

UNIVERSITE DE LIMOGES
ECOLE DOCTORALE Biologie, Santé, « Bio-santé »
FACULTE de Pharmacie

Année : 2010

Thèse N°40-2010

THESE

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Biologie – Science - Santé

Présentée et soutenue publiquement par

Laurent MARDIVIRIN

Le 20 octobre 2010

Rôle de l'herpèsvirus humain de type 6
dans le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse
et le lymphome de Hodgkin

Thèse dirigée par Mme le Professeur Sylvie RANGER-ROGEZ

JURY :

Rapporteurs :

Mr Henri AGUT, Professeur des Universités, Paris

Mr Vincent DESCAMPS, Professeur des Universités, Paris

Examineurs :

Mr Patrice MORAND, Professeur des Universités, Grenoble

Mme Sylvie RANGER-ROGEZ, Professeur des Universités, Limoges

Mr Franck STURTZ, Professeur des Universités, Limoges

Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Madame le Professeur Sylvie Ranger-Rogez, pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire et m'avoir dirigé tout au long de ces années qui furent des plus enrichissantes. Merci pour votre patience, vos conseils, votre enthousiasme et votre confiance.

Je tiens à remercier Mr le Professeur Franck Sturtz, pour m'avoir accueilli dans l'EA 4021 voici cinq ans, et pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr le Professeur Henri Agut pour l'intérêt qu'il porte à ce manuscrit en acceptant d'en être rapporteur.

Je remercie vivement Mr le Professeur Vincent Descamps pour son enthousiasme et ses idées tout au long de cette collaboration, et pour être aujourd'hui rapporteur de cette thèse.

Je tiens également à remercier Mr le Professeur Patrice Morand pour sa participation à ce jury de thèse, en tant qu'examineur de ce travail.

J'adresse toute ma gratitude aux personnes qui m'ont côtoyé et ont contribué à une ambiance de travail des plus agréables, ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, par leurs participations ou leurs conseils, ou ceux qui m'ont simplement adressé leur sympathie tout au long de ce travail. La liste est longue : merci à Roselyne Mouzet, Martine Gatet, Sylvie Delebassée, Jeanny Moreau, Bertrand Courtioux, Mr Dreyfuss, Mr Rondelaud, Sophie Collot-Teixeira, Carine Perez, Catherine Ouk, Tan Ouk, Gaël Champier, Christelle Oblet, Ludovic Micallef, Lynda Pervieux, Tu Liong Mac, Aurélien Mercier, Clémentine Cailleateau, Youness Limami, Florent Di Meo, Thomas Naves, Yves Champavier, Patrice Fondanèche, David Léger, Yoanne Mousseau, Aline Pinon, Magdalena Marie, José Pascual, Mustapha AlJawhari, Clémence Lepage, Alain Simon, Bertrand Liagre, Serge Battu, Claude Caliste, Mr Duroux, les filles de l'EA 3842, et tous ceux que j'oublie, mais également tout le personnel du laboratoire de virologie du CHU de Limoges, pour leur gentillesse et leur disponibilité. Je remercie particulièrement Aurélie Lacroix pour m'avoir encadré durant mon année de DEA, et avoir donné par la suite de précieux conseils et été d'une grande aide.

Je remercie enfin ma famille et mes amis, pour leur soutien sans faille depuis toujours.

Sommaire

Liste des figures	p.7
Liste des tableaux	p.8
Abréviations	p.9
Introduction générale	p.11
Environnement bibliographique	p.14
Partie 1 : L'herpèsvirus humain de type 6	p.14
I. Historique	p.14
II. Morphologie du virus	p.15
II.1. Ultrastructure du virion	p.15
II.2. Génome	p.16
III. Tropisme cellulaire	p.17
IV. Cycle réplicatif	p.19
IV.1. Interaction avec le récepteur, entrée dans la cellule hôte	p.19
IV.2. Transcription et réplication de l'ADN viral	p.19
IV.3. Assemblage de la capside	p.21
IV.4. Encapsidation	p.22
IV.5. Bourgeonnement	p.22
IV.6. Libération des virions	p.22
V. Effets du virus sur la cellule hôte et son environnement	p.24
VI. Epidémiologie, transmission virale	p.25
VII. Physiopathologie de l'infection	p.26
VII.1. Primo-infection	p.26
VII.2. Latence	p.26
VII.3. Persistance	p.27
VII.4. Réactivations	p.27
VIII. Intégration chromosomique de l'HHV-6	p.27
IX. Maladies associées à l'HHV-6	p.28
IX.1. Exanthème subit	p.28
IX.2. Infection chez les immunodéprimés	p.30
IX.3. Cancers	p.31
IX.4. Maladies du système nerveux central chez les immunocompétents	p.32

IX.5. Syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse	p.33
X. Diagnostic	p.33
X.1. Isolement du virus par culture	p.33
X.2. Détection d'antigènes viraux	p.34
X.3. PCR	p.34
X.4. Sérologie	p.35
XI. Traitements anti-HHV-6	p.35
XI.1. Analogues nucléosidiques	p.36
XI.2. Analogues nucléotidiques	p.36
XI.3. Analogue du pyrophosphate	p.37
XI.4. Efficacité et avenir	p.39
Partie 2 : Le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse	p.40
I. Historique	p.40
II. Manifestations cliniques	p.41
II.1. Symptomatologie	p.41
II.2. Diagnostic	p.44
III. Implication virale	p.45
IV. Rôle de l'HHV-6	p.46
V. Traitement	p.50
Partie 3 : Le lymphome de Hodgkin	p.51
I. Généralités	p.51
II. Epidémiologie	p.54
III. Manifestations cliniques	p.55
III.1. Symptomatologie	p.55
III.2. Diagnostic	p.56
IV. Biologie des cellules de Reed-Sternberg	p.58
IV.1. Maturation des cellules B normales	p.59
IV.2. Origine des cellules de Reed-Sternberg	p.60
IV.3. Dérégulation de l'expression de facteurs de transcription dans les cellules de Reed-Sternberg	p.62
IV.4. Mutations génétiques et dérégulations de voies de signalisations cellulaires	p.64
V. Implication virale	p.67
V.1. Le virus d'Epstein et Barr	p.67
V.2. L'herpèsvirus humain de type 6	p.68
VI. Traitements	p.71
VI.1. Traitements classiques	p.71

VI.2. Nouvelles approches	p.71
Travail expérimental	p.73
Partie 1 : Etude du rôle de l'HHV-6 dans le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse	p.74
I. Pathogenèse du DRESS : hypothèses	p.74
II. Etude de la réplication virale en présence de molécules associées au DRESS	p.76
III. Article 1	p.81
IV. Article 2	p.84
V. Discussion des articles 1 et 2	p.90
VI. Etude d'une cohorte de patients atteints de DRESS	p.93
VII. Article 3	p.95
VIII. Discussion de l'article 3	p.119
Partie 2 : Etude de l'oncoprotéine DR7 de l'HHV-6	p.123
I. La protéine DR7	p.123
II. Surexpression de la protéine DR7 dans la lignée BJAB	p.126
III. Recherche de dérégulations détectées au sein des cellules de Reed-Sternberg	p.127
IV. Article 4	p.130
V. Article 5	p.141
VI. Discussion des articles 4 et 5	p.150
Conclusions - perspectives	p.154
I. HHV-6 et DRESS	p.154
II. HHV-6 et lymphome de Hodgkin	p.157
Références bibliographiques	p.161

Liste des figures

Figure 1	Ultrastructure des herpesvirus	p.15
Figure 2	Représentation schématique du génome de l'HHV-6	p.18
Figure 3	Régulation coordonnée des gènes de l'HHV-6	p.21
Figure 4	Cycle de réplication lytique de l'HHV-6	p.23
Figure 5	Exanthème subit du nourrisson	p.29
Figure 6	Effet cytopathogène de l'HHV-6	p.34
Figure 7	Principaux analogues utilisés dans le traitement des infections par l'HHV-6	p.38
Figure 8	Exemple de patient atteint de DRESS	p.42
Figure 9	Progression clinique d'un DRESS	p.43
Figure 10	Réactivations séquentielles de plusieurs herpesvirus durant la progression du DRESS	p.47
Figure 11	Scénarii possibles lors du DRESS	p.49
Figure 12	Coupe histologique de ganglion lymphatique d'un patient atteint de LH	p.52
Figure 13	Répartition des zones de drainage lymphatiques	p.56
Figure 14	Origine des cellules de Reed-Sternberg	p.63
Figure 15	Reprogrammation génétique des cellules de Reed-Sternberg	p.64
Figure 16	NFkB dans les cellules de Reed-Sternberg	p.66
Figure 17	Déroulement du DRESS (hypothèse)	p.76
Figure 18	Immunomarquage de la protéine virale p41 sur des cellules MT4 seules, ou co-cultivées avec la souche HST de l'HHV-6B	p.78
Figure 19	Représentation des molécules étudiées vis-à-vis de leur influence sur la réplication virale de l'HHV-6B	p.80
Figure 20	Courbes de viabilité cellulaire des cellules MT4, en présence de concentrations thérapeutiques de phénytoïne et sulfasalazine	p.91
Figure 21	Réplication de l'EBV dans la lignée cellulaire Raji, en présence de carbamazépine, amoxicilline, valproate de sodium (VPA) phénytoïne et sulfasalazine	p.122
Figure 22	Alignements des séquences des gènes <i>DR6</i> et <i>DR7</i> issus des souches U1102 (variant A) Z29 et HST (variants B) de l'HHV-6	p.125
Figure 23	Structure du plasmide pTRIN76	p.127
Figure 24	Mécanisme d'action de la voie classique NFkB	p.152
Figure 25	Représentation schématique du déroulement du DRESS, causes et effets	p.156
Figure 26	Actions de l'HHV-6 sur la cellule	p.158

Liste des tableaux

Tableau 1	Caractéristiques des 8 herpèsvirus humains	p.12
Tableau 2	Drogues incriminées dans les DRESS	p.44
Tableau 3	Critères diagnostiques pour les DRESS	p.45
Tableau 4	Lymphome de Hodgkin : types histologiques et populations principalement atteintes	p.53
Tableau 5	Taux de survie associé au lymphome de Hodgkin en fonction du stade	p.57
Tableau 6	Liste des facteurs associés à un pronostic défavorable pour le lymphome de Hodgkin	p.58
Tableau 7	Lymphome de Hodgkin et infection par l'HHV-6	p.70
Tableau 8	Titrage du stock de virions purifiés	p.78

Abréviations

aa	acide aminé
AAV-2	adeno-associated virus 2
ACV	acyclovir
ADN	acide désoxyribonucléique
AHS	anticonvulsant hypersensitivity syndrom
ALAT	alanine amino-transférase
ARN	acide ribonucléique
Bax	Bcl-2 associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BCR	B cell receptor
CDR	complementarity determining region
CDV	cidofovir
DIHS	drug-induced hypersensitivity syndrom
DMSO	diméthylsulfoxyde
DR	direct repeat
DRESS	drug rash with eosinophilia and systemic symptoms
E	early
EBF	early B-cell factor
EBV	Epstein-Barr virus
FAM	6-carboxyfluorescein
GCET1	germinal center B-cell expressed transcript 1
GCV	ganciclovir
gp	glycoprotéine
GAPDH	glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase
GVHD	Graft-versus-host disease
H6LTs	HHV-6 latency transcripts
HBLV	human B-lymphotropic virus
HCMV	human cytomegalovirus
HHV	human herpesvirus
HLA	human leukocyte antigen
HSV	herpes simplex virus
Id2	inhibitor of differentiation 2

IE	immediate early
Ig	immunoglobuline
IKK	I κ B kinase
IL	interleukine
INF	interféron
Jak	Janus kinase
kb	kilobase
L	late
LH	lymphome de Hodgkin
MEK/ERK	Mitogen-activated protein kinase kinase / extracellular signal-regulated kinase
MOI	multiplicity of infection
MTT	3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium bromide
NFκB	nuclear factor kappa B
NK	natural killer
nt	nucléotide
OMS	organisation mondiale de la santé
ORF	open reading frame
PBMCs	peripheral blood mononuclear cells
PCR	polymerase chain reaction
PI3K/AKT	phosphatidylinositol-3 kinase / activated protein kinase
REAL	revised european american lymphoma
RS	Reed-Sternberg
RT-PCR	reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SIDA	syndrome de l'immunodéficience acquise
STAT	signal transducer and activator of transcription
TAMRA	6-carboxytétraméthylrhodamine
TNF	tumor necrosis factor
TRAF	TNF receptor associated factor
TRIP	tetracyclin repressible and inducible promoter
U	région unique
UV	ultraviolet
val-ACV	valacyclovir
val-GCV	valganciclovir
VIH	virus de l'immunodéficience humaine
VPA	valproate de sodium
VZV	virus de la varicelle et du zona
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein

Introduction générale

L'herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6) appartient à la famille des *Herpesviridae*, qui regroupe plus d'une centaine d'herpèsvirus infectant animaux ou humains (Braun *et al.*, 1997). Huit herpèsvirus sont actuellement identifiés comme strictement humains. Ceux-ci sont regroupés en 3 sous-familles nommées α -, β -, et γ -*herpesvirinae*, suivant certains critères tels que les propriétés de croissance *in vitro*, les sites de latence *in vivo*, la taille et la structure du génome viral (De Bolle *et al.*, 2005). Les herpès simplex virus 1 et 2 (HSV1 et HSV2) et le virus de la varicelle et du zona (VZV) appartiennent à la sous-famille des *Alphaherpesvirinae*, le cytomégalovirus humain (HCMV) et les herpèsvirus humains de type 6 et 7 (HHV-6 et HHV-7) à la sous-famille des *Betaherpesvirinae*, alors que les *Gammaherpesvirinae* regroupent le virus d'Epstein et Barr (EBV) et l'herpèsvirus humain de type 8 (HHV-8) (Tableau 1).

Comme tous les *Herpesviridae*, l'HHV-6 est caractérisé par une primo-infection suivie d'une phase de latence, au cours de laquelle le virus est présent mais ne se réplique pas. Cette latence peut être entrecoupée d'épisodes de réactivation, pendant lesquels le virus reprend son cycle de réplication et produit des particules infectieuses.

L'HHV-6 est associé au syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse. En effet, de nombreux cas cliniques décrivent une réactivation de ce virus, et la symptomatologie de cette pathologie ressemble de façon surprenante à celle de l'exanthème subit, maladie dont est responsable l'HHV-6. Cependant le rôle de ce virus dans ce syndrome est encore peu connu et les mécanismes par lesquels il intervient restent à définir.

Par ailleurs, l'implication de l'HHV-6 dans le lymphome de Hodgkin, bien que non reconnue officiellement, est sujette à étude depuis sa découverte en 1986. La protéine virale DR7, présentant des propriétés oncogéniques, est étudiée au sein du laboratoire de virologie de la faculté de pharmacie de Limoges, notamment au niveau de son action sur le comportement cellulaire, afin de définir son rôle dans la lymphomagenèse de la maladie de Hodgkin.

Sous-famille	Virus	Taille du génome	% GC	Principaux sièges de la latence	Principales pathologies associées	Culture <i>in vitro</i>
<i>Alphaherpesvirinae</i>	HSV-1	152 kb	67	Neurones, ganglions nerveux sensitifs	Herpès oral, encéphalites	Nombreux systèmes cellulaires
	HSV-2	152 kb	69		Herpès génital, méningites	
	VZV	126 kb	46		Varicelle, zona	Fibroblastes humains
<i>Betaherpesvirinae</i>	HCMV	229 kb	57	Cellules hématopoïétiques	Syndrome mononucléosique, infections congénitales	Fibroblastes humains
	HHV-6	140-170 kb	43	Monocytes	Variant B associé la roséole infantile	Lymphocytes et lymphoblastes humains
	HHV-7	145-153 kb	36	Lymphocytes, cellules endothéliales	Non formellement associé à une maladie humaine	
<i>Gammaherpesvirinae</i>	EBV	172 kb	60	Lymphocytes B	Mononucléose infectieuse, lymphome de Burkitt, lymphome de Hodgkin, carcinome nasopharyngé	Lignées cellulaires de lymphocytes B
	HHV-8	140 kb	54	Lymphocytes B	Sarcome de Kaposi, maladie de Castleman, lymphome des séreuses	

Tableau 1 : Caractéristiques des 8 herpèsvirus humains

Après une revue de la littérature sur l'HHV-6, le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse et le lymphome de Hodgkin, le travail de thèse sera présenté.

- Une première partie traitera du rôle de l'HHV-6 dans le déroulement du syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse, *via* l'étude de la réplication virale en présence de molécules fréquemment associées à ce syndrome, et l'analyse des données virologiques relatives à une cohorte de patients atteints de cette maladie.
- Une seconde partie présentera l'action de la protéine DR7B de l'HHV-6 sur la cellule. La prolifération et la mort cellulaire de cellules surexprimant DR7B ont été analysées, et la présence de dérégulations similaires à celles retrouvées dans la cellule de Reed-Sternberg, caractéristique du lymphome de Hodgkin, a été observée.

Ce mémoire se terminera par une discussion générale, et des perspectives de recherches futures seront proposées.

Environnement bibliographique

Partie 1 : L'herpèsvirus humain de type 6

I. Historique

L'herpèsvirus humain de type 6 a été découvert de façon fortuite en 1986 (Salahuddin *et al.*, 1986). Il a été isolé à partir de cellules mononucléées du sang périphérique (peripheral blood mononuclear cells ou PBMCs) chez des patients atteints de désordres lymphoprolifératifs. Certains de ces patients étaient également porteurs du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Initialement appelé HBLV (pour Human B Lymphotropic Virus) (Josephs *et al.*, 1986) en raison de son tropisme apparent pour les cellules B *in vitro*, il fut rapidement rebaptisé HHV-6 lorsque son tropisme pour les cellules T et son appartenance aux *Herpesviridae* furent mis en évidence (Lusso *et al.*, 1988 ; Ablashi *et al.*, 1987). Deux groupes d'isolats d'HHV-6 furent ensuite distingués, selon leurs caractéristiques génétiques et antigéniques (Schirmer *et al.*, 1991). Nommés HHV-6A et HHV-6B, ces deux sous-types diffèrent par leurs tropismes, leurs propriétés de croissance *in vitro*, leur épidémiologie, leur réactivité vis-à-vis de certains anticorps monoclonaux, les séquences nucléotidiques de leurs génomes ainsi que leurs profils de restriction enzymatique (Ablashi *et al.*, 1991). HHV-6A et HHV-6B sont deux variants très proches, leurs séquences nucléotidiques présentant un pourcentage d'homologie de 90% (Dominguez *et al.*, 1999). Il existe des souches prototypes pour chaque variant : GS (isolée par Salahuddin *et al.*, 1986) et U1102 (isolée par Downing *et al.*, 1987, chez un patient ougandais séropositif pour le VIH) pour le variant A, Z29 (issue d'un patient séropositif pour le VIH originaire de Zambie, Lopez *et al.*, 1988) et HST (isolée chez un patient japonais atteint d'exanthème subit, Yamanishi *et al.*, 1988) pour le variant B.

II. Morphologie du virus

II.1. Ultrastructure du virion

Comme tous les herpesvirus, le virion de l'HHV-6 est composé de quatre éléments structuraux majeurs (Roizman et Pellet, 2001) (figure 1) :

- un noyau, d'environ 60 nm de diamètre, contenant le génome viral composé d'ADN bicaténaire linéaire de 160 à 162 kb,
- une nucléocapside à symétrie icosaédrique contenant 162 capsomères, et de taille comprise entre 90 et 110 nm,
- un tégument protéique, correspondant à l'espace situé entre la nucléocapside et l'enveloppe, d'épaisseur comprise entre 20 et 40 nm. Il est constitué de phosphoprotéines et d'enzymes nécessaires au métabolisme nucléotidique et à la réplication de l'ADN,
- une enveloppe, dérivant des membranes cellulaires, composée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchâssées de nombreux spicules de glycoprotéines virales.

Le diamètre des virions est d'environ 200 nm.

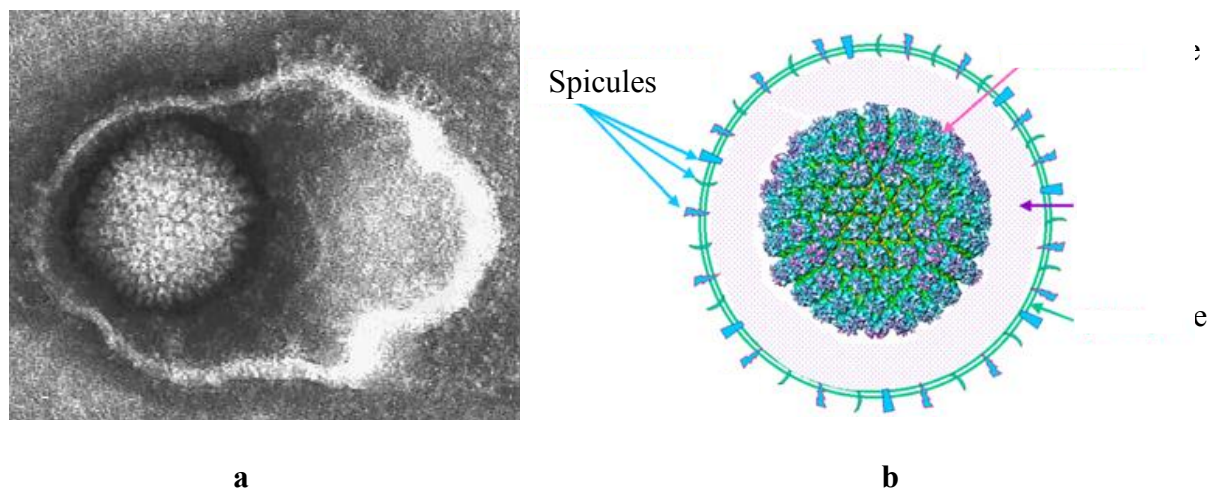


Figure 1 : Ultrastructure des herpesvirus

a. : photographie en microscopie électronique (www.sciencedaily.com)

b. : représentation schématique

II.2. Génome

Le génome d'HHV-6 est composé d'une molécule d'ADN bicaténaire linéaire de 162 kb pour le type B et 160 kb pour le type A. Les génomes de la souche U1102 de l'HHV-6A et des souches Z29 et HST de l'HHV-6B ont été entièrement séquencés (Dominguez *et al.*, 1999 ; Gompels *et al.*, 1995 ; Isegawa *et al.*, 1999).

L'architecture génomique de l'HHV-6 est également trouvée chez l'HHV-7 mais aussi chez le virus du poisson chat (Chanel catfish virus). Elle consiste en une région unique (U1 à U100) de 143 (variant A) à 145 kb (variant B), flanquée de régions terminales répétées et orientées dans le même sens, nommées DR_L et DR_R pour Direct Repeats Left et Direct Repeats Right (figure 2). La longueur des DR peut varier de 8 à 9 kb en fonction du nombre de passages du virus *in vitro*. Bien que leur rôle soit peu connu, les DRs semblent intervenir dans :

- la circularisation du génome viral au cours de la réplication, la présence de séquences identiques et répétées à chaque extrémité du génome facilitant un tel processus.
- le clivage et l'empaquetage de l'ADN, grâce à la présence de séquences nommées pac-1 et pac-2 permettant cet événement (Gompels et Macaulay, 1995 ; Torelli *et al.*, 1995).
- l'intégration potentielle du génome viral, grâce à la présence de répétitions de l'hexanucléotide GGGTTA, qui est une séquence télomérique humaine caractéristique (Thompson *et al.*, 1994 ; Daibata *et al.*, 1999).

La région unique comporte les 7 blocs de gènes conservés au sein des *Herpesviridae* (notés I à VII) codant principalement pour les composants de la structure du virion et les enzymes nécessaires au métabolisme nucléotidique et à la réplication de l'ADN, un bloc caractéristique des *β-herpesvirinae* (U2 à U19) dont la plupart des gènes appartient à la famille des gènes US22 du HCMV, tels que *U2*, *U3*, *U14* et *U16*. Trois régions intermédiaires répétées désignées R1, R2 et R3 sont situées à l'extrémité droite du segment U. R1 est composée de répétitions qui codent un domaine SR, R2 est une répétition du dinucléotide TG et R3 est une répétition de 110 pb contenant des sites *Kpn* en tandem.

Les régions du génome présentant des variations d'homologie significatives entre les variants sont les DRs et une région de 24 kb située à droite du gène U86 (U86 à U100) où 72% d'homologie sont retrouvés, à l'exception du gène *U94*, qui est homologue au gène *rep*

de l'AAV-2 (adeno-associated virus 2), et identique à 97,6% entre les variants A et B (Clark, 2000). La région IE-A (de U86 à U90) présente notamment une faible homologie entre les deux variants (31% d'identité).

Le génome de l'HHV-6B contient 97 gènes codant 119 cadres ouverts de lecture (ou ORFs : Open Reading Frame) dont 9 sont absents dans le génome de l'HHV-6A. Ces 9 ORFs sont annotés B1 à B9. Par ailleurs 9 autres ORFs de l'HHV-6A n'ont pas de correspondance chez l'HHV-6B, à cause de mutations dans le cadre de lecture (Dominguez *et al.*, 1999).

III. Tropisme cellulaire

L'HHV-6 est un virus strictement humain, et ne peut donc se répliquer que dans des cellules d'origine humaine.

In vivo, l'HHV-6 possède la capacité d'infecter un grand nombre de types cellulaires. Ce virus est principalement trouvé dans les lymphocytes T CD4⁺ (Lusso *et al.*, 1988, Takahashi *et al.*, 1989), les lymphocytes T CD8⁺, les cellules NK (Natural Killers), les monocytes/macrophages, les cellules endothéliales tubulaires rénales, les cellules endothéliales des vaisseaux, les astrocytes, les hépatocytes, les oligodendrocytes, les cellules épithéliales (notamment des glandes salivaires) (Hall *et al.*, 1998).

L'HHV-6A et l'HHV-6B se répliquent efficacement *in vitro* dans des lymphocytes T primaires activés (Yamanishi, 2001). L'HHV-6 est relativement difficile à cultiver *in vitro*, toutefois plusieurs isolats ont été adaptés à la culture sur lignées cellulaires T transformées. La souche GS de l'HHV-6A est fréquemment co-cultivée avec la lignée humaine T lymphoblastoïde HSB2, et la souche U1102 est cultivée sur les cellules humaines T lymphoblastoïdes J JHAN. Concernant le variant B de l'HHV-6, la souche Z29 a été adaptée à la culture sur la lignée T lymphocytaire Molt-3, alors que la souche HST se propage préférentiellement au sein de cellules lymphoblastoïdes T humaines MT4 (Braun *et al.*, 1997 ; Clark, 2000). D'autres lignées cellulaires peuvent être utilisées pour cultiver l'HHV-6 *in vitro*, tels que les cellules neuronales, les oligodendrocytes, les cellules épithéliales, les fibroblastes ou encore les mégacaryocytes, mais la réplication virale observée y est souvent plus faible que dans les lymphocytes T (Ablashi *et al.*, 1987 ; Chen *et al.*, 1994a ; Simmons *et al.*, 1992 ; Luka *et al.*, 1990).

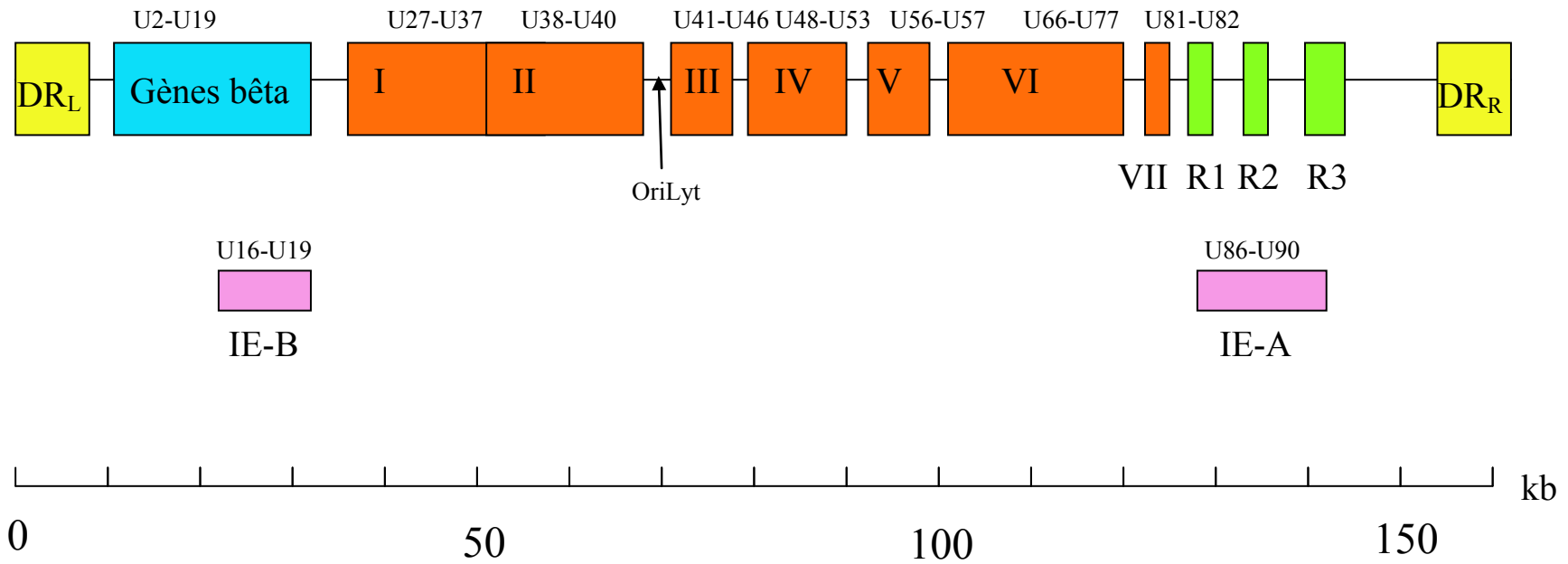


Figure 2 : Représentation schématique du génome de l'HHV-6 (Pellet et Dominguez, 2001)

La molécule CD46 est un récepteur cellulaire permettant l'interaction de l'HHV-6 (variants A et B) avec la cellule-hôte. Cette glycoprotéine est exprimée à la surface de toutes les cellules nucléées, et intervient dans la régulation du complément. Un ou plusieurs co-récepteurs (encore inconnus) nécessaires à l'entrée du virus dans la cellule-hôte doivent très probablement exister car certaines lignées cellulaires T exprimant CD46 ne sont pas permissives à l'entrée de l'HHV-6 dans la cellule (Santoro *et al.*, 1999).

IV. Cycle réplicatif

Le cycle de multiplication viral de l'HHV-6, caractérisé par la production de particules virales, est décrit classiquement comme la succession de plusieurs étapes (De Bolle *et al.*, 2005). Il est considéré comme un cycle long, car sa durée est supérieure à 48 heures.

IV.1. Interaction avec le récepteur, entrée dans la cellule hôte

Les deux variants de l'HHV-6 utilisent le récepteur CD46 pour interagir avec la cellule-hôte. Le complexe formé par les glycoprotéines virales gH, gL et gQ (codées respectivement par les gènes *U48*, *U82* et *U100*) sert de ligand pour le récepteur CD46 (Mori *et al.*, 2003a et b). Un autre complexe, formé des glycoprotéines gH, gL et gO (gène *U47*) se lie probablement à un autre récepteur non identifié (Pedersen et Hollsberg, 2006). Après reconnaissance des récepteurs cellulaires, l'enveloppe virale fusionne avec la membrane cellulaire, et la nucléocapside libérée dans le cytoplasme est ensuite transportée à travers celui-ci vers le noyau cellulaire, en utilisant le réseau de microtubules. Le génome viral est alors libéré et injecté dans le nucléoplasme, au travers d'un pore nucléaire.

IV.2. Transcription et réplication de l'ADN viral

La machinerie cellulaire transcriptionnelle et traductionnelle est utilisée afin de produire trois classes de protéines virales.

- Les protéines très précoces dites IE (Immediate Early) ou α , sont pour la plupart des protéines transactivatrices régulant notamment l'expression d'autres gènes viraux, tels que les gènes codant les protéines IE1 et IE2, et dont les ARN messagers (ARNm)

sont détectés environ 3h après l'entrée du virus dans la cellule. Les gènes α codent pour des protéines qui jouent un rôle sur le cycle cellulaire et forcent la cellule à passer en phase de synthèse, afin de fournir au virus ce qui lui est nécessaire pour sa réplication.

- Les protéines précoces dites E (Early) ou β , sont principalement impliquées dans le métabolisme et la réplication de l'ADN viral, et leurs ARN messagers sont détectés entre 3 et 8h après l'infection. La transcription des gènes β est activée par les protéines α . Les gènes β codent notamment pour l'ADN polymérase virale (*U38*), et la protéine de liaison à l'ADN (*U41*).
- Les protéines tardives dites L (Late) ou γ peuvent être glycosylées ; ce sont des composants structuraux de la particule virale, dont les ARNm sont détectés entre 8 et 72h après l'infection. Les gènes γ codent pour des protéines de structure de la capside (*U57*) et de l'enveloppe (*U48*), et leur transcription est activée par les protéines β .

La cascade de transcription du génome de l'HHV-6 inclut également des phénomènes de rétrocontrôle puisque les protéines β et γ peuvent respectivement réguler négativement la transcription de gènes α et β (figure 3).

La réplication de l'ADN nécessite différents facteurs codés par des gènes viraux. Après son entrée dans le noyau, le génome viral se circulariserait par juxtaposition des DRs, (non démontré pour l'HHV-6) (Garber *et al.*, 1993). Un complexe de réplication de l'ADN est formé par l'ADN polymérase (codée par le gène *U38*), la protéine majeure de liaison à l'ADN (codée par le gène *U41*), et un complexe hélicase/primase impliquant les produits des gènes *U43*, *U74* et *U77*. La protéine codée par le gène *U83* se lie à l'origine de réplication (*ori-Lyt*), dénature une partie du génome viral et effectue une coupure simple brin donnant des extrémités 3'-OH et 5'-P. L'ADN polymérase utilise une extrémité 3'-OH comme amorce et la réplication de l'ADN viral s'effectue selon le principe du « cercle roulant », avec une déshybridation du brin d'ADN extérieur au fur et à mesure que la réplication progresse. Des amorces simple brin se fixent sur le brin matrice extérieur, permettant ainsi la synthèse discontinue de fragments double brin (fragments d'Okazaki). La réplication ne s'arrête pas après synthèse complète du brin interne ou synthèse discontinue du brin externe, car le brin néo-synthétisé sert de matrice pour le brin complémentaire, ce qui entraîne la formation de concaténaires, c'est-à-dire plusieurs copies du génome à la suite.

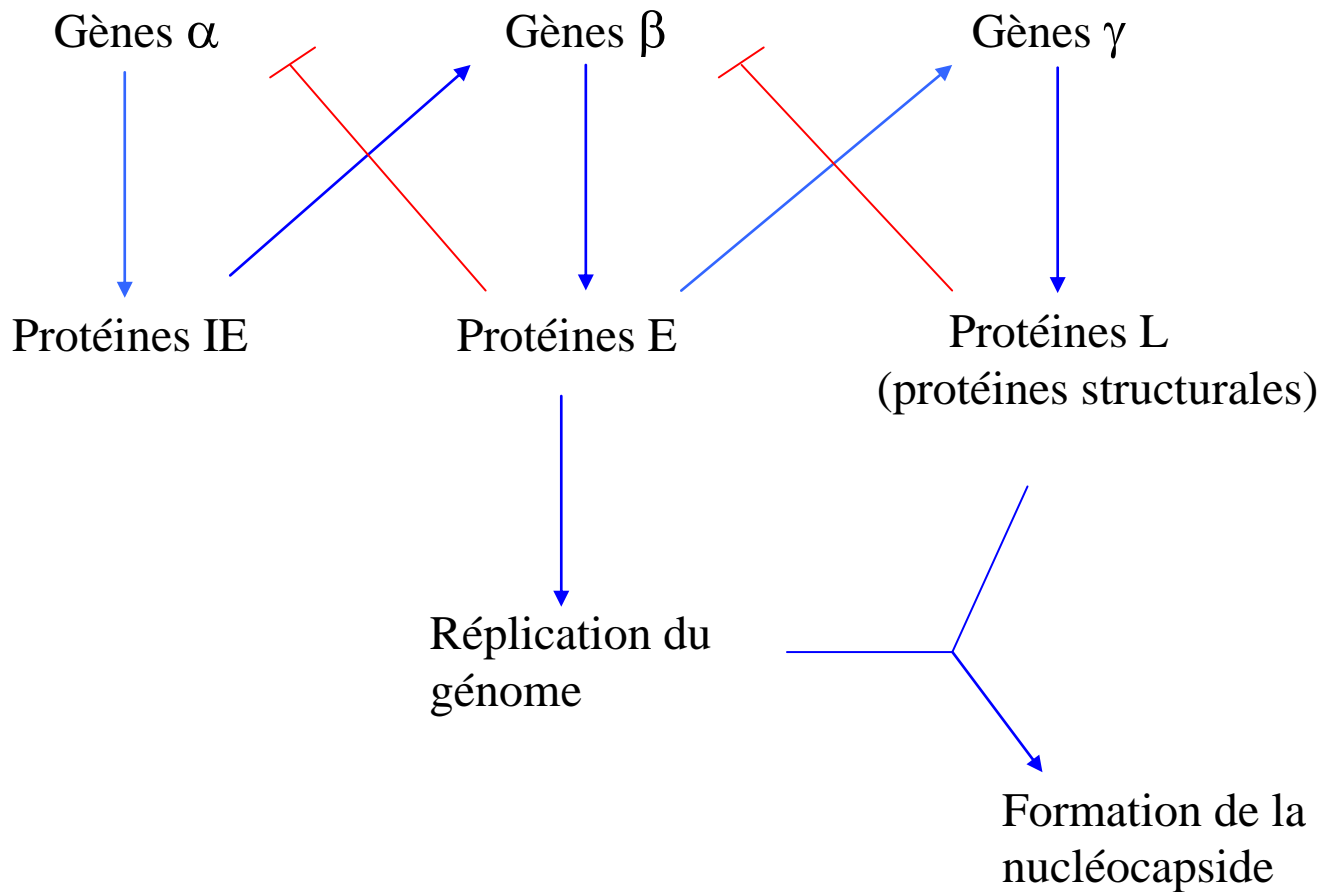


Figure 3 : Régulation coordonnée des gènes de l'HHV-6

IV.3. Assemblage de la capside

Les protéines γ produites permettent l'assemblage de la capside virale. Elles s'auto-assemblent dans un premier temps sous forme d'hexamères et pentamères, qui serviront à former des capsomères. Ces derniers permettent alors un assemblage creux (afin d'accueillir le génome viral) nommé pro-capside.

IV.4. Encapsidation

Les signaux spécifiques *pac* situés au sein des DRs sont reconnus par des protéines de la pro-capside. Ceci permet ainsi le clivage des brins d'ADN concatémériques néoformés et leur encapsidation par liaison des protéines de capsid, formant ainsi une nucléocapside (ou capsid mature).

IV.5. Bourgeonnement

Les nucléocapsides bourgeonnent à travers la membrane nucléaire interne, acquérant temporairement une enveloppe, qui fusionne ensuite avec la partie externe de cette membrane, libérant ainsi les nucléocapsides dans le cytoplasme (Torrise *et al.*, 1999). Elles acquièrent alors un tégument et une enveloppe secondaire pourvue de spicules au sein du complexe de Golgi ou de tégusomes, où les glycoprotéines virales s'accumulent.

IV.6. Libération des virions

Les capsides tégumentées sont prises en charge par des vésicules de transport, au sein desquelles elles sont glycosylées, déplacées vers la surface de la cellule puis libérées dans l'espace extracellulaire par exocytose. Un cycle de réplication (depuis l'entrée du virus dans la cellule jusqu'à la libération de nouveaux virions) dure environ 72h (figure 4).

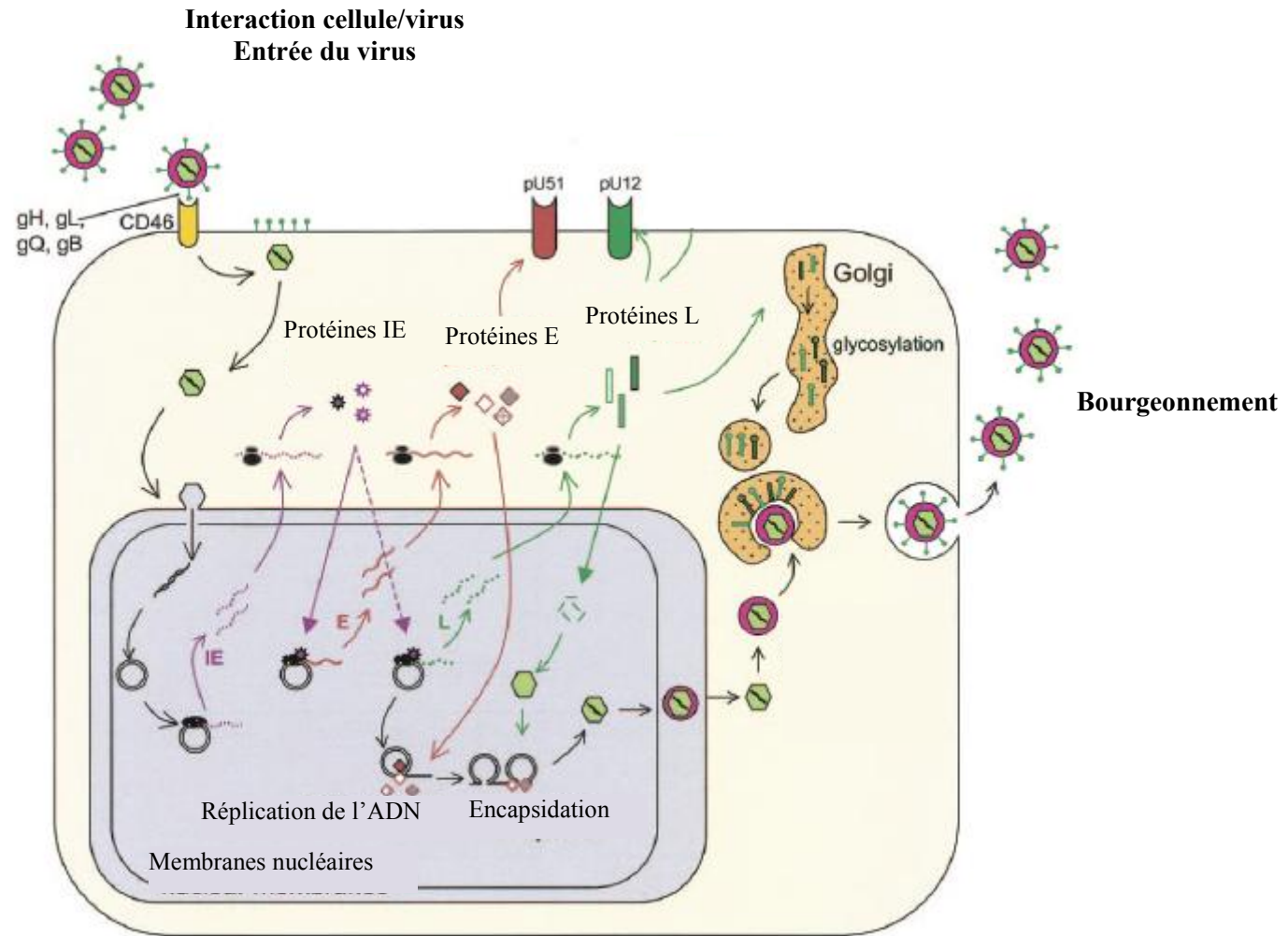


Figure 4 : Cycle de répliation lytique de l'HHV-6 (De bolle *et al.*, 2005)

V. Effets du virus sur la cellule hôte et son environnement

La cellule infectée par l'HHV-6 subit diverses modifications, telles qu'une marginalisation de la chromatine (Nii *et al.*, 1990), un arrêt de la synthèse d'ADN cellulaire dans les 65 heures suivant l'initiation de l'infection (Di Luca *et al.*, 1990), une stimulation généralisée de la synthèse protéique (Balachandran *et al.*, 1989 ; Black *et al.*, 1992), et une inhibition de la division cellulaire, conduisant au développement d'effets cytopathogènes classiques : ballonnisation provoquant la formation de cellules géantes multinucléées ou *syncytia*. Ces données suggèrent que l'HHV-6 est capable d'inhiber l'action d'un élément du cycle cellulaire qui lie la croissance cytoplasmique et la division cellulaire. L'HHV-6 possède également la capacité de moduler la fluidité membranaire de la cellule (Clark, 2000).

Des études *in vitro* ont montré que l'HHV-6 a des propriétés immunomodulatrices. Le variant A inhibe l'expression de CD3 dans les cellules T infectées, altérant ainsi la signalisation transmembranaire médiée par l'immunité (Lusso *et al.*, 1991). L'infection *in vitro* de PBMCs entraîne une diminution de la synthèse d'IL-2 (interleukine 2) (Flamand *et al.*, 1995), et l'expression de cytokines pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-6, IFN- γ (variant A) et IFN- α et TNF- α (variants A et B) (Flamand *et al.*, 1991 ; Yoshikawa *et al.*, 2006 ; Gupta *et al.*, 2009). L'infection de macrophages par l'HHV-6 entraîne une expression accrue d'IL-10 et d'IL-12.

L'infection par l'HHV-6 (variants A et B) entraîne une déplétion lymphocytaire T CD4⁺, ce qui est probablement due à une induction de l'apoptose (Inoue *et al.*, 1997 ; Ichimi *et al.*, 1999 ; Yasukawa *et al.*, 1998), *via* la production de TNF- α notamment. De plus l'entrée du virus et sa réplication ne semblent pas être requises pour l'induction de l'apoptose, qui a lieu de façon prédominante dans les cellules non infectées.

Par ailleurs, l'exposition *in vitro* à l'HHV-6A (sans qu'il y ait infection) entraîne une apoptose fortement accrue dans des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes (Gardell *et al.*, 2006).

De façon contradictoire, Takemoto *et al.* (2004) ont montré que l'infection par l'HHV-6 (variants A et B) entraîne une protection de la cellule-hôte de l'apoptose accompagnée d'une accumulation de la protéine p53, dans une variété de lignées cellulaires.

VI. Epidémiologie, transmission virale

L'HHV-6 est un virus ubiquitaire : plus de 95% de la population adulte est estimée séropositive pour les variants A et/ou B dans les pays développés, les taux d'anticorps diminuant avec l'âge (Baillargeon *et al.*, 2000). La prévalence de l'HHV-6 présente des variations géographiques allant de 70 à 100% (Bhattarakosol *et al.*, 2001 ; Ranger *et al.*, 1991 ; Wu *et al.*, 1997). Il est actuellement impossible de connaître la répartition de l'HHV-6A et l'HHV-6B car il n'existe pas de test sérologique discriminant entre ces deux variants.

La transmission virale peut se faire de différentes manières. La voie salivaire est le mode de transmission de loin le plus fréquent. Les glandes salivaires sont un site de persistance de l'HHV-6, l'ADN viral y étant fréquemment détecté (Collot *et al.*, 2002, Fox *et al.*, 1990). La transmission peut également se faire par voie transplacentaire ou périnatale. La transmission par transfusion sanguine, par allaitement ou par voie oro-fécale n'est encore pas suffisamment documentée pour juger pertinemment de ces possibilités.

La transmission par voie salivaire a généralement lieu durant la petite enfance, principalement entre 6 et 15 mois (Enders *et al.*, 1990 ; Okuno *et al.*, 1989). Des anticorps dirigés contre l'HHV-6 sont retrouvés chez 90% des enfants avant l'âge de 2 ans. Le variant B est acquis avant le variant A. Le taux d'anticorps anti-HHV-6 diminue au cours de l'enfance et l'adolescence, puis ré-augmente au cours de la vie adulte. L'âge auquel a lieu la primo-infection par le variant A est inconnu et cette infection semble être asymptomatique.

La transmission congénitale a notamment été décrite par Hall *et al.* (2004) avec une étude menée sur un grand nombre d'échantillons. Une infection congénitale par l'HHV-6 a été observée dans 1% des cas. Les infections congénitales constatées dans cette étude étaient toutes asymptomatiques. Un tiers des cas concernaient le variant A.

La transmission du virus lors de greffe de moelle a été rapportée (Jeulin *et al.*, 2009, Clark *et al.*, 2006) et apparaît donc comme possible. Kamble *et al.* (2007) associent cependant cette transmission à une forme intégrée du virus dans une étude faite sur deux cas cliniques.

VII. Physiopathologie de l'infection

VII.1. Primo-infection

L'infection primaire a généralement lieu de façon précoce dans la vie de l'hôte. La primo-infection se produit entre 6 mois et 2 ans (Asano *et al.*, 1994) après la naissance.

La primo-infection par l'HHV-6 représente 20 % des cas de maladies fébriles chez les enfants âgés de 6 à 12 mois (Hall *et al.*, 1994).

VII.2. Latence

Après la primo-infection, l'HHV-6 reste dans l'organisme qu'il continue d'infecter durant le reste de sa vie.

L'état de latence virale est défini comme une infection au cours de laquelle le génome viral est présent sous forme épisomale non répliquative dans le noyau cellulaire. L'intégrité de la cellule hôte est préservée, les antigènes viraux caractéristiques d'une infection productive ne sont pas exprimés, et il n'y a pas de production de particules virales infectieuses.

La transcription des gènes viraux est limitée au gène U94 (analogue du gène *rep* de l'AAV-2) dont le produit est capable de maintenir une infection latente dans des PBMCs (Rotola *et al.*, 1998), et à une série de transcrits associés à la latence (pour l'HHV-6B) nommés H6LTs (Kondo *et al.*, 2002) provenant de la région IE-2 du génome viral.

Les principaux sièges de latence sont les monocytes et les précurseurs des cellules souches (Kondo *et al.*, 1991 ; Luppi *et al.*, 1999). L'HHV-6 peut également rester latent dans les cellules endothéliales des vaisseaux et dans les oligodendrocytes du système nerveux central (Ahlqvist *et al.*, 2005). Une lignée cellulaire contenant l'HHV-6 latent a été établie par Bandobashi *et al.* (1997).

L'intégration chromosomique du génome viral est un phénomène associé à la latence (Arbuckle *et al.*, 2010).

VII.3. Persistance

La persistance correspond à une infection chronique pouvant se situer à différents niveaux anatomiques, et est caractérisée par un bas niveau de réplication du virus, avec production de particules virales.

Les cellules épithéliales des glandes salivaires sont un important site de persistance de l'HHV-6 (Krueger *et al.*, 1990), mais celle-ci peut également être observée dans des cellules nerveuses, des cellules cutanées ou des cellules pulmonaires.

VII.4. Réactivations

La latence peut être entrecoupée d'épisodes de réactivations, pendant lesquels le virus reprend un cycle de réplication normale. Les réactivations sont contrôlées par l'immunité, et sont fréquentes et asymptomatiques chez les sujets immunocompétents. Les patients immunodéprimés sujets à une réactivation de l'HHV-6 peuvent par contre être l'objet de complications cliniques graves voire mortelles.

VIII. Intégration chromosomique de l'HHV-6

L'intégration chromosomique du génome de l'HHV-6 dans le génome humain est un phénomène relativement rare.

Ce phénomène a initialement été montré chez trois patients : deux atteints de lymphomes et le troisième d'une sclérose en plaques (Luppi *et al.*, 1993). Pour ces patients, le site d'intégration a alors été localisé dans le chromosome 17. Plusieurs études ont ensuite identifié divers sites d'intégration du virus : 17p13 (Torelli *et al.*, 1995, Ward *et al.*, 2006), 1q44, 22q13 (Daibata *et al.*, 1998a ; 1998b ; Tanaka-Taya *et al.*, 2004). Les variants A et B peuvent, l'un comme l'autre, s'intégrer. L'intégration peut s'effectuer dans les télomères (Arbuckle *et al.*, 2010). Par ailleurs une forte charge virale sanguine est associée à une intégration virale chromosomique (Ward *et al.*, 2007), ce qui facilite sa détection par PCR quantitative. La

présence d'ADN de l'HHV-6 dans les follicules pileux permet également de conclure à la présence du virus intégré (Ward *et al.*, 2006).

La présence d'ADN viral intégré dans les chromosomes n'est pas associée à une pathologie particulière. Elle a été décrite chez des patients atteints de divers désordres lymphoprolifératifs (Luppi *et al.*, 1993), chez des transplantés (Hubacek *et al.*, 2007 ; 2009a et b), au cours d'encéphalite (Ward *et al.*, 2007), ou de syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse (Watanabe *et al.*, 2008), mais également chez des sujets sains (Ward *et al.*, 2006). La prévalence de l'intégration chromosomique de l'HHV-6 a été estimée à 0,2% dans une étude réalisée sur une cohorte de patients japonais (Tanaka-Taya *et al.*, 2004), et de 0,8% dans un groupe de donneurs de sang anglais (Leong *et al.*, 2007).

La transmission du virus intégré, avec conservation du site d'intégration, a été décrite entre parent et enfant (Daibata *et al.*, 1998b ; Mori *et al.*, 2009) et entre donneur et receveur (Clark *et al.*, 2006) lors d'une transplantation.

IX. Maladies associées à l'HHV-6

IX.1. Exanthème subit

La primo-infection du nourrisson est généralement asymptomatique. Sinon elle se manifeste par une pathologie fébrile aiguë : l'exanthème subit, ou roséole infantile (figure 5). L'exanthème subit est cependant observé chez 70 à 80 % des nourrissons faisant une primo-infection par l'HHV-6 au Japon, alors que ce chiffre est de 33% aux Etats-Unis.

L'exanthème subit, ou sixième maladie du nourrisson, se manifeste par une fièvre brutale atteignant rapidement 39 ou 40°C et durant classiquement trois jours. Une éruption cutanée a lieu au moment où la fièvre décroît : des taches superficielles roses pâles apparaissent sur le tronc et les membres durant environ 24 heures (exanthème). La primo-infection peut également se manifester par une fièvre sans éruption. L'HHV-6 variant B a été identifié comme l'agent responsable de l'exanthème subit (Yamanishi *et al.*, 1988 ; Dewhurst *et al.*, 1993 ; Hall *et al.*, 1994) alors que le variant A ne semble pas être associé à cette pathologie.



Figure 5 : Exanthème subit du nourrisson (*children.webmd.com*)

Des complications peuvent survenir suite à une primo-infection symptomatique par l'HHV-6. Des convulsions sont le plus fréquemment observées (13 % des cas de complications infantiles) mais des otites, ou des symptômes touchant les tractus respiratoires ou gastro-intestinaux peuvent également survenir (Asano *et al.*, 1994 ; Barone *et al.*, 1995 ; Hall *et al.*, 1994 ; Kondo *et al.*, 1993, Torre *et al.*, 2005 ; Ward et Gray, 1994). Des atteintes du système nerveux central ont été constatées en de rares occasions : des méningites et des encéphalites ont pu être observées suite à une infection par l'HHV-6 (Yoshikawa et Asano, 2000 ; Kato *et al.*, 2003 ; Birnbaum *et al.*, 2005). Des cas graves d'hépatites aiguës voire fulminantes, de thrombocytopénies ou de syndromes hémophagocytaires ont également été ponctuellement observés. Néanmoins, la plupart des infections à l'HHV-6 ne sont pas symptomatiques ou sont simplement bénignes, et guérissent alors spontanément (De Bolle *et al.*, 2005).

La primo-infection de l'adulte est très rare et semble se manifester beaucoup plus sévèrement que celle du nourrisson, notamment dans le cas de sujets immunodéprimés, qui peuvent alors développer des syndromes mononucléosiques ou des hépatites fulminantes (Akashi *et al.*, 1993 ; Sumiyoshi *et al.*, 1995 ; Sobue *et al.*, 1991). La primo-infection d'un sujet immunodéprimé peut être fatale.

L'infection primaire par le variant A de l'HHV-6 est encore très peu caractérisée.

IX. 2. Infection des immunodéprimés

L'HHV-6 est un virus opportuniste. La réactivation de l'HHV-6B est fréquemment observée chez les patients transplantés, qui sont soumis à un traitement immunosuppresseur afin d'éviter un éventuel rejet de la greffe. Cette réactivation est une source importante de morbidité et de mortalité (Yoshikawa, 2003).

a. Transplantations

Les receveurs de moelle osseuse ou de cellules souches sont particulièrement touchés par ce phénomène qui entraîne de sérieuses complications, telles que des encéphalites, des pneumonies, un retard ou une absence de prise de la greffe, des dysfonctions du système nerveux central ou une mortalité accrue (Dockrell et Paya, 2001 ; de Pagter *et al.*, 2008). De façon beaucoup plus rare, une suppression médullaire, une réaction du greffon contre l'hôte, un rash cutané ou de la fièvre peuvent également être observés.

La réactivation de l'HHV-6 chez les sujets recevant une transplantation d'organe (rein, foie, cœur) est moins fréquente que chez les greffés de moelle osseuse et peut entraîner des manifestations cliniques similaires, mais surtout des neutropénies, des rashes cutanés, de la fièvre un rejet de l'organe transplanté, voire une encéphalite (Pradeau *et al.*, 2006 a et b). Elle induit également une augmentation de l'incidence d'infections fongiques (Abdel Massih Razonable, 2009). L'HHV-6 peut être transmis *via* un greffon, donnant lieu alors à une réinfection.

Une primo-infection chez un transplanté est associée à une forte sévérité des complications cliniques.

b. SIDA

Certains auteurs pensent que l'infection par l'HHV-6A favorise la progression du VIH chez les patients atteints du syndrome d'immunodéficience humaine (SIDA). L'HHV-6 a fréquemment été isolé à partir de prélèvements effectués chez des sujets infectés par le VIH (Salahuddin *et al.*, 1986 ; Levy *et al.*, 1990 ; Agut *et al.*, 1988) et sa présence a été associée à des charges virales de VIH-1 accrues (Emery *et al.*, 1999 ; Knox et Carrigan, 1996). Plusieurs

protéines de l'HHV-6 ont été montrées comme transactivant le LTR (Long Terminal Repeat) du VIH, suggérant une stimulation de sa réplication : DR7, U3, U27, U94, et les protéines issues des loci IE-A et IE-B (Kashanchi *et al.*, 1997, Mori *et al.*, 1998 ; Zhou *et al.*, 1994 ; Mori *et al.*, 2000 ; Flebbe-Rehwaldt *et al.*, 2000 ; Gravel *et al.*, 2003). Lusso et son équipe ont proposé l'hypothèse selon laquelle l'HHV-6 et le VIH-1 agiraient de concert en infectant et lysant les cellules T CD4⁺, accentuant ainsi l'immunosuppression et catalysant la progression du SIDA (Lusso *et al.*, 1989).

L'infection active par l'HHV-6 est fréquemment détectée chez les patients séropositifs pour le VIH, mais elle est généralement asymptomatique. Des cas isolés ont cependant permis d'associer la réactivation de l'HHV-6 avec des lymphomes, des rétinites, des encéphalites ou des pneumonies (Qavi *et al.*, 1995 ; Reux *et al.*, 1992 ; Knox *et al.*, 1995a et b ; Nigro *et al.*, 1995).

IX.3. Cancers

L'HHV-6 a été initialement isolé à partir de PBMCs chez six patients atteints de lymphoproliférations, dont un lymphome T cutané, un lymphome immunoblastique et une leucémie lymphoïde aigüe (Salahudin *et al.*, 1986). Diverses études ont depuis montré l'association de l'HHV-6 à des pathologies malignes hématologiques (Ogata *et al.*, 2009). Un rôle pathogénique de l'HHV-6 a été suggéré lorsqu'il a été montré qu'une partie de son génome présentait des capacités à transformer des lignées cellulaires de fibroblastes murins et de kératinocytes humains (Razzaque *et al.*, 1990 ; 1993). Par ailleurs certains gènes de l'HHV-6 codent pour des protéines transactivatrices, dont la protéine DR7 pour laquelle des propriétés transformantes ont été mises en évidence (Kashanchi *et al.*, 1997).

Le lymphome de Hodgkin a notamment été associé à une infection par l'HHV-6 (Torelli *et al.*, 1991). Plusieurs études ont permis d'identifier la présence de l'HHV-6 dans des tissus hodgkiniens, par PCR principalement (Sumiyoshi *et al.*, 1993 ; Valente *et al.*, 1996 ; Collot *et al.*, 2002, Ranger-Rogez *et al.*, 2006). Le variant B y est majoritairement retrouvé (Schmidt *et al.*, 2000 ; Lacroix *et al.*, 2007). Par ailleurs, l'HHV-6 semble principalement détecté lorsque le sous-type de la maladie de Hodgkin est scléro-nodulaire (Torelli *et al.*, 1991, Collot *et al.*, 2002 ; Lacroix *et al.*, 2007). Le rôle potentiel de l'HHV-6 dans le lymphome de Hodgkin sera abordé en

détails ultérieurement.

De façon analogue, plusieurs études ont permis d'identifier la présence de l'HHV-6 chez des patients atteints de leucémies aiguës (Salonen *et al.*, 2002) ou de divers lymphomes non-hodgkiniens (Jarrett *et al.*, 1988). Il peut s'agir de lymphomes B ou T (Collot *et al.*, 2002 ; Sumiyoshi *et al.*, 1993), principalement de lymphomes T angio-immunoblastiques (Luppi *et al.*, 1993 ; 1998 ; Zhou *et al.*, 2007).

Enfin, un lien a été suggéré entre l'HHV-6 et les carcinomes cervicaux (Chen *et al.*, 1994b ; Wang *et al.*, 1994) ou oraux (De Bolle *et al.*, 2005), ou les tumeurs gliales (Crawford *et al.*, 2009).

IX.4. Maladies du système nerveux central chez les immunocompétents

L'HHV-6 est un virus neuro-invasif, le variant A ayant un caractère plus neurotrope que le variant B.

Les encéphalites induites par une infection par l'HHV-6 sont un phénomène relativement rare, qui s'accompagne généralement de comas ou de crises convulsives. Quelques cas d'encéphalites congénitales dues à une infection par l'HHV-6 ont entraîné des retards psychomoteurs. Une infection chronique du système nerveux central peut donner lieu à des convulsions récurrentes. Des cas de méningite ou d'encéphalomyélite peuvent également être associés à une infection par l'HHV-6 (Denes *et al.*, 2004).

Le variant A de l'HHV-6 est actuellement de plus en plus étudié pour son rôle potentiel dans la sclérose en plaques. Des taux accrus d'anticorps ont été détectés chez des patients atteints de cette maladie démyélinisante, par rapport à des sujets sains (Soldan *et al.*, 1997, Ablashi *et al.*, 2000). De plus, de l'ADN viral a été trouvé dans des oligodendrocytes de plaques démyélinisées, alors qu'il n'est pas trouvé dans des oligodendrocytes de sujets sains (Challoner *et al.*, 1995), et une étude a montré que les patients atteints de sclérose en plaques développent une réponse lymphoproliférative à l'HHV-6A dans une proportion de cas significativement supérieure à des individus sains (Soldan *et al.*, 2000 ; Tejada-Simon *et al.*, 2003).

Un rôle potentiel de l'HHV-6B (avec l'HHV-7) est également soupçonné dans l'épilepsie (Theodore *et al.*, 2008), et plus particulièrement l'épilepsie mésiale du lobe temporal (Fotheringham *et al.*, 2007). L'induction d'une déficience en transport de glutamate (phénomène

impliqué dans l'épilepsie du lobe temporal) dans les astrocytes infectés par l'HHV-6 a récemment été montrée (Fotheringham *et al.*, 2008).

IX.5. Syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse

Les syndromes d'hypersensibilité médicamenteuse ou DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) ou DIHS (Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome) sont une pathologie de description récente, caractérisée par une forte fièvre, une éosinophilie, un rash cutané important et un développement possible de manifestations viscérales, en réaction à une prise médicamenteuse. La réactivation de l'HHV-6 a été associée à cette maladie (Descamps *et al.*, 2001) et décrite dans de nombreux cas cliniques (Michel *et al.*, 2005 ; Tamagawa-Mineoka *et al.*, 2007 ; Aouam *et al.*, 2008). Cette partie sera discutée plus en détails ultérieurement.

X. Diagnostic

X.1. Isolement du virus par culture

L'HHV-6 peut être co-cultivé avec des lymphocytes issus de sang de cordon ou de sang périphérique, dans ce cas activés par un traitement par la phytohématagglutinine, et maintenus grâce à de l'interleukine-2. Du polybrène et du sérum anti-interféron peuvent également être utilisés afin de faciliter l'infection cellulaire. La réplication virale est alors identifiable par l'observation d'un effet cytopathogène des cellules (ballonisation, apparition de *syncytia*) (figure 6).

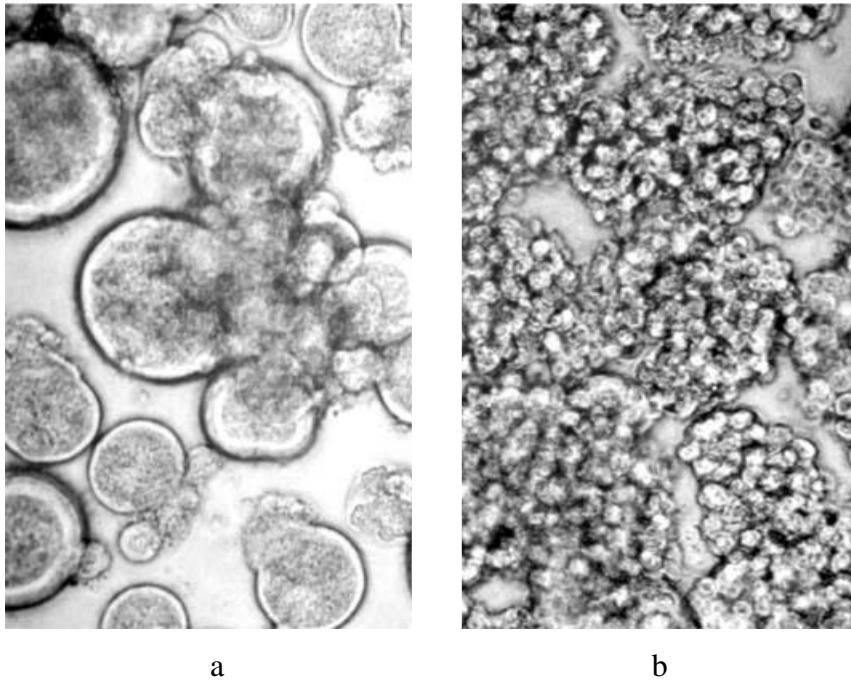


Figure 6 : Effet cytopathogène de l’HHV-6, a : cellules infectées, b : cellules saines

X.2. Détection d’antigènes viraux

La réplication de l’HHV-6 peut être confirmée par la détection d’antigènes viraux à l’aide d’anticorps monoclonaux. Ceci peut être effectué sur des PBMCs fixés sur lame (immunofluorescence indirecte). La détection d’antigène viral sur ces cellules (ou antigénémie) permet alors de conclure à une infection active. Cette technique est rarement utilisée car peu sensible. La recherche d’antigènes viraux peut aussi être effective sur des coupes de biopsies tissulaires ou toutes autres cellules issues d’un produit pathologique (immuno-histochimie).

X.3. PCR

Le diagnostic d’infection par l’HHV-6 se fait essentiellement par PCR. La PCR quantitative est principalement utilisée actuellement, car elle bénéficie de bonnes sensibilité et reproductibilité. Etant donnée la forte prévalence de l’HHV-6, la détection de ce dernier par PCR qualitative ne permet pas de conclure à une infection active, à moins d’utiliser des prélèvements acellulaires (sérum, plasma). Concernant les PBMCs, une forte charge virale doit être détectée

pour pouvoir diagnostiquer une primo-infection ou réactivation de l'HHV-6 (Pradeau *et al.*, 2006b).

La détection d'ARN messagers de l'HHV-6 par RT-PCR peut permettre d'identifier l'état de latence ou de réplication du virus (Pradeau *et al.*, 2006a). En effet certains transcrits des gènes IE1 et EI2 de l'HHV-6 sont associés à la latence et leur détection peut permettre de conclure à la latence virale, en l'absence d'autres transcrits viraux (Yoshikawa *et al.*, 2003, Kondo *et al.*, 2002 ; 2003).

X.4. Sérologie

La détection d'anticorps, à partir de sérum de patients, est également utilisée. Diverses techniques de révélation peuvent être utilisées, telles que l'immunofluorescence (Krueger *et al.*, 1991), l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Parker et Weber, 1993 ; Nigro *et al.*, 1995). L'immunofluorescence est actuellement la technique de référence. La séroconversion des immunoglobulines de classe G (IgG) reste le principal critère permettant le diagnostic d'une primo-infection par l'HHV-6, car la présence d'IgM anti-HHV-6 ne reflète pas exclusivement l'état réplcatif du virus (Ueda *et al.*, 1989 ; Suga *et al.*, 1992).

XI. Traitements anti-HHV-6

L'infection active par l'HHV-6, bien que généralement asymptomatique ou peu sévère, peut causer des complications graves notamment chez les patients immunodéprimés et nécessite dans ce cas un traitement. Les principales molécules antivirales utilisées actuellement pour le traitement des infections par l'HHV-6 sont des inhibiteurs de l'ADN polymérase virale, et sont également utilisées pour le traitement des infections par le HCMV (ganciclovir, valganciclovir, acyclovir, valacyclovir, cidofovir et foscarnet).

XI.1. Analogues nucléosidiques

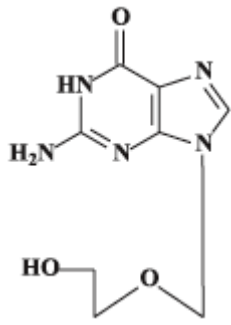
L'acyclovir (ACV), le ganciclovir (GCV) et leur pro-drogues orales, respectivement le valacyclovir (val-ACV) et le valganciclovir (val-GCV) (figure 7), ciblent l'ADN polymérase virale par compétition avec un de ses substrats naturels : la désoxyguanosine. Le val-ACV et le val-GCV, absorbés oralement, sont rapidement convertis respectivement en ACV et GCV, par une hydrolase présente dans le tractus gastro-intestinal et le foie (Soul-Lawton *et al.*, 1995). L'ACV et le GCV doivent être sous forme triphosphorylée pour être actifs. La première phosphorylation est assurée par la phosphotransférase virale codée par le gène *U69*, capable de convertir des analogues nucléosidiques en leurs dérivés monophosphates (Ansari et Emery, 1999). Les deuxième et troisième phosphorylations sont catalysées par des kinases cellulaires. Une fois triphosphorylés, l'ACV et le GCV sont incorporés dans le brin d'ADN en cours de synthèse, entraînant ainsi l'arrêt de la synthèse d'ADN. Le GCV présente une meilleure activité antivirale que l'ACV, et est donc plus fréquemment utilisé (Agut *et al.*, 1991 ; Yoshida *et al.* 1998) mais cette molécule peut également causer d'importants effets secondaires suivant la dose administrée, essentiellement des leuconéutropénies, des thrombocytopénies (McGavin et Goa, 2001), et plus rarement des troubles rénaux ou des troubles neurologiques (Gandhi et Khanna, 2004).

XI.2. Analogues nucléotidiques

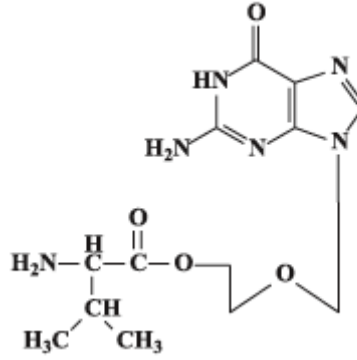
Le cidofovir (CDV) est un analogue de la déoxycytosine monophosphate (figure 7). Sachant que sa structure primaire comprend un groupement phosphate, cette molécule n'a pas besoin d'être phosphorylée par une enzyme virale. Les kinases cellulaires la convertissent en sa forme triphosphate qui est un compétiteur de la déoxycytosine triphosphate (dCTP), substrat naturel de l'ADN polymérase. Le CDV triphosphate présente une affinité moindre pour les ADN polymérases cellulaires que pour l'ADN polymérase virale. Le CDV présente un spectre d'action très large dirigé contre de nombreux virus à ADN. Il montre une forte activité contre l'HHV-6 *in vitro* (Reymen *et al.*, 1995) mais n'est utilisé cliniquement qu'en deuxième intention (après le ganciclovir) en raison d'une toxicité rénale et médullaire importante, et de nombreux effets indésirables : fièvre, asthénie, alopecie, neuropathie périphérique (Gandhi et Khanna, 2004)

XI.3. Analogue du pyrophosphate

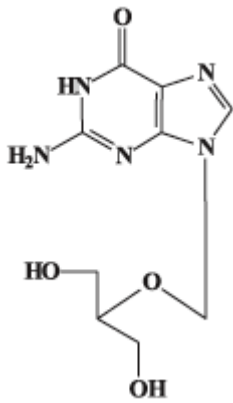
Le foscarnet (figure 7) est un analogue du pyrophosphate inorganique (ppi), et ne nécessite pas l'intervention préalable d'enzymes virales ou cellulaires pour être actif. Son spectre d'action est large ; il possède notamment une activité antivirale dirigée contre le VIH et tous les herpèsvirus. Le foscarnet entre en compétition avec les ppi, et bloque leur site de liaison sur l'ADN polymérase, ce qui empêche le clivage des désoxyribonucléotides triphosphates en désoxyribonucléotides diphosphates et ppi. Le foscarnet présente une toxicité rénale importante. Quelques effets indésirables peuvent être associés à l'administration de foscarnet. Il s'agit le plus souvent de troubles digestifs tels que des nausées et des vomissements. D'autres troubles peuvent aussi apparaître comme une hypocalcémie, une anémie, ou des ulcérations péniennes (Gandhi et Khanna, 2004).



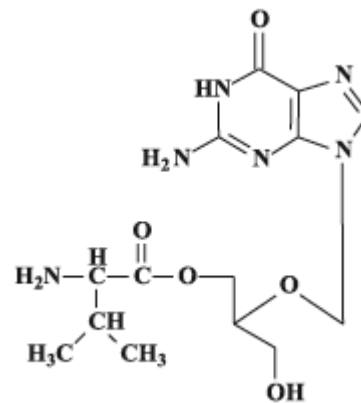
Acyclovir (Zovirax ®)



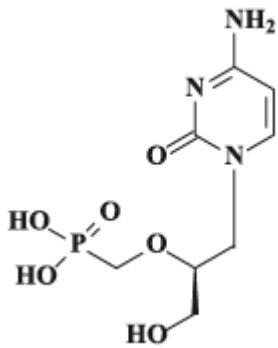
Valacyclovir (Zelitrex ®)



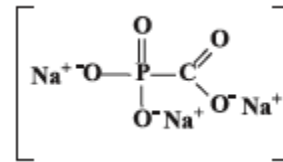
Ganciclovir (Cymevan ®)



Valganciclovir (Roalcyte ®)



Cidofovir (Vistide ®)



Foscarnet (Foscavir ®)

Figure 7 : Principaux analogues utilisés dans le traitement des infections par l'HHV-6

XI.4. Efficacité et avenir

La recherche de molécules ayant une activité anti-HHV-6 efficace a généralement été associée à celle de drogues présentant une activité antivirale dirigée contre le HCMV, qui, avec l'HHV-6 et l'HHV-7, appartient à la sous-famille des *β-herpesvirinae*. Une étude comparative de l'activité *in vitro* de l'ACV, du GCV, du CDV et du foscarnet a permis de désigner le CDV et le foscarnet comme les molécules présentant l'activité anti-HHV-6 la plus efficace (De Clercq *et al.*, 2001). Lorsque ces molécules sont testées sur des lignées cellulaires T infectées (par le variant A ou B de l'HHV-6), le foscarnet présente le meilleur potentiel. Des résistances de l'HHV-6 au GCV (Isegawa *et al.*, 2009 ; Manichanh *et al.*, 2001, Safronetz *et al.*, 2003), au foscarnet (Bonnafeous *et al.*, 2007) ou au CDV (Bonnafeous *et al.*, 2008) ont été décrites. Ces résistances sont caractérisées par des mutations des gènes U38 et/ou U69, codant respectivement pour la phosphotransférase virale et l'ADN polymérase virale.

De Clercq et Naesens ont testé une série d'analogues nucléosidiques, nucléotidiques et non nucléosidiques dans une étude récente (2006). Certaines prodrogues du CDV (analogues nucléotidiques) semblent présenter un intérêt mais le candidat le plus prometteur est un analogue non nucléosidique : le CMV423 (2-chloro-3-pyridin-3yl-5,6,7,8-tetrahydroindolizine-1-carboxamide), qui montre également une activité anti-HCMV efficace (Snoeck et De Clercq, 2002). Une série de dérivés arylsulfoniques a également été testée pour son activité anti- β -herpèsvirus. Deux composés se sont révélés intéressants bien que leurs modes d'action restent encore inconnus (Naesens *et al.*, 2006).

Yao *et al.* (2009) ont également montré *in vitro* l'activité anti-HHV-6 de deux autres molécules sur des PBMCs infectés : la (r)-9[4-Hydroxy-2-(hydroxyméthyl)butyl]guanine (H2G) et le 3-azido-3-déoxythimidylyl-(5'-2'-0)-3'-O-octadécyl-*sn*-glycérol. Ce dernier résulte d'une liaison entre la zidovudine et le foscarnet *via* un résidu lipophile octadécylglycérol.

Le maribavir, une molécule prometteuse dans le traitement antiviral du HCMV car capable d'inhiber sa protéine kinase, s'est montré inactif contre l'HHV-6 (Williams *et al.*, 2003, De Clercq et Naesens, 2006).

Partie 2 : Le syndrome d'hypersensibilité

médicamenteuse

I. Historique

Le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse également appelé DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms), DIHS (Drug Induced Hypersensitivity Syndrome) ou encore « anticonvulsant hypersensitivity syndrome », est une pathologie de caractérisation récente, qui survient en réaction à une prise médicamenteuse, et se manifeste par divers symptômes.

Initialement mentionnée par Chaiken *et al.* (1950), qui traitèrent un cas d'hépatite avec jaunisse suite à une prise de phénytoïne, cette pathologie fut ensuite décrite plus tard par Haruda *et al.* (1979) qui décrivent alors des éruptions cutanées suivies de fièvre, pharyngite, lymphadénopathie, éosinophilie, et hépatite, suite à une prise de phénytoïne. Un certain délai fut observé entre la prise médicamenteuse et le déclenchement des symptômes.

D'autres cas mentionnant une symptomatologie identique furent publiés, notamment des DRESS en réaction à une prise de phénobarbital ou carbamazépine (Shear et Spielberg, 1988 ; McGeachy et Bloomer, 1953 ; Pellock, 1987). En 1996, le cas clinique d'un enfant de 7 ans fut publié dans le journal « *New England Journal of Medicine* ». La présence de lymphocytes atypiques fut découverte dans son sang après qu'il eut pris de la carbamazépine et de la phénytoïne suite à des convulsions (Gorlin et Ferry, 1996).

Dans une étude rétrospective, Callot *et al.* (1996) distinguent le syndrome d'hypersensibilité et le pseudolymphome induit par une drogue comme deux entités différentes, en observant que le pseudolymphome cutané n'entraîne pas de symptômes systémiques ou d'atteinte viscérale, par rapport au syndrome d'hypersensibilité qui provoque fréquemment de la fièvre et des anomalies biologiques telles qu'une lymphocytose, une éosinophilie ou la présence de lymphocytes atypiques. Le syndrome d'hypersensibilité, comportant une histologie voisine de celle du mycosis fongoïde (lymphome cutané), associé à la présence de lymphocytes circulants

atypiques, était considéré jusqu'à récemment comme un pseudolymphome médicamenteux. Le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse et le pseudolymphome médicamenteux ne doivent cependant pas être confondus. La clinique, l'évolution et surtout le pronostic des deux affections sont très différents.

Le terme Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms (DRESS) fut proposé en 1996 par Bocquet *et al.* pour désigner ce syndrome. Wong et Shear (2004) ont défini le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse comme l'association de fièvre, éruption cutanée et atteinte viscérale en réaction à une prise médicamenteuse. L'acronyme Drug-Induced Hypersensitivity Syndrom (DIHS) est également utilisé actuellement dans la littérature pour désigner cette pathologie (Shiohara et Kano, 2007). Le terme Anticonvulsant Hypersensitivity Syndrome (AHS) est aussi parfois utilisé bien que les molécules anticonvulsivantes ne soient pas les seules incriminées dans cette pathologie.

Le terme de «syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse» se réfère donc aujourd'hui à une réaction spécifique et grave à une prise médicamenteuse. Cette réaction est imprévisible et potentiellement mortelle. Ce syndrome est caractérisé par une éruption cutanée généralisée, un état fébrile, des polyadénopathies et une atteinte uni- ou multiviscérale (hépatique, rénale, pulmonaire, cardiaque). Une hyperéosinophilie, des lymphocytes circulants atypiques, une cytolyse hépatique et une cholestase ainsi qu'une protéinurie sont le plus souvent rencontrés. Les atteintes systémiques graves sont responsables d'une mortalité de 10 à 20%. L'incidence précise du DRESS reste à être déterminée mais elle semble comprise entre 1,2 et 6 cas par million de personnes et par an (Shiohara et Kano, 2007), sans prédilection d'âge ou de sexe. Les patients immunodéficients sont cependant suspectés être plus susceptibles de faire cette pathologie.

II. Manifestations cliniques

II.1. Symptomatologie

Un DRESS apparaît typiquement entre trois semaines et trois mois après le début de la prise médicamenteuse. La fièvre et les éruptions cutanées sont les symptômes les plus fréquemment retrouvés, la fièvre pouvant généralement précéder l'éruption cutanée de quelques

jours, et pouvant atteindre 38 à 40°C. Des adénopathies multiples, parfois volumineuses, imitent un syndrome mononucléosique. Le pic de fièvre persiste souvent voire empire malgré l'arrêt de la prise médicamenteuse, ce qui pourrait suggérer une infection sous-jacente. L'éruption cutanée est relativement peu spécifique car variable d'un patient à l'autre. Il s'agit d'un exanthème infiltré évoluant vers la desquamation avec ou sans éruption pustuleuse. La sévérité de la maladie est liée à l'atteinte viscérale (hépatique, rénale, pulmonaire, pancréatique, encéphalique), ou à l'apparition d'une hémophagocytose. Une défaillance multi-viscérale peut survenir, engageant alors le pronostic vital. La face, le tronc et les membres sont initialement affectés (Vittorio et Muglia, 1995). Un œdème facial accompagne souvent ces symptômes. L'éruption cutanée peut alors se généraliser en dermatite exfoliative (figure 8). L'éruption ne guérit que très lentement, et peut durer plusieurs semaines, voire plusieurs mois : elle est caractérisée par une tendance à la récurrence.

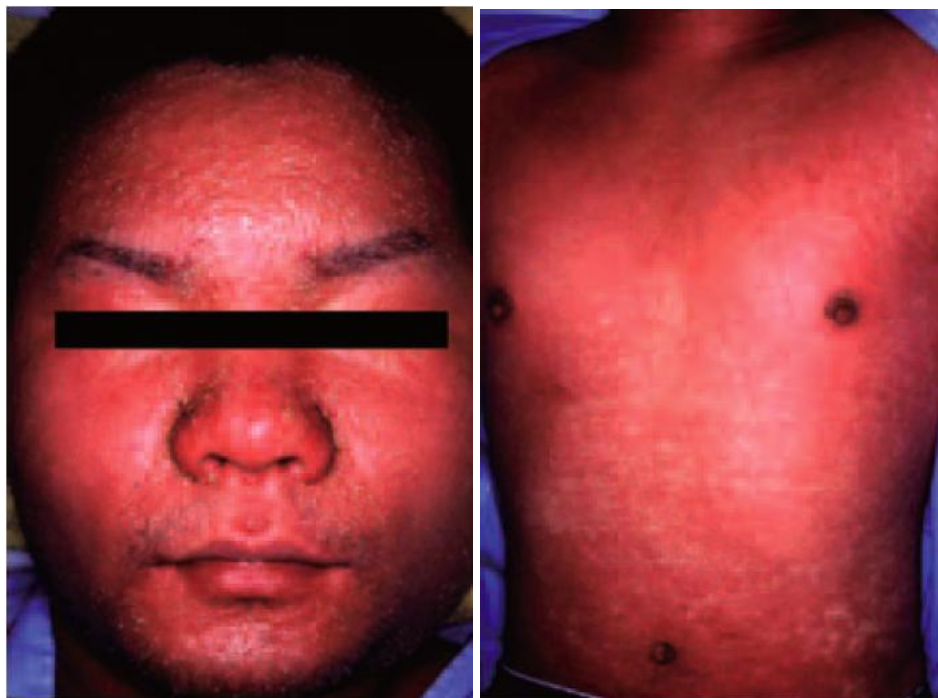


Figure 8 : Exemple de patient atteint de DRESS, erythrodermie desquamative sur la face et le tronc, 3 jours après arrêt de la prise médicamenteuse (d'après Shiohara *et al.*, 2006)

L'atteinte viscérale n'est pas corrélée à la sévérité de l'atteinte cutanée. Le foie, le rein et le

système hématopoïétique sont les plus fréquemment touchés. Un important syndrome inflammatoire peut également être présent. L'atteinte hépatique comporte une cytolyse et une cholestase pouvant entraîner une insuffisance hépatique. Les anomalies hématologiques comprennent une éosinophilie dans la plupart des cas, une lymphocytose avec lymphocytes atypiques, parfois la présence transitoire d'un clone T circulant (Bocquet *et al.*, 1995) et une monocytose (figure 9). Des colites, pancréatites, méningites, parotidites, orchites et thyroïdites ont également été observées (Knowles *et al.*, 1999; Sekine, *et al.*, 2001).

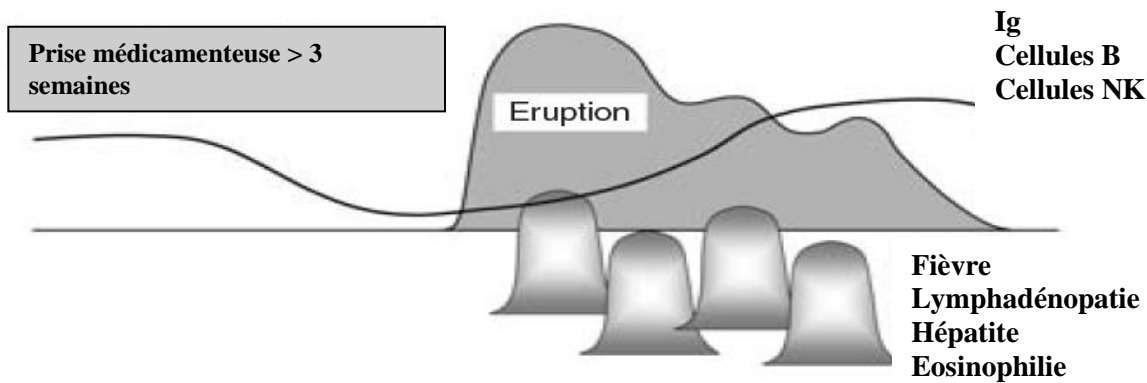


Figure 9 : Progression clinique d'un DRESS, représentation schématique d'un cas typique (d'après Shiohara *et al.*, 2006)

Ces manifestations cliniques et biologiques peuvent persister et empirer après l'arrêt de la prise médicamenteuse. La progression de la pathologie est variable selon les patients et il n'est pas rare de voir apparaître des pics symptomatiques avant la guérison complète. La réexposition à la drogue incriminée entraînera une rechute.

Le nombre de drogues associées au DRESS est limité, bien que le syndrome soit identique pour chacune de ces drogues. Les molécules les plus fréquemment incriminées sont principalement des anticonvulsivants (carbamazépine, phénobarbital, valproate de sodium, lamotrigine) mais également des molécules d'autres classes thérapeutiques, telles l'amoxicilline ou l'allopurinol (tableau 2).

Anticonvulsivants

Carbamazépine, phénytoïne, valproate de sodium, phénobarbital, lamotrigine
Anti-inflammatoires non-stéroïdiens
Sulfasalazine, naproxène, phénylbutazone
Antibiotiques
Minocycline, amoxicilline, dapsonne, métronidazole
Antidépresseurs
Desipramine, fluoxétine
Antithyroïdien de synthèse
Benzylthio-uracile
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
Captopril, enalapril
Divers
Allopurinol, sels d'or, azathioprine, abacavir, ranélate de strontium

Tableau 2 : Drogues incriminées dans les DRESS (liste non exhaustive)

Une baisse importante des taux sanguins d'IgG, IgM et IgA est typiquement observée lors du déclenchement des symptômes. Une hypogammaglobulinémie est fréquente, notamment au cours des traitements antiépileptiques. Cette hypogammaglobulinémie se corrige à l'arrêt du traitement (Kano *et al.*, 2006b ; Boccara *et al.*, 2006). Le niveau d'IgG en particulier continue de diminuer pendant au moins une semaine après l'arrêt de l'exposition du patient à la molécule responsable de la réaction, et cette baisse du taux d'IgG est suivie de brèves ré-augmentations (Kano *et al.*, 2004).

II.2. Diagnostic

De façon générale, les descriptions de DRESS rapportées dans la littérature indiquent que la maladie atteint un point critique en deux semaines environ, avant une amélioration de l'état de santé. Cependant des données récentes suggèrent que dans certains cas la pathologie peut se prolonger dans le temps, avec des conséquences importantes à court ou moyen terme. Dans la

plupart de ces cas particuliers, le développement de la maladie est asymptomatique pendant plusieurs mois ou années, avant l'émergence de fièvre et éruption cutanée, suivie d'atteintes viscérales variables malgré l'arrêt de prise médicamenteuse, la guérison d'un des organes internes pouvant alors être directement suivie par l'atteinte d'un autre (Shiohara *et al.*, 2006). Les facteurs de risque associés au développement d'une maladie prolongée après un épisode critique de DRESS sont méconnus. Aucun lien n'a été mis en évidence entre la sévérité de l'épisode critique et la prolongation ultérieure de la maladie ou non.

Jusqu'à récemment, il n'y avait pas de critères permettant d'établir le diagnostic du DRESS. Un groupe japonais a proposé une série de critères permettant de poser le diagnostic de ce syndrome. Le diagnostic est retenu devant l'observation d'au moins cinq critères clinico-biologiques. Les six critères décrits, associés à la réactivation de l'HHV-6, dont l'importance est développée ultérieurement, posent le diagnostic du DRESS typique (tableau 3). Ce protocole de diagnostic a trouvé un bon accueil au Japon, notamment parmi les dermatologues pour qui le diagnostic du DRESS s'est trouvé facilité.

Liste des critères diagnostiques associés au DRESS/DIHS	
1.	Rash maculopapuleux, développé plus de 3 semaines après début de prise d'un médicament à risque
2.	Evolution prolongée > 2 semaines après l'arrêt du médicament
3.	Lymphadénopathies
4.	Fièvre (> 38°C)
5.	Anomalies leucocytaires (>11000x10 ⁶ /L) Lymphocytes atypiques >5 % Eosinophilie (> 1500x10 ⁶ /L)
6.	Anomalies hépatiques (ALAT>100 UI/L)
7.	Réactivation de l'HHV-6

Tableau 3 : Critères diagnostiques pour les DRESS (d'après Shiohara *et al.*, 2007), 7 critères : DRESS typique, 5 critères : DRESS atypique.

III. Implication virale

Une étroite similarité entre les symptomatologies du DRESS et de la mononucléose infectieuse a longtemps suggéré une implication virale dans ce syndrome. De plus, la particularité du DRESS est le délai observé entre l'exposition à la drogue incriminée et la dégradation de l'état de santé, ainsi que l'apparition possible de pics symptomatologiques malgré l'arrêt de la prise du médicament. Ces données ne permettent pas de conclure à une étiologie liée à la drogue, et suggèrent une possible implication virale.

En 1993, le cas clinique d'un syndrome ressemblant à une mononucléose infectieuse et accompagné d'une primo-infection par l'HHV-6 fut publié (Akashi *et al.*, 1993). Des anticorps anti-HHV-6 et de l'ADN viral ont été trouvés dans le sérum du patient 10 et 13 jours après l'émergence de la maladie. Le premier cas de DRESS associé à une infection par l'HHV-6 a été décrit en 1997 (Descamps *et al.*, 1997). Ce patient était atteint d'une éruption cutanée faciale, de fièvre, d'une lymphadénopathie, d'une éosinophilie, de la présence de lymphocytes atypiques et d'une atteinte hépatique. Une infection active de l'HHV-6 a été observée et la recherche d'autres virus (EBV, VIH...) s'est révélée négative.

De nombreuses études ont depuis été publiées et il a alors été mis en évidence une réactivation de l'HHV-6, généralement entre deux et trois semaines après le début du rash cutané, en détectant la présence d'IgG anti-HHV-6 ou d'ADN viral dans le sang (Suzuki *et al.*, 1998 ; Tohyama *et al.*, 1998). La réactivation de l'HHV-6 semble survenir uniquement dans les cas de DRESS, et pas dans les autres types de maladie apparaissant en réaction à une drogue. L'observation de ce phénomène est donc devenu un critère de choix dans l'établissement du diagnostic de ce syndrome au Japon, en Asie et en Europe.

De récentes études ont également montré une réactivation de l'EBV, de l'HHV-7 ou du HCMV dans des cas cliniques de DRESS (Descamps *et al.*, 2003b ; Suzuki *et al.*, 1998 ; Aihara *et al.*, 2001), mais beaucoup moins fréquemment que pour l'HHV-6. Par ailleurs, ces herpesvirus semblent réactiver de façon séquentielle au cours de la maladie comme cela a été montré pour des cas de maladie de réaction du greffon contre l'hôte (Graft Versus Host Disease ou GVHD) (Kano et Shiohara, 2004 ; Kano *et al.*, 2006a ; Maeda *et al.*, 2000), pathologie présentant de grandes similitudes avec le DRESS dans sa symptomatologie (figure 10).

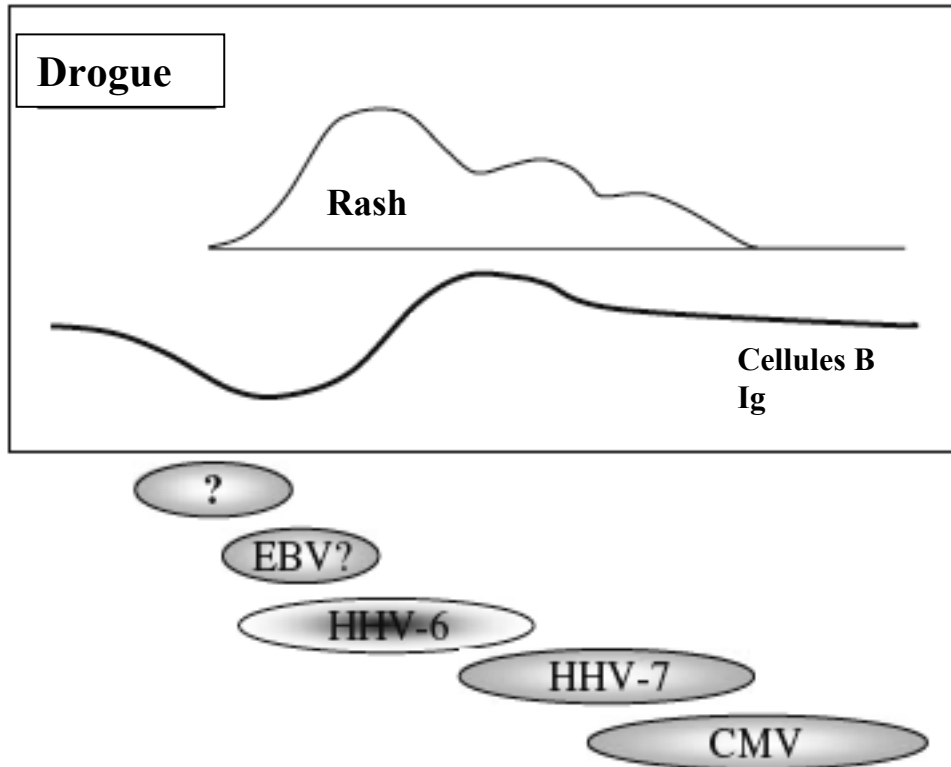


Figure 10 : Réactivations séquentielles de plusieurs herpèsvirus durant la progression du DRESS (hypothèse) (d’après Shiohara et Kano, 2007)

IV. Rôle de l’HHV-6

L’observation, désormais quasi-systématique, d’une réactivation de l’HHV-6 dans les cas de DRESS pose la question du rôle de ce virus dans cette maladie. L’HHV-6 réactive généralement lors de dérégulation ou de déficience immunitaires, bien que des cas de réactivation chez des patients immunocompétents aient été décrits (Desachy *et al*, 2001; Razonable *et al*, 2002). Une question intéressante est celle de savoir si la réactivation de l’HHV-6 joue un rôle causal dans l’apparition des symptômes cliniques et biologiques, ou si elle est une conséquence seulement de la réaction immunitaire. L’ordre exact des évènements lors du DRESS reste encore inconnu et plusieurs éléments argumentent en faveur de l’une ou l’autre des deux hypothèses

sus-citées (figure 11).

Des travaux ont montré que des PBMCs issus de patients atteints de DRESS peuvent être stimulés par une exposition à la drogue incriminée (Houwerzijl, *et al*, 1977; Sullivan et Shear, 2001). Par ailleurs, des expansions clonales de lymphocytes T ont été décrites dans quelques cas cliniques (Cordel, *et al*, 2004), et un nombre accru de cellules T CD4⁺ et CD8⁺ a alors été observé, ce qui tend à définir le DRESS comme une maladie médiée par l'immunité (Hashizume *et al.*, 2002).

Une décroissance importante des cellules B et cellules NK a été mise en évidence lors de DRESS (Inaoka, 2005), suggérant ainsi une déficience du système immunitaire pouvant expliquer la réactivation de virus latents lors de cas de DRESS.

D'un autre côté, la détection de l'ADN de l'HHV-6 dans des échantillons de sérums a permis d'observer que la virémie devient détectable et augmente de façon concomitante à l'apparition du rash cutané (Descamps *et al.*, 2003a). Elle précède l'atteinte viscérale, l'éosinophilie et l'augmentation des IgG anti-HHV-6. La virémie peut cependant rapidement retomber pour parfois redevenir indétectable après quelques jours, ce qui expliquerait que la réactivation de l'HHV-6 ne soit pas toujours diagnostiquée dans certains cas de DRESS. Le fait cependant que la charge virale précède les symptômes biologiques suggère un rôle de l'HHV-6 dans leur élaboration.

Le mécanisme par lequel l'HHV-6 réactive au cours du DRESS est inconnu. Plusieurs facteurs peuvent être supposés, tels qu'une interaction avec la drogue, une réponse immunitaire anti-droge, la génération de cytokines, une prédisposition génétique ou encore une hypoglobulinémie transitoire permettant la réactivation de l'HHV-6 en tant que virus opportuniste (Wong et Shear, 2004).

Un travail rétrospectif japonais mené sur 100 cas de DRESS a montré une association entre la réactivation de l'HHV-6, les poussées évolutives et la sévérité des signes cliniques (Tohyama *et al.*, 2007).

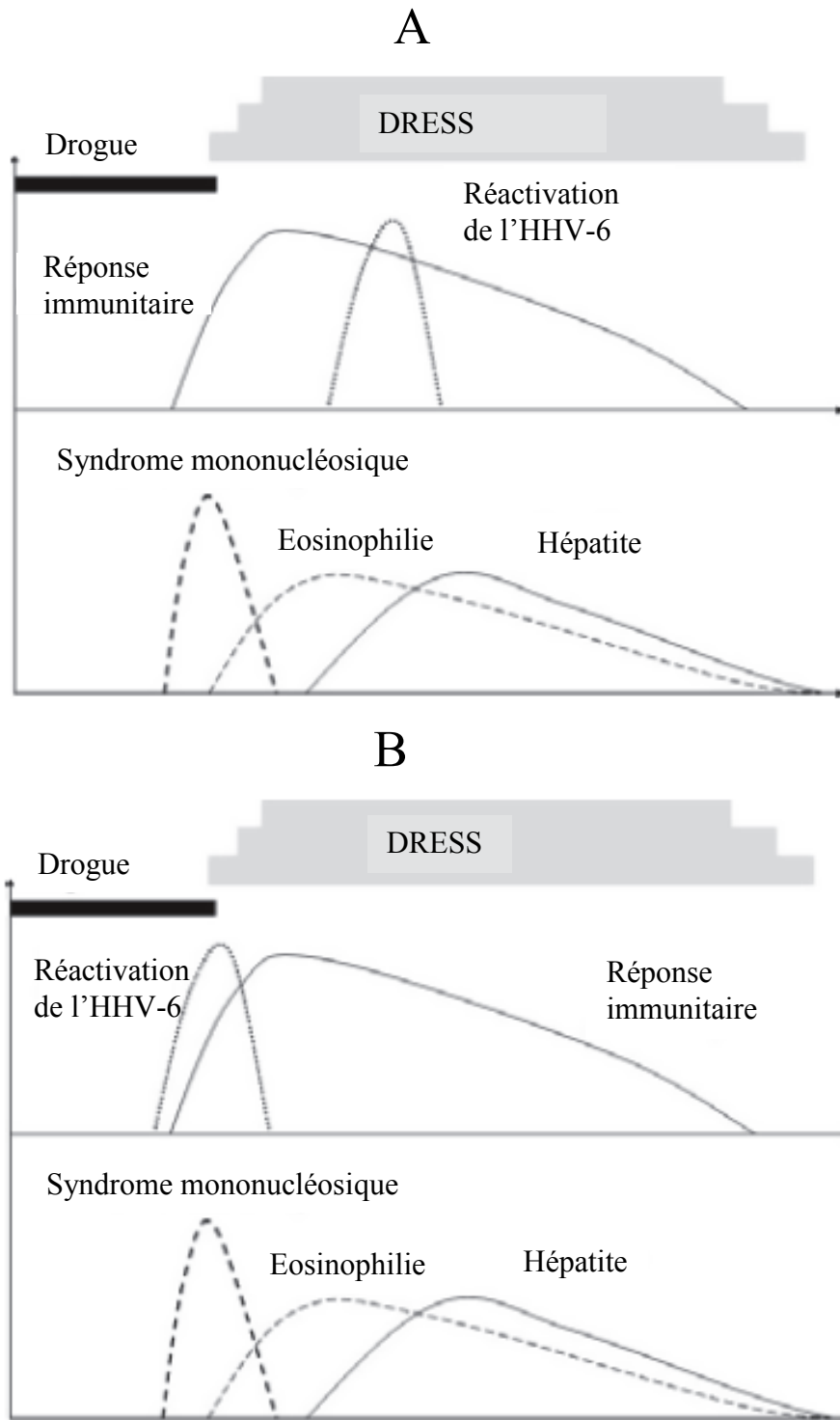


Figure 11 : Scénarii possibles lors du DRESS : réactivation de l’HHV-6 en tant que conséquence d’une réaction immunitaire (A) ou en tant qu’évènement responsable des symptômes systémiques (B) (Descamps *et al.*, 2008).

V. Traitement

La reconnaissance du syndrome le plus tôt possible est une étape importante dans le traitement, et joue un rôle essentiel dans l'amélioration de l'état clinique du patient, car de nombreux cliniciens ne sont pas familiarisés avec le DRESS. Un traitement empirique avec des antibiotiques ou des drogues anti-inflammatoires non stéroïdiennes ne doit pas être appliqué durant la phase aiguë de la maladie, car cela peut aggraver l'état clinique. Le principal élément d'un traitement adéquat est l'application de corticostéroïdes.

Une résolution rapide des rashes cutanés et de la fièvre se manifeste généralement quelques jours après l'administration de prednisolone. Ce traitement n'a cependant pas été formellement étudié au sein d'essais cliniques, mais une telle étude serait difficile à mettre en œuvre, compte-tenu du caractère potentiellement mortel de cette maladie.

L'administration de corticoïdes doit être appliquée de façon séquentielle durant six à huit semaines, afin d'empêcher la réapparition de divers symptômes de ce syndrome. Si l'état des symptômes se détériore malgré l'administration de corticostéroïdes, il est possible de traiter le patient avec des immunoglobulines intraveineuses, d'appliquer une plasmaphérèse, ou d'utiliser une combinaison de ces deux traitements. Cependant ces thérapies immunosuppressives peuvent augmenter le risque de complications infectieuses et de sepsis.

Un suivi important des fonctions hépatiques et rénales doit être fourni tout au long des manifestations cliniques, et des tests appropriés doivent être effectués afin de vérifier l'atteinte ou non d'organes tels les poumons et le cœur.

Partie 3 : Le lymphome de Hodgkin

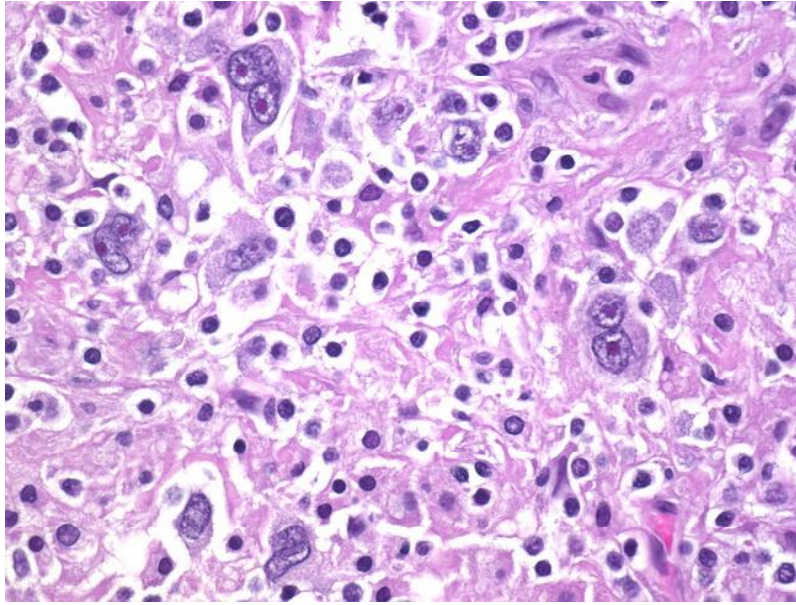
I. Généralités

Le lymphome de Hodgkin (LH) est une prolifération maligne caractérisée par une infiltration ganglionnaire de grandes cellules appelées cellules de Reed-Sternberg (RS) présentes au sein d'un tissu réactionnel, d'architecture caractéristique. La maladie de Hodgkin associe une disparition de l'architecture ganglionnaire normale du ganglion lymphatique et la présence de cellules malignes de Reed-Sternberg peu nombreuses au milieu de cellules inflammatoires.

La cellule de Reed-Sternberg caractéristique du lymphome de Hodgkin a été décrite par Carl Sternberg en 1898 et Dorothy Reed en 1902 (Sternberg, 1898, 1902), d'où leur nom de cellules de Sternberg ou de Reed-Sternberg. Thomas Hodgkin avait initié en 1832 la première description macroscopique de la maladie qui porte désormais son nom (augmentation de volume indolore des ganglions et de la rate) (Hodgkin, 1832). La cellule de Reed-Sternberg est de très grande taille (50 µm) caractérisée par un noyau volumineux, irrégulier souvent bi- ou polylobé, une chromatine fine irrégulière dispersée avec des plages claires et la présence d'un nucléole souvent unique mais volumineux (Weiss *et al.*, 1999), donnant un aspect en « masque de carnaval » ou « oeil de hibou » (figure 12). Le cytoplasme est assez étendu. Il existe une variante de la cellule de Reed-Sternberg : la cellule de Hodgkin. La cellule de Hodgkin est similaire à la cellule de Reed-Sternberg (immunophénotype identique), mais elle est de grande taille à noyau unique non segmenté. La cellule de Reed-Sternberg est une cellule maligne spécifique de la maladie de Hodgkin.

Les cellules de Hodgkin et/ou de Reed-Sternberg représentent seulement une petite proportion (de 1 à 3%) de la population cellulaire du ganglion dans le LH. La caractéristique du LH est, par conséquent, un petit nombre de cellules typiques de Reed-Sternberg parmi un infiltrat cellulaire mixte. Cet infiltrat cellulaire est principalement composé de lymphocytes T, B, de plasmocytes, d'histiocytes, d'éosinophiles et de neutrophiles mixtes (Hansmann *et al.*, 1999 ; Weiss *et al.*, 1999).

A



B

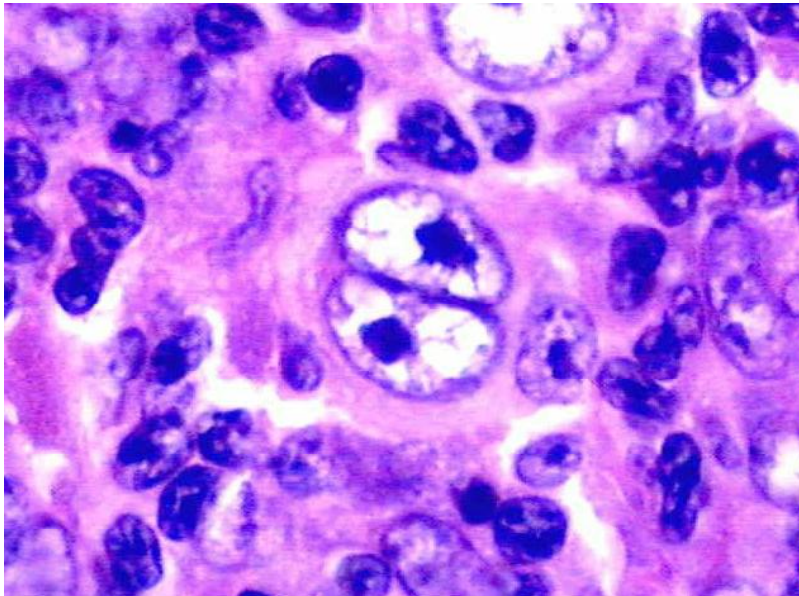


Figure 12 : Coupe histologique de ganglion lymphatique d'un patient atteint de LH (A) (x500), présence de cellule de Reed-Sternberg (B) (x1000) (<http://www.lmp.ualberta.ca>, <http://webpathology.com>)

Il existe 4 sous-types différents de la forme classique du lymphome de Hodgkin, déterminés par l'examen histologique de la biopsie et portant des numéros selon la classification de l'organisation REAL (revised european american lymphoma), et de l'OMS (organisation mondiale pour la santé) (tableau 4).

- La forme riche en lymphocytes (ou type 1) montre une prédominance de petits lymphocytes B et la présence de cellules RS dans l'infiltrat cellulaire (Anagnostopoulos et Stein, 2000). Elle représente environ 5% des cas de LH.
- La forme scléro-nodulaire (ou type 2) correspond à environ 60 à 70% des cas. Elle est donc la plus fréquente et est caractérisée par des zones de nodules séparées par des bandes sclérotiques.
- La forme à cellularité mixte (ou type 3) regroupe environ 20 à 30 % des cas, ne présente pas de sclérose et montre une distribution cellulaire plus diffuse.

Dans ces deux derniers cas, l'infiltrat lymphocytaire est composé principalement de lymphocytes T.

- La forme avec déplétion lymphocytaire ou riche en cellules tumorales (ou type 4) est assez rare et ne représente pas plus de 5% des cas. Elle présente un tissu très riche en cellules RS, et est caractérisée par une distribution diffuse des cellules avec une petite infiltration par des lymphocytes et présente des zones sclérosées et nécrotiques (Harris *et al.*, 2000). Un tissu fibreux contenant peu de cellules RS peut également être observé.

Types histologiques	%	Présentations cliniques fréquentes
1. Prédominance lymphocytaire	5 %	Enfant, adolescent, début cervical haut
2. Scléro-nodulaire	60-70 %	Adolescent, adulte jeune, atteinte médiastinale
3. Cellularité mixte	20-30 %	Adulte, début cervical, axillaire ou inguinal
4. Déplétion lymphocytaire	5 %	Adulte, début inguinal

Tableau 4 : Lymphome de Hodgkin : types histologiques et populations principalement atteintes.

Par opposition à la forme classique du LH, il existe une autre forme dite nodulaire dans laquelle les cellules tumorales sont appelées cellules lymphocytiques et histiocytiques (L&H). Ces cellules ne sont pas aussi grosses que les cellules RS trouvées dans les LH classiques (Weiss *et al.*, 1999). L'aspect général et surtout le phénotype particulier de ce sous-type conduisent à séparer cette affection du lymphome de Hodgkin classique et à en faire une catégorie à part entière. En effet les cellules HRS sont généralement CD30+, CD15+ et CD20-, alors que les cellules L&H sont CD30+, CD15- et CD20+, le CD20 étant un marqueur des lymphocytes B. Le

lymphome nodulaire est surtout fréquent chez les personnes âgées, et évolue moins rapidement que le LH classique.

II. Épidémiologie

L'incidence de la maladie varie suivant les pays : elle est faible en Asie, élevée en Italie et aux Etats-Unis. Le taux d'incidence en France est de 15-30 nouveaux cas/an/10⁶ habitants (0,5% de l'ensemble des cancers). Le sexe ratio homme/femme est de 1,3 en Europe, mais peut atteindre la valeur de 2 au niveau mondial. La maladie de Hodgkin s'observe à tout âge après 2 ans mais touche surtout les adultes. Il existe en Europe deux pics de fréquence : un pic d'incidence dans la troisième décennie, le second après 50 ans. L'incidence du LH chez les enfants est faible dans les pays développés, mais est plus importante dans les pays en voie de développement et comporte dès lors une large prédominance masculine (4/1).

Bien que le LH ne soit pas un cancer classant SIDA, les patients positifs pour le VIH présentent un risque accru de développer cette pathologie, évalué 5 à 15 fois supérieur par rapport à la population saine. Dans ce cas de figure, les patients présentent le plus souvent un sous-type à cellularité mixte, et des stades avancés sont diagnostiqués chez plus de 80% de ceux-ci.

L'incidence du LH est stable dans le temps, information qui est en opposition avec l'incidence croissante des lymphomes non hodgkiniens. L'amélioration du niveau de vie dans les pays peu industrialisés s'est accompagnée d'une diminution de la proportion des enfants atteints de LH, et l'observation d'une plus grande fréquence chez les adultes jeunes.

La cause du LH reste inconnue. Quelques cas familiaux évoquent la possibilité d'un facteur génétique favorisant le LH. Il existerait une liaison à certains groupes HLA (Human Leucocyte Antigen) (Huang *et al.*, 2010 ; Hjalgrim *et al.*, 2010). Une infection virale pourrait constituer une étape de la transformation maligne : la présence du génome de l'EBV est par exemple observée dans la cellule RS dans 20 à 50% des cas.

Il existe une augmentation de la fréquence de la maladie de Hodgkin après transplantation d'organes ou greffe de cellules souches hématopoïétiques (Nalesnik *et al.*, 1993; Rowlings *et al.*, 1999).

III. Manifestations cliniques

III.1. Symptomatologie

Le principal signe de la maladie est généralement la présence d'adénopathies malignes : des ganglions fermes, indolores, non inflammatoires et de volume variable pouvant se trouver sur tous les territoires ganglionnaires. Il peut parfois s'agir d'un ganglion cervical ou thoracique isolé chez un adulte jeune.

Des manifestations viscérales peuvent également apparaître (pneumopathie, gastrite, atteinte hépatique, pleurésie, douleurs rachidiennes) et s'accompagnent fréquemment de symptômes systémiques : amaigrissement, fièvre prolongée avec sueurs nocturnes, fatigue, prurit, perte de poids. Une telle altération de l'état général témoigne généralement d'une maladie disséminée.

En début de maladie, la localisation ganglionnaire est souvent cervicale ou sus-claviculaire, voire parfois axillaire ou inguinale. La dissémination de la maladie se fait par voie lymphatique ou par voie sanguine, résultant dans ce dernier cas d'une atteinte viscérale (figure 13).

Chaque sous-type du LH présente des caractéristiques cliniques qui lui sont propres (Ekstrand et Horning, 2002).

- Le sous-type scléro-nodulaire, qui est le plus fréquemment observé, atteint surtout les adolescents et les adultes jeunes, avec une maladie généralement localisée au niveau cervical bas, sus-claviculaire et médiastinal.
- Le sous-type à cellularité mixte atteint quant à lui préférentiellement les enfants et les personnes âgées, et est généralement associé à une forme avancée de la maladie et un pronostic pessimiste.
- La forme à déplétion lymphocytaire est aujourd'hui généralement associée à la présence du VIH. Elle se manifeste également surtout chez les personnes âgées avec une maladie disséminée et une absence de lymphadénopathies périphériques.
- Enfin, la forme à prédominance lymphocytaire constitue une entité clinico-pathologique à part : elle semble affecter préférentiellement les individus de sexe masculin, au niveau cervical, tout en épargnant la région médiastinale. Il s'agit alors généralement d'une

maladie indolente avec des récurrences tardives, souvent plus de 10 ans après le traitement.

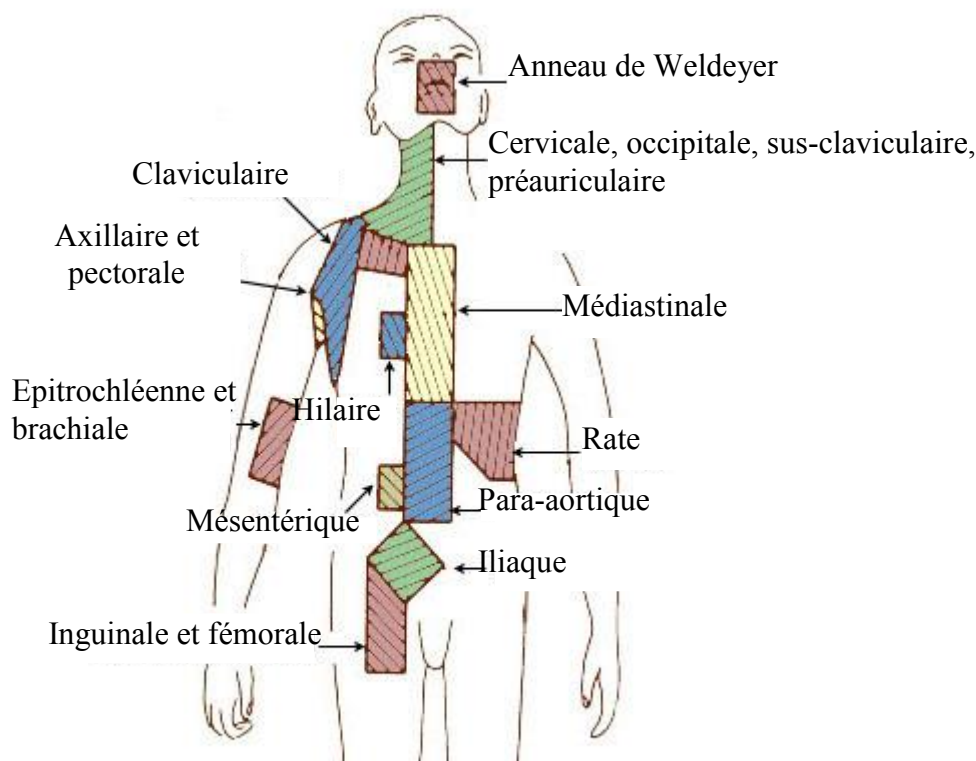


Figure 13 : Répartition des zones de drainage lymphatique (d'après *US National institute of Health*). Atteinte principalement des régions cervicale, sus-claviculaire et médiastinale dans le LH.

III.2. Diagnostic

La persistance pendant plus de 3 semaines de ganglions augmentés de volume, sans caractère inflammatoire, en dehors d'un épisode infectieux, entraîne généralement une suspicion de LH et une recherche de cellules RS au sein du ganglion, grâce à la pratique d'une biopsie chirurgicale ganglionnaire suivie d'un examen anatomo-pathologique. L'identification de cellules RS, reste l'élément essentiel menant au diagnostic du LH.

Un bilan d'extension de la maladie est ensuite réalisé, en effectuant divers examens :

- une numération sanguine, pouvant montrer une diminution des lymphocytes, une éosinophilie ou une anémie,
- une analyse de la vitesse de sédimentation des cellules sanguines, pouvant dans ce cas être

accélérée,

- une radiographie du thorax, ainsi qu'une échographie du thorax et de la partie supérieure de l'abdomen permettant de préciser les lésions thoraciques et détecter les atteintes ganglionnaires médiastinales et pulmonaires invisibles sur la radiographie,
- une scintigraphie abdominale, de la rate et du foie.

L'analyse des résultats permet alors de déterminer le degré d'extension de la maladie et de situer le cas considéré dans un des quatre stades cliniques définis par la classification d'Ann-Arbor.

- Le stade I est caractérisé par l'atteinte d'un seul groupe ganglionnaire, ou de deux territoires ganglionnaires contigus du même côté du diaphragme.
- Au stade II, deux territoires ganglionnaires situés du même côté du diaphragme, mais non contigus, sont atteints.
- Le stade III présente une atteinte de deux groupes ganglionnaires sus- et sous-diaphragmatiques.
- Le stade IV se caractérise par une atteinte de certains organes viscéraux : foie, cœur, poumon, tube digestif, moelle, os, ou système nerveux.

L'absence ou la présence de symptômes systémiques (amaigrissement, fièvre, sueurs...) sont notées (A) ou (B), respectivement, pour chacun des quatre stades.

Le taux de survie varie selon le stade d'avancement de la maladie, et un certain nombre d'éléments clinico-biologiques est associé à une faible espérance de survie (tableaux 5 et 6).

Stade	Taux de survie après 5 ans
I	90% environ
II	90% environ
III	80% environ
IV	65% environ

Tableau 5 : Taux de survie associé au lymphome de Hodgkin en fonction du stade (*American Cancer Society, Cancer facts and figures, 2006*)

Facteurs associés à un pronostic défavorable
Stade IV de la maladie
Age supérieur à 45 ans
Sexe masculin
Nombre élevé de leucocytes (>15000/ μ l)
Nombre d'hématies bas (hémoglobine < 10,5mg/dl)
Nombre de lymphocytes bas (<600/ μ l)
Taux sanguin d'albumine bas (<4mg/dl)

Tableau 6 : Liste des facteurs associés à un pronostic défavorable pour le lymphome de Hodgkin (American Cancer Society, *Cancer facts and figure*, 2006)

IV. Biologie de la cellule de Reed-Sternberg

Les techniques de microdissection unicellulaire, combinées à l'analyse moléculaire du réarrangement des gènes des immunoglobulines, ont montré que les cellules RS étaient en réalité des cellules B clonales (Kuppers *et al.*, 1994; Kanzler *et al.*, 1996; Braeuninger *et al.*, 1997). En effet, l'expression de certains antigènes spécifiques des lymphocytes B (CD20, CD79a) par les cellules de Reed-Sternberg a été rapportée dans 30 à 60% des LH classiques (Watanabe *et al.*, 2000). De plus, la présence de réarrangements clonaux des gènes des immunoglobulines a été détectée dans la plupart des études génotypiques réalisées après microdissection. Ces études montrent en outre la présence d'un taux élevé de mutations somatiques des régions variables des gènes des immunoglobulines. Toutefois, ces réarrangements n'aboutissent pas à une synthèse des chaînes légères et des chaînes lourdes d'immunoglobulines.

Dans la majorité des cas, cette absence de synthèse résulte d'un défaut de la machinerie transcriptionnelle (absence d'expression du facteur de transcription *Oct-2* et du cofacteur *Bob-1/Obf-1* dans les cellules RS) (Re *et al.*, 2001). Cependant, dans 25% des cas environ, l'absence

d'expression des gènes des immunoglobulines est due à l'existence de mutations somatiques non fonctionnelles dans les chaînes lourdes (Kanzler *et al.*, 1996). Ces observations indiquent que la cellule de Reed-Sternberg dériverait d'un lymphocyte B du centre germinatif anormalement rescapé de l'apoptose. L'infection par l'EBV pourrait intervenir dans la survie anormale de ces cellules en l'absence des signaux fournis par la reconnaissance de l'antigène.

IV.1. Maturation des cellules B normales

Lorsque des cellules B sont activées par la fixation de leur récepteur (BCR) à un antigène et la co-stimulation par l'antigène spécifique des cellules T helper, elles migrent vers les organes lymphoïdes secondaires tels que les ganglions lymphatiques, la rate ou les plaques de Peyer, afin de proliférer, ce qui permet la formation de centres germinaux. Ces centres germinaux hébergent également des cellules T helper (ou lymphocytes T auxiliaires), des macrophages et différents types de cellules dendritiques.

L'expansion clonale des cellules B s'accompagne d'un phénomène d'hypermutation somatique, générant des mutations ponctuelles, des délétions ou des insertions avec une fréquence élevée, particulièrement au niveau de la région V des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines (Ig), ce qui entraîne un nombre accru de variants du BCR original (Kuppers *et al.*, 1993). La plupart de ces mutations sont généralement désavantageuses pour la cellule (apparition d'un codon stop prématuré, perte du cadre de lecture original...) qui entre alors en apoptose, avant d'être éliminée par les macrophages (Rajewsky, 1996). Les cellules B ayant acquis des mutations permettant une affinité accrue pour l'antigène reconnu seront quant à elles sélectionnées positivement grâce à leur interaction avec les cellules dendritiques folliculaires et les cellules T helper présentatrices de l'antigène spécifique. Ces cellules présentent une activité prolifératrice et n'entrent pas en apoptose. Après plusieurs cycles de prolifération, mutation et sélection, ces cellules B vont finalement se différencier en cellules B mémoire ou en plasmocytes (Allen *et al.*, 2007).

IV.2. Origine des cellules de Reed-Sternberg

Les cellules HRS présentent un immunophénotype différent de toute autre cellule du système hématopoïétique, avec la co-expression de marqueurs de différents types cellulaires. Ces cellules présentent cependant quasi-systématiquement des réarrangements et des mutations somatiques au niveau de la région V du gène des Ig (Kanzler *et al.*, 1996). Dans environ 25% des cas, les cellules RS présentent des mutations somatiques à l'origine de la synthèse d'Ig non-fonctionnelles, qui auraient dû causer l'apoptose de ces cellules dans le centre germinale, ce qui suggère que les cellules RS dérivent donc de cellules germinales B anormales et pré-apoptotiques dans les cas pré-cités (Kuppers et Rajewsky, 1998) (figure 14).

Bien que des réarrangements du gène Ig V aient également été détectés dans des cellules tumorales T ou myéloïdes, plusieurs arguments montrent que les cellules RS dérivent du lignage B en général :

- Des réarrangements complets des chaînes lourdes et légères des Ig sont retrouvés uniquement dans les cellules B.
- Les mutations somatiques ne s'effectuent que dans les cellules B activées, et les mutations somatiques retrouvées dans les gènes Ig V des cellules RS ont été sélectionnées pour leur fonctionnalité, ce qui ne peut arriver que lorsque le BCR est exprimé par la cellule (Klein *et al.*, 1998).
- Les lignées cellulaires dérivées de cellules RS et les cellules primaires HRS présentent un changement de classe d'Ig, ce qui est un phénomène qui ne peut s'effectuer que dans les cellules B activées (Irsch *et al.*, 2001 ; Martin-Subero *et al.*, 2006a).
- Les lymphomes « composites », consistant en un LH et un lymphome à cellule B matures, sont fréquemment liés de manière clonale, et présentent des mutations somatiques du gène Ig V communes en plus de mutations distinctes, ce qui démontre que les deux lymphomes dérivent d'un précurseur commun : un centre germinale B mature (Bräuninger *et al.*, 1999 ; Marafioti *et al.*, 1999).

De rares cas ont montré l'existence de cellules RS exprimant des marqueurs des cellules T, avec pour certains un réarrangement du gène du récepteur des cellules T, et l'absence de réarrangement au sein des gènes des Ig (Seitz *et al.*, 2000 ; Tzankov *et al.*, 2005). Il apparaît donc possible, bien que rare, que des LH soient issus de cellules T.

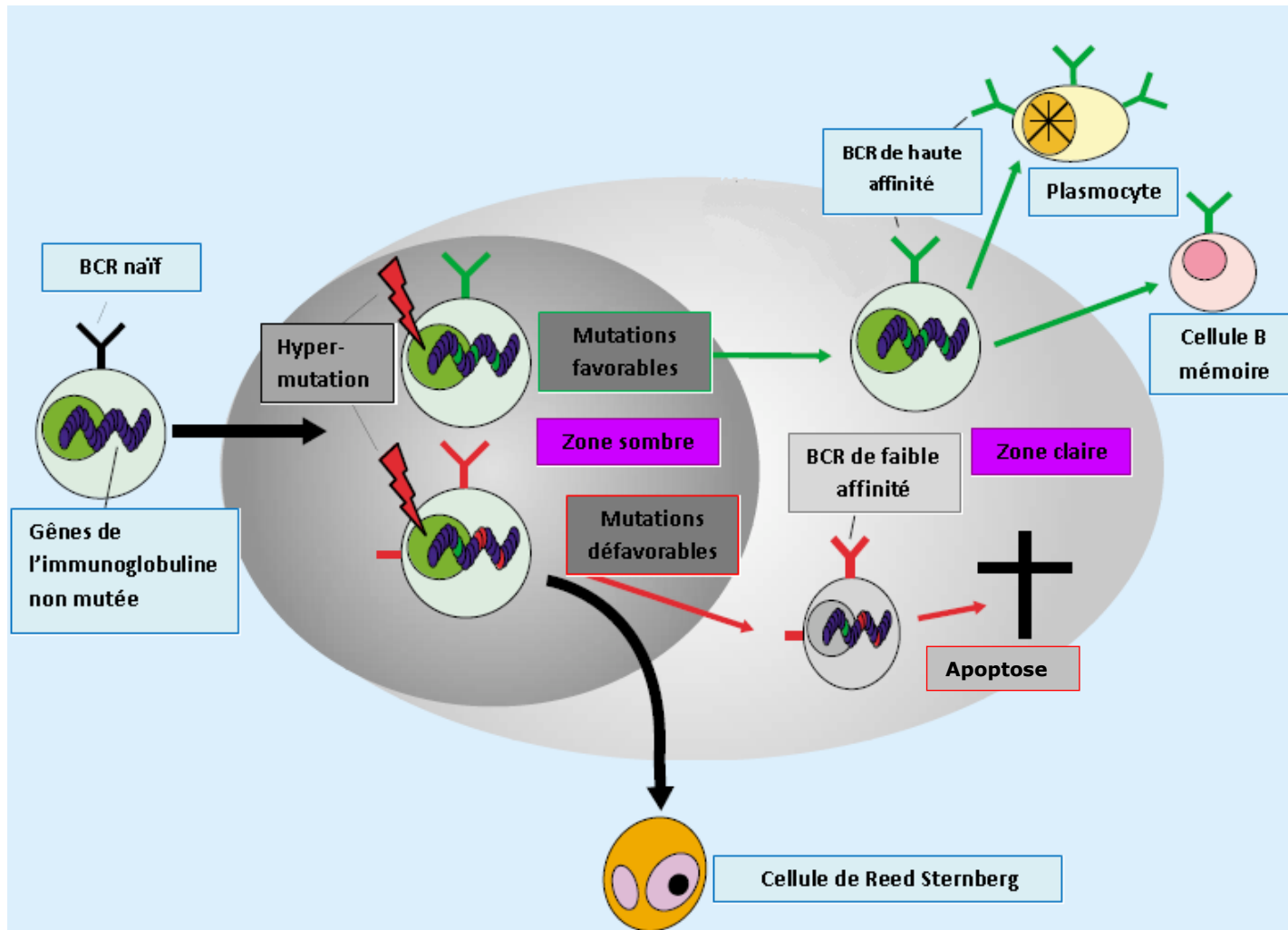


Figure 14 : Origine des cellules de Reed-Sternberg

IV.3. Dérégulation de l'expression de facteurs de transcription dans les cellules de Reed-Sternberg

Contrairement aux cellules de leucémies et lymphomes B, les cellules tumorales du LH ne conservent pas les principaux éléments phénotypiques et fonctionnels des cellules B (Schwering *et al.*, 2003). En effet, les cellules RS ne présentent que les caractéristiques associées aux fonctions de présentation et interaction avec les cellules T helper, telles que l'expression du CD40 ou du CD80 (Carbone *et al.*, 1995 ; Van Gool *et al.*, 1997).

De plus, les cellules RS expriment souvent les marqueurs d'autres lignées hématopoïétiques, tels que les marqueurs des cellules T (CD3 et CD4), de cellules dendritiques (fascine, CCL17), ou myéloïdes (α 1-antitrypsine) (Takahashi *et al.*, 1995).

Plusieurs facteurs de transcription activant l'expression de gènes des cellules B ne sont pas exprimés dans les cellules RS : Oct-2, Bob-1 et PU.1 (Stein *et al.*, 2001 ; Torlakovic *et al.*, 2001). Par ailleurs, de nombreux gènes des cellules B sont inactivés par des mécanismes épigénétiques, tels que la méthylation de l'ADN (Ushmorov *et al.*, 2006).

Le facteur de transcription EBF1, responsable en grande partie de la reprogrammation génétique des cellules B, est largement sous-exprimé dans les cellules RS.

Le gène *E2A* (ou TCF3) codant pour les facteurs de transcription E12 et E47, est toujours exprimé dans les cellules RS mais ses fonctions sont fortement réprimées grâce à la surexpression de deux de ses inhibiteurs : ABF1 et Id2 (Mathas *et al.*, 2006 ; Renné *et al.*, 2006). Id2 permet notamment de stimuler le développement de cellules dendritiques et de cellules natural killer (NK), et réprime le développement des cellules B (Hacker *et al.*, 2003 ; Yokota *et al.*, 1999).

PAX5 est l'un des principaux facteurs de transcription impliqués dans l'engagement et la maintenance de la reprogrammation génétique des cellules B. Bien qu'il soit exprimé dans les cellules RS, la plupart de ses cibles directes sont sous-régulées (Foss *et al.*, 1999). Sachant que beaucoup de gènes exprimés par les cellules B sont régulés par l'action coordonnée de plusieurs facteurs de transcription, il est possible que cette sous-régulation des cibles de PAX5 soit due à l'absence ou la déficience fonctionnelle d'autres facteurs de transcription exprimés par la lignée B.

Le facteur de transcription des cellules T Notch1 est un régulateur négatif du programme génétique des cellules B, et est fortement surexprimé dans les cellules RS (Jundt *et al.*, 2002).

Notch1 est probablement activé par son ligand Jagged1, qui est produit par l'environnement du LH. De plus, les cellules RS sous-expriment un inhibiteur de Notch1 : Deltex1. Outre l'inhibition du développement des cellules B, Notch1 induit notamment une sous-expression de E12, E47 et EBF1, et active la transcription de ABF1. Par ailleurs, Notch1 est capable de fixer PAX5, et pourrait donc en inhiber la fonction (Jundt *et al.*, 2008).

Les cellules HRS expriment également certains facteurs de transcription ayant un rôle important dans le développement des cellules souches hématopoïétiques, et qui ne sont pas ou sont rarement exprimés dans les cellules B des centres germinaux : GATA2, dont l'expression est induite par Notch1, et BMI1, EZH2 ou encore RYBP qui sont des protéines du groupe polycomb, c'est-à-dire des facteurs chromatinien, connus pour maintenir réprimé l'état transcriptionnel de gènes responsables du développement des cellules B (Schneider *et al.*, 2004 ; Raaphorst *et al.*, 2000 ; Sanchez-Beato *et al.*, 2004). L'acquisition de caractéristiques des cellules souches hématopoïétiques ou d'un précurseur lymphoïde commun pourrait expliquer l'expression de marqueurs de différentes lignées hématopoïétiques par les cellules RS (Hu *et al.*, 1997).

LMP1 et LMP2A, qui sont des protéines produites par l'EBV, ont également été montrées comme capables de contribuer à la sous-régulation du phénotype B dans les cellules RS positives pour ce virus (figure 15).

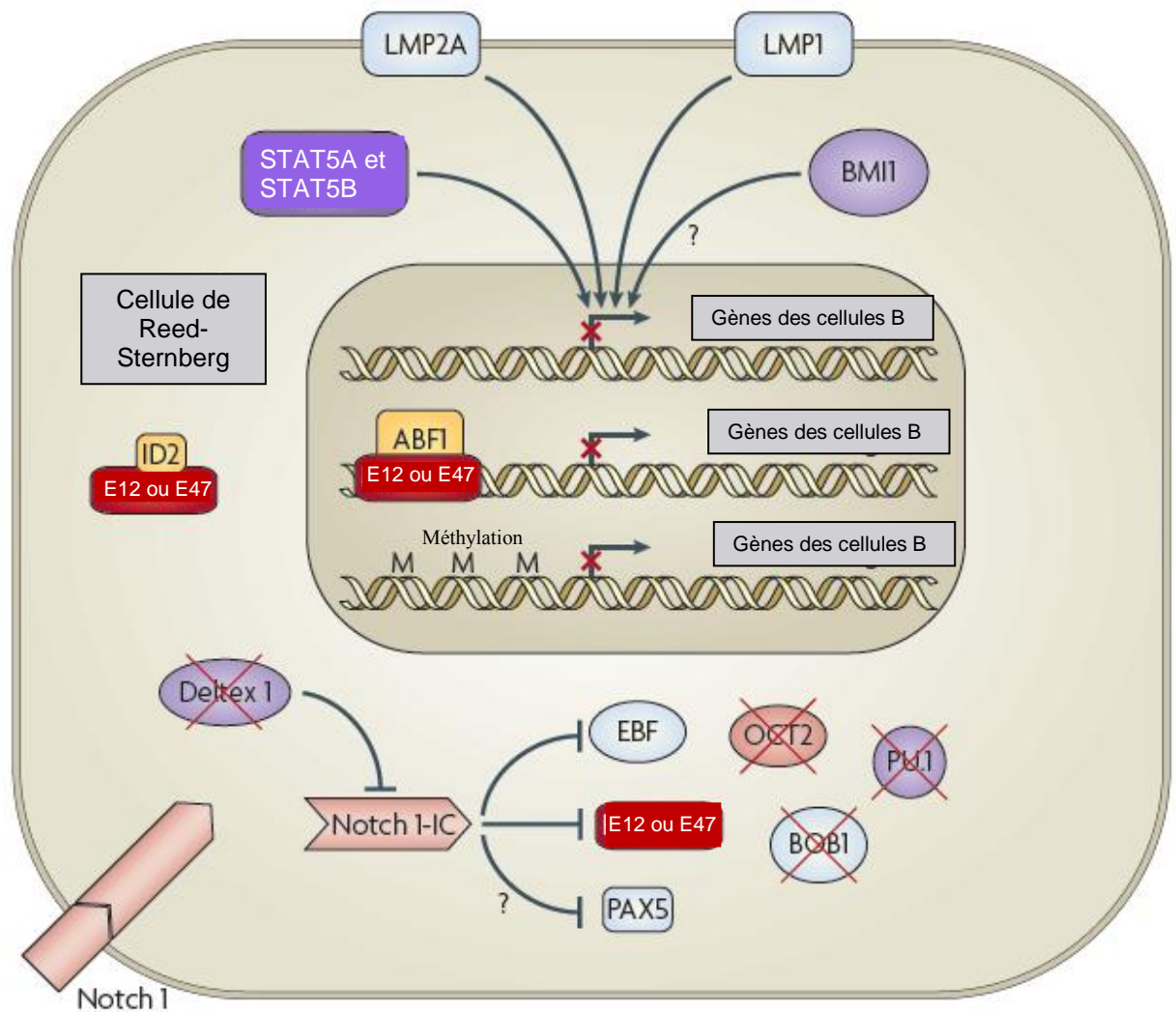


Figure 15 : Reprogrammation génétique des cellules de Reed-Sternberg (d'après Kuppers, 2009)

IV.4. Mutations génétiques et dérégulations de voies de signalisation cellulaires

La capacité des cellules RS à « échapper » à l'apoptose est probablement un élément clé de la pathogenèse du LH. Aussi de nombreux inhibiteurs et activateurs de l'apoptose ont été étudiés afin de déterminer s'ils ont subi des modifications génétiques au sein des cellules RS. Peu ou pas de mutations ont été observées au niveau de gènes tels que *TP53*, *FAS*, *FADD*, *BAD*, *Bcl-2*.

Cependant, les lésions génétiques les plus fréquemment retrouvées dans les cellules RS

impliquent deux voies de signalisation cellulaire : les voies Janus kinase (Jak)-Stat et NFκB qui présentent une activité constitutive dans les cellules RS. Il est cependant probable que cela ne soit pas uniquement dû à des lésions génétiques, mais également à des événements de stimulation cellulaire paracrine et/ou autocrine.

De nombreux signaux cytokiniques utilisent des membres de la famille Jak, qui phosphorylent les facteurs STAT afin de les activer. Les protéines STAT phosphorylées se dimérisent et sont transloquées dans le noyau cellulaire où elles agissent comme facteurs de transcription. Les facteurs STAT3, STAT5A, STAT5B et STAT6 sont activés dans les cellules RS (Scheeren *et al.*, 2008 ; Kube *et al.*, 2001 ; Skinnider *et al.*, 2002) ; STAT6 semble être activé de façon autocrine grâce à l'expression de l'interleukine 13 (IL-13) (Kapp *et al.*, 1999), l'expression et l'activation de STAT5A et STAT5B est augmentée par l'activité NFκB (Hinz *et al.*, 2002). En outre, STAT5A et STAT5B ont été identifiés comme étant potentiellement impliqués dans la reprogrammation des cellules RS. Dans des cellules B normales, la surexpression de ces deux facteurs induit un phénotype proche des cellules RS, avec notamment une surexpression de CD30 et une sous-expression de BCR (Scheeren *et al.*, 2008).

De plus, il est fréquemment observé dans les cellules RS un gain génétique, c'est-à-dire une augmentation du nombre de copies du gène dans le génome, au niveau de JAK2 (un membre de la famille Jak) et des mutations somatiques au niveau de SOCS1, qui est un régulateur négatif de la voie Jak-Stat (Joos *et al.*, 2000 ; Weniger *et al.*, 2006 ; Mottok *et al.*, 2007).

Les événements cellulaires contribuant à l'activation de la voie NFκB dans les cellules RS impliquent vraisemblablement les membres de la famille des récepteurs au TNF (tumor necrosis factor) (figure 16). CD30 et CD40 sont notamment exprimés dans les cellules HRS, ainsi que TACI (ou TNFRSF13B), BCMA (ou TNFRSF17) et RANK (ou TNFRSF11A) (Carbone *et al.*, 1995 ; Chiu *et al.*, 2007 ; Schwab *et al.*, 1982). Le ligand du CD30 est exprimé par les éosinophiles et les mastocytes environnant le lymphome (Molin *et al.*, 2001 ; Pinto *et al.*, 1996), et le ligand du CD40 est exprimé par les cellules T qui peuvent également entrer en contact avec les cellules RS (Carbone *et al.*, 1995). Il est probable que RANK soit activé de manière autocrine, puisque l'expression de son ligand a été montrée dans des lignées cellulaires issues de LH (Fiumara *et al.*, 2001).

Un gain génétique est également observé pour Rel, un membre de la famille des facteurs de transcription de la voie NFκB, dans la moitié des cas de LH environ (Barth *et al.*, 2003 ; Martin-Subero *et al.*, 2002), ainsi que pour BCL3, qui peut réguler positivement l'activité NFκB, bien que beaucoup plus rarement (Martin-Subero *et al.*, 2006b). Enfin, des mutations somatiques ont été observées au niveau des gènes NFKBIA et NFKBIE, qui sont des inhibiteurs de la voie NFκB (Jungnickel *et al.*, 2000 ; Emmerich *et al.*, 2003).

Il est également probable que le facteur Notch1 soit impliqué dans l'activation constitutive de NFκB (Cheng *et al.*, 2001).

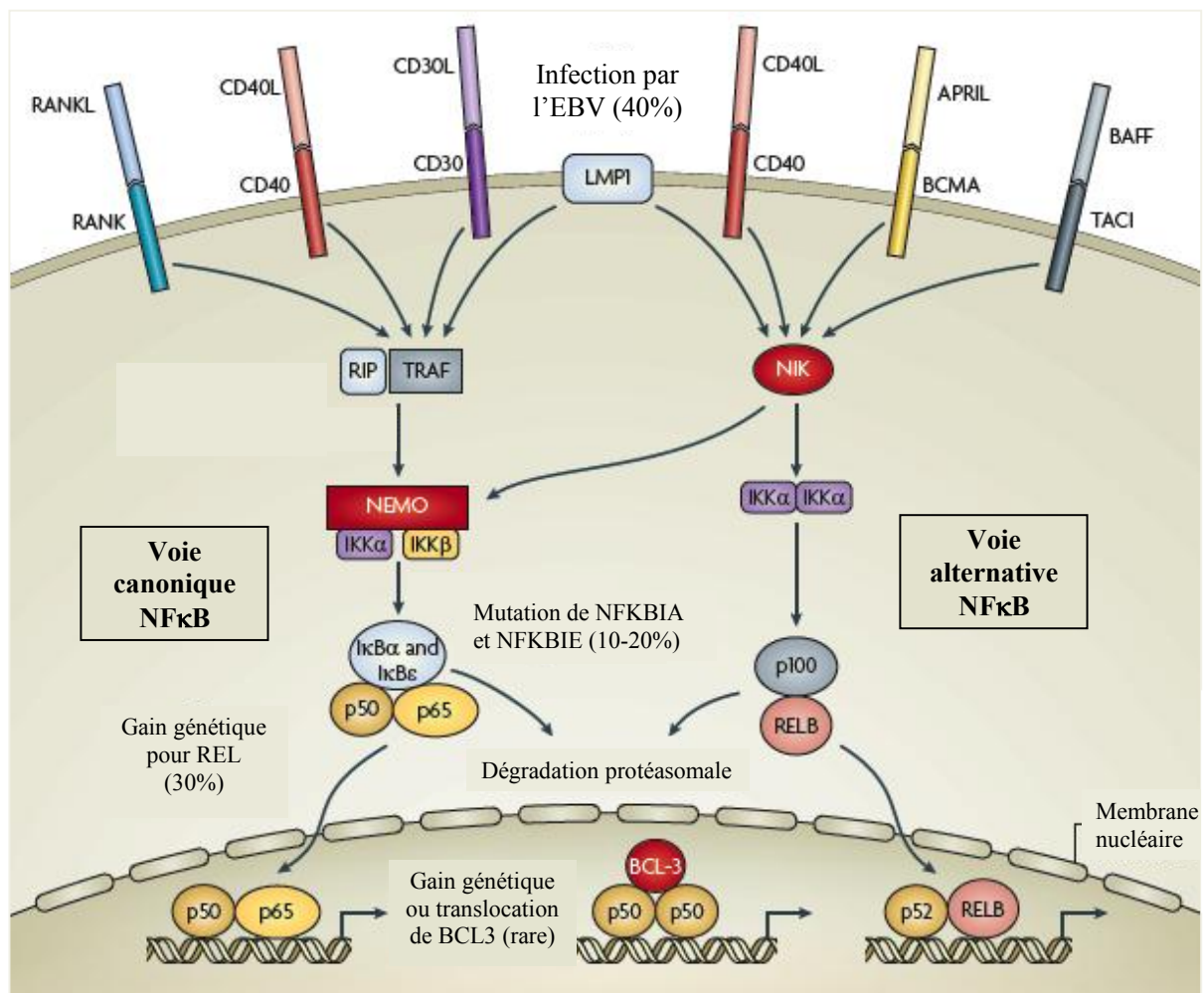


Figure 16 : NFκB dans les cellules de Reed-Sternberg (d'après Kuppers, 2009)

En plus des voies NFκB et Jak-Stat, et des dérégulations transcriptomiques responsables de la reprogrammation génétique des cellules RS, plusieurs autres voies de signalisation cellulaires montrent des dérégulations ou activités constitutives dans les cellules RS, notamment les voies PI3K-Akt, Erk et AP1.

Les voies PI3K et Erk pourraient être activées par CD30, CD40 et RANK. L'une des principales cibles de la voie PI3K est la kinase à sérine/thréonine AKT1, dont l'inhibition cause l'apoptose dans des lignées cellulaires issues de cellules HRS (Dutton *et al.*, 2005 ; Georgakis *et al.*, 2006). De même, ERK1, ERK2 et ERK5 sont des kinases à sérine/thréonine exprimées dans les cellules RS, et l'inhibition de l'activité Erk a un effet anti-prolifératif sur des lignées cellulaires RS (Zheng *et al.*, 2003).

Les facteurs de transcription AP1 sont des hétérodimères formés de membres des familles Jun et Fos. Les cellules RS surexpriment JUN et JUNB et leur localisation nucléaire suggère qu'ils sont actifs (Mathas *et al.*, 2002). Par ailleurs, l'une des cibles de AP1 est le CD30, et l'activité AP1 entraîne la prolifération des cellules RS (Watanabe *et al.*, 2003).

V. Implication virale

V.1. Le virus d'Epstein et Barr

Le virus d'Epstein et Barr (EBV) est retrouvé dans les cellules RS d'environ 40% des LH classiques dans les pays occidentaux, la plupart du temps dans des cas de formes à cellularité mixte ou à déplétion lymphocytaire, et moins fréquemment dans des cas de formes à prédominance lymphocytaire ou scléro-nodulaire (Rezk et Weiss, 2007). L'EBV est plus fréquemment retrouvé chez les patients hodgkiniens âgés de plus de 50 ans ou les enfants de moins de 10 ans (Armstrong *et al.*, 1998), et les patients ayant eu une mononucléose infectieuse (dont est responsable l'EBV) ont un risque accru de développer un LH (Alexander *et al.*, 2000).

Les cellules RS positives pour l'EBV expriment les protéines virales EBNA1 (EBV nuclear antigen 1), LMP1, LMP2A et LMP2B (latent membrane protein 1, 2A et 2B), et deux familles d'ARN non-codants : BARTs et EBERs, ce qui correspond à une latence de type II.

La protéine LMP1 a été montrée comme possédant des propriétés oncogènes. Des souris

transgéniques exprimant LMP1 développent des lymphomes B (Kulwichit *et al.*, 1998). LMP1 s'agrège dans la membrane cellulaire et mime un récepteur actif au CD40, induisant ainsi une activation constitutive de NFκB (Kilger *et al.*, 1998). Par ailleurs, LMP1 active les voies AP1, p38, PI3K, et Jak-Stat (Young et Murray, 2003).

LMP2A peut quant à lui se substituer à un BCR, car il possède dans sa structure un motif permettant de délivrer un signal semblable à celui fourni par les domaines actifs du BCR (Alber *et al.*, 1993). Il a notamment été montré que LMP1 et LMP2A contribuent à la sous-régulation du phénotype B dans les cellules HRS positives pour l'EBV (Portis et Longnecker, 2003; Vockerodt *et al.*, 2008).

Pour l'instant, l'association entre lymphome de Hodgkin et EBV n'a pas de signification clinique ou pronostique clairement établie. Il existe en effet des résultats contradictoires. Plusieurs études n'ont pas retrouvé d'impact pronostique du statut EBV sur la maladie (Enblad *et al.*, 1997; Axdorph *et al.*, 1999). D'autres auteurs ont en revanche mis en évidence une meilleure survie sans symptômes des formes positives pour l'EBV chez les sujets jeunes (mais sans différence significative de survie globale) (Glavina-Durdov *et al.*, 2001; Flavell *et al.*, 2003). Deux études ont montré que les formes positives pour l'EBV étaient associées à une survie significativement moins bonne chez les sujets âgés (Clarke *et al.*, 2001; Stark *et al.*, 2002).

V.2. L'herpèsvirus humain de type 6

L'HHV-6 ayant initialement été isolé à partir de patients souffrant de désordres lymphoprolifératifs, le possible rôle pathogénique de ce virus dans les maladies lymphoprolifératives a depuis fait l'objet d'un intérêt particulier (Salahuddin *et al.*, 1986). Ce rôle fut notamment suggéré par sa capacité à transformer la lignée cellulaire NIH3T3 et des kératinocytes humains RHEK-1 *in vitro* (Razzaque *et al.*, 1990 ; 1993).

L'association entre l'HHV-6 et le LH a été suggérée par Torelli *et al.* (1991). Cette équipe a montré la présence d'anticorps anti-HHV-6 à des titres supérieurs à ceux obtenus chez des donneurs de sang normaux, et a détecté la présence de séquences d'ADN de l'HHV-6 dans les adénopathies de 3 parmi 25 patients atteints de LH. D'autres études ont depuis constaté ce phénomène (Shanavas *et al.*, 1992 ; Clark *et al.*, 1990). Levine *et al.* (1992) ont notamment montré une augmentation significative du taux d'anticorps anti-HHV-6 chez des patients

hodgkiniens faisant une rechute alors que des cas de rémission étaient accompagnés d'une décroissance du taux sérique d'anticorps, suggérant ainsi une valeur pronostique de la sérologie anti-HHV-6 dans ce contexte. Iyengar *et al.* (1991) ont mis en évidence grâce à la technique ELISA un fort pourcentage d'anticorps anti-HHV-6 (anti-p38/41 qui sont des protéines précoces) chez des patients atteints de lymphome de Burkitt et de LH, dénotant ainsi une infection active de ce virus.

Plusieurs études ont depuis visé à détecter la présence du génome de l'HHV-6 dans des cas de LH, en utilisant principalement des techniques permettant la détection de séquences de génome viral (PCR, Southern blot, hybridation *in situ*, PCR quantitative) (tableau 7).

La fréquence de détection de l'ADN de l'HHV-6 dans des ganglions lymphatiques de patients atteints de LH est très variable entre ces différentes études (de 0 à 82 %), mais il est possible qu'elle s'explique simplement par la différence de sensibilité des techniques utilisées, et la variété des populations étudiées. Le variant B a été identifié nettement plus fréquemment que le variant A, et l'HHV-6 semble de façon générale être majoritairement présent chez les patients de sous-type scléro-nodulaire (Torelli *et al.*, 1991 ; Valente *et al.*, 1996 ; Collot *et al.*, 2002 ; Lacroix *et al.*, 2007).

Quelques études se sont attachées à quantifier le nombre de copies de génomes viraux dans des échantillons provenant de patients hodgkiniens. Ohyashiki *et al.* (1999) ont observé une quantité significativement supérieure d'ADN viral chez des patients atteints de désordres lymphoprolifératifs, comparativement à des contrôles. Valente *et al.* (1996) ont obtenu des taux supérieurs à 10000 copies de génomes viraux/ μg d'ADN, et Collot *et al.* (2002) ont observé des quantités variant de 100 à 864640 copies/ μg d'ADN, dans des ganglions lymphatiques de patients hodgkiniens.

Certaines études ont également permis, par l'utilisation des techniques d'immunohistochimie, de détecter l'HHV-6 dans l'infiltrat cellulaire entourant les cellules RS, notamment au niveau des lymphocytes, mais pas au sein même des cellules RS (Alexander *et al.*, 1995 ; Rojo *et al.*, 1994 ; Krueger *et al.*, 1994 ; 2001).

Références	Méthode de détection	Echantillon	Nombre de patients	Cas positifs pour l'HHV-6	Variant de l'HHV-6	Observations
Torelli <i>et al.</i> , 1991	PCR	Ganglions lymphatiques	Patients : 25 Contrôles : 41	12% 0%	Non déterminé	Tous les cas HHV6+ appartiennent au sous-type scléro-nodulaire ou à déplétion lymphocytaire
Sumiyoshi <i>et al.</i> , 1993	PCR	Ganglions lymphatiques	Patients : 14 Contrôles : 56	64,3% 98,2%	Non déterminé	
Trovato <i>et al.</i> , 1994	Southern blot	Ganglions lymphatiques	14	0%	Non déterminé	
	PCR		15 (pédiatriques)	7%		
	Hybridation <i>in situ</i>		15	0%		
Valente <i>et al.</i> , 1996	PCR	Ganglions lymphatiques	Patients : 52	73%	2A&B/ 36B	Aucune des cellules HRS ne s'est révélée positive
	Hybridation <i>in situ</i>		Contrôles : 19	68,4%		
			57	82,4%		
	Southern blot		Non indiqué	0%		
Luppi <i>et al.</i> , 1998	Hybridation <i>in situ</i>	Ganglions lymphatiques	14	14,3%	Non déterminé	L'antigène précoce p41 de l'HHV-6 a été détecté dans les cellules HRS de 2 cas
Schmidt <i>et al.</i> , 2000	PCR	Ganglions lymphatiques	88	13%	8A/ 3B	
Shiramizu <i>et al.</i> , 2001	PCR	Ganglions lymphatiques	47 (pédiatriques)	0%		
Collot <i>et al.</i> , 2002	PCR quantitative	Ganglions lymphatiques	37	35,1%	1A/ 12B	Tous les cas de LH HHV-6+ appartiennent au sous-type scléro-nodulaire
Hernandez-Losa <i>et al.</i> , 2005	PCR	Ganglions lymphatiques	Patients : 20 Contrôles : 52	40% 33%	Non déterminé	
Lacroix <i>et al.</i> , 2007	PCR quantitative	Ganglions lymphatiques	86	79,1%	5A/ 63B	L'HHV-6 est détecté plus fréquemment dans le sous-type scléro-nodulaire (83,6%)

Tableau 7 : Lymphome de Hodgkin et infection par l'HHV-6 (d'après Ogata, 2009)

VI. Traitements

VI.1. Traitements classiques

Selon le stade d'extension de la maladie, il est décidé d'appliquer une chimiothérapie anticancéreuse et/ou une radiothérapie.

Si la maladie est dépistée précocement (stades I et II), une radiothérapie est adoptée. Le LH est en effet très radiosensible. Une irradiation étendue aux zones touchées et zones adjacentes est généralement appliquée avec des doses comprises entre 20 et 40 Gray. La radiothérapie peut cependant entraîner des effets secondaires tels que des pathologies thyroïdiennes, des leucémies aiguës ou des cancers du sein secondaires.

Les patients dont la maladie a été dépistée au stade III ou IV sont traités par chimiothérapie. La poly-chimiothérapie MOPP (méchloréthamine, vincristine, procarbazine, prednisone) est actuellement de moins en moins utilisée au profit du protocole ABVD (adriamycine, bléomycine, vinblastine, dacarbazine) ou BEACOPP (bléomycine, étoposide, doxorubicine, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisone). Il existe également le protocole COPP/ABVD (cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisone / adriamycine, bléomycine, vinblastine, dacarbazine).

Le traitement ABVD semble actuellement le plus approprié pour le lymphome de Hodgkin, et sa durée est de six à huit mois. Un traitement combinant chimiothérapie et radiothérapie peut être adopté pour les patients ayant un stade avancé avec beaucoup de nodules.

Une rechute entraîne une reprise du traitement et peut conduire à une greffe autologue de moëlle osseuse ou de cellules souches.

VI.2. Nouvelles approches

Sachant que les cellules HRS ont des caractéristiques biologiques particulières, de nouvelles thérapies sont aujourd'hui à l'étude. Les approches ciblant des domaines extracellulaires consistent principalement en un panel d'anticorps dirigés spécifiquement contre des récepteurs cellulaires de surface. L'approche intracellulaire comprend l'application de molécules modulant les fonctions protéiques *via* interaction directe, ou une stratégie visant à

supprimer l'expression de la protéine cible, telle que l'ARN interférence ou la technologie antisens.

Plusieurs études ont été menées, visant les récepteurs CD30 et CD20. Alors que l'anticorps anti-CD30 ne donne que de modestes résultats (Foyil et Bartlett, 2010), le traitement anti-CD20 (rituximab) montre un taux d'efficacité allant de 86 à 100% selon deux études dans lesquelles il a été utilisé pour traiter des cas de LH à prédominance lymphocytaire (Ekstrand *et al.*, 2003 ; Rehwald *et al.*, 2003). Les futurs essais d'anticorps thérapeutiques dans le traitement du LH incluront peut-être l'utilisation de l'anticorps anti-IL-13, l'anticorps anti-CD40, ou anti-RANKL (Re *et al.*, 2005a).

Au niveau intracellulaire, de nombreux composés ciblent la voie de signalisation NFκB. Ce sont plus particulièrement des inhibiteurs de IKK, des inhibiteurs du protéasome ou des inhibiteurs directs de NFκB. La plupart des inhibiteurs sélectifs de IKK ciblent IKKβ et sont encore en phase préclinique de test. Le bortezomib a récemment été approuvé pour traiter les cas de rechute ou de myélomes multiples. Il s'agit d'un inhibiteur réversible du protéasome 26S. Il interfère donc avec la dégradation d'un panel de protéines incluant IκBα, qui retient NFκB dans le cytoplasme (Zheng *et al.*, 2004). Sachant que l'expression des gènes cibles de NFκB est sous l'influence de corépresseurs et coactivateurs qui acétylent et déacétylent la protéine RelA, des composés tels que le depsipeptide ou l'acide hydroxamique suberoylanilide sont actuellement à l'essai. Ces molécules inhibent les histone-déacétylases et interfèrent avec le potentiel transactivant de NFκB. Les essais cliniques utilisant ces molécules ont montré des résultats encourageants (Sandor *et al.*, 2002 ; Kelly *et al.*, 2003).

L'inhibition indirecte de NFκB *via* les voies impliquant TRAF (TNF receptor-associated factor), MEK/ERK ou PI3K/AKT peut également représenter une stratégie judicieuse, et montre des résultats probants *in vitro*. Il a été montré que des inhibiteurs de MEK/ERK et PI3K/AKT induisent l'apoptose dans des lignées cellulaires dérivées de cellules HRS (Zheng *et al.*, 2003 ; Georgakis *et al.*, 2004).

L'utilisation de molécules antisens visant à éteindre l'expression d'un gène est également envisagée. Des études sont actuellement menées sur l'efficacité de molécules antisens visant STAT3, XIAP, et TRAIL (Re *et al.*, 2005b).

Travail expérimental

Le laboratoire de microbiologie de la faculté de pharmacie de Limoges étudie depuis plusieurs années l'implication de l'HHV-6 dans les pathologies qui lui sont associées ou soupçonnées de l'être. Les travaux décrits dans cette thèse se regroupent en deux volets distincts.

Dans une première partie sera étudiée l'implication de l'HHV-6 dans les syndromes d'hypersensibilité médicamenteuse ou DRESS.

La stimulation de la réplication virale de l'HHV-6 par diverses molécules médicamenteuses associées à des cas cliniques de DRESS fut étudiée *in vitro*, en utilisant la souche HST du variant B de l'HHV-6 qui est cultivé par co-culture avec la lignée MT4 de lymphoblastes T humains. Ce travail effectué en partenariat avec l'équipe du professeur Vincent Descamps à l'hôpital Bichat-Claude Bernard à Paris, a donné lieu à deux publications dans *Journal of Clinical Virology* et dans *European Journal of Dermatology*.

Un autre travail, effectué dans le cadre d'une étude multicentrique, a consisté en l'obtention et l'analyse des données virologiques d'une cohorte de patients souffrant de DRESS. Ce travail collaboratif a donné lieu à un article publié dans *Science Translational Medicine*.

Le deuxième axe de cette thèse consiste en l'étude de l'HHV-6 dans la maladie de Hodgkin. La protéine DR7, présentant des propriétés oncogéniques, est étudiée depuis plusieurs années au sein du laboratoire de virologie de l'EA 4021. Cette équipe étudie notamment l'implication de l'HHV-6 dans le lymphome de Hodgkin *via* cette protéine. L'objet du travail présenté ici consiste en l'étude des dérégulations cellulaires entraînées par la surexpression de DR7 dans la lignée lymphocytaire B BJAB. Les résultats obtenus sont présentés au sein d'une étude plus globale dans *Clinical Cancer Research*, et d'une publication soumise dans *Leukemia*.

Partie 1 : Etude du rôle de l'HHV-6 dans le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse

I. Pathogenèse du DRESS : hypothèses

Les mécanismes par lesquels l'HHV-6 réactive au cours des syndromes d'hypersensibilité médicamenteuse sont encore inconnus. Les éléments nécessaires au déclenchement du DRESS sont : la molécule médicamenteuse, le virus, et leur interaction avec le système immunitaire. Les drogues associées au DRESS incluent plusieurs molécules anti-épileptiques. Une prédisposition génétique a été corrélée au DRESS. Les anticonvulsivants aromatiques (phénytoïne, phénobarbital, carbamazépine) sont, par exemple, partiellement métabolisés en époxydes aromatiques par les enzymes de la superfamille du cytochrome P-450. Des patients ayant un défaut de ce système de détoxification ont été sujets à des DRESS (Shear et Spielberg, 1988 ; Moss *et al.*, 1999). Ceci suggère que de fortes concentrations en drogue jouent un rôle dans la survenue de la réponse immunitaire.

Le DRESS a été principalement associé à l'infection par l'HHV-6 (Descamps *et al.*, 1997), mais également par d'autres membres de la famille des herpèsvirus humains : l'HHV-7, l'EBV et le HCMV (Seishima *et al.*, 2006 ; Suzuki *et al.*, 1998 ; Descamps *et al.*, 2003b ; Aihara *et al.*, 2001). Un groupe japonais a effectué un parallèle entre les développements cliniques du DRESS et du rejet de greffe induit par une réactivation virale, qui montrent de la même manière une réactivation séquentielle de ces herpèsvirus au cours du temps (Shiohara *et al.*, 2006 ; Kano *et al.*, 2006a).

Les éléments définissant la pathologie du DRESS sont une réaction immunitaire et une ou plusieurs réactivations virales (et principalement la réactivation de l'HHV-6). Cependant il n'est pas encore défini laquelle de ces conditions est la cause et laquelle est la conséquence.

- Le déclenchement pourrait être une réaction allergique à la molécule médicamenteuse, qui entraîne une stimulation des lymphocytes T contenant les génomes viraux des herpèsvirus, ce qui expliquerait la cascade de réactivation de ces virus initialement latents. L'activation de

cellules T en présence de carbamazépine ou de ses métabolites, phénytoïne, ou de dérivés sulfonamides antimicrobiens a notamment été montrée (Wu *et al.*, 2006 ; Mauri-Hellweg *et al.*, 1995).

- Inversement, la réactivation virale pourrait être responsable d'une réaction immunitaire et donc du déclenchement du syndrome.

Katsafanas *et al.* (1996) ont démontré *in vitro* la réactivation de l'HHV-7 et de l'HHV-6B latents dans des PBMCs. L'activation de cellules T entraîne tout d'abord la réactivation de l'HHV-7, qui entraîne à son tour la réactivation de l'HHV-6B. A ce stade, l'HHV-6B devient prédominant et l'HHV-7 disparaît. La réactivation séquentielle de plusieurs herpèsvirus avant et pendant le déroulement du syndrome joue potentiellement un rôle important dans le DRESS. En effet, la réactivation d'herpèsvirus latents, tel que l'EBV, peut être initiée longtemps avant le début des symptômes cliniques, et une forte réponse immunitaire résulterait alors en une réduction des charges virales et l'apparition des symptômes. Suivant cette théorie, la symptomatologie inhérente au syndrome serait alors principalement dirigée par une expansion de cellules T activées spécifiques du virus.

Ainsi le scénario selon lequel les symptômes du DRESS sont induits par une activation et expansion de cellules T antivirales, plutôt que par une réponse T uniquement spécifique du médicament, pourrait notamment expliquer pourquoi il est fréquemment observé une aggravation de la symptomatologie malgré un arrêt de l'administration de la drogue responsable du syndrome.

Par ailleurs, il a été montré que des drogues fréquemment responsables de DRESS sont capables d'induire une déficience du système immunitaire, ce qui expliquerait l'hypogammaglobulinémie transitoire apparaissant en début de syndrome, observé chez les patients sujets au DRESS (Kano *et al.*, 2004). A partir de cette hypothèse, Shiohara *et al.* (2006) ont suggéré que l'arrêt de la prise médicamenteuse permettrait une restauration rapide de la réponse immunitaire antivirale (suite à l'immunosuppression transitoire) et déclencherait l'apparition des symptômes, expliquant ainsi pourquoi la charge virale n'est pas toujours détectable en début de maladie (figure 17).

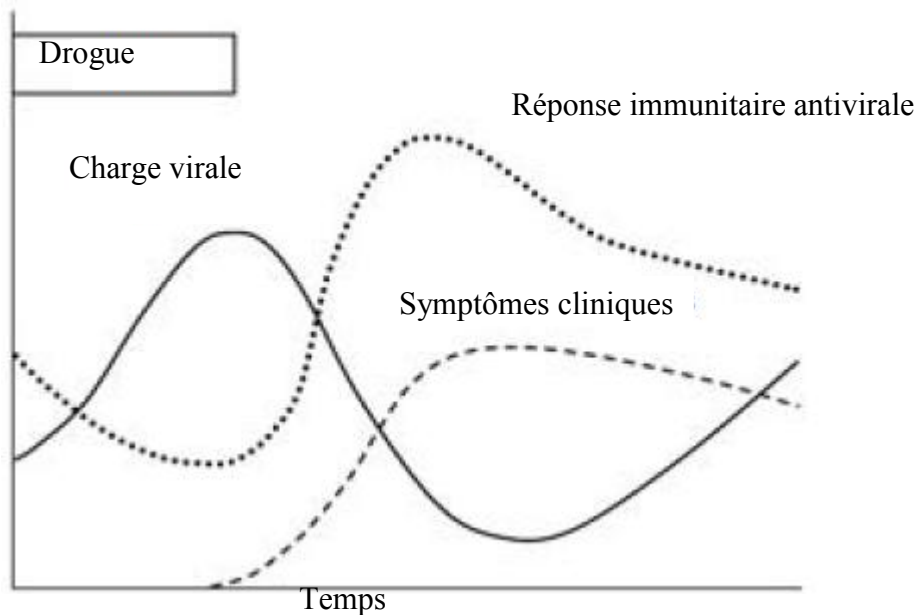


Figure 17 : Déroulement du DRESS (hypothèse) (d'après Shiohara *et al.*, 2006)

II. Etude de la réplication virale en présence de molécules associées au DRESS

Dans l'hypothèse où la réactivation de l'HHV-6 se produit dans un premier temps lors du déroulement du DRESS, et induit ensuite une réponse immunitaire dirigée par les cellules T et entraînant l'apparition des symptômes, l'infection par l'HHV-6 se déclenche donc durant la prise médicamenteuse, bien que les mécanismes de réactivation soient inconnus.

Afin d'apporter des éléments de réponse, nous avons étudié le comportement de la réplication virale de la souche HST du variant B de l'HHV-6, en présence de molécules fréquemment associées à des cas cliniques de DRESS (valproate de sodium, carbamazépine, phénytoïne, sulfasalazine ou amoxicilline), le variant B de l'HHV-6 étant très fréquemment détecté dans les DRESS.

Le valproate de sodium, la phénytoïne et la carbamazépine sont très utilisés dans le traitement de l'épilepsie, la sulfasalazine est utilisée dans le traitement anti-inflammatoire de la polyarthrite rhumatoïde, et l'amoxicilline est un antibiotique utilisé dans le traitement des infections bactériennes à germes sensibles.

La réplication virale de virus autres que l'HHV-6 a été montrée comme étant stimulée par certaines de ces molécules. Le valproate de sodium entraîne une augmentation de la réplication de l'HHV-8 (Shaw *et al.*, 2000) et du HCMV (Kuntz-Simon et Obert, 1995). La réplication du VIH a été montrée comme étant stimulée par le valproate de sodium, la carbamazépine et la phénytoïne, *via* une transactivation du promoteur des séquences LTR (long terminal repeat) (Robinson *et al.*, 2006).

La souche HST du variant B de l'HHV-6 est cultivé par co-culture avec la lignée lymphocytaire T MT4. Afin d'étudier la réplication virale de façon précise et reproductible, nous avons procédé à des infections synchrones des cellules MT4. Cette étape consiste en la mise en contact de virions préalablement purifiés avec les cellules par centrifugation, afin d'obtenir de celles-ci qu'elles soient infectées en même temps, ce qui permet d'observer par la suite une synchronisation du cycle de réplication viral entre les différentes cellules infectées.

Il a donc été nécessaire de constituer au préalable un stock de particules virales purifiées. Dans cet objectif, de grandes quantités de cultures virales ont été groupées. Puis les cellules ont été éclatées par la succession de deux cycles de congélation/décongélation, et les débris cellulaires ont alors été éliminés par centrifugation. Les surnageants ainsi obtenus ont ensuite été soumis à une ultracentrifugation (1 heure, 100000g), et les virions purifiés se trouvant dans le culot ont été regroupés en un stock global de particules virales.

Ce stock a ensuite été titré, afin de déterminer la dose à utiliser pour induire une multiplicité d'infection ou M.O.I. (multiplicity of infection) voulue dans un nombre fixe de cellules. Diverses dilutions de ce stock ont donc été utilisées pour infecter 5×10^5 cellules MT4. L'infection synchrone a été réalisée par centrifugation : 1 heure à 37°C, 2000 rpm (rotations par minutes). Après 24 heures d'incubation, le pourcentage de cellules infectées a alors été déterminé par immunomarquage, en utilisant un anticorps dirigé contre une protéine précoce de l'HHV-6, la protéine p41 (facteur de processivité de l'ADN polymérase virale), puis un anticorps secondaire couplé à la fluorescéine ou FITC (fluorescein isothiocyanate). Le pourcentage de cellules infectées a ensuite été déterminé par comptage au microscope à fluorescence. Elles sont aisément reconnaissables par leur aspect ballonisé (formation de syncytia) et leur couleur verte due au marquage fluorescent (figure 18). Pour chaque essai, deux opérateurs indépendants ont compté trois champs de cellules marquées, et la moyenne des résultats obtenus a été calculée (tableau 8).

Dilution du stock viral	Volume de stock utilisé (µl)	% de cellules infectées	Nombre de cellules infectées/5.10 ⁵ cellules
1 / 16	12.5	6	35.10 ³
1 / 8	25	10	50.10 ³
1 / 4	50	19	95.10 ³
1 / 2	100	37	185.10 ³
pur	200	62	310.10 ³

Tableau 8 : Titrage du stock de virions purifiés.

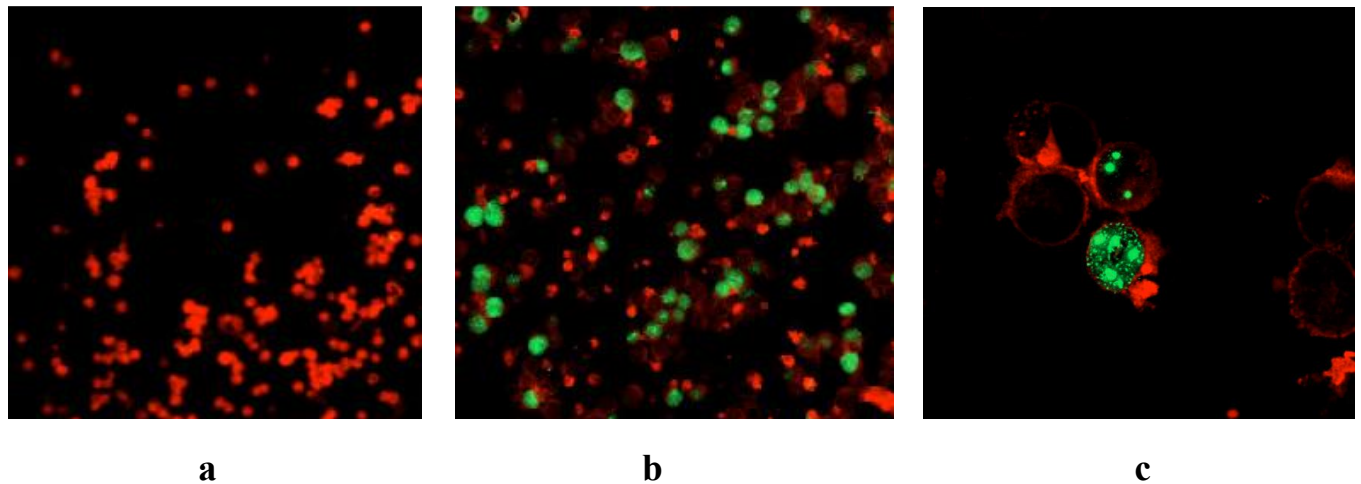
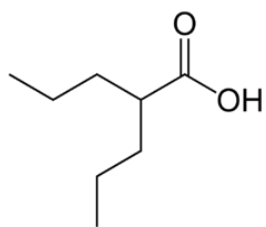


Figure 18 : Immunomarquage de la protéine virale p41 sur des cellules MT4 seules (a), ou co-cultivées avec la souche HST de l'HHV-6B (b), photographies de microscopie à fluorescence (x200). (c) : zoom (x640) sur une cellule infectée : localisation nucléaire de la protéine p41.

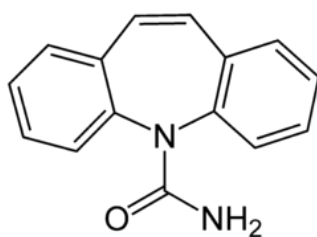
La réplication virale a été quantifiée en utilisant deux techniques différentes. La première technique a consisté en un immunomarquage fluorescent dirigé contre le facteur de processivité de l'ADN polymérase virale de l'HHV-6, la protéine p41, comme décrit précédemment pour le titrage du stock viral. La PCR quantitative en temps réel a parallèlement été utilisée pour quantifier la réplication virale. Basée sur la chimie Taqman, la technique utilisée permet l'amplification d'un fragment de 99 pb du gène U22 du génome de l'HHV-6 (Collot *et al.*, 2002). Ce gène est présent de façon unique sur le génome viral. La quantification du nombre de copies

du gène U22 est donc directement représentative du nombre de génomes viraux dans chaque essai. La quantification se fait grâce à l'utilisation d'une sonde spécifique de la région amplifiée du gène U22, et marquée par une molécule fluorescente FAM-TAMRA (6-carboxytétraméthylrhodamine) à l'extrémité 5', et par une molécule « quencher » à l'extrémité 3'. Celle-ci inhibe la fluorescence du FAM-TAMRA lorsqu'elle est à sa proximité. Lorsque la séquence cible est amplifiée, la sonde qui y est hybridée spécifiquement est alors dégradée grâce à l'activité 5'-3' exonucléase de la polymérase utilisée, permettant ainsi de « libérer » un signal fluorescent quantifiable, produit par le marquage FAM-TAMRA.

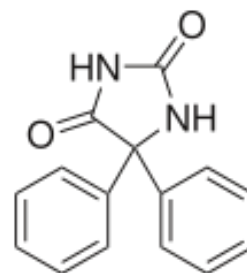
Afin d'évaluer la cytotoxicité des molécules étudiées sur les cellules MT4, la technique de coloration par le 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium bromide (MTT) a été utilisée. Elle est basée sur le clivage du sel de tétrazolium MTT jaune, en cristaux de formazan violets insolubles en milieu aqueux. Ce clivage s'effectue grâce à diverses enzymes cellulaires actives, dont les principales sont des déshydrogénases. Cette conversion se produit donc uniquement dans les cellules vivantes, et la quantité de formazan formée est proportionnelle au nombre de cellules viables. Les cristaux de formazan formés peuvent alors être solubilisés dans du DMSO (diméthylsulfoxyde) et la solution colorée résultante peut être quantifiée au spectrophotomètre par mesure de l'absorbance à 540 nm.



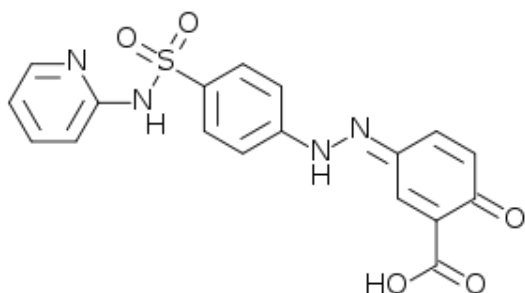
Acide valproïque



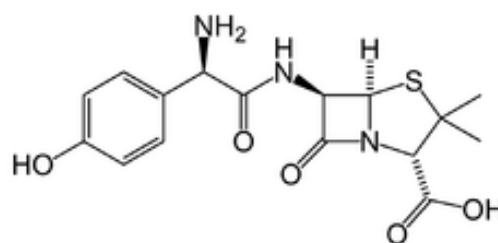
Carbamazépine



Phénytoïne



Sulfasalazine



Amoxicilline

Figure 19 : Représentation des molécules étudiées vis-à-vis de leur influence sur la réplication virale de l'HHV-6B.

Les deux articles présentés ci-après regroupent les résultats obtenus pour cette étude. Le second article présente les résultats obtenus pour l'amoxicilline, regroupés avec une étude menée sur des patients atteints de DRESS et ayant été traités par de l'amoxicilline.

III. Article 1

[Early effects of drugs responsible for DRESS on HHV-6 replication *in vitro*](#)

Laurent Mardivirin, Vincent Descamps, Aurélie Lacroix, Sylvie Delebassée, Sylvie Ranger-Rogeza

Journal of Clinical Virology, Volume 46, Issue 3, November 2009, Pages 300–302

IV. Article 2

[Amoxicillin-induced flare in patients with DRESS \(Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms\): report of seven cases and demonstration of a direct effect of amoxicillin on Human Herpesvirus 6 replication *in vitro*](#)

Mardivirin L, Valeyrie-Allanore L, Branlant-Redon E, Beneton N, Jidar K, Barbaud A, Crickx B, Ranger-Rogez S, Descamps V.

Eur J Dermatol. 2010 Jan-Feb;20(1):68-73. Epub 2009 Oct 12

V. Discussion des articles 1 et 2

L'objectif de cette étude a donc été d'étudier l'influence de molécules fréquemment incriminées dans des cas cliniques de DRESS sur la réplication de l'HHV-6B. Pour cela des cellules MT4 ont été pré-incubées durant 24 heures en présence de différentes concentrations thérapeutiques de chaque molécule considérée avant d'être infectées par la souche virale HST de l'HHV-6B de façon synchrone. Ceci permet d'observer par la suite des cellules infectées qui sont toutes en phase dans le cycle viral. La réplication virale a ensuite été évaluée 24 et 48 heures post-infection. La durée du cycle de réplication virale de l'HHV-6 étant de 72 heures, nous n'avons pas souhaité quantifier la réplication virale au delà de 48 heures dans cette expérimentation. En effet, le virus entame un deuxième cycle de réplication à partir du troisième jour post-infection, donnant ainsi lieu à des infections secondaires pouvant fausser l'analyse, au vu de leur caractère aléatoire.

La principale difficulté de cette expérience a été la reproductibilité. En effet, la réplication de l'HHV-6 *in vitro* semble très sensible aux facteurs environnementaux (température, état des cellules hôtes, stress cellulaire dû aux centrifugations...) et il ne fut pas rare de voir une série d'expérimentations invalidée à cause d'une infection synchrone ne donnant pas la M.O.I. attendue dans l'essai témoin (cellules infectées en absence de molécules).

Les expérimentations ainsi réalisées ont permis d'observer une stimulation de la réplication de l'HHV-6B *in vitro* en présence de concentrations thérapeutiques de valproate de sodium, carbamazépine ou amoxicilline. En effet, une augmentation significative de la réplication virale a été constatée pour ces trois molécules, et de façon similaire entre les deux techniques de quantification utilisées.

L'augmentation de la réplication virale par le valproate de sodium, la carbamazépine et l'amoxicilline semble être restreinte à une certaine gamme de concentrations dans notre modèle cellulaire. Il est probable que la cytotoxicité induite par des concentrations supérieures à 750 μ M de valproate de sodium et 75 μ M de carbamazépine entraîne un stress cellulaire tel que la réplication virale s'en trouve affectée. L'amoxicilline n'a cependant pas induit de cytotoxicité notable sur les cellules MT4, pour l'intégralité des concentrations testées, et seules les concentrations de 25 et 50 μ g/ml ont induit une stimulation de la réplication virale.

Les essais réalisés en utilisant différentes concentrations de phénytoïne ou sulfasalazine

n'ont pas induit de phénomène notable sur la réplication de l'HHV-6, malgré une faible toxicité de ces molécules sur la viabilité des cellules MT4 (figure 20).

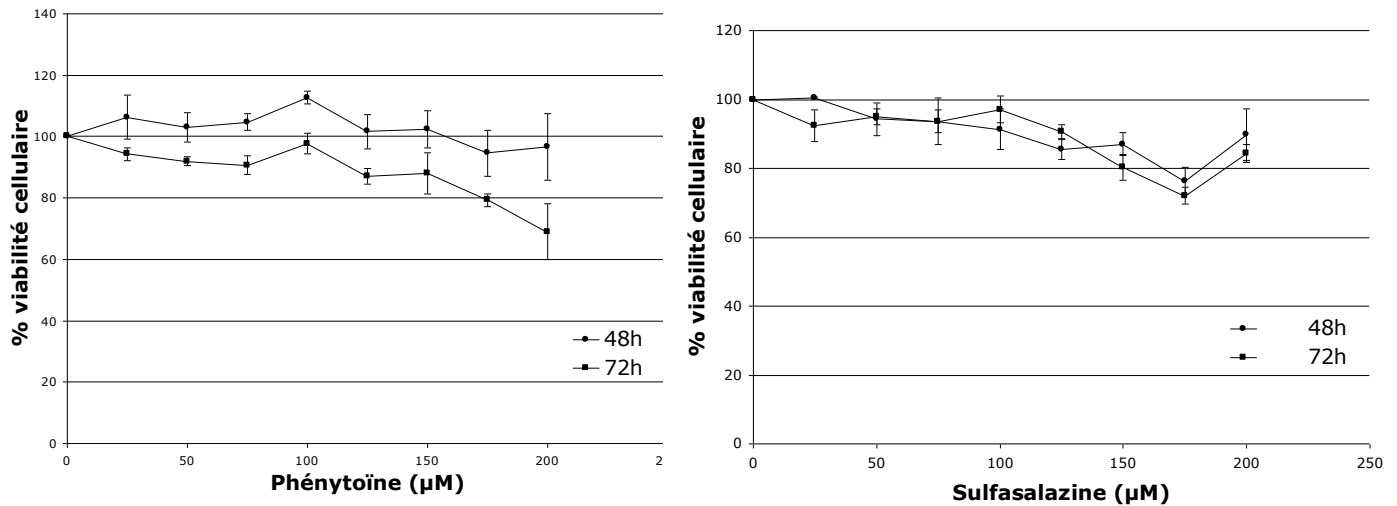


Figure 20 : Courbes de viabilité cellulaire des cellules MT4, en présence de concentrations thérapeutiques de phénytoïne et sulfasalazine.

Les délais d'action sur la réplication virale observés entre les différentes molécules considérées suggèrent des mécanismes d'action différents. En effet la carbamazépine ne stimule par exemple la réplication que 48 heures post-infection, alors que le valproate de sodium entraîne un phénomène visible à 24 et 48 heures post-infection. Le mode d'action par lequel la réplication virale est augmentée diffère donc probablement entre les différentes molécules testées. Robinson *et al.* (2006) ont montré que le valproate, la carbamazépine et la phénytoïne stimulent la réplication du VIH *via* une transactivation des LTR, et Kuntz-Simon et Obert (1995) ont également montré que le valproate transactive le promoteur des gènes IE 1 et 2 du HCMV. De façon analogue, il est probable que dans notre modèle d'étude, les molécules entraînant une augmentation de la réplication de l'HHV-6 génèrent des phénomènes cellulaires qui, bien que différents selon la molécule considérée, résultent en une stimulation de la cascade de transcription du génome viral.

Les mécanismes par lesquels l'amoxicilline stimule la transcription de l'HHV-6 restent inconnus. Il est probable que le valproate de sodium et la carbamazépine agissent *via* leur

capacité à inhiber les histones déacétylases cellulaires. Ce mécanisme a notamment été démontré concernant la stimulation du valproate sur la réplication du HCMV (Michaelis *et al.*, 2005), et la carbamazépine a été montrée comme ayant une activité inhibitrice des histones déacétylases (Beutler *et al.*, 2005).

L'absence de phénomène induit par la sulfasalazine et la phénytoïne dans cette expérimentation, peut être due bien sûr à l'absence d'action de la molécule sur la réplication de l'HHV-6B, ou bien au choix du modèle cellulaire utilisé. Witvrouw *et al.* (1997) ont étudié les effets du valproate sur la réplication *in vitro* du VIH-1, et ont montré que ce phénomène n'est détecté que dans certains modèles cellulaires *in vitro*, parmi plusieurs testés.

Les résultats obtenus montrent donc une action certaine de molécules incriminées dans le DRESS sur la réplication du variant B de l'HHV-6, et étayent l'hypothèse selon laquelle lors du déroulement de ce syndrome, la réactivation de l'HHV-6 se produirait rapidement, au cours de la prise médicamenteuse.

De plus, l'administration de ces molécules à des sujets souffrant de DRESS, mais dont le diagnostic n'est pas encore affirmé, explique les poussées symptomatiques alors observées. Le deuxième article sus-présenté rapporte 7 cas de patients souffrant de DRESS induit par une autre drogue, puis ayant été traités par l'amoxicilline, ce qui a résulté en une aggravation de leur état clinique. L'action stimulatrice de l'amoxicilline sur la réplication de l'HHV-6 peut expliquer un tel phénomène.

Cette molécule produirait alors un « effet boost » sur la réplication virale et l'intensité des symptômes, lorsqu'elle est administrée à des patients ayant entamé un DRESS, et souffrant encore d'une infection active par l'HHV-6.

VI. Etude d'une cohorte de patients atteints de DRESS

Les différents travaux étudiant les données cliniques et biologiques de patients atteints de DRESS n'ont jusqu'à présent porté que rarement sur un nombre important de patients. La rareté de cette maladie en est probablement la principale cause. Une telle perspective présente cependant un intérêt certain. La plupart des descriptions cliniques faisant référence à un petit nombre de patients, il est parfois difficile de généraliser les conclusions que ce genre d'étude apporte.

Une étude multicentrique prospective, menée entre novembre 2002 et décembre 2005 et engageant 26 différents services de dermatologie en France, a été mise en place. Celle-ci a permis le recrutement de 40 patients atteints de DRESS, selon les critères suivants :

- âge supérieur à 18 ans
- apparition d'une éruption cutanée après la prise d'un médicament connu pour induire le DRESS
- atteinte viscérale, incluant une augmentation des ganglions lymphatiques, une hépatite, une pneumonie interstitielle, ou une défaillance cardiaque ou rénale
- survenue d'une des anomalies biologiques suivantes : éosinophilie (>700 cellules/mm³), lymphocytose (>4000 cellules/mm³), ou mononucléose (>1000 cellules/mm³).

Les patients infectés par le VIH, ou ayant reçu des stéroïdes avant l'étude ont été exclus. Un suivi systématique de ces patients a été réalisé, afin d'obtenir des données cliniques et biologiques, sur une période prévisionnelle de 12 mois post-DRESS.

L'aspect immunologique du DRESS a été étudié sur cette cohorte de patients par le professeur Musette et ses collaborateurs. La production de cytokines et la caractérisation des sous-populations CD4⁺ et CD8⁺, des PBMCs issus de ces patients, ont notamment été étudiées.

Notre travail au sein de l'équipe du professeur Rogez a consisté en l'étude de l'aspect virologique, par la détection des éventuelles réactivations d'herpèsvirus, à partir d'échantillons issus de prélèvements sanguins de chaque patient.

La réplication d'un ou plusieurs virus à différents moments du suivi clinique a été mise en évidence par amplification du génome des virus recherchés. Une extraction d'ADN a été réalisée pour chaque échantillon de lymphocytes et de sérum et une PCR quantitative en temps réel a été réalisée ensuite sur ces échantillons d'ADN, afin de quantifier le nombre de génomes viraux de

l'EBV, l'HHV-6, le HCMV et l'HHV-7. Une sérologie a également été réalisée à l'inclusion, afin de détecter la présence d'anticorps dirigés contre l'EBV, l'HHV-6 et le HCMV, et de déterminer le statut sérologique de ces patients vis-à-vis des différents virus, au début de l'enquête.

VII. Article 3

[Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms \(DRESS\): A Multiorgan Antiviral T Cell Response](#)

Picard D, Janela B, Descamps V, D'Incan M, Courville P, Jacquot S, Rogez S, Mardivirin L, Moins-Teisserenc H, Toubert A, Benichou J, Joly P, Musette P.

Sci Transl Med. 2010 Aug 25;2(46):46ra62

VIII. Discussion de l'article 3

Cette publication résulte d'un projet collaboratif, visant à étudier les éléments immunologiques, cliniques et virologiques d'une cohorte de 40 patients atteints de DRESS.

L'objet de notre travail concerne les données virologiques : une quantification de quatre herpèsvirus potentiellement impliqués dans le DRESS, a été réalisée par PCR en temps réel, sur différents échantillons biologiques (lymphocytes et sérums) issus de la cohorte de patients étudiée. Le nombre de copies de génomes viraux de l'EBV, de l'HHV-6, du HCMV et de l'HHV-7 a donc été déterminé, en utilisant la technologie Taqman, suivant des techniques mises au point et utilisées de façon routinière par notre laboratoire (Lacroix *et al.*, 2007 ; Pradeau *et al.*, 2006b).

Sur les 40 patients étudiés, 38 ont pu bénéficier d'une analyse virologique. Classiquement, une réactivation virale a été considérée lors d'une quantité de génomes viraux anormalement élevée dans les PBMCs ou *a fortiori* dans le sérum. Une charge virale moyenne associée à la présence d'IgM a également permis de conclure à une réactivation virale.

L'analyse des charges virales a montré une réactivation durant le premier mois du suivi (entre J0 et J30) chez 42% des patients (16/38) pour l'EBV, 45% des patients (17/38) pour l'HHV-6, et 32% (12/38) pour l'HHV-7. Aucune réactivation du HCMV n'a été mise en évidence parmi les 38 patients, dans les premiers jours ou tout au long du suivi. Une proportion de 76% (29/38) des patients a été caractérisée par une réactivation virale, et une réactivation multiple a été observée dans 34% (13/38) des cas.

Comparativement, des analyses similaires ont été réalisées à partir d'échantillons provenant de 50 sujets sains, et aucune réactivation virale n'a été détectée pour ces sujets « contrôles ». De l'ADN viral a cependant été amplifié en faible quantité (<200 copies/ μ g d'ADN) à partir de PBMCs de 40% des sujets sains concernant l'EBV, 14% concernant l'HHV-6, et l'HHV-7 et 10% concernant le HCMV, correspondant vraisemblablement à du virus à l'état latent. L'analyse des sérums par PCR quantitative n'a permis d'amplifier aucun des échantillons provenant des sujets sains, pour chacun de quatre virus recherchés.

Le typage de l'HHV-6 (dont la technique est décrite dans Collot *et al.*, 2002) a révélé uniquement le variant B. La corrélation aux données cliniques a permis d'associer une réactivation virale à une fréquence significativement plus forte d'apparition d'œdèmes faciaux,

de monocytoses ou de lymphadénopathies.

Les résultats immunologiques présentés par l'équipe du professeur Musette confirment par ailleurs l'hypothèse selon laquelle la physiopathologie du DRESS est initiée par une réaction immunitaire dirigée contre un ou plusieurs herpèsvirus, plutôt que dirigée contre la molécule médicamenteuse incriminée. En effet, l'analyse des lymphocytes T CD8⁺ des patients étudiés a montré leur état d'activation, et une expansion oligoclonale de cette population a été observée dans 39 des 40 cas considérés. Une surexpression des cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IFN- γ a également été observée dans les lymphocytes CD8⁺ circulants, de façon proportionnelle à la sévérité de l'atteinte viscérale.

De plus, le séquençage du CDR3 (complementarity determining region) de la région V de lymphocytes CD8⁺ activés issus de 19 expansions clonales, a permis d'observer une homologie avec des régions CDR3 de lymphocytes CD8⁺ spécifiques de l'EBV décrites dans la littérature, pour 47% des séquences totales obtenues. La région CDR code pour une courte séquence d'acides aminés dans la région variable (V) des récepteurs aux antigènes, et détermine la spécificité et la nature du ligand. Une expansion des cellules T CD8⁺ est donc dirigée contre l'EBV dans une proportion importante des cas étudiés, ce qui permet de désigner l'agent viral comme responsable de la réponse T lymphocytaire et donc du déclenchement du syndrome dans ces cas. De plus, une homologie de séquence du CDR3 avec des lymphocytes spécifiques de l'EBV a été observée pour des patients pour lesquels une réactivation de l'EBV n'a pas été constatée durant le suivi, ce qui suggère qu'elle a eu lieu avant le début de la maladie. La présence de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de l'EBV a été confirmée par analyse en cytométrie en flux.

Une homologie avec des régions CDR3 de lymphocytes CD8⁺ spécifiques de l'EBV a également été observée à partir d'échantillons provenant de la peau de 4 patients et du foie d'un patient ayant subi une transplantation après défaillance hépatique.

Une comparaison avec des séquences issues de lymphocytes T spécifiques de l'HHV-6 ou de l'HHV-7 s'est révélée impossible car de telles séquences ne sont pas encore décrites.

Par ailleurs, une augmentation de la production d'EBV a été observée en présence de sulfaméthoxazole, carbamazépine, allopurinol et valproate de sodium dans des lymphocytes B immortalisés de patients atteints de DRESS. Il est intéressant de remarquer que cette

augmentation de la réplication de l'EBV n'a pas uniquement été observée en présence de la molécule initialement causale du DRESS, mais également en présence d'autres molécules parmi les quatre sus-citées. Aucune production d'EBV n'a été observée en présence de gentamicine, une drogue n'étant pas associée au DRESS, et des lymphocytes B immortalisés issus de sujets sains n'ont pas permis de constater une augmentation de la réplication de l'EBV en présence de sulfaméthoxazole, carbamazépine ou allopurinol. Ceci confirme l'idée d'une action directe de la molécule médicamenteuse, entraînant une stimulation de la réplication virale.

L'article 3 confirme donc l'association du DRESS avec la réactivation d'un ou plusieurs herpèsvirus, et argumente en faveur d'un rôle primordial de cette/ces infection(s) virale(s) dans la physiopathologie de ce syndrome, la détection d'expansions oligoclonales de lymphocytes T spécifiques du virus en étant le principal argument. La logique du déroulement du syndrome tel qu'il est ici supposé met en avant une réactivation virale qui se produit lors de la prise médicamenteuse. Les résultats obtenus pour les expérimentations de quantification de la réplication virale (de l'HHV-6 et de l'EBV) montrent la possibilité d'une telle occurrence.

Nous avons également étudié l'influence du valproate de sodium, de la carbamazépine, de la phénytoïne, de la sulfasalazine ou de l'amoxicilline sur la réplication *in vitro* de l'EBV. Nous avons pour cela utilisé trois lignées cellulaires dans lesquelles l'EBV est latent : les lignées Raji, Namalwa et P3HR1. Les lignées Raji et Namalwa ne produisent pas de particules virales, alors que la lignée P3HR1 est productrice de virions.

Les cellules ont été incubées durant 24 ou 48 heures en présence de différentes concentrations des molécules considérées (identiques à celles testées pour l'HHV-6). La réplication virale a ensuite été quantifiée par PCR en temps réel en amplifiant un fragment du gène EBNA1, comparativement à des cellules cultivées dans les mêmes conditions mais non exposées aux molécules étudiées.

Les différentes expérimentations menées sur les lignées Namalwa et P3HR1 n'ont permis d'observer une stimulation de la réplication de l'EBV dans aucun cas de figure. Concernant la lignée Raji, le valproate de sodium (250 et 500 μ M) et l'amoxicilline (66 μ M) ont permis d'observer un effet significatif. La figure 21 présente un récapitulatif des résultats observés sur la lignée Raji.

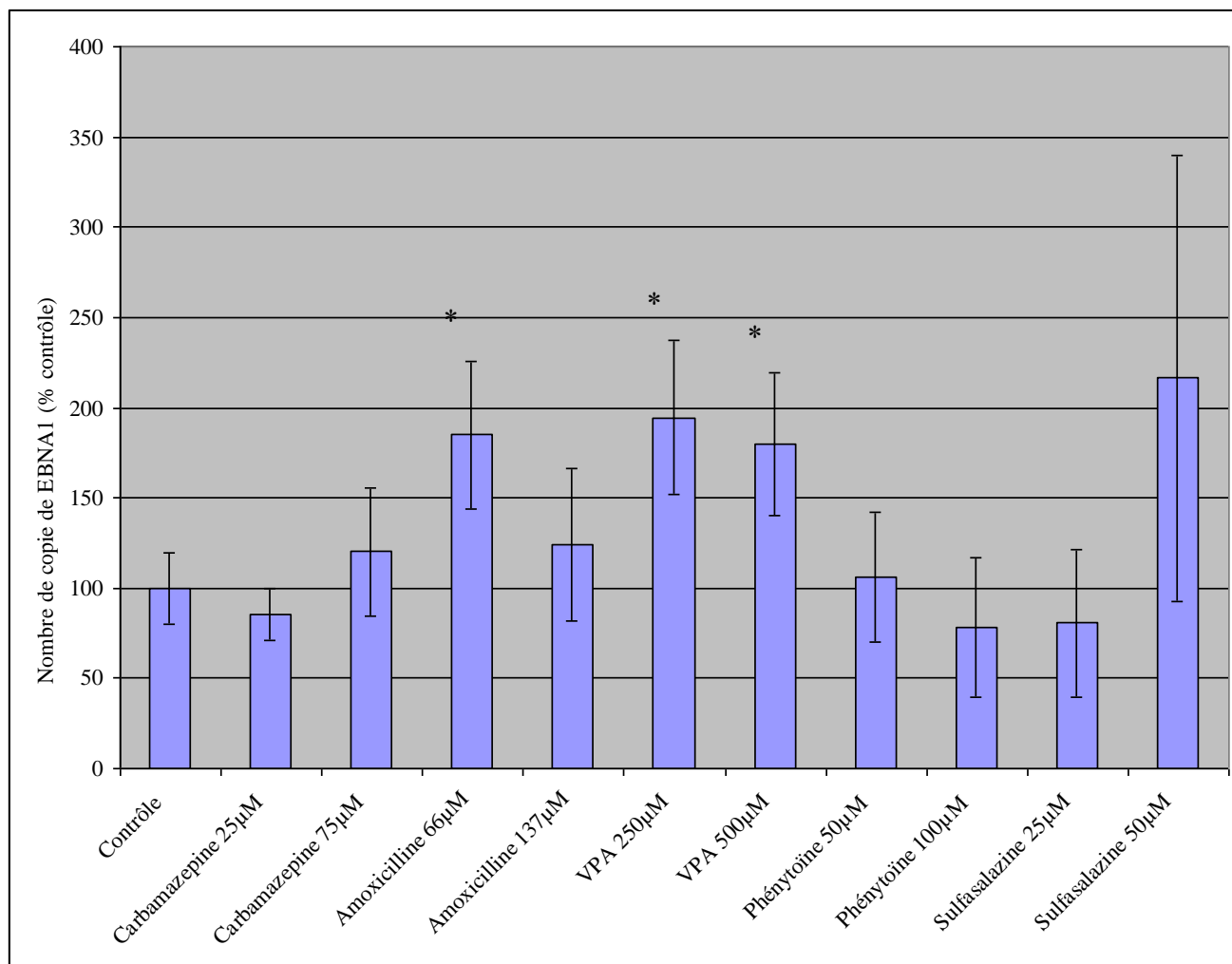


Figure 21 : Réplication de l'EBV dans la lignée cellulaire Raji, en présence de carbamazépine, amoxicilline, valproate de sodium (VPA) phénytoïne ou sulfasalazine. (* : test t de Student, $p < 0.05$)

Ces derniers résultats suggèrent que la mise en évidence d'une interaction drogue/virus *in vitro* est fortement dépendante du modèle lignée cellulaire/souche virale utilisé.

Partie 2 : Etude de l'oncoprotéine DR7 de

l'HHV-6

I. La protéine DR7

Les différents travaux visant à étudier l'implication de l'HHV-6 dans la lymphomagenèse ont mené à identifier DR7 comme un oncogène potentiel.

Une première étude publiée en 1990 a montré la capacité du génome de la souche GS de l'HHV-6 variant A, à transformer des fibroblastes murins NIH3T3, lorsqu'il est transfecté dans son intégralité dans ces cellules. De plus, l'injection sous-cutanée de ces cellules transfectées à des souris immunodéficientes (« nude ») entraîne l'apparition de tumeurs à croissance rapide (Razzaque, 1990). L'expérience fut renouvelée par la suite en transfectant divers fragments du génome de l'HHV-6 dans des kératinocytes humains RHEK-1, permettant alors la transformation de ces cellules. L'injection des cellules transformées à des souris immunodéprimées entraîna une nouvelle fois l'apparition de tumeurs (Razzaque *et al.*, 1993). Ces expérimentations suggèrent une capacité certaine de l'ADN de l'HHV-6 à induire *in vitro* un phénotype tumorigène dans des cellules humaines.

Le fragment *SalI*-L (issu d'une digestion du génome de l'HHV-6A par l'enzyme de restriction *SalI*), contenant la région DR_L et une partie adjacente de la région unique U, a notamment été montré comme ayant la propriété de transactiver la région LTR du VIH (Thompson *et al.*, 1994). La protéine DR7 correspondant au cadre de lecture ORF-1 (open reading frame 1) contenu dans ce fragment a ensuite été indentifiée comme étant notamment responsable de l'activité transactivatrice du promoteur de la séquence LTR du VIH, en absence des sites de fixation Sp1 de ce dernier (Kashanchi *et al.*, 1994). DR7 a montré également une capacité de fixation à la protéine p53 et d'inhibition de la transcription que p53 active. Le domaine de fixation par lequel p53 interagit avec DR7 est compris dans son domaine de fixation à l'ADN. De plus, les cellules surexprimant la protéine DR7 sont tumorigènes lorsqu'elles sont

injectées à des souris immunodéprimées, alors que des cellules produisant la protéine DR7 tronquée ne le sont pas. Par ailleurs, la séquence de *DR7* a été détectée dans des tissus cancéreux, notamment des ganglions lymphatiques issus de lymphomes hodgkiniens et non-hodgkiniens (Kashanchi *et al.*, 1997).

Le fragment *Sall*-L étudié alors par Kashanchi *et al.* (1997), est issu de la souche U1102 du variant A de l'HHV-6, et l'ORF-1 décrit est prédit comme contenant 357 acides aminés (aa). Gompels *et al.*, (1995), ont effectué en 1995 le séquençage complet de la souche U1102 et prédisent le gène *DR7* comme correspondant à une protéine de 363 aa.

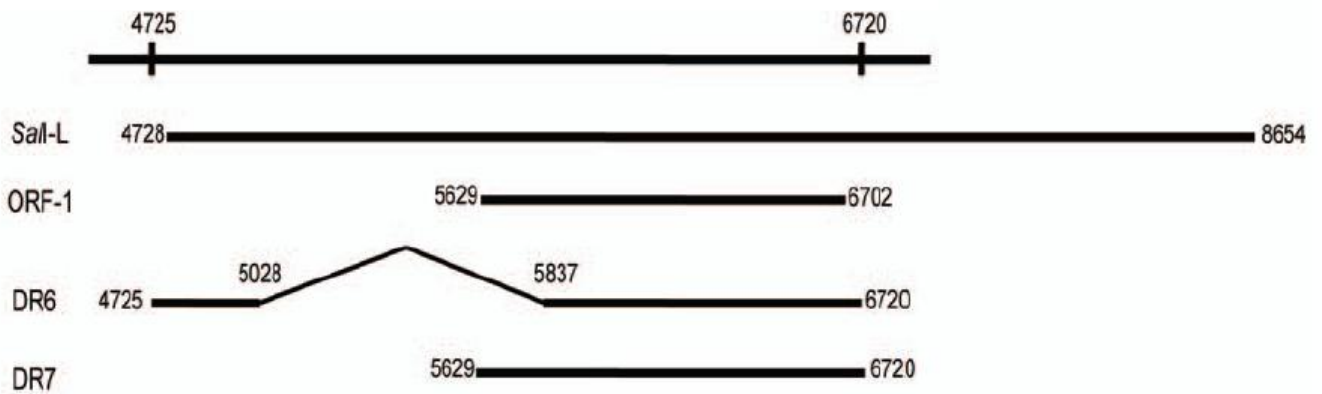
L'analyse de la séquence du génome de la souche Z29 du variant B a permis de prédire l'existence d'un ORF nommé alors *DR6* et comprenant deux exons nommés *DR6EX1* et *DR6EX2*. La comparaison de séquence a montré que les exons *DR6EX1* et *DR6EX2* présentent respectivement 89,1% et 88,8% d'homologie avec les gènes *DR6* et *DR7* de la souche U1102 du variant A (Dominguez *et al.*, 1999). Ceci suggère une divergence certaine inter-variants entre les ORFs considérés, ou bien la possibilité d'une erreur de prédiction lors du séquençage de la souche U1102 (figure 22). Schleiman *et al* (2009) ont montré que le produit du gène *DR6* du variant B est une protéine précoce, à localisation nucléaire, et formant un complexe avec le facteur de processivité p41 de l'ADN polymérase virale.

La souche HST a été séquencée par l'équipe du professeur Yamanishi (Isegawa *et al.*, 1999), et la comparaison des séquences des ORFs avec ceux de la souche U1102 montre notamment une différence au niveau du gène *DR7*, avec quatre autres gènes (*DR2*, *U86/90*, *U89/90* et *U95*). Contrairement au reste du génome, ces gènes présentent moins de 70% d'homologie entre les deux variants. De plus, la prédiction d'ORF sur la séquence de la souche HST, contrairement à la séquence de la souche Z29, permet de déterminer deux gènes distincts au niveau de *DR6* et *DR7*, correspondant respectivement aux premier et deuxième exons du gène *DR6* prédit sur la séquence de Z29 (*DR6EX1* et *DR6EX2*). La séquence du gène *DR6* de HST présente 84,5% d'homologie avec celle de *U1102*, alors que la séquence correspondant au gène *DR7* ne présente que 42,2% d'homologie. Cela est dû à la présence de deux délétions et une insertion dans la séquence du gène *DR7* de la souche HST, induisant un décalage précoce du cadre de lecture. Ces mutations ne sont cependant pas détectées au sein de la souche HST cultivée au sein du laboratoire de microbiologie de la faculté de pharmacie de Limoges. La

protéine DR7 issue de cette souche est ainsi relativement proche de celle correspondant à l'ORF-1 décrit par Kashanchi et aux protéines DR7 décrites par Gompels (variant A) et Dominguez (variant B souche Z29), puisque le décalage du cadre de lecture n'est pas retrouvé.

Une divergence de séquence au sein de différentes souches du variant B de l'HHV-6 est cependant constatée. Chou et Marousek (1994) ont suggéré une possible ségrégation des différents isolats issus du variant B de l'HHV-6, principalement basée sur une divergence de séquence des régions très précoces (gènes IE et particulièrement l'ORF U89) du génome. L'analyse de cet ORF permettrait alors de classer les souches Z29 et HST dans deux groupes différents (Isegawa *et al.*, 1999).

A Génome de l'HHV-6 variant A : souche U1102



B Génome de l'HHV-6 variant B

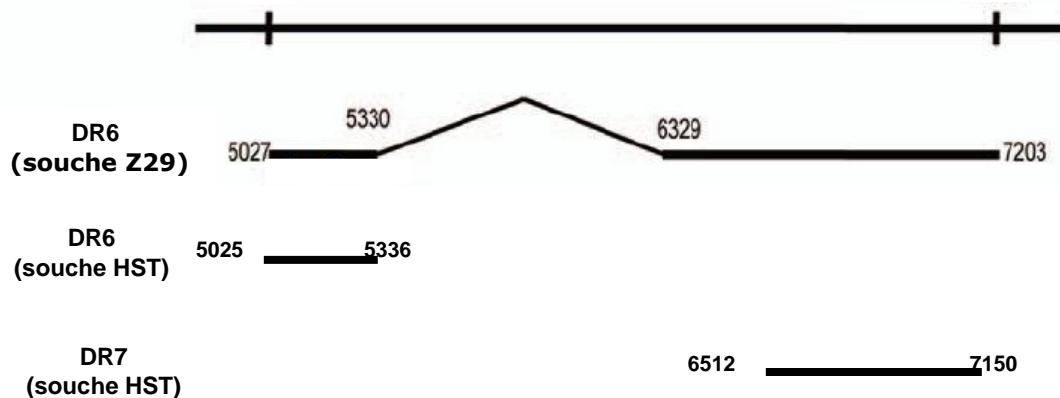


Figure 22 : Alignements des séquences des gènes *DR6* et *DR7* issus des souches U1102 (variant A), Z29 et HST (variants B) de l'HHV-6.

Au sein du laboratoire de microbiologie de la faculté de pharmacie de Limoges, le gène *DR7* du variant B de l'HHV-6 est étudié. Une étude antérieure réalisée par l'équipe de recherche a montré la présence de l'HHV-6 au sein de ganglions lymphatiques issus d'une cohorte de patients atteints du lymphome de Hodgkin (LH), avec une forte prédominance du variant B (Lacroix *et al.*, 2007). Le séquençage de *DR7* chez ces patients a montré que la séquence de ce gène était proche de celle du gène de la souche Z29 (variant B) avec la présence possible de 7 mutations, deux trouvées fréquemment et cinq plus rarement, entraînant un changement d'acides aminés selon le patient considéré (Pr Ranger-Rogez, résultats non publiés). L'ADN correspondant à l'équivalent de l'ORF-1 décrit par Kashanchi *et al.* chez le variant B de l'HHV-6, a par la suite été cloné à partir du prélèvement d'un patient représentatif de la cohorte étudiée, afin d'être soumis à diverses études.

II. Surexpression de la protéine DR7 dans la lignée BJAB

Afin d'étudier l'influence de DR7 sur le comportement cellulaire, une stratégie d'expression constitutive a été choisie, en utilisant un vecteur permettant une transcription et traduction de ce gène de façon durable : le plasmide pTRIN76.

Le gène *DR7* a donc été cloné au sein du plasmide pTRIN76, puis le vecteur recombinant obtenu a été utilisé pour réaliser une transfection stable (figure 23). L'obtention de cellules transfectées a été réalisée grâce à une sélection de ces dernières au G418, qui est un analogue de la néomycine, le vecteur pTRIN76 possédant un gène de résistance à cet antibiotique.

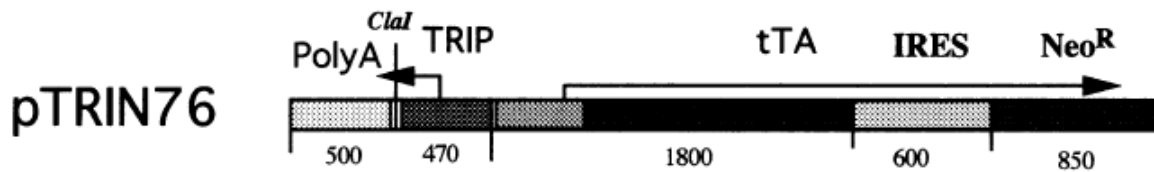


Figure 23 : Structure du plasmide pTRIN76 (d'après Sturtz *et al.*, 1998)

PolyA : séquence de polyadénylation, issue du génome du virus SV40

ClaI : site de restriction permettant le clonage du gène *DR7*

TRIP : promoteur répressible et inductible par la tétracycline (d'après Gossen et Bujard, 1992)

tTA : protéine transactivant le promoteur TRIP, sous le contrôle d'un promoteur fort issu du HCMV, et pouvant former un complexe (alors inactif) avec la tétracycline

IRES : séquence permettant le recrutement de ribosomes

Neo^R : gène de résistance à la néomycine

Dans l'optique d'étudier le rôle potentiel de DR7 dans le LH, nous avons choisi de surexprimer cette protéine dans la lignée lymphocytaire BJAB. Cette lignée est issue d'un patient atteint d'un lymphome de Burkitt, et ne contient ni le virus HHV-6 ni le virus EBV, sous quelque forme que ce soit (latente ou répliquative). Les cellules BJAB sont des lymphocytes B matures, ce qui correspond au type cellulaire duquel sont supposées dériver les cellules de Reed-Sternberg (RS), qui sont les cellules cancéreuses typiques du LH, et dont la détection valide le diagnostic (Kuppers, 2009).

L'étude présentée ci-après a donc visé à rechercher au sein de cellules BJAB surexprimant DR7, la survenue d'événements cellulaires connus au sein des cellules RS, afin d'étayer ou non l'hypothèse selon laquelle DR7 participe à la physiopathologie du LH.

III. Recherche de dérégulations détectées au sein des cellules de Reed-Sternberg

Comme rappelé précédemment, les cellules RS possèdent un phénotype particulier. Ces cellules présentent notamment des réarrangements et des mutations somatiques au niveau de la

région V du gène des immunoglobulines, une perte globale du programme d'expression génique des cellules B, et la co-expression de marqueurs de différents types cellulaires.

Plusieurs facteurs clés interviennent dans la maturation des cellules B : EBF-1 (early B-cell factor 1) exprimé faiblement dans les cellules RS, PAX5 dont la plupart des gènes cibles sont dérégulés dans les cellules RS, Notch-1 qui est un régulateur négatif du programme d'expression génique des cellules B et qui est fortement exprimé dans les cellules RS, et enfin E2A. Le gène E2A code pour deux facteurs nommés E12 et E47, qui sont exprimés normalement, mais dont la fonction est inhibée par les facteurs ABF1 et Id2 dans les cellules RS (Mathas *et al.*, 2006). Id2 est notamment fortement exprimé dans ces cellules RS (Renne *et al.*, 2006).

De plus, les cellules RS co-expriment plusieurs marqueurs issus de différents lignages cellulaires. Nous nous sommes intéressés dans cette étude à quatre protéines en particulier :

- Le récepteur CD30 est une protéine membranaire appartenant à la famille des récepteurs au TNF. CD30 interagit notamment avec les facteurs TRAF2 et TRAF5, et stimule le signal de transduction cellulaire menant à l'activation de la voie NFκB (Aizawa *et al.*, 1997). La protéine CD30 est fortement exprimée dans les cellules RS.
- Le marqueur CD83 est une glycoprotéine appartenant à la superfamille des immunoglobulines, exprimée dans les cellules dendritiques matures (Cao *et al.*, 2005). Une étude menée par Sorg *et al.* (1997) a montré la présence de CD83 au sein de cellules malignes dans des ganglions lymphatiques issus de LH de 22 des 23 patients étudiés. Par ailleurs, Hock *et al.* (2004) ont montré une forte expression du CD83 dans plusieurs lignées cellulaires dérivées de cellules de Reed-Sternberg.
- Le CD99 (ou MIC2) est une glycoprotéine exprimée de manière globale par les leucocytes. Son expression est plus particulièrement forte dans les cellules progénitrices hématopoïétiques (Dworzak *et al.*, 1994). Il a été montré que l'inhibition de l'expression de CD99 dans les cellules BJAB entraîne un phénotype proche des cellules RS, et que les cellules RS (issues de patients ou lignées cellulaires) ont une expression réduite de cette protéine (Kim *et al.*, 1998). Cette même étude montre également qu'une expression forcée de CD99 au sein de cellules RS entraîne l'abolition de leurs principales caractéristiques.
- La protéine GCET1 (germinal center B-cell expressed transcript 1, ou serpine A9 ou centerine) est un inhibiteur de protéase à sérine exprimé dans les cellules B du centre germinatif. Bien que son rôle reste encore inconnu, GCET1 a été montré comme un

marqueur spécifique de cellules malignes issues de lymphomes dérivant du centre germinatif, avec en particulier le type L&H de cellules RS retrouvées dans la forme à prédominance lymphocytaire du LH (Paterson *et al.*, 2008 ; Montes-Moreno *et al.*, 2008).

Afin de comprendre l'implication de l'HHV-6, et plus particulièrement de la protéine DR7, dans la physiopathologie du LH, nous avons étudié les conséquences de la surexpression de DR7 dans la lignée lymphocytaire B BJAB, en recherchant plusieurs dérégulations également observées dans les cellules RS. La mise en évidence d'un phénotype proche des cellules RS, induit par la protéine DR7, argumenterait alors en faveur d'un rôle possible de l'HHV-6 dans la lymphomagenèse du LH.

Outre les caractéristiques accrues de proliférations cellulaires et de résistance à l'apoptose propres à un phénotype malin, nous avons étudié l'expression des marqueurs CD30, CD83, CD99 et GCET1 dans les cellules surexprimant DR7, comparativement aux cellules témoins. L'expression d'Id2 a également été étudiée, au niveau transcriptionnel et traductionnel.

Le premier article présenté ci-dessous regroupe différents résultats obtenus au sein du laboratoire, sur l'implication de DR7 dans le LH. Notre travail a été réalisée en collaboration avec Aurélie Lacroix et concerne l'étude de l'expression du facteur Id2 dans la lignée cellulaire BJAB surexprimant DR7.

Le second article présenté montre l'influence de la surexpression de DR7 sur la prolifération, la résistance à l'apoptose et l'expression des protéines CD30, CD83, CD99 et GCET1 dans les cellules BJAB.

IV. Article 4

[Involvement of human herpesvirus-6 variant B in classic Hodgkin's lymphoma via DR7 oncoprotein](#)

Lacroix A, Collot-Teixeira S, Mardivirin L, Jaccard A, Petit B, Pigué C, Sturtz F, Preux PM, Bordessoule D, Ranger-Rogez S

Clin Cancer Res. 2010 Oct 1;16(19):4711-21. Epub 2010 Sep 21

V. Article 5

Reed-Sternberg-like deregulations in BJAB cells overexpressing DR7 protein from human herpesvirus type 6 (HHV-6) variant B

L Mardivirin¹, A Lacroix¹, M Marie¹, A Pinon², C Lepage³, S Collot-Teixeira¹, A. Jaccard⁴, S Ranger-Rogez^{1,5}

¹ Laboratoire de microbiologie, EA 4021, faculté de pharmacie de Limoges, France

² Laboratoire de chimie minérale, EA 4021, faculté de pharmacie de Limoges, France

³ Laboratoire de biochimie, EA 4021, faculté de pharmacie de Limoges, France

⁴ Service d'Hématologie clinique, CHU Dupuytren, 2 avenue Martin LutherKing, 87042, Limoges, France

⁵ Laboratoire de virologie, CHU Dupuytren, 2 avenue Martin LutherKing, 87042, Limoges, France

I. Discussion des articles 4 et 5

L'implication de l'HHV-6 dans le LH, notamment *via* la protéine DR7, est étudiée depuis plusieurs années et sous plusieurs aspects au sein du laboratoire.

Une première étude réalisée sur une cohorte de patients atteints de lymphoproliférations, a montré la présence du génome de l'HHV-6 au sein de ganglions lymphatiques de 35,1% des patients atteints du LH, 22,2% des patients atteints de lymphomes à cellules B, et 23,1% des patients atteints de lymphomes à cellules T ou NK (Collot *et al.*, 2002).

Une seconde étude a visé à détecter simultanément la présence de l'HHV-6 et de l'EBV par PCR quantitative en temps réel, au sein de ganglions lymphatiques d'une cohorte de 86 patients atteints de LH, l'EBV représentant l'unique implication virale actuellement reconnue officiellement dans le LH. Des prévalences de 61,6% et 79,1% ont été observées pour l'EBV et l'HHV-6, respectivement. En outre, une prévalence accrue de l'EBV a été montrée dans la forme à cellularité mixte (80,0% des cas), alors que l'HHV-6 a été détecté préférentiellement dans la forme scléro-nodulaire (83,6% des cas). Parmi les échantillons positifs pour l'HHV-6, le variant B a été trouvé dans une large majorité des cas (63 sur 68). Ces résultats suggèrent un rôle potentiel de l'HHV-6 dans le LH. Le fait que l'HHV-6 soit détecté en absence de l'EBV dans 27 cas cliniques de LH sur 86 argumente en faveur de cette hypothèse.

Ces études ont mené notre équipe de recherche à considérer l'HHV-6, et notamment le variant B, comme un virus potentiellement oncogène. L'HHV-6 a été initialement isolé à partir de PBMCs issus de patients souffrant de désordres lymphoprolifératifs (Salahuddin *et al.*, 1986), et diverses études ont depuis cherché à comprendre le rôle de l'HHV-6 dans les lymphoproliférations (Ogata, 2009). Les premières études qui ont étudié le potentiel oncogénique de l'HHV-6 ont consisté à cloner divers fragments du génome du variant A de l'HHV-6 puis à les utiliser pour transfecter la lignée cellulaire murine NIH3T3. Seul le fragment *SalI*-L a montré alors une activité transformante (Razzaque, 1990 ; Thompson *et al.*, 1994). Il a ensuite été démontré qu'un seul ORF était responsable des propriétés transformantes du fragment *SalI*-L : l'ORF1 ultérieurement appelé gène *DR7* (Kashanshi *et al.*, 1997 ; Gompels *et al.*, 1995).

Une interaction entre la protéine DR7 issue du variant A (DR7A) et la protéine p53 a été montrée (Kashanshi *et al.*, 1997). Notre laboratoire a montré que p53 interagit également avec DR7B, et que la présence de DR7B entraîne une augmentation de la transcription des sous-unités

p50 et p65 (ou RelA) du complexe NF κ B, ainsi qu'une stimulation de l'activité NF κ B, confirmant ainsi le caractère oncogène du variant B de l'HHV-6.

Un anticorps polyclonal dirigé contre la protéine DR7B a été produit, et son utilisation a permis à notre équipe de recherche de montrer la présence de cette protéine au sein de cellules RS issues de ganglions lymphatiques de patients atteints de LH et n'étant pas infectées par l'EBV. Cette dernière étude nous a conduit à suspecter un rôle potentiel de l'oncoprotéine DR7B dans la formation des cellules RS.

Afin d'étayer cette hypothèse, nous avons transfecté la lignée cellulaire BJAB afin d'y surexprimer la protéine DR7B. Bien qu'une lignée cellulaire possède, par définition, un caractère cancéreux, le fait que DR7B induise une capacité proliférative accrue confirme un aspect oncogène certain de cette protéine. Par ailleurs, les cellules surexprimant DR7B ont également montré une résistance à l'apoptose entraînée par une irradiation aux rayons ultraviolets (UV), signifiant ainsi que DR7B est capable d'induire un signal anti-apoptotique. L'irradiation des cellules BJAB par rayonnement UV à une dose de 100J/m², comme cela a été réalisé dans cette étude, a été montré comme entraînant l'apoptose, par Chatterjee et Wu (2001).

Le BAY11-7082 est une molécule de synthèse permettant de bloquer de façon irréversible la transduction du signal de la voie NF κ B. En effet cette molécule inhibe la kinase responsable de la phosphorylation de I κ B α (IKK) de façon spécifique. I κ B α , en se fixant sur NF κ B, est un facteur régulant négativement l'action de ce complexe. La phosphorylation de I κ B α entraîne un changement conformationnel ne lui permettant plus de lier le complexe NF κ B, et le laissant ainsi libre de déclencher la transcription de gènes cibles (figure 24). Le traitement de cellules BJAB avec le BAY11-7082 à une concentration de 3 μ M entraîne une forte diminution de la présence de la forme phosphorylée de I κ B α , comme montré par Terrin *et al.* (2008). Dans notre étude, le traitement des cellules BJAB surexprimant DR7B avec le BAY11-7082 (3 μ M) a entraîné une diminution significative de l'apoptose induite par un rayonnement UV, montrant que le signal anti-apoptotique induit par DR7B implique la voie NF κ B, apportant ainsi un élément supplémentaire en faveur d'une stimulation de cette voie par DR7B, notamment *via* l'action de IKK.

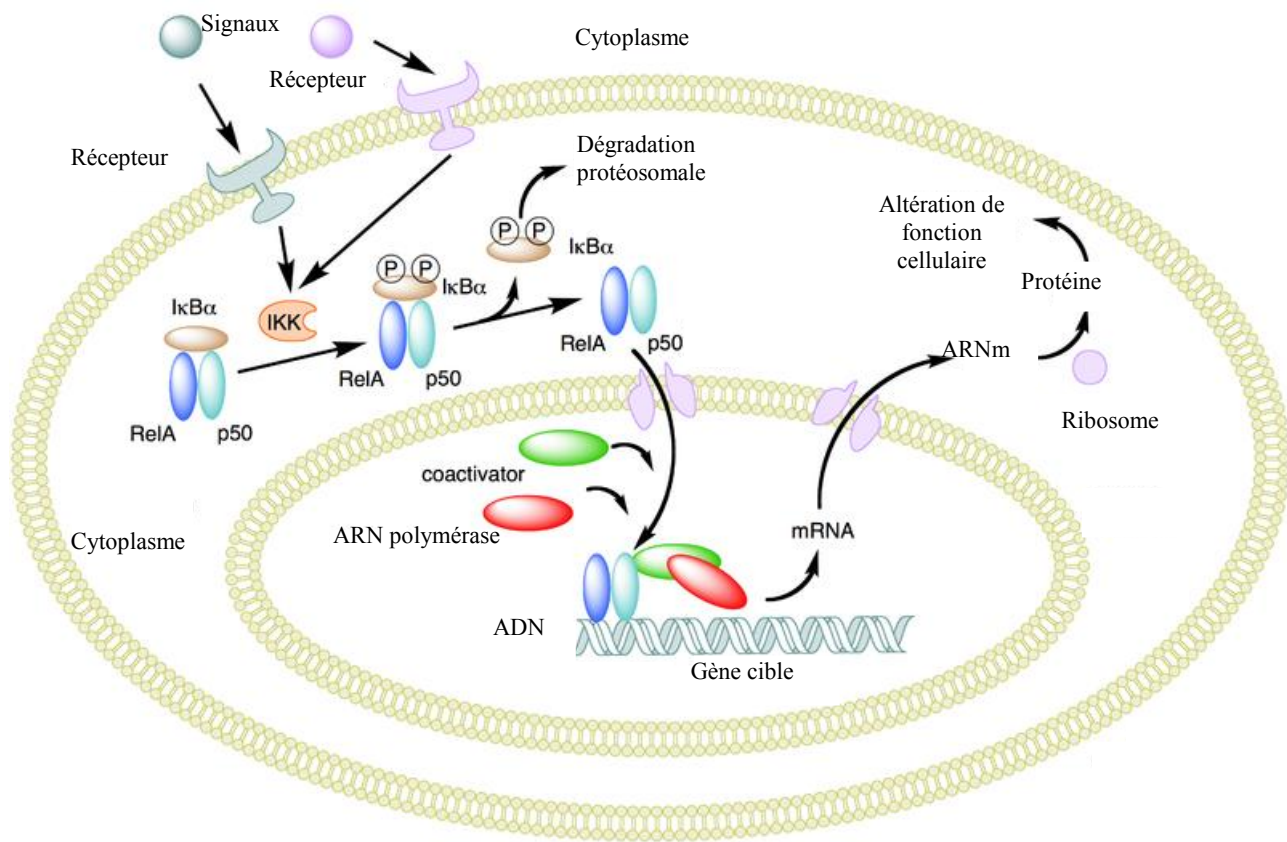


Figure 24 : Mécanisme d'action de la voie classique NFκB (d'après *Wikimedia Commons*).

L'évaluation par Western-blot de l'expression protéique basale des protéines anti-apoptotique et pro-apoptotique Bcl-2 et Bax, respectivement, a confirmé que DR7B induit un signal de résistance à l'apoptose. En effet, lorsque DR7B est exprimé dans les cellules BJAB, la protéine Bcl-2 est surexprimée, alors que Bax est sous-exprimé, comparativement aux cellules BJAB témoins.

La sous-régulation de la protéine Bax n'est pas conforme à la littérature concernant les cellules RS. En effet cette protéine semble être exprimée fréquemment au sein des cellules RS. Une étude basée sur une cohorte de 260 patients a par exemple montré la présence de Bax au sein de cellules RS issues de ganglions lymphatiques de 245 de ces patients, soit 94.2% des cas (Rassidakis *et al.*, 2002). Bai *et al.* (2007) ont montré que l'expression de la protéine Bax est significativement plus forte dans les cellules RS exprimant également Bcl-2, et suggèrent que la

présence de Bcl-2 contre le signal pro-apoptotique dans ces cas de figure, contribuant ainsi à la survie des cellules RS.

L'analyse de l'expression protéique de CD30, CD83, CD99 et GCET1 s'est révélée conforme à ce qu'il peut être attendu quant à un phénotype proche de celui des cellules RS : les protéines CD30, CD83 et GCET1 sont surexprimées alors que CD99 est sous-exprimé dans les cellules produisant DR7B, comparativement aux cellules témoins.

Enfin, le niveau d'expression d'Id2 s'est révélé fortement diminué, tant au niveau transcriptionnel que traductionnel, lorsque DR7B est présent dans les cellules BJAB.

L'ensemble de ces résultats montre que la protéine DR7B est capable d'induire diverses dérégulations entraînant un changement de phénotype qui tend alors vers celui des cellules RS : capacité proliférative augmentée, résistance à l'apoptose notamment *via* une stimulation de la voie NFκB, augmentation du niveau d'expression d'Id2, suggérant ainsi une perte relative du programme d'expression génique des cellules B, et sur- ou sous-expression aberrante de protéines de façon analogue aux cellules RS.

Conclusions – perspectives

Ce travail de thèse s'est articulé autour de deux grands axes distincts. Une première partie a visé à comprendre le rôle de l'HHV-6 dans les syndromes d'hypersensibilité médicamenteuse ou DRESS, et l'objectif de la seconde partie a été de continuer et approfondir une étude menée depuis plusieurs années au sein du laboratoire de virologie dirigé par le professeur Sylvie Rogez, concernant l'implication de l'HHV-6B, et plus particulièrement de la protéine oncogène DR7B, dans le lymphome de Hodgkin.

I. HHV-6 et DRESS

Il a été montré depuis plusieurs années que le DRESS est associé à une réactivation de l'HHV-6 principalement, mais également d'autres herpèsvirus tels que l'EBV. Plusieurs hypothèses ont été émises concernant la cause du déclenchement de ce syndrome. Les premières études japonaises ont considéré la réactivation de l'HHV-6 comme une conséquence des premiers symptômes du DRESS (notamment une immunodéficience transitoire), capable d'alourdir le bilan symptomatique global à court ou moyen terme. Une réaction immunitaire dirigée contre la drogue était considérée comme la cause du déclenchement du syndrome (le terme « drug allergy » était utilisé), et la réactivation virale comme un élément (non négligeable) des symptômes observés ultérieurement (Hashimoto *et al.*, 2003).

L'hypothèse mettant en avant la réactivation de l'HHV-6 comme un évènement précoce et causal du déclenchement du syndrome a cependant été émise par l'équipe du docteur Kano à partir de 2006 (Kano *et al.*, 2006a ; Shiohara *et al.*, 2006). Il a alors été suggéré que la réactivation virale a lieu durant la prise médicamenteuse, et entraîne par la suite une réaction immunitaire antivirale spécifique (expansion clonale T) responsable des symptômes du DRESS. Cette réponse immunitaire spécifique du virus pourrait alors donner lieu à d'autres expansions

clonales T secondaires, spécifiques de la drogue.

Les résultats obtenus dans ce travail ont permis d'étayer cette dernière hypothèse (figure 25), en confirmant la fréquence de la réactivation de l'HHV-6 (ainsi que celle de l'EBV ou de l'HHV-7) au sein d'une cohorte de patients atteints de DRESS, et en mettant en évidence une action de la drogue *in vitro*, entraînant une stimulation de la réplication virale. Plusieurs points sont importants à retenir :

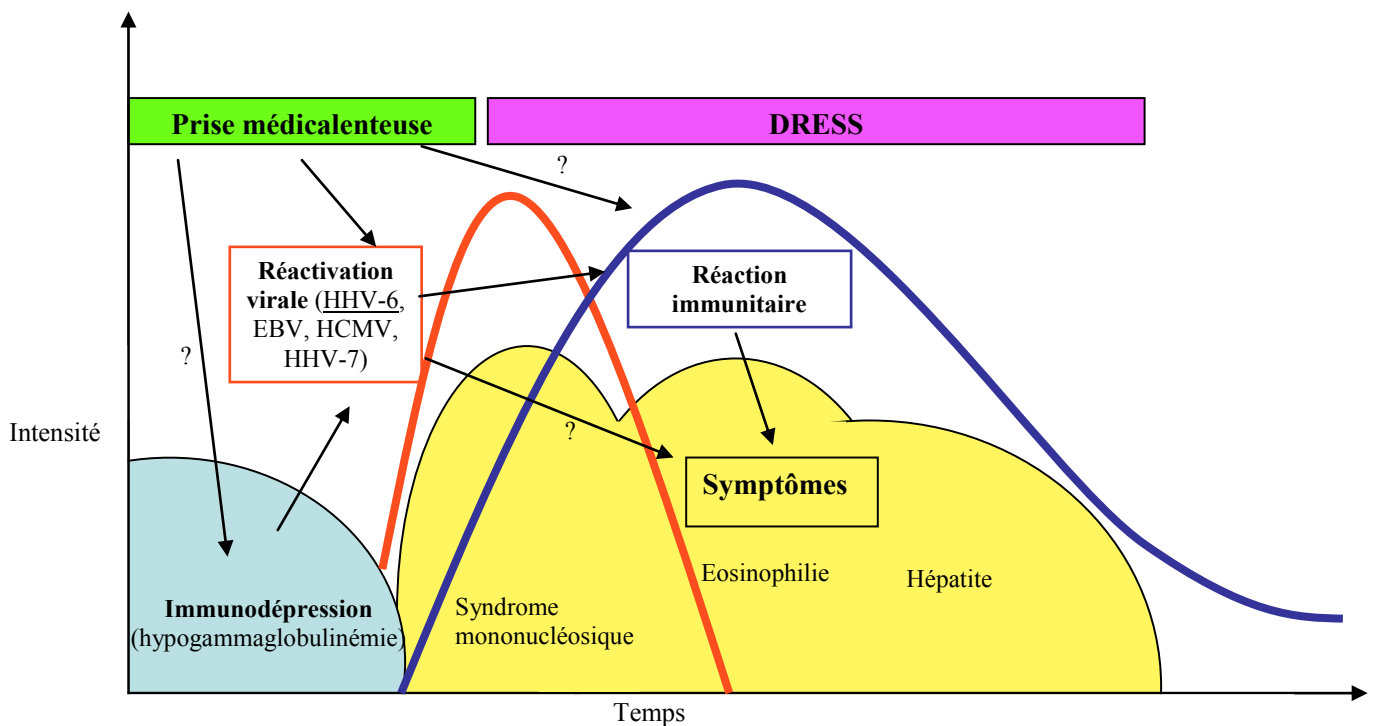
- Une éventuelle stimulation *in vitro* de la réplication virale par la présence de drogue semble dépendre du modèle cellule/virus utilisé. Le phénomène observé concernant l'EBV sur la lignée Raji n'a par exemple pas été retrouvé en utilisant les lignées Namalwa et P3HR1.
- Les mécanismes par lesquels les drogues peuvent entraîner une réactivation virale diffèrent probablement selon les molécules considérées. Même s'il est probable que le valproate de sodium et la carbamazépine agissent *via* leur activité inhibitrice des histones déacétylases, l'amoxicilline qui ne possède pas une telle propriété s'est révélée capable de stimuler la réplication de l'HHV-6. Il est alors imaginable que certains de ces mécanismes nécessitent plusieurs populations cellulaires et ne soient pas observables *in vitro*.
- La réactivation de l'HHV-6 en tant que conséquence d'une réaction immunitaire dirigée contre la drogue incriminée, ou en tant qu'évènement « opportuniste » suite à une situation immunodépressive au cours du DRESS, n'est pas une hypothèse à écarter. Ces cas de figure sont notamment argumentés par la capacité de certaines drogues à activer des lymphocytes T (Wu *et al.*, 2006 ; Mauri-Hellweg *et al.*, 1995), et par l'hypogammaglobulinémie transitoire apparaissant en début de syndrome (Kano *et al.*, 2004).
- L'administration de drogues pouvant potentiellement avoir une action sur la réplication virale, à des patients souffrant de DRESS, peut expliquer une recrudescence soudaine des symptômes. Ce phénomène est notamment observé pour les patients subissant un traitement anticonvulsivant, développant un DRESS, et dont le traitement est alors arrêté au profit d'une autre molécule anticonvulsivante.

L'analyse virologique d'une cohorte de patients atteints de DRESS a permis de confirmer une forte prévalence de l'HHV-6 associée à ce syndrome, et d'observer une prédominance nette du variant B (100% des cas dans l'étude présentée). L'EBV semble également être retrouvé fréquemment dans ce syndrome, alors que le HCMV et l'HHV-7 semblent avoir un rôle de

moins importante.

Il serait intéressant, en perspective à ce travail, d'étudier la réplication virale de l'HHV-6 en présence de drogues, au sein de PBMCs issus de patients souffrant de DRESS. Une telle opportunité permettrait de s'affranchir de la condition d'une éventuelle prédisposition génétique, et constituerait un modèle d'étude particulièrement proche de la réalité. La difficulté d'obtention et la courte durée d'utilisation de tels échantillons biologiques reste cependant une difficulté majeure à la réalisation d'un tel projet.

Par ailleurs, l'utilisation d'une lignée cellulaire comportant la forme latente de l'HHV-6, permettrait d'étudier les conséquences de la présence de drogues associées au DRESS, sur la réactivation (et non la réplication) de l'HHV-6.



II. HHV-6 et lymphome de Hodgkin

L'implication de l'HHV-6 dans le LH a fait l'objet de plusieurs études depuis sa découverte, bien que ces dernières aient abouti à des résultats discordants entre eux (Ogata, 2009). Quelques études ont cependant recherché la présence d'un antigène de l'HHV-6 au sein de tissus hodgkiniens mais elles se sont révélées peu ou non concluantes quant à un rôle de ce virus dans le LH (Trovato *et al.*, 1994 ; Valente *et al.*, 1996, Luppi *et al.*, 1998). Seule l'étude menée par l'équipe de Luppi (1998) a mis en évidence la présence de la protéine précoce p41 de l'HHV-6, au sein de cellules RS chez deux patients issus d'une cohorte en comprenant quatorze. Plusieurs publications ont rapporté une fréquence élevée de détection de l'ADN de l'HHV-6 dans des ganglions de LH, avec une tendance accrue dans les formes scléro-nodulaires (Torelli *et al.*, 1991 ; Collot *et al.*, 2002 ; Lacroix *et al.*, 2007). La rareté de détection d'antigènes d'HHV-6 dans les tissus cancéreux, et notamment dans les cellules RS, argumentait alors en défaveur d'un rôle majeur de ce virus dans la lymphomagenèse du LH.

De récents travaux issus de notre laboratoire ont cependant apporté de nouveaux éléments dans cette interrogation, en montrant par immunohistochimie la présence de la protéine DR7 du variant B de l'HHV-6 dans des infiltrats de ganglions lymphatiques de LH, et notamment dans des cellules RS. La protéine DR7A a précédemment été décrite comme oncogène, et notre équipe de recherche a confirmé une nature similaire pour DR7B, en montrant sa capacité à lier la protéine suppresseur de tumeur p53, et à stimuler l'activité NFκB. Ces résultats suggèrent alors une action potentielle de DR7B dans la pathogenèse du LH.

Lors de ce travail, la surexpression de DR7B dans la lignée lymphocytaire B BJAB a permis de mettre en évidence des dérégulations propres à un phénotype cancéreux, que sont une prolifération accrue, et une résistance supplémentaire à l'apoptose. L'utilisation du BAY11-7082, un inhibiteur spécifique de IKK, a montré que cette diminution de la mort cellulaire en réponse à un stress implique notamment NFκB, ce qui corrobore le fait que DR7B active de façon non négligeable cette voie. L'évaluation de l'expression basale de Bax (pro-apoptotique) et Bcl-2 (anti-apoptotique) dans les cellules BJAB exprimant DR7B, a montré une sous- et une surexpression respectives de ces protéines, confirmant ainsi un statut anti-apoptotique particulier.

Enfin, plusieurs dérégulations retrouvées dans les cellules RS ont été également détectées dans les cellules BJAB produisant DR7B, suggérant ainsi que cette protéine est capable de participer à la lymphomagenèse du LH : sous-régulation de CD99, et sur-régulation des marqueurs CD30, CD83, GCET1 et Id2, la surexpression de ce dernier facteur suggérant une

perte relative du programme d'expression génique des cellules B (figure 26).

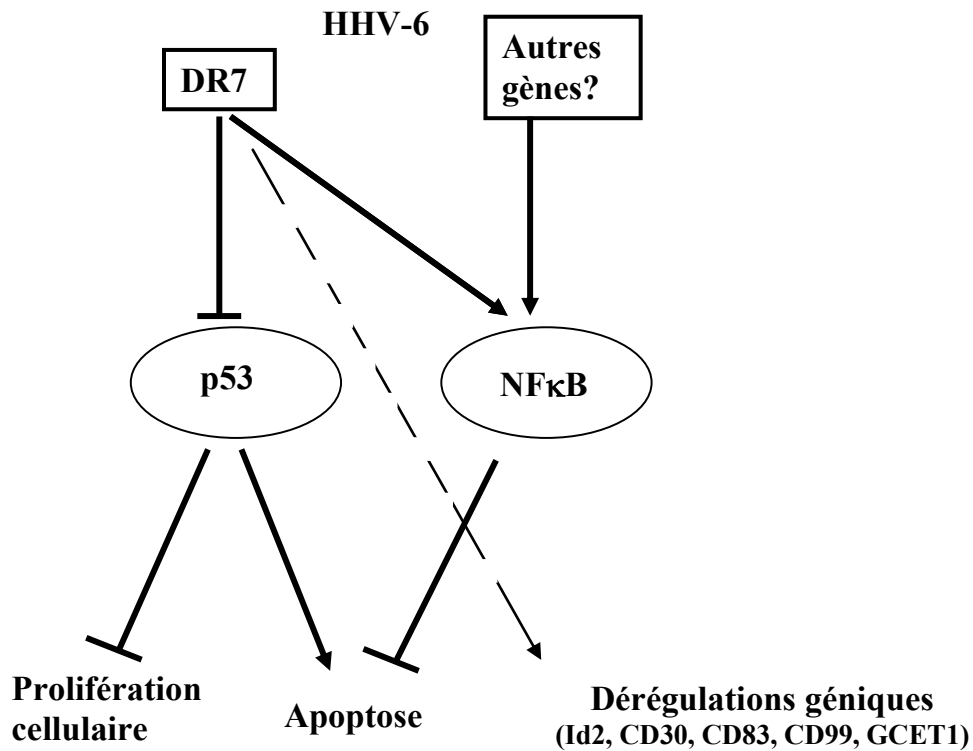


Figure 26 : Actions de l'HHV-6 sur la cellule *via* le gène DR7

Les mécanismes par lesquels DR7B induit une dérégulation de l'expression d'Id2, CD30, CD99, CD83 et GCET1 restent inconnus. Il a cependant été montré qu'une activation de la voie NFκB entraîne la surexpression de CD83 et la sous-expression de CD99 (Dudziak *et al.*, 2003 ; Lee *et al.*, 2001).

Ces résultats argumentent donc fortement en faveur d'un rôle oncogène de l'HHV-6 dans le LH. A l'issue de ce travail, plusieurs remarques doivent rester à l'esprit :

- La lignée BJAB a été choisie dans ce modèle d'étude car les cellules RS sont supposées dériver de cellules B matures. Bien que de nombreux éléments argumentent en faveur de cet état, ce n'est pas totalement avéré et la possibilité que les cellules RS dérivent de cellules T ou encore de cellules dendritiques reste présente (Kuppers, 2009).
- Les dérégulations observées au sein de notre étude sont dues à une expression constitutive de DR7B. Lors du travail de détection de DR7B par immunohistochimie sur des coupes de

ganglions de patients atteints de LH mené par le laboratoire, cette dernière protéine a été surtout observée dans les cellules RS comparativement aux cellules infiltrantes, avec un marquage relativement intense. Le complexe de glycoprotéines virales gp116/54/64 a quant à lui été observé dans les cellules infiltrantes dans la totalité des échantillons et dans une moindre mesure dans les cellules RS. Il semblerait donc que la protéine DR7 s'accumule dans les cellules RS, contrairement au complexe de protéines structurales gp116/54/64, ce qui suggère un état réplcatif particulier de l'HHV-6 dans ces cellules.

- Bertelsen *et al.* (2010) ont confirmé la capacité de l'HHV-6B à entraîner une sous-régulation de CD83. Ceci a été montré au sein de cellules dendritiques immatures. L'infection de ces cellules par l'HHV-6B entraîne leur maturation, mais ne semble pas permettre la production de virions.
- Le degré de participation de l'HHV-6 à la pathogenèse du LH reste encore à déterminer. L'HHV-6 n'est pas détecté dans les ganglions lymphatiques de tous les patients atteints de LH, et d'autres éléments sont actuellement à l'étude quant à leur participation à la lymphomagenèse dans cette pathologie (mutations somatiques, réarrangements géniques, EBV...). Peu de travaux ont jusqu'à présent recherché un rôle possible de l'HHV-6 dans le LH, alors que les mécanismes par lesquels l'EBV participe à cette pathologie font par exemple l'objet de nombreuses publications.

Il serait d'un intérêt certain d'approfondir les connaissances des mécanismes par lesquels DR7 transforme la cellule. Plusieurs voies de signalisation cellulaires peuvent être explorées quant à leur implication dans l'action de DR7 : les MAP kinases, les Janus kinases (Jak-Stat), PI3K-Akt, Erk et AP1. Ces voies sont fortement sollicitées et dérégulées dans le LH, et une action de DR7 sur ces dernières renforcerait son implication en tant qu'oncogène. Le facteur Notch1, fortement exprimé dans les cellules RS, semble aussi être un bon candidat d'étude dans ce contexte.

Afin de déterminer de façon plus large les conséquences cellulaires d'une surexpression de DR7B, une stratégie d'étude des dérégulations du transcriptome par utilisation de puces à ADN, permettrait de « balayer » les différentes voies de signalisation ou autres évènements cellulaires, et ainsi de déterminer quelles voies seraient intéressantes à étudier. Un tel travail est actuellement en cours au sein du laboratoire. Des résultats préliminaires ont notamment permis

d'orienter la recherche de dérégulations induites par DR7B vers les mécanismes de contrôle du cycle cellulaire.

Plusieurs autres protéines de l'HHV-6 ont été décrites comme aptes à transactiver le promoteur du LTR du VIH : U94, U89 (IE-A), U16 (IE-B), U3 ou U27. Cependant chacune de ces dernières nécessite les sites de fixation Sp1 et NFκB, alors que DR7 n'a besoin que de la boîte TATA du promoteur du LTR. Par ailleurs, DR7 est l'unique gène de l'HHV-6 actuellement décrit comme codant une protéine ayant des capacités transformantes (Doniger *et al.*, 1999).

Références bibliographiques

- Abdel Massih, R. C. & Razonable, R. R. (2009).** Human herpesvirus 6 infections after liver transplantation. *World J Gastroenterol* **15**, 2561-2569.
- Ablashi, D. V., Balachandran, N., Josephs, S. F., Hung, C. L., Krueger, G. R., Kramarsky, B., Salahuddin, S. Z. & Gallo, R. C. (1991).** Genomic polymorphism, growth properties, and immunologic variations in human herpesvirus-6 isolates. *Virology* **184**, 545-552.
- Ablashi, D. V., Eastman, H. B., Owen, C. B., Roman, M. M., Friedman, J., Zabriskie, J. B., Peterson, D. L., Pearson, G. R. & Whitman, J. E. (2000).** Frequent HHV-6 reactivation in multiple sclerosis (MS) and chronic fatigue syndrome (CFS) patients. *J Clin Virol* **16**, 179-191.
- Ablashi, D. V., Salahuddin, S. Z., Josephs, S. F., Imam, F., Lusso, P., Gallo, R. C., Hung, C., Lemp, J. & Markham, P. D. (1987).** HBLV (or HHV-6) in human cell lines. *Nature* **329**, 207.
- Agut, H., Aubin, J. T. & Huraux, J. M. (1991).** Homogeneous susceptibility of distinct human herpesvirus 6 strains to antivirals in vitro. *J Infect Dis* **163**, 1382-1383.
- Agut, H., Guetard, D., Collandre, H., Dauguet, C., Montagnier, L., Miclea, J. M., Baurmann, H. & Gessain, A. (1988).** Concomitant infection by human herpesvirus 6, HTLV-I, and HIV-2. *Lancet* **1**, 712.
- Aihara, M., Sugita, Y., Takahashi, S., Nagatani, T., Arata, S., Takeuchi, K. & Ikezawa, Z. (2001).** Anticonvulsant hypersensitivity syndrome associated with reactivation of cytomegalovirus. *Br J Dermatol* **144**, 1231-1234.
- Aizawa, S., Nakano, H., Ishida, T., Horie, R., Nagai, M., Ito, K., Yagita, H., Okumura, K., Inoue, J. & Watanabe, T. (1997).** Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 5 and TRAF2 are involved in CD30-mediated NFkappaB activation. *J Biol Chem* **272**, 2042-2045.
- Akashi, K., Eizuru, Y., Sumiyoshi, Y., Minematsu, T., Hara, S., Harada, M., Kikuchi, M., Niho, Y. & Minamishima, Y. (1993).** Brief report: severe infectious mononucleosis-like syndrome and primary human herpesvirus 6 infection in an adult. *N Engl J Med* **329**, 168-171.
- Alber, G., Kim, K. M., Weiser, P., Riesterer, C., Carsetti, R. & Reth, M. (1993).** Molecular mimicry of the antigen receptor signalling motif by transmembrane proteins of the Epstein-Barr virus and the bovine leukaemia virus. *Curr Biol* **3**, 333-339.
- Alexander, F. E., Daniel, C. P., Armstrong, A. A., Clark, D. A., Onions, D. E., Cartwright, R. A. & Jarrett, R. F. (1995).** Case clustering, Epstein-Barr virus Reed-Sternberg cell status and herpes virus serology in Hodgkin's disease: results of a case-control study. *Eur J Cancer* **31A**, 1479-1486.

- Alexander, F. E., Jarrett, R. F., Lawrence, D., Armstrong, A. A., Freeland, J., Gokhale, D. A., Kane, E., Taylor, G. M., Wright, D. H. & Cartwright, R. A. (2000). Risk factors for Hodgkin's disease by Epstein-Barr virus (EBV) status: prior infection by EBV and other agents. *Br J Cancer* **82**, 1117-1121.
- Allen, C. D., Okada, T. & Cyster, J. G. (2007). Germinal-center organization and cellular dynamics. *Immunity* **27**, 190-202.
- Anagnostopoulos, I. & Stein, H. (2000). [Large B-cell lymphomas: variants and entities]. *Pathologe* **21**, 178-189.
- Ansari, A. & Emery, V. C. (1999). The U69 gene of human herpesvirus 6 encodes a protein kinase which can confer ganciclovir sensitivity to baculoviruses. *J Virol* **73**, 3284-3291.
- Aouam, K., Bel Hadj Ali, H., Youssef, M., Chaabane, A., Amri, M., Boughattas, N. A. & Zili, J. E. (2008). Carbamazepine-induced DRESS and HHV6 primary infection: the importance of skin tests. *Epilepsia* **49**, 1630-1633.
- Arbuckle, J. H., Medveczky, M. M., Luka, J., Hadley, S. H., Luegmayer, A., Ablashi, D., Lund, T. C., Tolar, J., De Meirleir, K., Montoya, J. G., Komaroff, A. L., Ambros, P. F. & Medveczky, P. G. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 5563-5568.
- Armstrong, A. A., Alexander, F. E., Cartwright, R., Angus, B., Krajewski, A. S., Wright, D. H., Brown, I., Lee, F., Kane, E. & Jarrett, R. F. (1998). Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: further evidence for the three disease hypothesis. *Leukemia* **12**, 1272-1276.
- Asano, Y., Yoshikawa, T., Suga, S., Kobayashi, I., Nakashima, T., Yazaki, T., Kajita, Y. & Ozaki, T. (1994). Clinical features of infants with primary human herpesvirus 6 infection (exanthem subitum, roseola infantum). *Pediatrics* **93**, 104-108.
- Bai, M., Papoudou-Bai, A., Horianopoulos, N., Grepì, C., Agnantis, N. J. & Kanavaros, P. (2007). Expression of bcl2 family proteins and active caspase 3 in classical Hodgkin's lymphomas. *Hum Pathol* **38**, 103-113.
- Baillargeon, J., Piper, J. & Leach, C. T. (2000). Epidemiology of human herpesvirus 6 (HHV-6) infection in pregnant and nonpregnant women. *J Clin Virol* **16**, 149-157.
- Balachandran, N., Amelse, R. E., Zhou, W. W. & Chang, C. K. (1989). Identification of proteins specific for human herpesvirus 6-infected human T cells. *J Virol* **63**, 2835-2840.
- Bandobashi, K., Daibata, M., Kamioka, M., Tanaka, Y., Kubonishi, I., Taguchi, H., Ohtsuki, Y. & Miyoshi, I. (1997). Human herpesvirus 6 (HHV-6)-positive Burkitt's lymphoma: establishment of a novel cell line infected with HHV-6. *Blood* **90**, 1200-1207.
- Barone, S. R., Kaplan, M. H. & Krilov, L. R. (1995). Human herpesvirus-6 infection in children with first febrile seizures. *J Pediatr* **127**, 95-97.
- Barth, T. F., Martin-Subero, J. I., Joos, S., Menz, C. K., Hasel, C., Mechttersheimer, G., Parwaresch, R. M., Lichter, P., Siebert, R. & Moeller, P. (2003). Gains of 2p involving the REL locus correlate with nuclear c-Rel protein accumulation in neoplastic cells of classical Hodgkin lymphoma. *Blood* **101**, 3681-3686.
- Beutler, A. S., Li, S., Nicol, R. & Walsh, M. J. (2005). Carbamazepine is an inhibitor of histone deacetylases. *Life Sci* **76**, 3107-3115.
- Bhattarakosol, P., Pancharoen, C. & Mekmullica, J. (2001). Seroprevalence of anti-human herpes virus-6 IgG antibody in children of Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* **32**, 143-147.
- Birnbaum, T., Padovan, C. S., Sporer, B., Rupprecht, T. A., Ausserer, H., Jaeger, G. &

- Pfister, H. W. (2005).** Severe meningoencephalitis caused by human herpesvirus 6 type B in an immunocompetent woman treated with ganciclovir. *Clin Infect Dis* **40**, 887-889.
- Black, J. B., Lopez, C. & Pellett, P. E. (1992).** Induction of host cell protein synthesis by human herpesvirus 6. *Virus Res* **22**, 13-23.
- Boccara, O., Valeyrie-Allanore, L., Crickx, B. & Descamps, V. (2006).** Association of hypogammaglobulinemia with DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms). *Eur J Dermatol* **16**, 666-668.
- Bocquet, H., Bagot, M. & Roujeau, J. C. (1996).** Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms: DRESS). *Semin Cutan Med Surg* **15**, 250-257.
- Bocquet, H., Bourgault-Villada, I., Delfau-Larue, M. H., Wechsler, J., Revuz, J. & Roujeau, J. C. (1995).** [Hypersensitivity syndrome caused by dapsone. Transient circulating clone T]. *Ann Dermatol Venereol* **122**, 514-516.
- Bonnafous, P., Boutolleau, D., Naesens, L., Deback, C., Gautheret-Dejean, A. & Agut, H. (2008).** Characterization of a cidofovir-resistant HHV-6 mutant obtained by in vitro selection. *Antiviral Res* **77**, 237-240.
- Bonnafous, P., Naesens, L., Petrella, S., Gautheret-Dejean, A., Boutolleau, D., Sougakoff, W. & Agut, H. (2007).** Different mutations in the HHV-6 DNA polymerase gene accounting for resistance to foscarnet. *Antivir Ther* **12**, 877-888.
- Braeuninger, A., Kuppers, R., Strickler, J. G., Wacker, H. H., Rajewsky, K. & Hansmann, M. L. (1997).** Hodgkin and Reed-Sternberg cells in lymphocyte predominant Hodgkin disease represent clonal populations of germinal center-derived tumor B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**, 9337-9342.
- Braun, D. K., Dominguez, G. & Pellett, P. E. (1997).** Human herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* **10**, 521-567.
- Brauninger, A., Hansmann, M. L., Strickler, J. G., Dummer, R., Burg, G., Rajewsky, K. & Kuppers, R. (1999).** Identification of common germinal-center B-cell precursors in two patients with both Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* **340**, 1239-1247.
- Callot, V., Roujeau, J. C., Bagot, M., Wechsler, J., Chosidow, O., Souteyrand, P., Morel, P., Dubertret, L., Avril, M. F. & Revuz, J. (1996).** Drug-induced pseudolymphoma and hypersensitivity syndrome. Two different clinical entities. *Arch Dermatol* **132**, 1315-1321.
- Cao, W., Lee, S. H. & Lu, J. (2005).** CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells. *Biochem J* **385**, 85-93.
- Carbone, A., Gloghini, A., Gattei, V., Aldinucci, D., Degan, M., De Paoli, P., Zagonel, V. & Pinto, A. (1995).** Expression of functional CD40 antigen on Reed-Sternberg cells and Hodgkin's disease cell lines. *Blood* **85**, 780-789.
- Challoner, P. B., Smith, K. T., Parker, J. D., MacLeod, D. L., Coulter, S. N., Rose, T. M., Schultz, E. R., Bennett, J. L., Garber, R. L., Chang, M. & et al. (1995).** Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 7440-7444.
- Chatterjee, M. & Wu, S. (2001).** Involvement of Fas receptor and not tumor necrosis factor-alpha receptor in ultraviolet-induced activation of acid sphingomyelinase. *Mol Carcinog* **30**, 47-55.
- Chen, M., Popescu, N., Woodworth, C., Berneman, Z., Corbellino, M., Lusso, P., Ablashi,**

- D. V. & DiPaolo, J. A. (1994a).** Human herpesvirus 6 infects cervical epithelial cells and transactivates human papillomavirus gene expression. *J Virol* **68**, 1173-1178.
- Chen, M., Wang, H., Woodworth, C. D., Lusso, P., Berneman, Z., Kingma, D., Delgado, G. & DiPaolo, J. A. (1994b).** Detection of human herpesvirus 6 and human papillomavirus 16 in cervical carcinoma. *Am J Pathol* **145**, 1509-1516.
- Cheng, P., Zlobin, A., Volgina, V., Gottipati, S., Osborne, B., Simel, E. J., Miele, L. & Gabrilovich, D. I. (2001).** Notch-1 regulates NF-kappaB activity in hemopoietic progenitor cells. *J Immunol* **167**, 4458-4467.
- Chiu, A., Xu, W., He, B., Dillon, S. R., Gross, J. A., Sievers, E., Qiao, X., Santini, P., Hyjek, E., Lee, J. W., Cesarman, E., Chadburn, A., Knowles, D. M. & Cerutti, A. (2007).** Hodgkin lymphoma cells express TACI and BCMA receptors and generate survival and proliferation signals in response to BAFF and APRIL. *Blood* **109**, 729-739.
- Chou, S. & Marousek, G. I. (1994).** Analysis of interstrain variation in a putative immediate-early region of human herpesvirus 6 DNA and definition of variant-specific sequences. *Virology* **198**, 370-376.
- Clark, D. A. (2000).** Human herpesvirus 6. *Rev Med Virol* **10**, 155-173.
- Clark, D. A., Alexander, F. E., McKinney, P. A., Roberts, B. E., O'Brien, C., Jarrett, R. F., Cartwright, R. A. & Onions, D. E. (1990).** The seroepidemiology of human herpesvirus-6 (HHV-6) from a case-control study of leukaemia and lymphoma. *Int J Cancer* **45**, 829-833.
- Clark, D. A., Nacheva, E. P., Leong, H. N., Brazma, D., Li, Y. T., Tsao, E. H., Buyck, H. C., Atkinson, C. E., Lawson, H. M., Potter, M. N. & Griffiths, P. D. (2006).** Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. *J Infect Dis* **193**, 912-916.
- Clarke, C. A., Glaser, S. L., Dorfman, R. F., Mann, R., DiGiuseppe, J. A., Prehn, A. W. & Ambinder, R. F. (2001).** Epstein-Barr virus and survival after Hodgkin disease in a population-based series of women. *Cancer* **91**, 1579-1587.
- Collot, S., Petit, B., Bordessoule, D., Alain, S., Touati, M., Denis, F. & Ranger-Rogez, S. (2002).** Real-time PCR for quantification of human herpesvirus 6 DNA from lymph nodes and saliva. *J Clin Microbiol* **40**, 2445-2451.
- Cordel, N., Lenormand, B., Courville, P. & Joly, P. (2004).** [Study of the clonality of cutaneous and blood lymphocytes during drug-induced hypersensitivity in 6 patients]. *Ann Dermatol Venereol* **131**, 1059-1061.
- Crawford, J. R., Santi, M. R., Cornelison, R., Sallinen, S. L., Haapasalo, H. & MacDonald, T. J. (2009).** Detection of human herpesvirus-6 in adult central nervous system tumors: predominance of early and late viral antigens in glial tumors. *J Neurooncol* **95**, 49-60.
- Daibata, M., Taguchi, T., Kamioka, M., Kubonishi, I., Taguchi, H. & Miyoshi, I. (1998a).** Identification of integrated human herpesvirus 6 DNA in early pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* **12**, 1002-1004.
- Daibata, M., Taguchi, T., Nemoto, Y., Taguchi, H. & Miyoshi, I. (1999).** Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. *Blood* **94**, 1545-1549.
- Daibata, M., Taguchi, T., Sawada, T., Taguchi, H. & Miyoshi, I. (1998b).** Chromosomal transmission of human herpesvirus 6 DNA in acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* **352**, 543-544.
- De Bolle, L., Andrei, G., Snoeck, R., Zhang, Y., Van Lommel, A., Otto, M., Bousseau, A., Roy, C., De Clercq, E. & Naesens, L. (2004).** Potent, selective and cell-mediated inhibition of human herpesvirus 6 at an early stage of viral replication by the non-

- nucleoside compound CMV423. *Biochem Pharmacol* **67**, 325-336.
- De Bolle, L., Naesens, L. & De Clercq, E. (2005).** Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev* **18**, 217-245.
- De Clercq, E. & Naesens, L. (2006).** In search of effective anti-HHV-6 agents. *J Clin Virol* **37** Suppl 1, S82-86.
- De Clercq, E., Naesens, L., De Bolle, L., Schols, D., Zhang, Y. & Neyts, J. (2001).** Antiviral agents active against human herpesviruses HHV-6, HHV-7 and HHV-8. *Rev Med Virol* **11**, 381-395.
- de Pagter, P. J., Schuurman, R., Visscher, H., de Vos, M., Bierings, M., van Loon, A. M., Uiterwaal, C. S., van Baarle, D., Sanders, E. A. & Boelens, J. (2008).** Human herpes virus 6 plasma DNA positivity after hematopoietic stem cell transplantation in children: an important risk factor for clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* **14**, 831-839.
- Denes, E., Magy, L., Pradeau, K., Alain, S., Weinbreck, P. & Ranger-Rogez, S. (2004).** Successful treatment of human herpesvirus 6 encephalomyelitis in immunocompetent patient. *Emerg Infect Dis* **10**, 729-731.
- Desachy, A., Ranger-Rogez, S., Francois, B., Venot, C., Traccard, I., Gastinne, H., Denis, F. & Vignon, P. (2001).** Reactivation of human herpesvirus type 6 in multiple organ failure syndrome. *Clin Infect Dis* **32**, 197-203.
- Descamps, V., Bouscarat, F., Laglenne, S., Aslangul, E., Veber, B., Descamps, D., Saraux, J. L., Grange, M. J., Grossin, M., Navratil, E., Crickx, B. & Belaich, S. (1997).** Human herpesvirus 6 infection associated with anticonvulsant hypersensitivity syndrome and reactive haemophagocytic syndrome. *Br J Dermatol* **137**, 605-608.
- Descamps, V., Collot, S., Mahe, E., Houhou, N., Crickx, B. & Ranger-Rogez, S. (2003a).** Active human herpesvirus 6 infection in a patient with drug rash with eosinophilia and systemic symptoms. *J Invest Dermatol* **121**, 215-216.
- Descamps, V., Mahe, E., Houhou, N., Abramowitz, L., Rozenberg, F., Ranger-Rogez, S. & Crickx, B. (2003b).** Drug-induced hypersensitivity syndrome associated with Epstein-Barr virus infection. *Br J Dermatol* **148**, 1032-1034.
- Descamps, V., Mardivirin, L. & Ranger-Rogez, S. (2008).** Chromosomal integration of human herpesvirus 6 DNA in anticonvulsant hypersensitivity syndrome: a unique opportunity for the understanding of their relation. *Br J Dermatol* **159**, 759.
- Descamps, V., Valance, A., Edlinger, C., Fillet, A. M., Grossin, M., Lebrun-Vignes, B., Belaich, S. & Crickx, B. (2001).** Association of human herpesvirus 6 infection with drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. *Arch Dermatol* **137**, 301-304.
- Dewhurst, S., McIntyre, K., Schnabel, K. & Hall, C. B. (1993).** Human herpesvirus 6 (HHV-6) variant B accounts for the majority of symptomatic primary HHV-6 infections in a population of U.S. infants. *J Clin Microbiol* **31**, 416-418.
- Di Luca, D., Katsafanas, G., Schirmer, E. C., Balachandran, N. & Frenkel, N. (1990).** The replication of viral and cellular DNA in human herpesvirus 6-infected cells. *Virology* **175**, 199-210.
- Dockrell, D. H. & Paya, C. V. (2001).** Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol* **11**, 23-36.
- Dominguez, G., Dambaugh, T. R., Stamey, F. R., Dewhurst, S., Inoue, N. & Pellett, P. E. (1999).** Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *J Virol* **73**, 8040-8052.
- Downing, R. G., Sewankambo, N., Serwadda, D., Honess, R., Crawford, D., Jarrett, R. & Griffin, B. E. (1987).** Isolation of human lymphotropic herpesviruses from Uganda.

Lancet **2**, 390.

- Dutton, A., Reynolds, G. M., Dawson, C. W., Young, L. S. & Murray, P. G. (2005).** Constitutive activation of phosphatidylinositol 3 kinase contributes to the survival of Hodgkin's lymphoma cells through a mechanism involving Akt kinase and mTOR. *J Pathol* **205**, 498-506.
- Dworzak, M. N., Fritsch, G., Buchinger, P., Fleischer, C., Printz, D., Zellner, A., Schollhammer, A., Steiner, G., Ambros, P. F. & Gadner, H. (1994).** Flow cytometric assessment of human MIC2 expression in bone marrow, thymus, and peripheral blood. *Blood* **83**, 415-425.
- Ekstrand, B. C. & Horning, S. J. (2002).** Hodgkin's disease. *Blood Rev* **16**, 111-117.
- Ekstrand, B. C., Lucas, J. B., Horwitz, S. M., Fan, Z., Breslin, S., Hoppe, R. T., Natkunam, Y., Bartlett, N. L. & Horning, S. J. (2003).** Rituximab in lymphocyte-predominant Hodgkin disease: results of a phase 2 trial. *Blood* **101**, 4285-4289.
- Emery, V. C., Atkins, M. C., Bowen, E. F., Clark, D. A., Johnson, M. A., Kidd, I. M., McLaughlin, J. E., Phillips, A. N., Strappe, P. M. & Griffiths, P. D. (1999).** Interactions between beta-herpesviruses and human immunodeficiency virus in vivo: evidence for increased human immunodeficiency viral load in the presence of human herpesvirus 6. *J Med Virol* **57**, 278-282.
- Emmerich, F., Theurich, S., Hummel, M., Haeffker, A., Vry, M. S., Dohner, K., Bommert, K., Stein, H. & Dorken, B. (2003).** Inactivating I kappa B epsilon mutations in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *J Pathol* **201**, 413-420.
- Enblad, G., Sandvej, K., Lennette, E., Sundstrom, C., Klein, G., Glimelius, B. & Pallesen, G. (1997).** Lack of correlation between EBV serology and presence of EBV in the Hodgkin and Reed-Sternberg cells of patients with Hodgkin's disease. *Int J Cancer* **72**, 394-397.
- Enders, G., Biber, M., Meyer, G. & Helftenbein, E. (1990).** Prevalence of antibodies to human herpesvirus 6 in different age groups, in children with exanthema subitum, other acute exanthematous childhood diseases, Kawasaki syndrome, and acute infections with other herpesviruses and HIV. *Infection* **18**, 12-15.
- Fiumara, P., Snell, V., Li, Y., Mukhopadhyay, A., Younes, M., Gillenwater, A. M., Cabanillas, F., Aggarwal, B. B. & Younes, A. (2001).** Functional expression of receptor activator of nuclear factor kappaB in Hodgkin disease cell lines. *Blood* **98**, 2784-2790.
- Flamand, L., Gosselin, J., D'Addario, M., Hiscott, J., Ablashi, D. V., Gallo, R. C. & Menezes, J. (1991).** Human herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Virol* **65**, 5105-5110.
- Flamand, L., Gosselin, J., Stefanescu, I., Ablashi, D. & Menezes, J. (1995).** Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation. *Blood* **85**, 1263-1271.
- Flavell, K. J., Billingham, L. J., Biddulph, J. P., Gray, L., Flavell, J. R., Constandinou, C. M., Young, L. S. & Murray, P. G. (2003).** The effect of Epstein-Barr virus status on outcome in age- and sex-defined subgroups of patients with advanced Hodgkin's disease. *Ann Oncol* **14**, 282-290.
- Flebbe-Rehwaldt, L. M., Wood, C. & Chandran, B. (2000).** Characterization of transcripts expressed from human herpesvirus 6A strain GS immediate-early region B U16-U17 open reading frames. *J Virol* **74**, 11040-11054.
- Foss, H. D., Reusch, R., Demel, G., Lenz, G., Anagnostopoulos, I., Hummel, M. & Stein, H.**

- (1999). Frequent expression of the B-cell-specific activator protein in Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease provides further evidence for its B-cell origin. *Blood* **94**, 3108-3113.
- Fotheringham, J., Donati, D., Akhyani, N., Fogdell-Hahn, A., Vortmeyer, A., Heiss, J. D., Williams, E., Weinstein, S., Bruce, D. A., Gaillard, W. D., Sato, S., Theodore, W. H. & Jacobson, S. (2007).** Association of human herpesvirus-6B with mesial temporal lobe epilepsy. *PLoS Med* **4**, e180.
- Fotheringham, J., Williams, E. L., Akhyani, N. & Jacobson, S. (2008).** Human herpesvirus 6 (HHV-6) induces dysregulation of glutamate uptake and transporter expression in astrocytes. *J Neuroimmune Pharmacol* **3**, 105-116.
- Fox, J. D., Briggs, M., Ward, P. A. & Tedder, R. S. (1990).** Human herpesvirus 6 in salivary glands. *Lancet* **336**, 590-593.
- Foyil, K. V. & Bartlett, N. L.** Anti-CD30 Antibodies for Hodgkin Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep* **5**, 140-147.
- Gandhi, M. K. & Khanna, R. (2004).** Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis* **4**, 725-738.
- Garber, D. A., Beverley, S. M. & Coen, D. M. (1993).** Demonstration of circularization of herpes simplex virus DNA following infection using pulsed field gel electrophoresis. *Virology* **197**, 459-462.
- Gardell, J. L., Dazin, P., Islar, J., Menge, T., Genain, C. P. & Lalive, P. H. (2006).** Apoptotic effects of Human Herpesvirus-6A on glia and neurons as potential triggers for central nervous system autoimmunity. *J Clin Virol* **37 Suppl 1**, S11-16.
- Georgakis, G. V., Li, Y., Rassidakis, G. Z., Medeiros, L. J., Mills, G. B. & Younes, A. (2006).** Inhibition of the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt promotes G1 cell cycle arrest and apoptosis in Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* **132**, 503-511.
- Glavina-Durdov, M., Jakic-Razumovic, J., Capkun, V. & Murray, P. (2001).** Assessment of the prognostic impact of the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein-1 expression in Hodgkin's disease. *Br J Cancer* **84**, 1227-1234.
- Gompels, U. A. & Macaulay, H. A. (1995).** Characterization of human telomeric repeat sequences from human herpesvirus 6 and relationship to replication. *J Gen Virol* **76 (Pt 2)**, 451-458.
- Gompels, U. A., Nicholas, J., Lawrence, G., Jones, M., Thomson, B. J., Martin, M. E., Efstathiou, S., Craxton, M. & Macaulay, H. A. (1995).** The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution. *Virology* **209**, 29-51.
- Gossen, M. & Bujard, H. (1992).** Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 5547-5551.
- Gravel, A., Tomoiu, A., Cloutier, N., Gosselin, J. & Flamand, L. (2003).** Characterization of the immediate-early 2 protein of human herpesvirus 6, a promiscuous transcriptional activator. *Virology* **308**, 340-353.
- Gupta, S., Agrawal, S. & Gollapudi, S. (2009).** Differential effect of human herpesvirus 6A on cell division and apoptosis among naive and central and effector memory CD4+ and CD8+ T-cell subsets. *J Virol* **83**, 5442-5450.
- Hacker, C., Kirsch, R. D., Ju, X. S., Hieronymus, T., Gust, T. C., Kuhl, C., Jorgas, T., Kurz, S. M., Rose-John, S., Yokota, Y. & Zenke, M. (2003).** Transcriptional profiling identifies Id2 function in dendritic cell development. *Nat Immunol* **4**, 380-386.
- Hall, C. B., Caserta, M. T., Schnabel, K. C., Boettrich, C., McDermott, M. P., Lofthus, G. K., Carnahan, J. A. & Dewhurst, S. (2004).** Congenital infections with human

- herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7). *J Pediatr* **145**, 472-477.
- Hall, C. B., Caserta, M. T., Schnabel, K. C., Long, C., Epstein, L. G., Insel, R. A. & Dewhurst, S. (1998).** Persistence of human herpesvirus 6 according to site and variant: possible greater neurotropism of variant A. *Clin Infect Dis* **26**, 132-137.
- Hall, C. B., Long, C. E., Schnabel, K. C., Caserta, M. T., McIntyre, K. M., Costanzo, M. A., Knott, A., Dewhurst, S., Insel, R. A. & Epstein, L. G. (1994).** Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N Engl J Med* **331**, 432-438.
- Haruda, F. (1979).** Phenytoin hypersensitivity: 38 cases. *Neurology* **29**, 1480-1485.
- Hashimoto, K., Yasukawa, M. & Tohyama, M. (2003).** Human herpesvirus 6 and drug allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **3**, 255-260.
- Hashizume, H., Takigawa, M. & Tokura, Y. (2002).** Characterization of drug-specific T cells in phenobarbital-induced eruption. *J Immunol* **168**, 5359-5368.
- Hernandez-Losa, J., Fedele, C. G., Pozo, F., Tenorio, A., Fernandez, V., Castellvi, J., Parada, C. & Ramon y Cajal, S. (2005).** Lack of association of polyomavirus and herpesvirus types 6 and 7 in human lymphomas. *Cancer* **103**, 293-298.
- Hinz, M., Lemke, P., Anagnostopoulos, I., Hacker, C., Krappmann, D., Mathas, S., Dorken, B., Zenke, M., Stein, H. & Scheidereit, C. (2002).** Nuclear factor kappaB-dependent gene expression profiling of Hodgkin's disease tumor cells, pathogenetic significance, and link to constitutive signal transducer and activator of transcription 5a activity. *J Exp Med* **196**, 605-617.
- Hjalgrim, H., Rostgaard, K., Johnson, P. C., Lake, A., Shield, L., Little, A. M., Ekstrom-Smedby, K., Adami, H. O., Glimelius, B., Hamilton-Dutoit, S., Kane, E., Taylor, G. M., McConnachie, A., Ryder, L. P., Sundstrom, C., Andersen, P. S., Chang, E. T., Alexander, F. E., Melbye, M. & Jarrett, R. F. HLA-A alleles and infectious mononucleosis suggest a critical role for cytotoxic T-cell response in EBV-related Hodgkin lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 6400-6405.**
- Hock, B. D., Haring, L. F., Steinkasserer, A., Taylor, K. G., Patton, W. N. & McKenzie, J. L. (2004).** The soluble form of CD83 is present at elevated levels in a number of hematological malignancies. *Leuk Res* **28**, 237-241.
- Houwerzijl, J., De Gast, G. C., Nater, J. P., Esselink, M. T. & Nieweg, H. O. (1977).** Lymphocyte-stimulation tests and patch tests to carbamazepine hypersensitivity. *Clin Exp Immunol* **29**, 272-277.
- Hu, M., Krause, D., Greaves, M., Sharkis, S., Dexter, M., Heyworth, C. & Enver, T. (1997).** Multilineage gene expression precedes commitment in the hemopoietic system. *Genes Dev* **11**, 774-785.
- Huang, X., van den Berg, A., Gao, Z., Visser, L., Nolte, I., Vos, H., Hepkema, B., Kooistra, W., Poppema, S. & Diepstra, A. Expression of HLA class I and HLA class II by tumor cells in Chinese classical Hodgkin lymphoma patients. *PLoS One* **5**, e10865.**
- Hubacek, P., Maalouf, J., Zajickova, M., Kouba, M., Cinek, O., Hyncicova, K., Fales, I. & Cetkovsky, P. (2007).** Failure of multiple antivirals to affect high HHV-6 DNAemia resulting from viral chromosomal integration in case of severe aplastic anaemia. *Haematologica* **92**, e98-e100.
- Hubacek, P., Muzikova, K., Hrdlickova, A., Cinek, O., Hyncicova, K., Hrstkova, H., Sedlacek, P. & Stary, J. (2009a).** Prevalence of HHV-6 integrated chromosomally among children treated for acute lymphoblastic or myeloid leukemia in the Czech Republic. *J Med Virol* **81**, 258-263.

- Hubacek, P., Virgili, A., Ward, K. N., Pohlreich, D., Keslova, P., Goldova, B., Markova, M., Zajac, M., Cinek, O., Nacheva, E. P., Sedlacek, P. & Cetkovsky, P. (2009b).** HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis. *Br J Haematol* **145**, 394-398.
- Ichimi, R., Jin-no, T. & Ito, M. (1999).** Induction of apoptosis in cord blood lymphocytes by HHV-6. *J Med Virol* **58**, 63-68.
- Inaoka, M. (2005).** Innate immunity and hypersensitivity syndrome. *Toxicology* **209**, 161-163.
- Inoue, Y., Yasukawa, M. & Fujita, S. (1997).** Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6. *J Virol* **71**, 3751-3759.
- Irsch, J., Wolf, J., Tesch, H., Diehl, V., Radbruch, A. & Staratschek-Jox, A. (2001).** Class switch recombination was specifically targeted to immunoglobulin (Ig)G4 or IgA in Hodgkin's disease-derived cell lines. *Br J Haematol* **113**, 785-793.
- Isegawa, Y., Hara, J., Amo, K., Osugi, Y., Takemoto, M., Yamanishi, K., Fukunaga, R., Shibata, M., Ohshima, A., Horiguchi, Y. & Sugimoto, N. (2009).** Human herpesvirus 6 ganciclovir-resistant strain with amino acid substitutions associated with the death of an allogeneic stem cell transplant recipient. *J Clin Virol* **44**, 15-19.
- Isegawa, Y., Mukai, T., Nakano, K., Kagawa, M., Chen, J., Mori, Y., Sunagawa, T., Kawanishi, K., Sashihara, J., Hata, A., Zou, P., Kosuge, H. & Yamanishi, K. (1999).** Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. *J Virol* **73**, 8053-8063.
- Iyengar, S., Levine, P. H., Ablashi, D., Neequaye, J. & Pearson, G. R. (1991).** Sero-epidemiological investigations on human herpesvirus 6 (HHV-6) infections using a newly developed early antigen assay. *Int J Cancer* **49**, 551-557.
- Jarrett, R. F., Gledhill, S., Qureshi, F., Crae, S. H., Madhok, R., Brown, I., Evans, I., Krajewski, A., O'Brien, C. J., Cartwright, R. A. & et al. (1988).** Identification of human herpesvirus 6-specific DNA sequences in two patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* **2**, 496-502.
- Jeulin, H., Salmon, A., Gautheret-Dejean, A., Agut, H., Bordigoni, P., Fortier, B. & Venard, V. (2009).** Contribution of human herpesvirus 6 (HHV-6) viral load in whole blood and serum to investigate integrated HHV-6 transmission after haematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol* **45**, 43-46.
- Joos, S., Kupper, M., Ohl, S., von Bonin, F., Mechtersheimer, G., Bentz, M., Marynen, P., Moller, P., Pfreundschuh, M., Trumper, L. & Lichter, P. (2000).** Genomic imbalances including amplification of the tyrosine kinase gene JAK2 in CD30+ Hodgkin cells. *Cancer Res* **60**, 549-552.
- Josephs, S. F., Salahuddin, S. Z., Ablashi, D. V., Schachter, F., Wong-Staal, F. & Gallo, R. C. (1986).** Genomic analysis of the human B-lymphotropic virus (HBLV). *Science* **234**, 601-603.
- Jundt, F., Acikgoz, O., Kwon, S. H., Schwarzer, R., Anagnostopoulos, I., Wiesner, B., Mathas, S., Hummel, M., Stein, H., Reichardt, H. M. & Dorken, B. (2008).** Aberrant expression of Notch1 interferes with the B-lymphoid phenotype of neoplastic B cells in classical Hodgkin lymphoma. *Leukemia* **22**, 1587-1594.
- Jundt, F., Anagnostopoulos, I., Forster, R., Mathas, S., Stein, H. & Dorken, B. (2002).** Activated Notch1 signaling promotes tumor cell proliferation and survival in Hodgkin and anaplastic large cell lymphoma. *Blood* **99**, 3398-3403.
- Jungnickel, B., Staratschek-Jox, A., Brauninger, A., Spieker, T., Wolf, J., Diehl, V., Hansmann, M. L., Rajewsky, K. & Kuppers, R. (2000).** Clonal deleterious mutations

- in the IkappaBalpha gene in the malignant cells in Hodgkin's lymphoma. *J Exp Med* **191**, 395-402.
- Kamble, R. T., Clark, D. A., Leong, H. N., Heslop, H. E., Brenner, M. K. & Carrum, G. (2007).** Transmission of integrated human herpesvirus-6 in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* **40**, 563-566.
- Kano, Y., Hiraharas, K., Sakuma, K. & Shiohara, T. (2006a).** Several herpesviruses can reactivate in a severe drug-induced multiorgan reaction in the same sequential order as in graft-versus-host disease. *Br J Dermatol* **155**, 301-306.
- Kano, Y., Inaoka, M. & Shiohara, T. (2004).** Association between anticonvulsant hypersensitivity syndrome and human herpesvirus 6 reactivation and hypogammaglobulinemia. *Arch Dermatol* **140**, 183-188.
- Kano, Y., Seishima, M. & Shiohara, T. (2006b).** Hypogammaglobulinemia as an early sign of drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Am Acad Dermatol* **55**, 727-728.
- Kano, Y. & Shiohara, T. (2004).** Sequential reactivation of herpesvirus in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Acta Derm Venereol* **84**, 484-485.
- Kanzler, H., Kuppers, R., Hansmann, M. L. & Rajewsky, K. (1996).** Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. *J Exp Med* **184**, 1495-1505.
- Kapp, U., Yeh, W. C., Patterson, B., Elia, A. J., Kagi, D., Ho, A., Hessel, A., Tipsword, M., Williams, A., Mirtsos, C., Itie, A., Moyle, M. & Mak, T. W. (1999).** Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J Exp Med* **189**, 1939-1946.
- Kashanchi, F., Araujo, J., Doniger, J., Muralidhar, S., Hoch, R., Khleif, S., Mendelson, E., Thompson, J., Azumi, N., Brady, J. N., Luppi, M., Torelli, G. & Rosenthal, L. J. (1997).** Human herpesvirus 6 (HHV-6) ORF-1 transactivating gene exhibits malignant transforming activity and its protein binds to p53. *Oncogene* **14**, 359-367.
- Kato, Z., Kozawa, R., Teramoto, T., Hashimoto, K., Shinoda, S. & Kondo, N. (2003).** Acute cerebellitis in primary human herpesvirus-6 infection. *Eur J Pediatr* **162**, 801-803.
- Katsafanas, G. C., Schirmer, E. C., Wyatt, L. S. & Frenkel, N. (1996).** In vitro activation of human herpesviruses 6 and 7 from latency. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 9788-9792.
- Kelly, W. K., Richon, V. M., O'Connor, O., Curley, T., MacGregor-Curtelli, B., Tong, W., Klang, M., Schwartz, L., Richardson, S., Rosa, E., Drobnjak, M., Cordon-Cordo, C., Chiao, J. H., Rifkind, R., Marks, P. A. & Scher, H. (2003).** Phase I clinical trial of histone deacetylase inhibitor: suberoylanilide hydroxamic acid administered intravenously. *Clin Cancer Res* **9**, 3578-3588.
- Kilger, E., Kieser, A., Baumann, M. & Hammerschmidt, W. (1998).** Epstein-Barr virus-mediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *EMBO J* **17**, 1700-1709.
- Kim, S. H., Choi, E. Y., Shin, Y. K., Kim, T. J., Chung, D. H., Chang, S. I., Kim, N. K. & Park, S. H. (1998).** Generation of cells with Hodgkin's and Reed-Sternberg phenotype through downregulation of CD99 (Mic2). *Blood* **92**, 4287-4295.
- Knowles, S. R., Shapiro, L. E. & Shear, N. H. (1999).** Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: incidence, prevention and management. *Drug Saf* **21**, 489-501.
- Knox, K. K. & Carrigan, D. R. (1996).** Active HHV-6 infection in the lymph nodes of HIV-infected patients: in vitro evidence that HHV-6 can break HIV latency. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **11**, 370-378.
- Knox, K. K., Harrington, D. P. & Carrigan, D. R. (1995a).** Fulminant human herpesvirus six

- encephalitis in a human immunodeficiency virus-infected infant. *J Med Virol* **45**, 288-292.
- Knox, K. K., Pietryga, D., Harrington, D. J., Franciosi, R. & Carrigan, D. R. (1995b).** Progressive immunodeficiency and fatal pneumonitis associated with human herpesvirus 6 infection in an infant. *Clin Infect Dis* **20**, 406-413.
- Kondo, K., Kondo, T., Okuno, T., Takahashi, M. & Yamanishi, K. (1991).** Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages. *J Gen Virol* **72 (Pt 6)**, 1401-1408.
- Kondo, K., Nagafuji, H., Hata, A., Tomomori, C. & Yamanishi, K. (1993).** Association of human herpesvirus 6 infection of the central nervous system with recurrence of febrile convulsions. *J Infect Dis* **167**, 1197-1200.
- Kondo, K., Sashihara, J., Shimada, K., Takemoto, M., Amo, K., Miyagawa, H. & Yamanishi, K. (2003).** Recognition of a novel stage of betaherpesvirus latency in human herpesvirus 6. *J Virol* **77**, 2258-2264.
- Kondo, K., Shimada, K., Sashihara, J., Tanaka-Taya, K. & Yamanishi, K. (2002).** Identification of human herpesvirus 6 latency-associated transcripts. *J Virol* **76**, 4145-4151.
- Krueger, G. R., Ablashi, D. V., Josephs, S. F., Salahuddin, S. Z., Lembke, U., Ramon, A. & Bertram, G. (1991).** Clinical indications and diagnostic techniques of human herpesvirus-6 (HHV-6) infection. *In Vivo* **5**, 287-295.
- Krueger, G. R., Guenther, A., Knuefermann, R., Kluppelberg, U., Luka, J., Pearson, G. R., Ablashi, D. V., Juecker, M. & Tesch, H. (1994).** Human herpesvirus-6 (HHV-6) in Hodgkin's disease: cellular expression of viral antigens as compared to oncogenes *met* and *fos*, tumor suppressor gene product p53, and interleukins 2 and 6. *In Vivo* **8**, 501-516.
- Krueger, G. R., Huetter, M. L., Rojo, J., Romero, M. & Cruz-Ortiz, H. (2001).** Human herpesviruses HHV-4 (EBV) and HHV-6 in Hodgkin's and Kikuchi's diseases and their relation to proliferation and apoptosis. *Anticancer Res* **21**, 2155-2161.
- Krueger, G. R., Wassermann, K., De Clerck, L. S., Stevens, W. J., Bourgeois, N., Ablashi, D. V., Josephs, S. F. & Balachandran, N. (1990).** Latent herpesvirus-6 in salivary and bronchial glands. *Lancet* **336**, 1255-1256.
- Kube, D., Holtick, U., Vockerodt, M., Ahmadi, T., Haier, B., Behrmann, I., Heinrich, P. C., Diehl, V. & Tesch, H. (2001).** STAT3 is constitutively activated in Hodgkin cell lines. *Blood* **98**, 762-770.
- Kulwichit, W., Edwards, R. H., Davenport, E. M., Baskar, J. F., Godfrey, V. & Raab-Traub, N. (1998).** Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 11963-11968.
- Kuntz-Simon, G. & Obert, G. (1995).** Sodium valproate, an anticonvulsant drug, stimulates human cytomegalovirus replication. *J Gen Virol* **76 (Pt 6)**, 1409-1415.
- Kuppers, R. (2009).** The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer* **9**, 15-27.
- Kuppers, R. & Rajewsky, K. (1998).** The origin of Hodgkin and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Annu Rev Immunol* **16**, 471-493.
- Kuppers, R., Rajewsky, K., Zhao, M., Simons, G., Laumann, R., Fischer, R. & Hansmann, M. L. (1994).** Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 10962-10966.
- Kuppers, R., Zhao, M., Hansmann, M. L. & Rajewsky, K. (1993).** Tracing B cell

- development in human germinal centres by molecular analysis of single cells picked from histological sections. *EMBO J* **12**, 4955-4967.
- Lacroix, A., Jaccard, A., Rouzioux, C., Piguet, C., Petit, B., Bordessoule, D. & Ranger-Rogez, S. (2007).** HHV-6 and EBV DNA quantitation in lymph nodes of 86 patients with Hodgkin's lymphoma. *J Med Virol* **79**, 1349-1356.
- Leong, H. N., Tuke, P. W., Tedder, R. S., Khanom, A. B., Eglin, R. P., Atkinson, C. E., Ward, K. N., Griffiths, P. D. & Clark, D. A. (2007).** The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors. *J Med Virol* **79**, 45-51.
- Levine, P. H., Ebbesen, P., Ablashi, D. V., Saxinger, W. C., Nordentoft, A. & Connelly, R. R. (1992).** Antibodies to human herpes virus-6 and clinical course in patients with Hodgkin's disease. *Int J Cancer* **51**, 53-57.
- Levy, J. A., Ferro, F., Lennette, E. T., Oshiro, L. & Poulin, L. (1990).** Characterization of a new strain of HHV-6 (HHV-6SF) recovered from the saliva of an HIV-infected individual. *Virology* **178**, 113-121.
- Lopez, C., Pellett, P., Stewart, J., Goldsmith, C., Sanderlin, K., Black, J., Warfield, D. & Feorino, P. (1988).** Characteristics of human herpesvirus-6. *J Infect Dis* **157**, 1271-1273.
- Luka, J., Okano, M. & Thiele, G. (1990).** Isolation of human herpesvirus-6 from clinical specimens using human fibroblast cultures. *J Clin Lab Anal* **4**, 483-486.
- Luppi, M., Barozzi, P., Garber, R., Maiorana, A., Bonacorsi, G., Artusi, T., Trovato, R., Marasca, R. & Torelli, G. (1998).** Expression of human herpesvirus-6 antigens in benign and malignant lymphoproliferative diseases. *Am J Pathol* **153**, 815-823.
- Luppi, M., Barozzi, P., Morris, C., Maiorana, A., Garber, R., Bonacorsi, G., Donelli, A., Marasca, R., Tabilio, A. & Torelli, G. (1999).** Human herpesvirus 6 latently infects early bone marrow progenitors in vivo. *J Virol* **73**, 754-759.
- Luppi, M., Marasca, R., Barozzi, P., Ferrari, S., Ceccherini-Nelli, L., Batoni, G., Merelli, E. & Torelli, G. (1993).** Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. *J Med Virol* **40**, 44-52.
- Lusso, P., Ensoli, B., Markham, P. D., Ablashi, D. V., Salahuddin, S. Z., Tschachler, E., Wong-Staal, F. & Gallo, R. C. (1989).** Productive dual infection of human CD4+ T lymphocytes by HIV-1 and HHV-6. *Nature* **337**, 370-373.
- Lusso, P., Malnati, M., De Maria, A., Balotta, C., DeRocco, S. E., Markham, P. D. & Gallo, R. C. (1991).** Productive infection of CD4+ and CD8+ mature human T cell populations and clones by human herpesvirus 6. Transcriptional down-regulation of CD3. *J Immunol* **147**, 685-691.
- Lusso, P., Markham, P. D., Tschachler, E., di Marzo Veronese, F., Salahuddin, S. Z., Ablashi, D. V., Pahwa, S., Krohn, K. & Gallo, R. C. (1988).** In vitro cellular tropism of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *J Exp Med* **167**, 1659-1670.
- Lusso, P., Salahuddin, S. Z., Ablashi, D. V., Gallo, R. C., Di Marzo Veronese, F. & Markham, P. D. (1987).** Diverse tropism of HBLV (human herpesvirus 6). *Lancet* **2**, 743.
- Maeda, Y., Teshima, T., Yamada, M. & Harada, M. (2000).** Reactivation of human herpesviruses after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma* **39**, 229-239.
- Manichanh, C., Olivier-Aubron, C., Lagarde, J. P., Aubin, J. T., Bossi, P., Gautheret-Dejean, A., Huraux, J. M. & Agut, H. (2001).** Selection of the same mutation in the U69 protein kinase gene of human herpesvirus-6 after prolonged exposure to ganciclovir

- in vitro and in vivo. *J Gen Virol* **82**, 2767-2776.
- Martin-Subero, J. I., Gesk, S., Harder, L., Sonoki, T., Tucker, P. W., Schlegelberger, B., Grote, W., Novo, F. J., Calasanz, M. J., Hansmann, M. L., Dyer, M. J. & Siebert, R. (2002).** Recurrent involvement of the REL and BCL11A loci in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* **99**, 1474-1477.
- Martin-Subero, J. I., Klapper, W., Sotnikova, A., Callet-Bauchu, E., Harder, L., Bastard, C., Schmitz, R., Grohmann, S., Hoppner, J., Riemke, J., Barth, T. F., Berger, F., Bernd, H. W., Claviez, A., Gesk, S., Frank, G. A., Kaplanskaya, I. B., Moller, P., Parwaresch, R. M., Rudiger, T., Stein, H., Kuppers, R., Hansmann, M. L. & Siebert, R. (2006a).** Chromosomal breakpoints affecting immunoglobulin loci are recurrent in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* **66**, 10332-10338.
- Martin-Subero, J. I., Wlodarska, I., Bastard, C., Picquenot, J. M., Hoppner, J., Giefing, M., Klapper, W. & Siebert, R. (2006b).** Chromosomal rearrangements involving the BCL3 locus are recurrent in classical Hodgkin and peripheral T-cell lymphoma. *Blood* **108**, 401-402; author reply 402-403.
- Mathas, S., Hinz, M., Anagnostopoulos, I., Krappmann, D., Lietz, A., Jundt, F., Bommert, K., Mehta-Grigoriou, F., Stein, H., Dorken, B. & Scheidereit, C. (2002).** Aberrantly expressed c-Jun and JunB are a hallmark of Hodgkin lymphoma cells, stimulate proliferation and synergize with NF-kappa B. *EMBO J* **21**, 4104-4113.
- Mathas, S., Janz, M., Hummel, F., Hummel, M., Wollert-Wulf, B., Lusatis, S., Anagnostopoulos, I., Lietz, A., Sigvardsson, M., Jundt, F., Johrens, K., Bommert, K., Stein, H. & Dorken, B. (2006).** Intrinsic inhibition of transcription factor E2A by HLH proteins ABF-1 and Id2 mediates reprogramming of neoplastic B cells in Hodgkin lymphoma. *Nat Immunol* **7**, 207-215.
- Mauri-Hellweg, D., Bettens, F., Mauri, D., Brander, C., Hunziker, T. & Pichler, W. J. (1995).** Activation of drug-specific CD4+ and CD8+ T cells in individuals allergic to sulfonamides, phenytoin, and carbamazepine. *J Immunol* **155**, 462-472.
- McGavin, J. K. & Goa, K. L. (2001).** Ganciclovir: an update of its use in the prevention of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Drugs* **61**, 1153-1183.
- Michaelis, M., Suhan, T., Reinisch, A., Reisenauer, A., Fleckenstein, C., Eikel, D., Gumbel, H., Doerr, H. W., Nau, H. & Cinatl, J., Jr. (2005).** Increased replication of human cytomegalovirus in retinal pigment epithelial cells by valproic acid depends on histone deacetylase inhibition. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **46**, 3451-3457.
- Michel, F., Navellou, J. C., Ferraud, D., Toussirot, E. & Wendling, D. (2005).** DRESS syndrome in a patient on sulfasalazine for rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* **72**, 82-85.
- Molin, D., Fischer, M., Xiang, Z., Larsson, U., Harvima, I., Venge, P., Nilsson, K., Sundstrom, C., Enblad, G. & Nilsson, G. (2001).** Mast cells express functional CD30 ligand and are the predominant CD30L-positive cells in Hodgkin's disease. *Br J Haematol* **114**, 616-623.
- Montes-Moreno, S., Roncador, G., Maestre, L., Martinez, N., Sanchez-Verde, L., Camacho, F. I., Cannata, J., Martinez-Torrecuadrada, J. L., Shen, Y., Chan, W. C. & Piris, M. A. (2008).** Gcet1 (centerin), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood* **111**, 351-358.
- Mori, T., Tanaka-Taya, K., Satoh, H., Aisa, Y., Yamazaki, R., Kato, J., Ikeda, Y. & Okamoto, S. (2009).** Transmission of chromosomally integrated human herpesvirus 6

- (HHV-6) variant A from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection. *Transpl Infect Dis* **11**, 503-506.
- Mori, Y., Akkapaiboon, P., Yang, X. & Yamanishi, K. (2003a).** The human herpesvirus 6 U100 gene product is the third component of the gH-gL glycoprotein complex on the viral envelope. *J Virol* **77**, 2452-2458.
- Mori, Y., Dhepakson, P., Shimamoto, T., Ueda, K., Gomi, Y., Tani, H., Matsuura, Y. & Yamanishi, K. (2000).** Expression of human herpesvirus 6B rep within infected cells and binding of its gene product to the TATA-binding protein in vitro and in vivo. *J Virol* **74**, 6096-6104.
- Mori, Y., Yagi, H., Shimamoto, T., Isegawa, Y., Sunagawa, T., Inagi, R., Kondo, K., Tano, Y. & Yamanishi, K. (1998).** Analysis of human herpesvirus 6 U3 gene, which is a positional homolog of human cytomegalovirus UL 24 gene. *Virology* **249**, 129-139.
- Mori, Y., Yang, X., Akkapaiboon, P., Okuno, T. & Yamanishi, K. (2003b).** Human herpesvirus 6 variant A glycoprotein H-glycoprotein L-glycoprotein Q complex associates with human CD46. *J Virol* **77**, 4992-4999.
- Moss, D. M., Rudis, M. & Henderson, S. O. (1999).** Cross-sensitivity and the anticonvulsant hypersensitivity syndrome. *J Emerg Med* **17**, 503-506.
- Mottok, A., Renne, C., Willenbrock, K., Hansmann, M. L. & Brauninger, A. (2007).** Somatic hypermutation of SOCS1 in lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma is accompanied by high JAK2 expression and activation of STAT6. *Blood* **110**, 3387-3390.
- Naesens, L., Stephens, C. E., Andrei, G., Loregian, A., De Bolle, L., Snoeck, R., Sowell, J. W. & De Clercq, E. (2006).** Antiviral properties of new arylsulfone derivatives with activity against human betaherpesviruses. *Antiviral Res* **72**, 60-67.
- Nalesnik, M. A., Randhawa, P., Demetris, A. J., Casavilla, A., Fung, J. J. & Locker, J. (1993).** Lymphoma resembling Hodgkin disease after posttransplant lymphoproliferative disorder in a liver transplant recipient. *Cancer* **72**, 2568-2573.
- Nigro, G., Luzzi, G., Krzysztofiak, A., D'Orio, F. & Aiuti, F. (1995).** Detection of IgM antibodies to human herpesvirus 6 in Romanian children with nonprogressive human immunodeficiency virus disease. *Pediatr Infect Dis J* **14**, 891-894.
- Nii, S., Yoshida, M., Uno, F., Kurata, T., Ikuta, K. & Yamanishi, K. (1990).** Replication of human herpesvirus 6 (HHV-6): morphological aspects. *Adv Exp Med Biol* **278**, 19-28.
- Ogata, M. (2009).** Human herpesvirus 6 in hematological malignancies. *J Clin Exp Hematop* **49**, 57-67.
- Okuno, T., Takahashi, K., Balachandra, K., Shiraki, K., Yamanishi, K., Takahashi, M. & Baba, K. (1989).** Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults. *J Clin Microbiol* **27**, 651-653.
- Paterson, M. A., Hosking, P. S. & Coughlin, P. B. (2008).** Expression of the serpin centerin defines a germinal center phenotype in B-cell lymphomas. *Am J Clin Pathol* **130**, 117-126.
- Pedersen, S. M. & Hollsberg, P. (2006).** Complexities in human herpesvirus-6A and -6B binding to host cells. *Virology* **356**, 1-3.
- Pinto, A., Aldinucci, D., Gloghini, A., Zagonel, V., Degan, M., Improta, S., Juzbasic, S., Todesco, M., Perin, V., Gattei, V., Herrmann, F., Gruss, H. J. & Carbone, A. (1996).** Human eosinophils express functional CD30 ligand and stimulate proliferation of a Hodgkin's disease cell line. *Blood* **88**, 3299-3305.
- Portis, T. & Longnecker, R. (2003).** Epstein-Barr virus LMP2A interferes with global transcription factor regulation when expressed during B-lymphocyte development. *J Virol*

- 77, 105-114.
- Pradeau, K., Bordessoule, D., Szelag, J. C., Rolle, F., Ferrat, P., Le Meur, Y., Turlure, P., Denis, F. & Ranger-Rogez, S. (2006a).** A reverse transcription-nested PCR assay for HHV-6 mRNA early transcript detection after transplantation. *J Virol Methods* **134**, 41-47.
- Pradeau, K., Couty, L., Szelag, J. C., Turlure, P., Rolle, F., Ferrat, P., Bordessoule, D., Le Meur, Y., Denis, F. & Ranger-Rogez, S. (2006b).** Multiplex real-time PCR assay for simultaneous quantitation of human cytomegalovirus and herpesvirus-6 in polymorphonuclear and mononuclear cells of transplant recipients. *J Virol Methods* **132**, 77-84.
- Qavi, H. B., Green, M. T., Lewis, D. E., Hollinger, F. B., Pearson, G. & Ablashi, D. V. (1995).** HIV-1 and HHV-6 antigens and transcripts in retinas of patients with AIDS in the absence of human cytomegalovirus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **36**, 2040-2047.
- Raaphorst, F. M., van Kemenade, F. J., Blokzijl, T., Fieret, E., Hamer, K. M., Satijn, D. P., Otte, A. P. & Meijer, C. J. (2000).** Coexpression of BMI-1 and EZH2 polycomb group genes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *Am J Pathol* **157**, 709-715.
- Rajewsky, K. (1996).** Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* **381**, 751-758.
- Ranger, S., Patillaud, S., Denis, F., Himmich, A., Sangare, A., M'Boup, S., Itoua-N'Gaporo, A., Prince-David, M., Chout, R., Cevallos, R. & et al. (1991).** Seroepidemiology of human herpesvirus-6 in pregnant women from different parts of the world. *J Med Virol* **34**, 194-198.
- Rassidakis, G. Z., Medeiros, L. J., McDonnell, T. J., Viviani, S., Bonfante, V., Nadali, G., Vassilakopoulos, T. P., Giardini, R., Chilosi, M., Kittas, C., Gianni, A. M., Bonadonna, G., Pizzolo, G., Pangalis, G. A., Cabanillas, F. & Sarris, A. H. (2002).** BAX expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease: correlation with clinical outcome. *Clin Cancer Res* **8**, 488-493.
- Razonable, R. R., Fanning, C., Brown, R. A., Espy, M. J., Rivero, A., Wilson, J., Kremers, W., Smith, T. F. & Paya, C. V. (2002).** Selective reactivation of human herpesvirus 6 variant a occurs in critically ill immunocompetent hosts. *J Infect Dis* **185**, 110-113.
- Razzaque, A. (1990).** Oncogenic potential of human herpesvirus-6 DNA. *Oncogene* **5**, 1365-1370.
- Razzaque, A., Williams, O., Wang, J. & Rhim, J. S. (1993).** Neoplastic transformation of immortalized human epidermal keratinocytes by two HHV-6 DNA clones. *Virology* **195**, 113-120.
- Re, D., Muschen, M., Ahmadi, T., Wickenhauser, C., Staratschek-Jox, A., Holtick, U., Diehl, V. & Wolf, J. (2001).** Oct-2 and Bob-1 deficiency in Hodgkin and Reed Sternberg cells. *Cancer Res* **61**, 2080-2084.
- Re, D., Thomas, R. K., Behringer, K. & Diehl, V. (2005a).** From Hodgkin disease to Hodgkin lymphoma: biologic insights and therapeutic potential. *Blood* **105**, 4553-4560.
- Re, D., Thomas, R. K., Zander, T. & Diehl, V. (2005b).** Problems and promises of targeted therapy for Hodgkin's lymphoma. *Nat Clin Pract Oncol* **2**, 2-3.
- Rehwal, U., Schulz, H., Reiser, M., Sieber, M., Staak, J. O., Morschhauser, F., Driessen, C., Rudiger, T., Muller-Hermelink, K., Diehl, V. & Engert, A. (2003).** Treatment of relapsed CD20+ Hodgkin lymphoma with the monoclonal antibody rituximab is effective and well tolerated: results of a phase 2 trial of the German Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* **101**, 420-424.

- Renne, C., Martin-Subero, J. I., Eickernjager, M., Hansmann, M. L., Kuppers, R., Siebert, R. & Brauninger, A. (2006).** Aberrant expression of ID2, a suppressor of B-cell-specific gene expression, in Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol* **169**, 655-664.
- Reux, I., Fillet, A. M., Agut, H., Katlama, C., Hauw, J. J. & LeHoang, P. (1992).** In situ detection of human herpesvirus 6 in retinitis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol* **114**, 375-377.
- Reymen, D., Naesens, L., Balzarini, J., Holy, A., Dvorakova, H. & De Clercq, E. (1995).** Antiviral activity of selected acyclic nucleoside analogues against human herpesvirus 6. *Antiviral Res* **28**, 343-357.
- Rezk, S. A. & Weiss, L. M. (2007).** Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. *Hum Pathol* **38**, 1293-1304.
- Robinson, B., Turchan, J., Anderson, C., Chauhan, A. & Nath, A. (2006).** Modulation of human immunodeficiency virus infection by anticonvulsant drugs. *J Neurovirol* **12**, 1-4.
- Rojo, J., Ferrer Argote, V. E., Klueppelberg, U., Krueger, G. R., Eidt, E., Ablashi, D. V., Luka, J. & Tesch, H. (1994).** Semi-quantitative in situ hybridization and immunohistology for antigen expression of human herpesvirus-6 in various lymphoproliferative diseases. *In Vivo* **8**, 517-526.
- Rotola, A., Ravaioli, T., Gonelli, A., Dewhurst, S., Cassai, E. & Di Luca, D. (1998).** U94 of human herpesvirus 6 is expressed in latently infected peripheral blood mononuclear cells and blocks viral gene expression in transformed lymphocytes in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 13911-13916.
- Rowlings, P. A., Curtis, R. E., Passweg, J. R., Deeg, H. J., Socie, G., Travis, L. B., Kingma, D. W., Jaffe, E. S., Sobocinski, K. A. & Horowitz, M. M. (1999).** Increased incidence of Hodgkin's disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* **17**, 3122-3127.
- Safronetz, D., Petric, M., Tellier, R., Parvez, B. & Tipples, G. A. (2003).** Mapping ganciclovir resistance in the human herpesvirus-6 U69 protein kinase. *J Med Virol* **71**, 434-439.
- Salahuddin, S. Z., Ablashi, D. V., Markham, P. D., Josephs, S. F., Sturzenegger, S., Kaplan, M., Halligan, G., Biberfeld, P., Wong-Staal, F., Kramarsky, B. & et al. (1986).** Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* **234**, 596-601.
- Salonen, M. J., Siimes, M. A., Salonen, E. M., Vaheri, A. & Koskiniemi, M. (2002).** Antibody status to HHV-6 in children with leukaemia. *Leukemia* **16**, 716-719.
- Sanchez-Beato, M., Sanchez, E., Garcia, J. F., Perez-Rosado, A., Montoya, M. C., Fraga, M., Artiga, M. J., Navarrete, M., Abaira, V., Morente, M., Esteller, M., Koseki, H., Vidal, M. & Piris, M. A. (2004).** Abnormal PcG protein expression in Hodgkin's lymphoma. Relation with E2F6 and NFkappaB transcription factors. *J Pathol* **204**, 528-537.
- Sandor, V., Bakke, S., Robey, R. W., Kang, M. H., Blagosklonny, M. V., Bender, J., Brooks, R., Piekarz, R. L., Tucker, E., Figg, W. D., Chan, K. K., Goldspiel, B., Fojo, A. T., Balcerzak, S. P. & Bates, S. E. (2002).** Phase I trial of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228, NSC 630176), in patients with refractory neoplasms. *Clin Cancer Res* **8**, 718-728.
- Santoro, F., Kennedy, P. E., Locatelli, G., Malnati, M. S., Berger, E. A. & Lusso, P. (1999).** CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. *Cell* **99**, 817-827.
- Scheeren, F. A., Diehl, S. A., Smit, L. A., Beaumont, T., Naspetti, M., Bende, R. J., Blom, B., Karube, K., Ohshima, K., van Noesel, C. J. & Spits, H. (2008).** IL-21 is expressed in

- Hodgkin lymphoma and activates STAT5: evidence that activated STAT5 is required for Hodgkin lymphomagenesis. *Blood* **111**, 4706-4715.
- Schirmer, E. C., Wyatt, L. S., Yamanishi, K., Rodriguez, W. J. & Frenkel, N. (1991).** Differentiation between two distinct classes of viruses now classified as human herpesvirus 6. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 5922-5926.
- Schleimann, M. H., Moller, J. M., Kofod-Olsen, E. & Hollsberg, P. (2009).** Direct Repeat 6 from human herpesvirus-6B encodes a nuclear protein that forms a complex with the viral DNA processivity factor p41. *PLoS One* **4**, e7457.
- Schmidt, C. A., Oettle, H., Peng, R., Binder, T., Wilborn, F., Huhn, D., Siegert, W. & Herbst, H. (2000).** Presence of human beta- and gamma-herpes virus DNA in Hodgkin's disease. *Leuk Res* **24**, 865-870.
- Schneider, E. M., Torlakovic, E., Stuhler, A., Diehl, V., Tesch, H. & Giebel, B. (2004).** The early transcription factor GATA-2 is expressed in classical Hodgkin's lymphoma. *J Pathol* **204**, 538-545.
- Schwab, U., Stein, H., Gerdes, J., Lemke, H., Kirchner, H., Schaadt, M. & Diehl, V. (1982).** Production of a monoclonal antibody specific for Hodgkin and Sternberg-Reed cells of Hodgkin's disease and a subset of normal lymphoid cells. *Nature* **299**, 65-67.
- Schwering, I., Brauninger, A., Klein, U., Jungnickel, B., Tinguely, M., Diehl, V., Hansmann, M. L., Dalla-Favera, R., Rajewsky, K. & Kuppers, R. (2003).** Loss of the B-lineage-specific gene expression program in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* **101**, 1505-1512.
- Seishima, M., Yamanaka, S., Fujisawa, T., Tohyama, M. & Hashimoto, K. (2006).** Reactivation of human herpesvirus (HHV) family members other than HHV-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* **155**, 344-349.
- Seitz, V., Hummel, M., Marafioti, T., Anagnostopoulos, I., Assaf, C. & Stein, H. (2000).** Detection of clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangements in Reed-Sternberg cells of classic Hodgkin disease. *Blood* **95**, 3020-3024.
- Sekine, N., Motokura, T., Oki, T., Umeda, Y., Sasaki, N., Hayashi, M., Sato, H., Fujita, T., Kaneko, T., Asano, Y. & Kikuchi, K. (2001).** Rapid loss of insulin secretion in a patient with fulminant type 1 diabetes mellitus and carbamazepine hypersensitivity syndrome. *JAMA* **285**, 1153-1154.
- Shanavas, K. R., Kala, V., Vasudevan, D. M., Vijayakumar, T. & Yadav, M. (1992).** Anti-HHV-6 antibodies in normal population and in cancer patients in India. *J Exp Pathol* **6**, 95-105.
- Shaw, R. N., Arbiser, J. L. & Offermann, M. K. (2000).** Valproic acid induces human herpesvirus 8 lytic gene expression in BCBL-1 cells. *AIDS* **14**, 899-902.
- Shear, N. H. & Spielberg, S. P. (1988).** Anticonvulsant hypersensitivity syndrome. In vitro assessment of risk. *J Clin Invest* **82**, 1826-1832.
- Shiohara, T., Iijima, M., Ikezawa, Z. & Hashimoto, K. (2007).** The diagnosis of a DRESS syndrome has been sufficiently established on the basis of typical clinical features and viral reactivations. *Br J Dermatol* **156**, 1083-1084.
- Shiohara, T., Inaoka, M. & Kano, Y. (2006).** Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS): a reaction induced by a complex interplay among herpesviruses and antiviral and antidrug immune responses. *Allergol Int* **55**, 1-8.
- Shiohara, T. & Kano, Y. (2007).** A complex interaction between drug allergy and viral infection. *Clin Rev Allergy Immunol* **33**, 124-133.
- Shiramizu, B., Chang, C. W. & Cairo, M. S. (2001).** Absence of human herpesvirus-6 genome

- by polymerase chain reaction in children with Hodgkin disease: a Children's Cancer Group Lymphoma Biology Study. *J Pediatr Hematol Oncol* **23**, 282-285.
- Simmons, A., Demmrich, Y., La Vista, A. & Smith, K. (1992).** Replication of human herpesvirus 6 in epithelial cells in vitro. *J Infect Dis* **166**, 202-205.
- Skinnider, B. F., Elia, A. J., Gascoyne, R. D., Patterson, B., Trumper, L., Kapp, U. & Mak, T. W. (2002).** Signal transducer and activator of transcription 6 is frequently activated in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* **99**, 618-626.
- Snoeck, R. & De Clercq, E. (2002).** Role of cidofovir in the treatment of DNA virus infections, other than CMV infections, in immunocompromised patients. *Curr Opin Investig Drugs* **3**, 1561-1566.
- Sobue, R., Miyazaki, H., Okamoto, M., Hirano, M., Yoshikawa, T., Suga, S. & Asano, Y. (1991).** Fulminant hepatitis in primary human herpesvirus-6 infection. *N Engl J Med* **324**, 1290.
- Soldan, S. S., Berti, R., Salem, N., Secchiero, P., Flamand, L., Calabresi, P. A., Brennan, M. B., Maloni, H. W., McFarland, H. F., Lin, H. C., Patnaik, M. & Jacobson, S. (1997).** Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med* **3**, 1394-1397.
- Soldan, S. S., Leist, T. P., Juhng, K. N., McFarland, H. F. & Jacobson, S. (2000).** Increased lymphoproliferative response to human herpesvirus type 6A variant in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* **47**, 306-313.
- Sorg, U. R., Morse, T. M., Patton, W. N., Hock, B. D., Angus, H. B., Robinson, B. A., Colls, B. M. & Hart, D. N. (1997).** Hodgkin's cells express CD83, a dendritic cell lineage associated antigen. *Pathology* **29**, 294-299.
- Soul-Lawton, J., Seaber, E., On, N., Wootton, R., Rolan, P. & Posner, J. (1995).** Absolute bioavailability and metabolic disposition of valaciclovir, the L-valyl ester of acyclovir, following oral administration to humans. *Antimicrob Agents Chemother* **39**, 2759-2764.
- Stark, G. L., Wood, K. M., Jack, F., Angus, B., Proctor, S. J. & Taylor, P. R. (2002).** Hodgkin's disease in the elderly: a population-based study. *Br J Haematol* **119**, 432-440.
- Stein, H., Marafioti, T., Foss, H. D., Laumen, H., Hummel, M., Anagnostopoulos, I., Wirth, T., Demel, G. & Falini, B. (2001).** Down-regulation of BOB.1/OBF.1 and Oct2 in classical Hodgkin disease but not in lymphocyte predominant Hodgkin disease correlates with immunoglobulin transcription. *Blood* **97**, 496-501.
- Sturtz, F. G., Cioffi, L., Wittmer, S., Sonk, M. J., Shafer, A., Li, Y., Leeper, N. J., Smith-Gbur, J., Shulok, J. & Platika, D. (1998).** Tetracycline-regulatable expression vectors tightly regulate in vitro gene expression of secreted proteins. *Gene* **221**, 279-285.
- Suga, S., Yoshikawa, T., Asano, Y., Nakashima, T., Yazaki, T., Fukuda, M., Kojima, S., Matsuyama, T., Ono, Y. & Oshima, S. (1992).** IgM neutralizing antibody responses to human herpesvirus-6 in patients with exanthem subitum or organ transplantation. *Microbiol Immunol* **36**, 495-506.
- Sullivan, J. R. & Shear, N. H. (2001).** The drug hypersensitivity syndrome: what is the pathogenesis? *Arch Dermatol* **137**, 357-364.
- Sumiyoshi, Y., Kikuchi, M., Ohshima, K., Takeshita, M., Eizuru, Y. & Minamishima, Y. (1993).** Analysis of human herpes virus-6 genomes in lymphoid malignancy in Japan. *J Clin Pathol* **46**, 1137-1138.
- Sumiyoshi, Y., Kikuchi, M., Ohshima, K., Takeshita, M., Eizuru, Y. & Minamishima, Y. (1995).** A case of human herpesvirus-6 lymphadenitis with infectious mononucleosis-like

- syndrome. *Pathol Int* **45**, 947-951.
- Suzuki, Y., Inagi, R., Aono, T., Yamanishi, K. & Shiohara, T. (1998).** Human herpesvirus 6 infection as a risk factor for the development of severe drug-induced hypersensitivity syndrome. *Arch Dermatol* **134**, 1108-1112.
- Takahashi, H., Hideshima, K., Kawazoe, K., Tsuda, N., Fujita, S., Shibata, Y., Okabe, H. & Yamabe, S. (1995).** Immunophenotypes of Reed-Sternberg cells and their variants: a study of 68 cases of Hodgkin's disease. *Tohoku J Exp Med* **177**, 193-211.
- Takahashi, K., Sonoda, S., Higashi, K., Kondo, T., Takahashi, H., Takahashi, M. & Yamanishi, K. (1989).** Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus. *J Virol* **63**, 3161-3163.
- Takemoto, M., Mori, Y., Ueda, K., Kondo, K. & Yamanishi, K. (2004).** Productive human herpesvirus 6 infection causes aberrant accumulation of p53 and prevents apoptosis. *J Gen Virol* **85**, 869-879.
- Tamagawa-Mineoka, R., Katoh, N., Nara, T., Nishimura, Y., Yamamoto, S. & Kishimoto, S. (2007).** DRESS syndrome caused by teicoplanin and vancomycin, associated with reactivation of human herpesvirus-6. *Int J Dermatol* **46**, 654-655.
- Tanaka-Taya, K., Sashihara, J., Kurahashi, H., Amo, K., Miyagawa, H., Kondo, K., Okada, S. & Yamanishi, K. (2004).** Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. *J Med Virol* **73**, 465-473.
- Tejada-Simon, M. V., Zang, Y. C., Hong, J., Rivera, V. M. & Zhang, J. Z. (2003).** Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis. *Ann Neurol* **53**, 189-197.
- Terrin, L., Dal Col, J., Rampazzo, E., Zancai, P., Pedrotti, M., Ammirabile, G., Bergamin, S., Rizzo, S., Dolcetti, R. & De Rossi, A. (2008).** Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus activates the hTERT promoter and enhances telomerase activity in B lymphocytes. *J Virol* **82**, 10175-10187.
- Theodore, W. H., Epstein, L., Gaillard, W. D., Shinnar, S., Wainwright, M. S. & Jacobson, S. (2008).** Human herpes virus 6B: a possible role in epilepsy? *Epilepsia* **49**, 1828-1837.
- Thompson, J., Choudhury, S., Kashanchi, F., Doniger, J., Berneman, Z., Frenkel, N. & Rosenthal, L. J. (1994).** A transforming fragment within the direct repeat region of human herpesvirus type 6 that transactivates HIV-1. *Oncogene* **9**, 1167-1175.
- Tohyama, M., Hashimoto, K., Yasukawa, M., Kimura, H., Horikawa, T., Nakajima, K., Urano, Y., Matsumoto, K., Iijima, M. & Shear, N. H. (2007).** Association of human herpesvirus 6 reactivation with the flaring and severity of drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* **157**, 934-940.
- Tohyama, M., Yahata, Y., Yasukawa, M., Inagi, R., Urano, Y., Yamanishi, K. & Hashimoto, K. (1998).** Severe hypersensitivity syndrome due to sulfasalazine associated with reactivation of human herpesvirus 6. *Arch Dermatol* **134**, 1113-1117.
- Torelli, G., Barozzi, P., Marasca, R., Cocconcelli, P., Merelli, E., Ceccherini-Nelli, L., Ferrari, S. & Luppi, M. (1995).** Targeted integration of human herpesvirus 6 in the p arm of chromosome 17 of human peripheral blood mononuclear cells in vivo. *J Med Virol* **46**, 178-188.
- Torelli, G., Marasca, R., Luppi, M., Selleri, L., Ferrari, S., Narni, F., Mariano, M. T., Federico, M., Ceccherini-Nelli, L., Bendinelli, M. & et al. (1991).** Human herpesvirus-6 in human lymphomas: identification of specific sequences in Hodgkin's lymphomas by polymerase chain reaction. *Blood* **77**, 2251-2258.

- Torlakovic, E., Tierens, A., Dang, H. D. & Delabie, J. (2001).** The transcription factor PU.1, necessary for B-cell development is expressed in lymphocyte predominance, but not classical Hodgkin's disease. *Am J Pathol* **159**, 1807-1814.
- Torre, D., Mancuso, R. & Ferrante, P. (2005).** Pathogenic mechanisms of meningitis/encephalitis caused by human herpesvirus-6 in immunocompetent adult patients. *Clin Infect Dis* **41**, 422-423.
- Trovato, R., Di Lollo, S., Calzolari, A., Torelli, G. & Ceccherini-Nelli, L. (1994).** Detection of human herpesvirus-6 and Epstein-Barr virus genome in childhood Hodgkin's disease. *Pathologica* **86**, 500-503.
- Tzankov, A., Bourgau, C., Kaiser, A., Zimpfer, A., Maurer, R., Pileri, S. A., Went, P. & Dirnhofer, S. (2005).** Rare expression of T-cell markers in classical Hodgkin's lymphoma. *Mod Pathol* **18**, 1542-1549.
- Ueda, K., Kusahara, K., Hirose, M., Okada, K., Miyazaki, C., Tokugawa, K., Nakayama, M. & Yamanishi, K. (1989).** Exanthem subitum and antibody to human herpesvirus-6. *J Infect Dis* **159**, 750-752.
- Ushmorov, A., Leithauser, F., Sakk, O., Weinhausel, A., Popov, S. W., Moller, P. & Wirth, T. (2006).** Epigenetic processes play a major role in B-cell-specific gene silencing in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* **107**, 2493-2500.
- Valente, G., Secchiero, P., Lusso, P., Abete, M. C., Jemma, C., Reato, G., Kerim, S., Gallo, R. C. & Palestro, G. (1996).** Human herpesvirus 6 and Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease: a controlled study by polymerase chain reaction and in situ hybridization. *Am J Pathol* **149**, 1501-1510.
- Van Gool, S. W., Delabie, J., Vandenberghe, P., Coorevits, L., De Wolf-Peeters, C. & Ceuppens, J. L. (1997).** Expression of B7-2 (CD86) molecules by Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *Leukemia* **11**, 846-851.
- Vittorio, C. C. & Muglia, J. J. (1995).** Anticonvulsant hypersensitivity syndrome. *Arch Intern Med* **155**, 2285-2290.
- Vockerodt, M., Morgan, S. L., Kuo, M., Wei, W., Chukwuma, M. B., Arrand, J. R., Kube, D., Gordon, J., Young, L. S., Woodman, C. B. & Murray, P. G. (2008).** The Epstein-Barr virus oncoprotein, latent membrane protein-1, reprograms germinal centre B cells towards a Hodgkin's Reed-Sternberg-like phenotype. *J Pathol* **216**, 83-92.
- Wang, H., Chen, M., Berneman, Z. N., Delgado, G. & DiPaolo, J. A. (1994).** Detection of human herpesvirus-6 in paraffin-embedded tissue of cervical cancer by polymerase chain reaction. *J Virol Methods* **47**, 297-305.
- Ward, K. N. & Gray, J. J. (1994).** Primary human herpesvirus-6 infection is frequently overlooked as a cause of febrile fits in young children. *J Med Virol* **42**, 119-123.
- Ward, K. N., Leong, H. N., Nacheva, E. P., Howard, J., Atkinson, C. E., Davies, N. W., Griffiths, P. D. & Clark, D. A. (2006).** Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles. *J Clin Microbiol* **44**, 1571-1574.
- Ward, K. N., Leong, H. N., Thiruchelvam, A. D., Atkinson, C. E. & Clark, D. A. (2007).** Human herpesvirus 6 DNA levels in cerebrospinal fluid due to primary infection differ from those due to chromosomal viral integration and have implications for diagnosis of encephalitis. *J Clin Microbiol* **45**, 1298-1304.
- Watanabe, H., Daibata, M., Tohyama, M., Batchelor, J., Hashimoto, K. & Iijima, M. (2008).** Chromosomal integration of human herpesvirus 6 DNA in anticonvulsant hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* **158**, 640-642.

- Watanabe, K., Yamashita, Y., Nakayama, A., Hasegawa, Y., Kojima, H., Nagasawa, T. & Mori, N. (2000).** Varied B-cell immunophenotypes of Hodgkin/Reed-Sternberg cells in classic Hodgkin's disease. *Histopathology* **36**, 353-361.
- Watanabe, M., Ogawa, Y., Ito, K., Higashihara, M., Kadin, M. E., Abraham, L. J., Watanabe, T. & Horie, R. (2003).** AP-1 mediated relief of repressive activity of the CD30 promoter microsatellite in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Am J Pathol* **163**, 633-641.
- Weniger, M. A., Melzner, I., Menz, C. K., Wegener, S., Bucur, A. J., Dorsch, K., Mattfeldt, T., Barth, T. F. & Moller, P. (2006).** Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation. *Oncogene* **25**, 2679-2684.
- Williams, S. L., Hartline, C. B., Kushner, N. L., Harden, E. A., Bidanset, D. J., Drach, J. C., Townsend, L. B., Underwood, M. R., Biron, K. K. & Kern, E. R. (2003).** In vitro activities of benzimidazole D- and L-ribonucleosides against herpesviruses. *Antimicrob Agents Chemother* **47**, 2186-2192.
- Wong, G. A. & Shear, N. H. (2004).** Is a drug alone sufficient to cause the drug hypersensitivity syndrome? *Arch Dermatol* **140**, 226-230.
- Wu, Y., Sanderson, J. P., Farrell, J., Drummond, N. S., Hanson, A., Bowkett, E., Berry, N., Stachulski, A. V., Clarke, S. E., Pichler, W. J., Pirmohamed, M., Park, B. K. & Naisbitt, D. J. (2006).** Activation of T cells by carbamazepine and carbamazepine metabolites. *J Allergy Clin Immunol* **118**, 233-241.
- Wu, Z., Mu, G. & Wang, L. (1997).** Seroprevalence of human herpesvirus-6 in healthy population in two provinces of north China. *Chin Med Sci J* **12**, 111-114.
- Yamanishi, K., Okuno, T., Shiraki, K., Takahashi, M., Kondo, T., Asano, Y. & Kurata, T. (1988).** Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* **1**, 1065-1067.
- Yao, K., Hoest, C., Rashti, F., Schott, T. C. & Jacobson, S. (2009).** Effect of (r)-9-[4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)butyl]guanine (H2G) and AZT-lipid-PFA on human herpesvirus-6B infected cells. *J Clin Virol* **46**, 10-14.
- Yasukawa, M., Inoue, Y., Ohminami, H., Terada, K. & Fujita, S. (1998).** Apoptosis of CD4+ T lymphocytes in human herpesvirus-6 infection. *J Gen Virol* **79** (Pt 1), 143-147.
- Yokota, Y., Mansouri, A., Mori, S., Sugawara, S., Adachi, S., Nishikawa, S. & Gruss, P. (1999).** Development of peripheral lymphoid organs and natural killer cells depends on the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Nature* **397**, 702-706.
- Yoshida, M., Yamada, M., Tsukazaki, T., Chatterjee, S., Lakeman, F. D., Nii, S. & Whitley, R. J. (1998).** Comparison of antiviral compounds against human herpesvirus 6 and 7. *Antiviral Res* **40**, 73-84.
- Yoshikawa, T. (2003).** Significance of human herpesviruses to transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* **16**, 601-606.
- Yoshikawa, T., Akimoto, S., Nishimura, N., Ozaki, T., Ihira, M., Ohashi, M., Morooka, M., Suga, S., Asano, Y., Takemoto, M. & Nishiyama, Y. (2003).** Evaluation of active human herpesvirus 6 infection by reverse transcription-PCR. *J Med Virol* **70**, 267-272.
- Yoshikawa, T. & Asano, Y. (2000).** Central nervous system complications in human herpesvirus-6 infection. *Brain Dev* **22**, 307-314.
- Yoshikawa, T., Fujita, A., Yagami, A., Suzuki, K., Matsunaga, K., Ihira, M. & Asano, Y. (2006).** Human herpesvirus 6 reactivation and inflammatory cytokine production in patients with drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Clin Virol* **37 Suppl 1**, S92-96.

- Young, L. S. & Murray, P. G. (2003).** Epstein-Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene* **22**, 5108-5121.
- Zheng, B., Fiumara, P., Li, Y. V., Georgakis, G., Snell, V., Younes, M., Vauthey, J. N., Carbone, A. & Younes, A. (2003).** MEK/ERK pathway is aberrantly active in Hodgkin disease: a signaling pathway shared by CD30, CD40, and RANK that regulates cell proliferation and survival. *Blood* **102**, 1019-1027.
- Zheng, B., Georgakis, G. V., Li, Y., Bharti, A., McConkey, D., Aggarwal, B. B. & Younes, A. (2004).** Induction of cell cycle arrest and apoptosis by the proteasome inhibitor PS-341 in Hodgkin disease cell lines is independent of inhibitor of nuclear factor-kappaB mutations or activation of the CD30, CD40, and RANK receptors. *Clin Cancer Res* **10**, 3207-3215.
- Zhou, Y., Attygalle, A. D., Chuang, S. S., Diss, T., Ye, H., Liu, H., Hamoudi, R. A., Munson, P., Bacon, C. M., Dogan, A. & Du, M. Q. (2007).** Angioimmunoblastic T-cell lymphoma: histological progression associates with EBV and HHV6B viral load. *Br J Haematol* **138**, 44-53.
- Zhou, Y., Chang, C. K., Qian, G., Chandran, B. & Wood, C. (1994).** trans-activation of the HIV promoter by a cDNA and its genomic clones of human herpesvirus-6. *Virology* **199**, 311-322.

Rôle de l'herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6) dans le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse et le lymphome de Hodgkin

Résumé

L'herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6) est un virus lymphotrope, présentant deux variants A et B. Le variant B est associé au syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse ou DRESS (drug rash with eosinophilia and systemic symptoms), et est également étudié pour son implication dans le lymphome de Hodgkin (LH).

Le DRESS est une maladie rare, qui apparaît en réponse à une prise médicamenteuse, se manifestant par une fièvre élevée, une éosinophilie et une éruption cutanée importante et qui peut s'accompagner d'une atteinte viscérale. La réplication *in vitro* de l'HHV-6 a été quantifiée en présence de molécules causales du DRESS. Une stimulation de la réplication virale en présence de valproate de sodium, carbamazépine et amoxicilline a été mise en évidence, suggérant que la réactivation de l'HHV-6 est un événement précoce dans le déroulement du DRESS. De plus, l'étude des données virologiques de patients atteints de DRESS a permis de confirmer que la réactivation de l'HHV-6 est un phénomène fréquent dans cette maladie.

Afin de préciser le rôle de l'HHV-6 dans le LH, l'action de l'oncoprotéine virale DR7 sur le comportement cellulaire a été étudiée. Des dérégulations similaires à celles décrites dans les cellules de Reed-Sternberg, caractéristiques du LH, ont été observées dans des cellules B surexprimant DR7. Ces dérégulations aboutissent à une prolifération et une résistance à la mort cellulaire accrue, ainsi qu'à une modulation de l'expression de marqueurs spécifiques.

Ces travaux ont permis de montrer que la réactivation de l'HHV-6 est un événement précoce et causal dans le DRESS, et d'argumenter en faveur d'un rôle pathogénique de l'HHV-6 dans la lymphomagenèse du LH.

Mots-clés : HHV-6, syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse, lymphome de Hodgkin, DR7, cellule de Reed-Sternberg

Role of human herpesvirus 6 (HHV-6) in drug hypersensitivity syndrome and Hodgkin's lymphoma

Abstract

Human herpesvirus 6 (HHV-6) is a lymphotropic virus which exists as two variants named A and B. B variant is associated with drug hypersensitivity syndrome or DRESS (drug rash with eosinophilia and systemic symptoms), and is studied for its implication in Hodgkin's lymphoma (HL).

DRESS is a rare, drug-induced reaction, characterized by high fever, eosinophilia, cutaneous eruption and potential visceral involvement. HHV-6 replication *in vitro* was quantified in presence of drugs responsible for DRESS. A stimulation of viral replication by sodium valproate, carbamazepine and amoxicillin was shown, suggesting that HHV-6 reactivation is an early event in the time course of DRESS. Moreover, virological data from DRESS patients allow us to observe that HHV-6 reactivation is a frequent event in DRESS.

The role of HHV-6 in HL was studied through viral oncoprotein DR7 action on cellular functions. B cells overexpressing DR7 exhibited deregulations similar to those reported for Reed-Sternberg cells, which are characteristic cells of HL. Increased proliferation and cell death resistance, and modulation of specific markers were observed.

This work showed that HHV-6 reactivation is an early and causative event in DRESS, and results concerning DR7 argue in favour of a pathogenic role of HHV-6 in HL.

Keywords : HHV-6, drug hypersensitivity syndrome, Hodgkin's lymphoma, DR7, Reed-Sternberg cell