

De l'ADN fossile à l'ARN ancien : le cas du virus de la grippe « espagnole »

Au printemps 1918, un virus de la grippe très contagieux émergea, mais resta peu virulent. C'est vers la fin du mois d'août de la même année qu'une forme de la maladie, cette fois foudroyante, apparut. Allait s'en suivre la pandémie la plus meurtrière de l'histoire. Le 11 novembre 1918 se terminait en effet une guerre qui laissait derrière elle une dizaine de millions de morts; en moins de six mois, l'épidémie allait en faire plus du double. Aucun endroit du monde n'a été épargné, jusqu'à des régions aussi isolées que les îles du Pacifique et l'Alaska [1]. La plupart des individus ne mouraient pas des causes directes de la grippe mais d'infections secondaires opportunistes, le plus souvent des pneumonies qui se développaient chez les sujets infectés et affaiblis par le virus [1]. A nouveau, en 1957 puis en 1968 sont apparus des nouveaux variants du virus de la grippe à l'origine d'épidémies mondiales [2, 3]; en 1997, une épidémie mortelle fit irruption à Hong-Kong ([4, et *m/s* 1998, n° 5, p. 659). Au vu de la menace portée par de telles épidémies, de la persistance des souches de 1957 et 1968 dans les populations aviaires [2, 3], du risque toujours actuel de nouvelle pandémie, il est apparu prioritaire de comprendre quels événements conduisent à des virus d'une telle virulence et d'une telle pathogénicité.

Dans ce contexte, le virus de 1918, dit de la grippe « espagnole », constituerait un excellent modèle d'étude. Mais voilà, nous ne sommes plus en 1918. C'est donc grâce aux techniques développées pour l'extraction de l'ADN des fossiles que l'équipe de Taubenberger a pu débiter le y a

trois ans le séquençage complet du virus de la grippe espagnole. Le génome, de type ARN, a été extrait à partir de deux types d'échantillons: des tissus prélevés lors d'autopsies et conservés depuis 1918 dans la paraffine (Institut de pathologie des forces armées, Washington), ou des biopsies réalisées sur des Inuits morts suite à leur infection en 1918, mais dont les corps ont été conservés grâce à leur inhumation dans les glaces des permafrosts. Ces conditions favorisent la conservation des acides nucléiques (*m/s* 2000, n° 8-9, p. 1). Des fragments contigus de cet ARN ancien sont soumis à une transcription inverse, puis amplifiés par PCR. Une première étude identifiait en 1997 des séquences partielles pour 5 des 10 gènes du virus de 1918 [1]; en 1999, la phase codante complète du gène de l'hémagglutinine [5] et, récemment, celle du gène de la neuraminidase ont été obtenues [6]. Puisque la taille des fragments amplifiés n'excède pas 120 à 150 nucléotides, la tâche a été considérable; ainsi, pas moins de 22 fragments chevauchants ont été nécessaires à l'obtention des 1701 nucléotides codant pour la neuraminidase [6].

Toutes les analyses phylogénétiques faites à partir des séquences nucléiques obtenues à ce jour convergent: le virus de 1918 s'apparente plus aux souches qui infectent les mammifères (homme et porc) qu'aux souches aviaires (*figure 1*). Ces similitudes de séquences font donc penser que le virus a d'abord infecté, à partir d'une souche aviaire, une espèce mammifère hôte, le porc, puis s'y est adapté avant d'émerger en 1918 comme une souche hautement pathogène pour l'homme. Un

second scénario pourrait cependant expliquer tout autant les analyses de phylogénie; en effet, si le virus est passé directement des oiseaux à l'homme, et que les séquences aviaires ont fortement évolué depuis 1918, alors la souche « espagnole », bien qu'aviaire à l'origine, pourrait paraître artificiellement distante des souches aviaires actuelles. En faveur de cette dernière hypothèse, on a constaté que le virus de 1918, au niveau protéique, s'apparentait plus aux virus aviaires. Hémagglutinine et neuraminidase sont deux protéines présentes dans l'enveloppe virale, et sont les cibles préférentielles de l'immunité spécifique. Chez l'homme, les sites antigéniques des souches virales actuelles, soumis à une forte pression immunitaire, s'éloignent fortement du consensus aviaire. Au contraire, les sites antigéniques de la souche « espagnole » correspondent strictement au consensus aviaire aussi bien pour l'hémagglutinine que pour la neuraminidase [5, 6]. Ces sites antigéniques aviaires, qui étaient inconnus chez l'homme auparavant, et pour lesquels seul un nombre infime de sujets devait présenter une immunité, ont vraisemblablement pu mettre en échec l'immunité spécifique et contribuer à la forte virulence de la souche. Les souches responsables des épidémies massives de 1957 et 1968 présentaient également des antigènes de type aviaire pour l'hémagglutinine, soulignant ainsi leur implication dans la virulence des souches [2, 3]. En revanche, la mutation responsable de la virulence de la souche chinoise de 1997 n'est pas retrouvée dans le virus de la grippe « espagnole » [1]. Il s'agit d'une insertion de quelques amino-acides

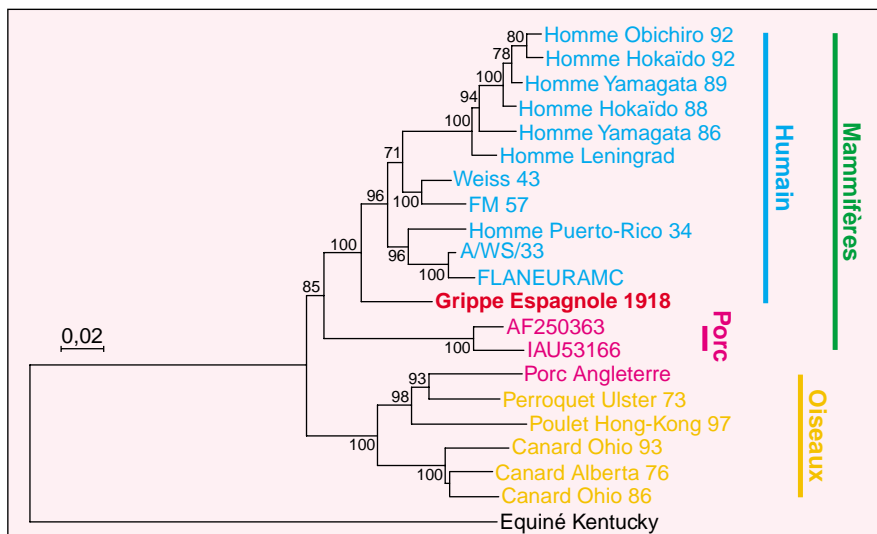


Figure 1. **Position phylogénétique du virus de 1918 parmi différentes souches de virus de la grippe.** Les différentes souches aviaires, porcines et humaines appartiennent à des groupes phylogénétiques distincts. Seule la souche Porc Angleterre n'appartient pas au groupe des souches porcines mais à celui des souches aviaires, trahissant ainsi un récent transfert d'hôte. Le virus de la grippe « espagnole » de 1918 (en rouge) apparaît indiscutablement dans le groupe des souches de Mammifères. Les souches FM57 et Poulet Hong-Kong 97 correspondent respectivement aux souches responsables des épidémies de 1957 et de 1997.

dans le site de clivage de l'hémagglutinine, qui confère au virus la capacité d'infecter aussi bien ses cibles classiques (cellules épithéliales de l'appareil respiratoire), que la plupart des autres types cellulaires. De même, puisque les souches virales ayant une délétion du site de glycosylation en position 146 de la protéine neuraminidase se manifestent à la fois par une virulence et un neurotropisme accrus, il avait été proposé que cette délétion pouvait être à l'origine de l'extrême virulence de la grippe « espagnole » [7]; en fait, le séquençage du gène de la neuraminidase montre que ce site y est présent [6]. Ainsi, la clef de la virulence du virus de 1918 ne se résume pas à la simple apparition de mutations ponctuelles; elle semble plutôt résulter d'une fonction complexe intégrant

aussi bien des caractéristiques antigéniques nouvelles, l'efficacité de la réplication et de la transmission, le tropisme d'infection de nouvelles cibles cellulaires, que le statut immunitaire des malades.

Quel que soit le scénario envisagé, il est clair qu'au moins un transfert d'hôte s'est soldé par l'acquisition d'une forte virulence. Gageons que le séquençage des phases codantes d'autres gènes du virus de 1918 permettra de déterminer lequel des deux scénarios retrace le mieux son histoire précoce, juste avant le développement de la pandémie. Une chose est sûre: toutes les souches virales infectant actuellement l'homme et le porc ont un ancêtre commun. L'étude de la cinétique d'apparition des substitutions dans le gène de la neuraminidase a même

permis de calibrer une horloge moléculaire très fiable pour calculer l'âge de cet ancêtre commun; il daterait de 1910-1915 [6]. L'histoire des virus porcins et humains est donc bien unie. Reste à savoir si, en 1918, la souche aviaire est passée du porc à l'homme ou de l'homme au porc, un paramètre qu'il faudra nécessairement prendre en compte dans le cadre des xénotransplantations.

1. Taubenberger JK, Reid AH, Krafft AE, Bijwaard KE, Fanning TG. Initial genetic characterization of the 1918 «Spanish» influenza. *Science* 1997; 275: 1793-96.
2. Schäfer JR, Kawaoka Y, Bean WJ, Süss J, Senne D, Webster RG. Origin of the pandemic 1957 H2 influenza A virus and the Persistence of its possible progenitors in the avian reservoir. *Virology* 1993; 194: 781-8.
3. Bean WJ, Schell M, Kawaoka Y, Naeve C, Gorman O, Webster RG. Evolution of the H3 influenza virus hemagglutinin from human and nonhuman hosts. *J Virol* 1992; 66: 1129-38.
4. Subbarao K, Klimov, A, Katz J, et al. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science* 1998; 279: 393-6.
5. Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK. Origin and evolution of the 1918 «Spanish» influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Nat Acad Sci USA* 1999; 96: 1651-6.
6. Reid AH, Fanning TG, Janczewski TA, Taubenberger JK. Characterization of the 1918 «Spanish» influenza virus neuraminidase gene. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000; 97: 6785-90.
7. Taubenberger JK. Commentary: Influenza virus hemagglutinin cleavage into hemagglutinine1, hemagglutinine 2. No laughing matter. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998; 95: 9713-15.

Ludovic Orlando
Catherine Hänni

Évolution moléculaire et ADN fossile, Cnrs UMR 5534, Centre de génétique moléculaire et cellulaire, Université Claude-Bernard, Lyon 1, 43, bd du 11-Novembre 1918, Bâtiment 741, 69622 Villeurbanne Cedex, France.