**, 147-169.
- FITZGEORGE R & BRADISH CJ - The *in vivo* differentiation of strains of yellow fever virus in mice. *J Gen Virol*, 1980, **46**, 1-13.
- GALLE PR, HOFMAN WJ, WALCZAK H, SCHALLER H, OTTO G *et al.*- Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage. *J Exp Med*, 1995, **182**, 1223-1230.
- KONDO T, SUDA T, FUKUYAMA H, ADACHI M & NAGATA S - Essential role of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nature Med*, 1997, **3**, 409-413.
- LAEMMERT HWJ - Susceptibility of marmosets to different strains of yellow fever viruses. *Am J Trop Med*, 1944, **24**, 71-81.
- MAGNUSSON C & VAUX DL - Signalling by CD95 and TNF receptors: not only life and death. *Immunol Cell Biol*, 1999, **77**, 41-46.
- MARCHOUX E, SALIMBENI A & SIMOND PL - La fièvre jaune. Rapport de la mission française. *Ann Inst Pasteur*, 1903, **17**, 665-731.
- MARIANNEAU P, CARDONA A, EDELMAN L, DEUBEL V & DESPRÉS P - Dengue virus replication in human hepatoma cells activates NF- κ B which in turn induces apoptotic cell death. *J Virol*, 1997, **71**, 3244-3249.
- MARIANNEAU P, FLAMAND M, DEUBEL V & DESPRÉS P - Apoptotic cell death in response to dengue virus infection: the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever revisited. *Clin Diagn Virol*, 1998, **10**, 113-119.
- MARIANNEAU P, STEFFAN AM, ROYER C, DROUET MT, KIRN A & DEUBEL V - Differing infection patterns of dengue and yellow fever viruses in a human hepatoma cell line. *J Virol*, 1999, 5201-5206.
- McGRAVAN MH & WHITE JD - Electron microscopic and immunofluorescent observations on monkey liver and tissue culture cells infected with Asibi strain of yellow fever virus. *Am J Pathol*, 1964, **45**, 501-506.
- MONATH TP - Epidemiology of yellow fever: current status and speculations on future trends. In: *Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases* (SALUZZO JF & DODET B, ed). Elsevier, 1997, Paris, 143-156.
- MONATH TP, BRINKER KR, CHANDLER FW *et al.*- Pathophysiologic correlation in a rhesus monkey model of yellow fever. *Am J Trop Med Hyg*, 1981, **30**, 431-443.
- REED W - Propagation of yellow fever: observation based on recent researches. *Med Record*, 1901, **60**, 201-209.
- RICE CM - *Flaviviridae*: the viruses and their replication. In: *Fields Virology* (FIELDS BN, KNIPE DM, HOWLEY PM *et al.* ed). Lippincott-Raven Press Publishers, 1996, Philadelphia, 931-959.
- RICE CM, GRAKOU A, GALLER R & CHAMBERS TJ - Transcription of infectious yellow fever RNA from full-length cDNA templates produced by *in vitro* ligation. *The New-Biologist*, 1989, **1**, 285-296.
- RICE CM, STRAUSS EG & STRAUSS JH - Structure of the flavivirus genome. In: *The Togaviridae and Flaviviridae* (SCHLESINGER S & SCHLESINGER MJ, eds). Plenum Press, 1986, New York/London, 279-326.
- SEARLE J, HARMON BV, BISHOP CJ & KERR JFR - The significance of cell death by apoptosis in hepatobiliary disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 1987, **2**, 77-96.
- TIGERTT WD, BERGE TO, GOCHENOUR WS, GLEISER CA, EVELAND WC *et al.*- Experimental yellow fever. *Trans New York Acad Sci*, 1960, **22**, 323-333.
- VIEIRA WT, GAYOTTO LC, DE LIMA CP & DE BRITO T - Histopathology of the human liver in yellow fever with special emphasis on the diagnostic role of the Councilman body. *Histopathology*, 1983, **7**, 195-208.
- WANG E, RYMAN KD, JENNINGS AD, WOOD DJ, TAFFS F *et al.*- Comparison of the genomes of the wild-type French viscerotropic strain of yellow fever virus with its vaccine derivative French neurotropic vaccine. *J Gen Virol*, 1995, **76**, 2749-2755.