

Virus Adéno-associé (VAA) dans le sperme et le testicule : Un rôle dans l'infertilité ? Mise au point

Jörg R. SCHLEHOFER

Heidelberg, Allemagne

RESUME

Au cours de la dernière décennie, l'infection du tractus génital féminin par les virus adéno-associés (VAA) ubiquitaires a été rapportée par de nombreux auteurs. Bien que l'on pense que le virus est non pathogène, il existe des suggestions d'une association du VAA avec les fausses-couches et d'autres problèmes survenant au décours de la grossesse.

Plus récemment, on a découvert qu'il existait aussi une infection plutôt fréquente des tissus génitaux masculins, ce qui constitue un argument en faveur de l'hypothèse selon laquelle ce virus pourrait être sexuellement transmis et pourrait jouer un rôle dans l'infertilité.

Mots clés : virus adéno-associés, sperme, testicule, infécondité

Le virus adéno-associé (VAA) est un petit virus à ADN, sans enveloppe, appartenant à la famille des parvovirus. Contrairement aux parvovirus appelés autonomes, la réplication du VAA ne se fait qu'en présence de virus helpers tels que l'adénovirus, les virus herpès, le virus de la vaccine ou le papillomavirus, ou bien dans des conditions cellulaires spécifiques (revue dans [4, 13]). Le génome du VAA est une molécule d'ADN simple brin d'environ 5kb composée de deux gènes : i) le gène *rep* qui code pour des protéines contrôlant la réplication virale, l'expression structurale du gène et l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte, et ii) le gène *cap* qui code pour des protéines de structure (capsides).

On a décrit au moins six séro-types de VAA (VAA type 1 [AAV-1] à AAV-6). AAV-2, la souche prototype, de même que AAV-3 et AAV-5 ont été isolés directement à partir d'échantillons cliniques humains ; l'AAV-5 qui a été isolé provenait d'une lésion condylomateuse plane du pénis [1] sans pathologies apparentes associées à une infection.

En l'absence d'un virus helper, l'ADN du VAA s'intègre à un site spécifique du génome de l'hôte (dénommé AAVS1 sur le chromosome 19 [19q 13-qter]) avec une fréquence élevée, au moins en culture cellulaire [9]. Le virus possède la capacité d'infecter à la fois des cellules en division et des cellules au repos, il peut induire la différenciation cellulaire, et, comme d'autres parvovirus (animaux), il possède une activité anti-cancer (revue dans [12]). Ces propriétés font du VAA un vecteur prometteur pour la transduction de gène [6]. Bien que l'infection à VAA chez l'homme soit considérée comme non pathogène, il existe des suggestions d'une association avec les fausses-couches précoces et d'autres problèmes survenant durant la grossesse [3, 8, 13, 14].

Une présence fréquente (50-80%) du VAA (ADN et/ou virus infectieux) a été montrée d'abord dans des échantillons provenant du tractus génital féminin (col utérin, utérus, avortement précoce) [7, 14, 16, 17]. En outre, l'ADN du VAA a été retrouvé dans la maladie trophoblastique de la grossesse (environ 40% ; môle hydatiforme, choriocarcinome), dans le liquide amniotique et le trophoblaste (environ 40%) [3, 8, 15], ce qui démontre une infection *in utero* par le virus. De plus, on a décrit, dans un modèle murin, des effets létaux de l'infection à VAA sur les embryons [2].

Correspondance :

Pr Jörg R. SCHLEHOFER - Deutsches Krebsforschungszentrum, F010, Im Neuenheimer Feld 242 - 69120 Heidelberg, Allemagne - Tel +49-6221-424975
Fax +49-6221-424962 - Email J.Schlehofer@dkfz.de

Plus récemment, on a décrit une infection de l'appareil génital masculin par le VAA [5, 11].

L'ADN du VAA a été détecté, par 'nested' PCR, dans le sperme d'environ un tiers des éjaculats d'hommes inféconds. Dans 88% des cas, l'ADN du VAA était associé à la fraction spermatozoïdes du sperme [11]. Pour 18% des échantillons de sperme positifs pour l'ADN du VAA, des virions infectieux ont pu aussi être isolés [Till et al., manuscrit en cours]. Il est à noter que l'ADN du VAA a été retrouvé dans 38% des éjaculats d'hommes présentant un spermogramme anormal, mais dans seulement 4,6% des échantillons avec un spermogramme normal (association infection par VAA - et spermogramme normal : $p = 0,003$; - et oligoasthénospermie : $p = 0,0006$) (Figure 1) [5].

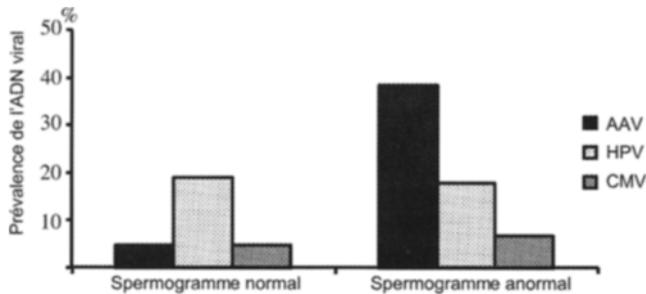


Figure 1 : Présence d'ADN viral dans le sperme : analyse de sperme normale versus anormale. Association de VAA : - avec analyses de sperme anormales : $P = 0,003$; avec oligoasthénospermie : $P = 0,0006$; (les valeurs de P sont calculées par comparaison avec les analyses de sperme normales). AAV = virus adéno-associé ; HPV = papillomavirus ; CMV = cytomégalovirus.

Au contraire, l'ADN des virus helpers pour le VAA fut retrouvé à une fréquence moins élevée (papillomavirus [HPV] : 20% ; cytomégalovirus [HCMV] : 8% ; virus Herpès simplex [HSV] : 1%) et à des taux non significativement différents entre échantillons de sperme normaux et pathologiques [11]. Toutefois, dans la plupart des cas ADN-positifs pour le VAA, l'ADN des virus helpers n'était pas présent (ADN : HPV = 24%, HCMV = 8%, HSV = 1%, dans les échantillons contenant de l'ADN du VAA). Dans les prélèvements urétraux, le VAA fut peu fréquemment détecté (17%).

Ces résultats démontrent l'existence d'une infection à VAA du tractus génital masculin à une fréquence plutôt élevée. La présence de VAA dans les éjaculats est un argument à l'hypothèse d'une transmission sexuelle du virus, et la détection préférentielle d'ADN viral dans les échantillons de sperme à spermogramme anormal d'hommes inféconds suggère un rôle possible du VAA dans l'infertilité masculine.

De plus, l'ADN du VAA a été détecté dans 26% des biopsies testiculaires d'hommes infertiles (azoospermiques) [5]. Puisque dans les éjaculats l'ADN du VAA était associé à la fraction spermatozoïdes, il est tentant de spéculer que le

VAA pourrait interférer avec la maturation des cellules spermatiques, amenant potentiellement à des spermatozoïdes « inféconds ».

Pour répondre à la question de l'influence potentielle du VAA-2 sur les cellules spécifiques du testicule, la cinétique de croissance et de prolifération de cellules de Leydig (lignée murine TM3) et de cellules de Sertoli (lignée murine TM4) a été analysée. Après infection par du VAA-2, la lignée sertolienne montra une réduction de sa vitesse de croissance alors qu'aucune réduction significative ne fut observée pour la cinétique de croissance de la lignée leydigienne. Au cours des tests de l'activité proliférative (test MTT), l'infection par VAA-2 se montra inhibitrice du taux de prolifération des deux lignées cellulaires d'environ 20% [Till et al., manuscrit en cours].

En culture cellulaire, on a montré que le VAA intégrait avec empressement son ADN dans le génome de la cellule hôte en l'absence d'un virus helper (voir plus haut). Par conséquent, nous avons recherché si l'ADN du VAA détecté dans le tissu testiculaire était présent sous une forme intégrée. En utilisant à la fois différentes techniques de PCR, on a pu détecter des fragments indiquant la présence d'ADN du VAA intégré dans des échantillons de testicules positifs pour l'ADN du VAA [10]. Le séquençage de jonctions clonées ADN du VAA/ADN cellulaire a montré des intégrations (au moins deux) d'ADN du VAA dans la région AAVS1 du chromosome 19 (Figure 2). Ainsi, au moins dans les échantillons de testicule analysés, on a retrouvé l'ADN du VAA intégré dans la région chromosomique spécifique décrite jusqu'ici en culture cellulaire. De récentes études non publiées ont montré que l'ADN viral semblait comprendre la totalité du génome du VAA [Hoecker et al., manuscrit en préparation].

La signification clinique et les conséquences de cette intégration de l'ADN viral reste encore à élucider (Tableau 1).

Tableau 1 : Signification possible de l'infection par le VAA de l'appareil reproducteur masculin ou du sperme.

- Transmission sexuelle de maladies / Dissémination du virus.
- Infertilité/stérilité due aux altérations des cellules testiculaires.
- Incorporation du génome viral dans le génome des cellules germinales:
 - altération du génome de la cellule hôte,
 - risque de transmission aux générations suivantes.
- Infection par le VAA des ovocytes et des embryons: fausses-couches, malformations embryonnaires / fœtales.
- Réponse immune du tractus génital féminin.
- Problèmes lors de reproduction assistée (risque de transmission de cellules spermatiques infectées).

Des études virologiques et moléculaires supplémentaires sont nécessaires pour savoir si i) le VAA (et d'autres virus) peut être une cause d'infécondité, ii) il peut être transmis à l'ovocyte, et iii) les cellules spermatiques infectées peuvent

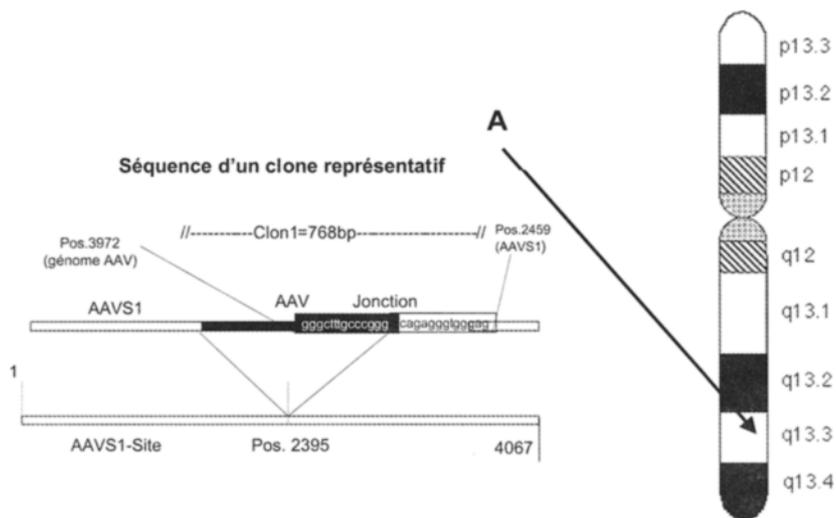


Figure 2 : Intégration de l'ADN du VAA dans les cellules du testicules. A = Le clonage et le séquençage de jonctions de l'ADN VAA-cellule montrent l'intégration de l'ADN viral dans la région AAVS1 du chromosome 19.

influer sur le devenir d'une fécondation naturelle, ou iii) la transmission du virus peut interférer avec le succès des techniques de reproduction assistée.

Des recherches sont nécessaires pour identifier les voies d'entrée du virus dans l'appareil génital masculin, les cellules cibles les plus susceptibles, et les conséquences des infections virales sur les fonctions endocrines. Le mode de réplication du virus et/ou sa persistance (latence) dans les cellules/tissus respectifs doivent être caractérisés, les réservoirs potentiels (et leur latence) de virus sont à déterminer, et les mécanismes de défense antivirale du tractus reproducteur restent à élucider.

REFERENCES

- BANTEL-SCHAAL U., ZUR HAUSEN H. : Characterization of the DNA of a defective human parvovirus isolated from a genital site. *Virology*, 1984, 134 : 52-63.
- BOTQUIN V., CID-ARREGUI A., SCHLEHOFER J.R. : Adeno-associated virus type 2 interferes with early development of mouse embryos. *J. Gen. Virol.*, 1994, 75 : 2655-2662.
- BURGUETE T., RABREAU M., FONTANGES-DARRIET M., et al. : Evidence for infection of the human embryo with adeno-associated virus in pregnancy. *Hum. Reprod.*, 1999, 14 : 2396-2401.
- DUPRESSOIR T., SCHLEHOFER J.R. : Infection naturelle à virus adéno-associé (AAV). *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 1999, 57 : 667-675.
- ERLES K., ROHDE V., THAELE M., ROTH S., EDLER L., SCHLEHOFER J.R. : DNA of adeno-associated virus (AAV) in testicular tissue and in abnormal semen samples. *Hum. Reprod.*, 2001, 16 : 2333-2337.
- FLOTTE R.T., CARTER B.J. : Adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Gene Therapy*, 1995, 2 : 357-362.
- HAN L., PARMLEY T.H., KEITH S., KOZLOWSKI K.J., SMITH L.J., HERMONAT P.L. : High prevalence of adeno-associated virus (AAV) type 2 rep DNA in cervical materials: AAV may be sexually transmitted. *Virus Genes*, 1996, 12 : 47-52.
- KIEHL K., SCHLEHOFER J.R., SCHULTZ R., ZUGAIB M., ARMBRUSTER-MORAES E. : Adeno-associated virus DNA in human gestational trophoblastic disease. *Placenta*, 2002, 23 : 4105-4110.
- KOTIN R.M., MENNINGER J.C., WARD D.C., BERNS K.I. : Mapping and direct visualization of a region-specific viral DNA integration site on chromosome 19q13-qter. *Genomics*, 1991, 10 : 831-834.
- MERLE L., ROHDE V., SCHLEHOFER J.R. : Evidence of chromosomal integration of AAV DNA in human testis tissue. *Virus Genes*, 2004, 28 : 61-69.
- ROHDE V., ERLES K., SATTLER H.P., DEROUET H., WULLICH B., SCHLEHOFER J.R. : Detection of adeno-associated virus in human semen: does viral infection play a role in the pathogenesis of male infertility? *Fertil. Steril.*, 1999, 72 : 814-816.
- SCHLEHOFER J.R. : The tumor suppressive properties of adeno-associated viruses. *Mutat. Res.*, 1994, 305 : 303-313.
- SCHLEHOFER J.R., DUPRESSOIR T. : Infectiology and pathology of human adeno-associated viruses. *Contrib. Microbiol.*, 2000, 4 : 59-67.
- TOBIASCH E., RABREAU M., GELETNEKY K., et al. : Detection of adeno-associated virus DNA in human genital tissue and in material from spontaneous abortion. *J. Med. Virol.*, 1994, 44 : 215-222.
- VENTUROLI S., CRICCA M., BONVICINI F., et al. : Detection of adeno-associated virus DNA in female genital samples by PCR-ELISA. *J. Med. Virol.*, 2001, 64 : 577-582.
- WALZ C., DEPRez A., DUPRESSOIR T., DURST M., RABREAU M., SCHLEHOFER J.R. : Interaction of human papillomavirus type 16 and adeno-associated virus type 2 co-infecting human cervical epithelium. *J. Gen. Virol.*, 1997, 78 : 1441-1452.
- WALZ C., ANISI T.R., SCHLEHOFER J.R., GISSMANN L., SCHNEIDER A., MULLER M. : Detection of infectious adeno-associated virus particles in human cervical biopsies. *Virology*, 1998, 247 : 97-105.

ABSTRACT

Adeno-associated virus (AAV) in semen and testis : a role in infertility? An overview

Jörg R. Schlehofer

In the past decade, infection of the female genital tract with the ubiquitous adeno-associated viruses (AAV) has been reported by a number of authors. Though the virus is thought to be non-pathogenic, there were hints on an association of AAV with miscarriage and problems in pregnancy. In more recent years it has been discovered that there is also a rather frequent infection of male genital tissues supporting the hypothesis that this virus may be sexually transmitted and may play a role in infertility.

***Key words* : adeno-associated virus, semen, testis, infertility**