

**Apport de l'immunogénétique pour la  
compréhension des interactions  
*Myodes glareolus* / Puumala**

**Nathalie Charbonnel**

**Emmanuel Guivier  
Maxime Galan  
Yannick Chaval  
Audrey Rohfritsch  
Jean-François Cosson**

**CBGP**

Centre de Biologie pour la Gestion des Populations



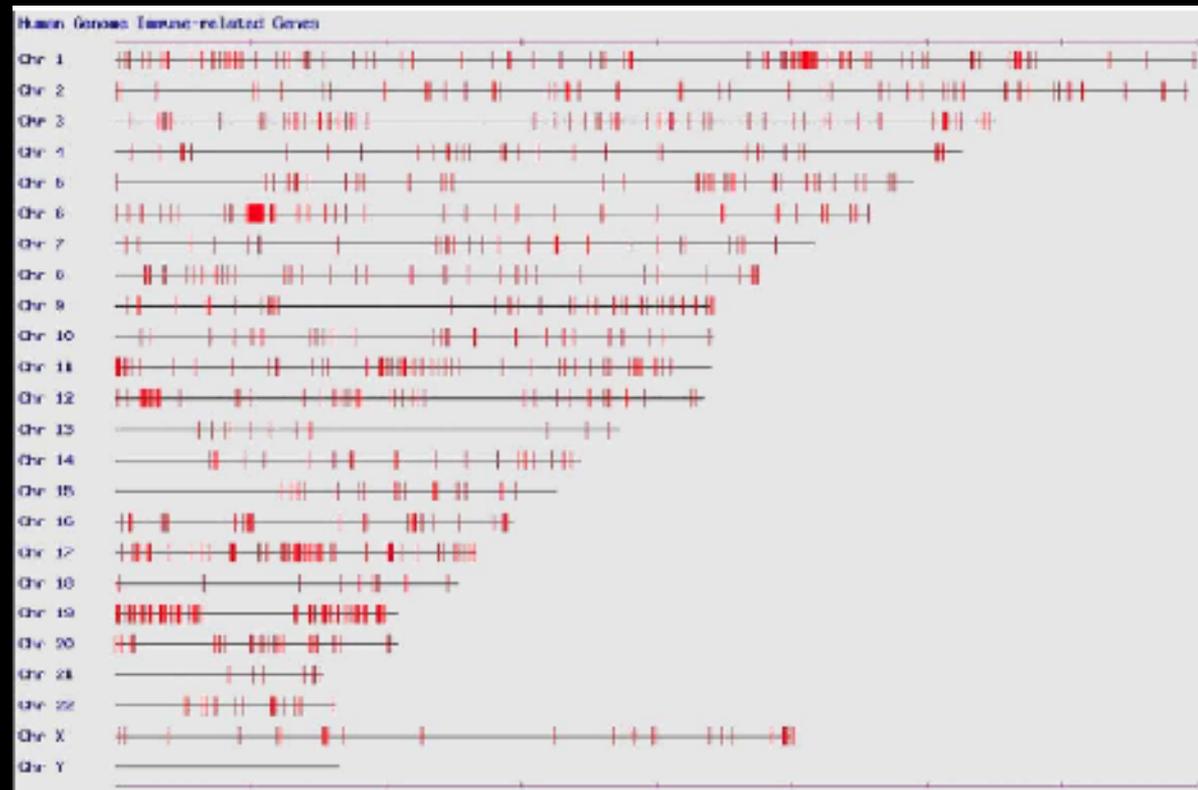
## Introduction Immunogénétique

L'immunogénétique est une discipline qui cherche à identifier les gènes impliqués dans la sensibilité aux maladies, qu'elles soient infectieuses ou autoimmunes

Chez l'homme, 1562 gènes liés aux maladies ont été annotés

7 % du génome

Distribution :  
Aléatoire,  
Variation de densité  
le long des  
chromosomes



# Introduction Immunogénétique

Pour l'Homme et les animaux d'importance vétérinaire, des mutations associées à des phénotypes particuliers (pathologies, sensibilité...) sont identifiées depuis 1949

Depuis, de nombreuses pathologies associées à des changements de séquences nucléotidiques ont été décrites

Annu. Rev. Immunol. 1998. 16:593-617  
Copyright © 1998 by Annual Reviews. All rights reserved

## THE IMMUNOGENETICS OF HUMAN INFECTIOUS DISEASES

Adrian V. S. Hill

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

## A Genome Wide Association Scan of Bovine Tuberculosis Susceptibility in Holstein-Friesian Dairy Cattle

Emma K. Finlay<sup>1</sup>, Donagh P. Berry<sup>2</sup>, Brian Wickham<sup>3</sup>, Eamonn P. Gormley<sup>4</sup>, Daniel G. Bradley<sup>1,7</sup>

Machado et al. BMC Genomics 2010, 11:283  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/11/283>

BMC  
Genomics

## A Whole-Genome Association Study of Major Determinants for Host Control of HIV-1

Isabelle Jallat<sup>1</sup>, Séverine K. Siligaris<sup>2,3</sup>, Dongsheng Guo<sup>4</sup>, Juan Velasco<sup>5</sup>, Bruno Ludvigsson<sup>6,7</sup>,  
Mika Whittle<sup>1,8</sup>, Kasper B. Bang<sup>9</sup>, Carlos Casadeu<sup>10</sup>, Anthonia Conton<sup>11</sup>, Andrew C. Cookson<sup>12</sup>,  
Alexandre C. Cordeiro<sup>13</sup>, Andrew De Luca<sup>14</sup>, Philippe Estroff<sup>15</sup>, Patrick Forcioli<sup>16</sup>,  
Simon Hill<sup>17</sup>, Javier Martinez-Perez<sup>18</sup>, José M. Moya<sup>19</sup>, René Nijhar<sup>20</sup>, Jean P. Sautou<sup>21</sup>,  
Indira Srinivasan<sup>22</sup>, David Thomson<sup>23</sup>, Johannes U. Sommer<sup>24</sup>, Warren L. Campbell<sup>25</sup>,  
Artem J. Abkhitava<sup>26</sup>, Sandra J. Heynes<sup>27</sup>, Annelie Tatem<sup>28</sup>, David S. Goldstein<sup>29</sup>

RESEARCH ARTICLE

Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (*Bos taurus* × *Bos indicus*)

## Immunogénétique et Zoonoses

- Comment déterminer les espèces potentiellement réservoirs d'un pathogène donné ?

Ex: West Nile  
Gène Oas1

Laboratory mice (susceptible)		Stop codon	Wild mice (resistant)	
C57BL/6	GGGCTTCTGAACCGT		<i>Mus m musculus</i>	GGGCTTCCGAACCGTC
C3H/HeJ	GGGCTTCTGAACCGT		MAI/Pas	GGGCTTCCGAACCGTC
129/Sv	GGGCTTCTGAACCGT		PWK/Pas	GGGCTTCCGAACCGTC
DBA/2J	GGGCTTCTGAACCGT		<i>Mus m domesticus</i>	GGGCTTCCGAACCGTC
DDK/Pas	GGGCTTCTGAACCGT		WMP/Pas	GGGCTTCCGAACCGTC
			<i>Mus spretus</i>	
			SEG/Pas	GGGCTTCCGAACCGTC

- Comment identifier, au sein d'une espèce, des individus résistants, sensibles, ou super-transmetteurs d'un pathogène donné?

Ex: Peste  
IL-6, IL10, Tnf-a

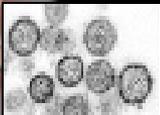
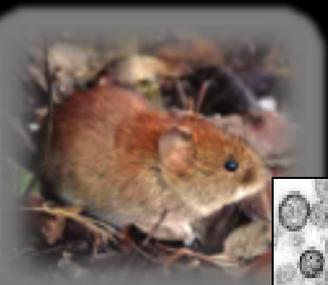
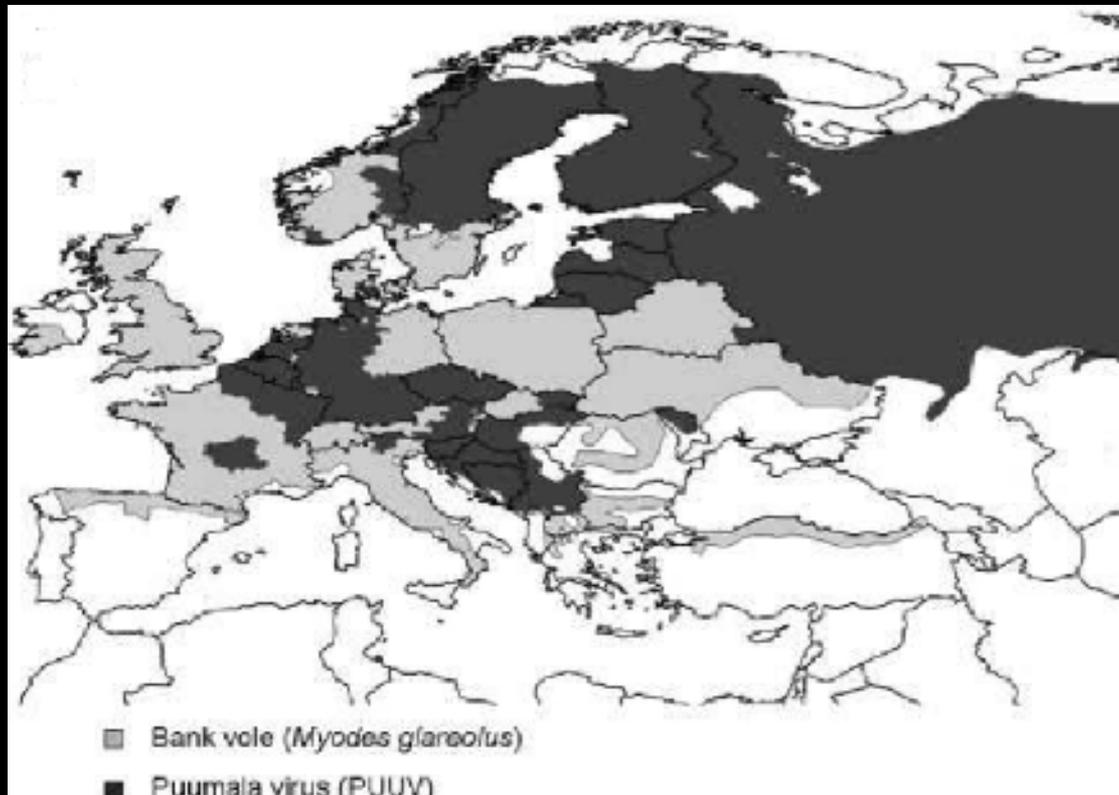


## Biologie évolutive, immunogénétique et Zoonoses

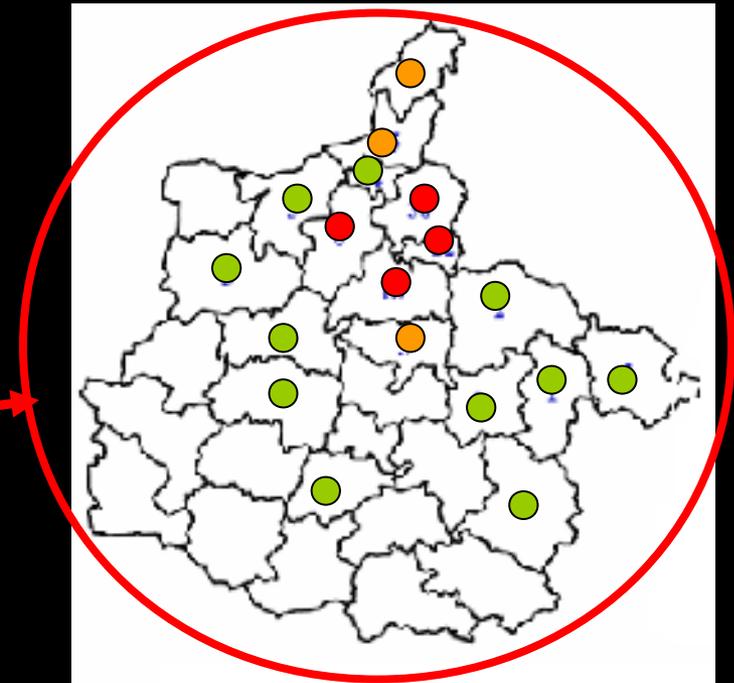
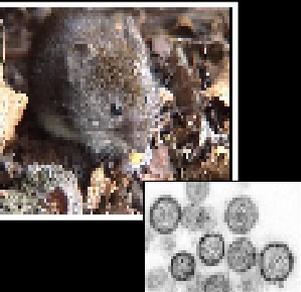
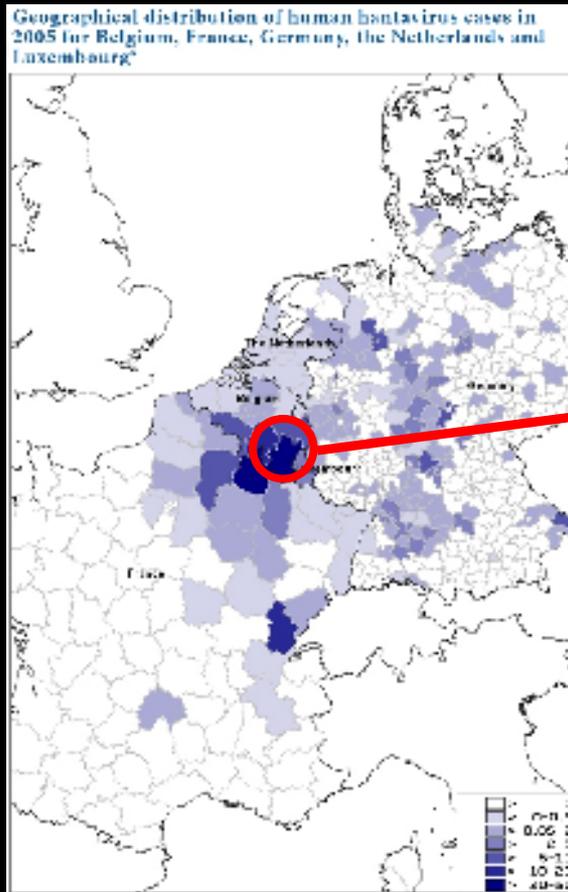
- Décrire la variabilité des gènes impliqués dans l'immunité - entre individus, populations et espèces dans leur environnement naturel
- Décrire l'impact de variants immunogénétiques sur la valeur sélective des hôtes, étudier les relations phénotypes / génotypes
- Analyser l'impact de cette variabilité immunogénétique sur les processus épidémiologiques (transmission, persistance, émergence de pathogènes)

## Problématique

La variabilité des gènes de l'immunité dans les populations de campagnols roussâtres est elle corrélée à la distribution géographique de l'hantavirus Puumala (PUUV) ?



## Cas particulier de la distribution de PUUV dans les Ardennes



Cas humains de néphropathie endémique dans les Ardennes françaises (2004-2005, INVS)

## Démarche scientifique

1. Définir les gènes codant pour des protéines impliquées dans l'interaction PUUV / *M. glareolus*
2. Rechercher des signatures de sélection directionnelle sur ces gènes qui reflèteraient la co-adaptation de *M. glareolus* à PUUV
3. Rechercher les relations entre la variabilité génétique sur ces gènes (séquence et/ou expression) et la probabilité d'être infecté ou la charge virale en PUUV
4. Déterminer les processus microévolutifs influençant la distribution spatio-temporelle de cette variabilité génétique et potentiellement l'épidémiologie de PUUV

Chez l'Homme :  
Plusieurs facteurs immunogénétiques affectent la sévérité de l'infection par PUUV

Scandinavian Journal of Immunology

Volume 47 Issue 1 Page 277-279, March 1998

Association of HLA B27 with Benign Clinical Course of Nephropathia Epidemica Caused by Puumala Hantavirus

- Mustonen, Perttunen, Karvonen, Pihlilä, Vapalahti, Pasternack & Vaheri
- <sup>1</sup>Medical School, University of Tampere and Tampere University Hospital, Tampere
- <sup>2</sup>Tissue Typing Laboratory, Finnish Red Cross Blood Transfusion Service, Helsinki
- <sup>3</sup>Department of Virology, Hatanan Institute, University of Helsinki, Helsinki, Finland

VIRAL IMMUNOLOGY  
Volume 19, Number 3, 2006  
© Mary Ann Liebert, Inc.  
Pp. 555-564

Brief Report

Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Genetic Predisposing Factors Can Influence Clinical Severity in Nephropathia Epidemica

PIRT MAES,<sup>1</sup> JAN CLEMENT,<sup>1</sup> PAUL H.P. GROENEVELD,<sup>2</sup> PAUL COLSON,<sup>2</sup> TOM W.J. HUIZINGA,<sup>2</sup> and MARC VAN RANST<sup>1</sup>



Hantaan virus induces toll-like receptor 4 expression, leading to enhanced production of beta interferon, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha

Hong Jiang<sup>a,1</sup>, Ping-Zhong Wang<sup>a,1</sup>, Ye Zhang<sup>a</sup>, Zhe Xu<sup>a</sup>, Li Sun<sup>a</sup>, Li-Mei Wang<sup>b</sup>, Chang-Xing Huang<sup>a</sup>, Jian-Qi Lian<sup>a</sup>, Zhan-Sheng Jia<sup>a</sup>, Zhi-Dong Li<sup>b</sup>, Xue-Fan Bai<sup>a,\*</sup>

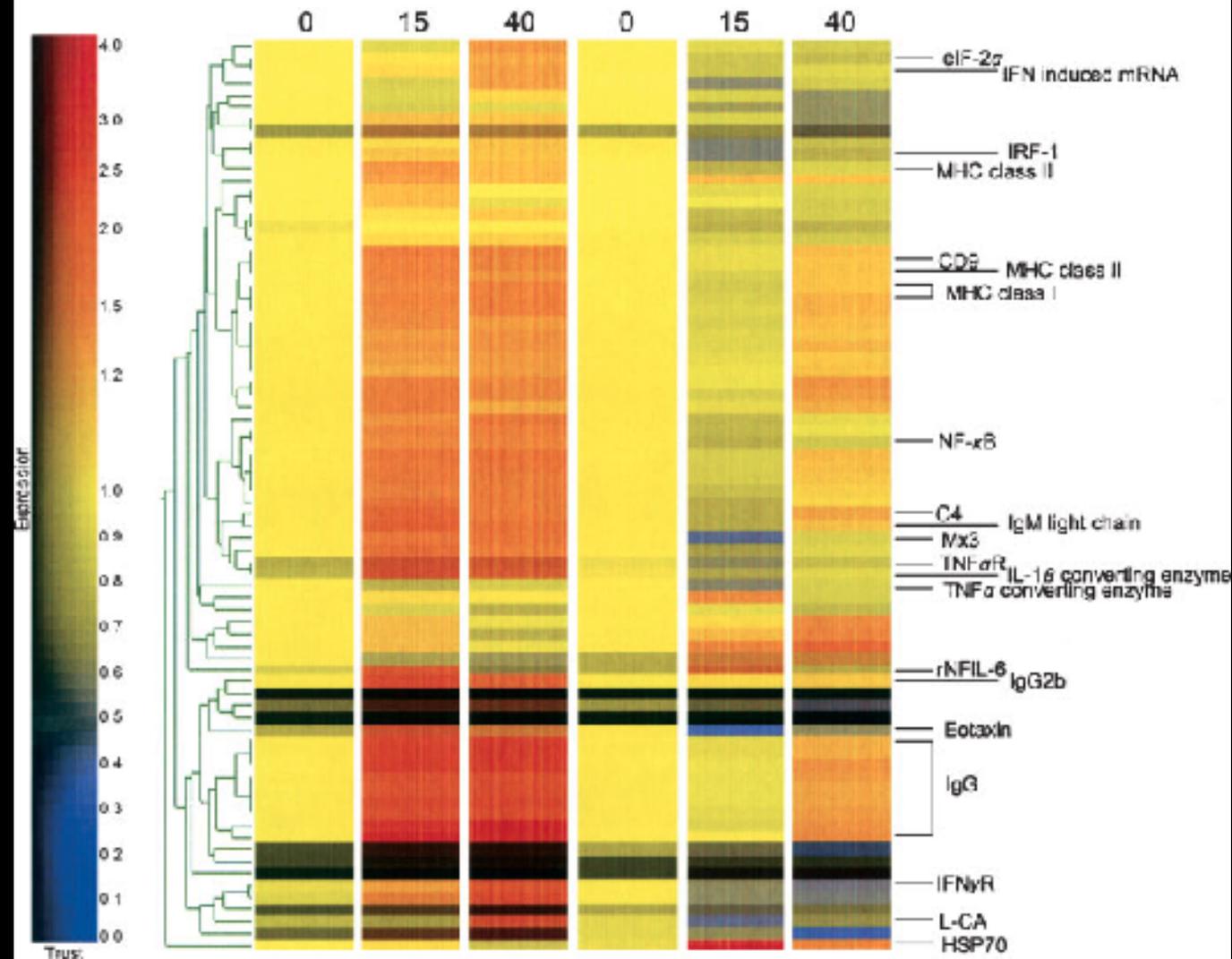
# Résultats

## 1-Gènes candidats

### Chez les rongeurs

Females

Males



*R. norvegicus*

192 gènes  
différentiellement  
exprimés entre  
mâles (plus  
sensibles, plus  
fortes charges  
virales) et femelles

# Gènes candidats choisis

CMH, Drb 

TLR4, TLR7 

Intégrine β3 

Tnf-α 

Mx2 

Gene	Fonction	Référence Associations	Polymorphisme attendu chez les rongeurs	
RECEPTEURS	CMH (ex. DRB, DQA)	Présentation de peptides aux lymphocytes (Starrbach & Revy 1994; Mustonen et al. 1998)	Forte variation (Gory de Bellacq et al. 2008)	
	Toll-Like Récepteurs (TLR 3, 4, 7, 9)	Reconnaissance de motifs moléculaires associés aux pathogènes	revue dans (Schroder & Schumann 2003; Jiang et al. 2008; Hardke et al. 2010)	Faible variation (Roach et al. 2005)
	Intégrines (ITGB2)	Récepteurs membranaires impliqués dans l'adhésion des cellules	(Raymond et al. 2005; Liu et al. 2009)	Faible variation (Hughes 2001)
CYTOKINES	Facteur de nécrose tumorale (TNF-α)	Cytokine impliquée dans les voies pro-inflammatoires	(Kauerys et al. 1998)	Faible variation (Dacna et al. 2007)
	Interféron (IFN-β, IFN-γ)	Cytokines inhibitrices de la replication virale	(Kraus et al. 2004)	Faible variation (Hughes 2005)
	Interleukines (IL6, IL1)	Cytokines jouant un rôle prédominant dans l'inflammation et sa régulation	(Makela et al. 2001; Oksanen et al. 2010)	Faible variation (Turner et al. 2012)
AUTRES	Myxovirus resistance protéines (MxA)	Protéines antivirales synthétisées en réponse à l'interféron	(Kauerys et al. 1996)	Inconnu
	Daxx	Protéine impliquée dans l'apoptose par la voie Fas(Li et al. 2002; Klein et al. 2004)(Klein et al., 2004; Li et al., 2002)		Inconnu
	Heat Shock protéines: Hsp70, Hsp90	Protéines chaperonnes	(Klein et al. 2004)	Faible variation (Favatier et al. 1997)
	RIG1 (UDXS8)	Régulateur de croissance liée aux rétrovires	(Aliff et al. 2006)	Inconnu
	Daf CD55	Facteur accélérateur de la dégradation	(Kranikramer & Zeier 2003)	Inconnu
	Gata3	Facteur de transcription	(Litraty et al. 2012)	Inconnu
	VEGF	Facteur de croissance	(Ma et al. 2012)	Inconnu

# Résultats

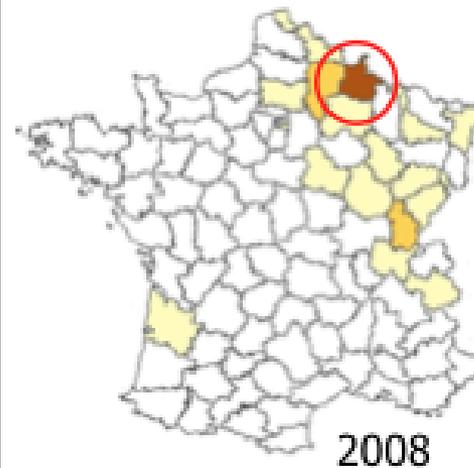
## 2- Signatures de sélection

Dix localités échantillonnées pour *M. glareolus* et PUUV,

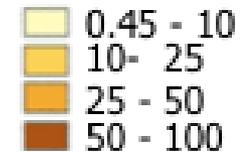
Transect Nord Sud

Forêts ●  
Haies ●

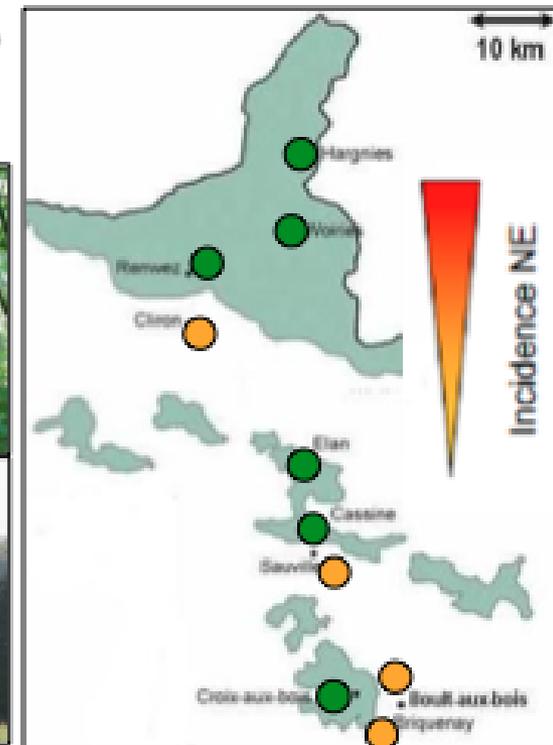
Approches de génétique des populations



Incidence (/1M)



(données INVS, 2008)



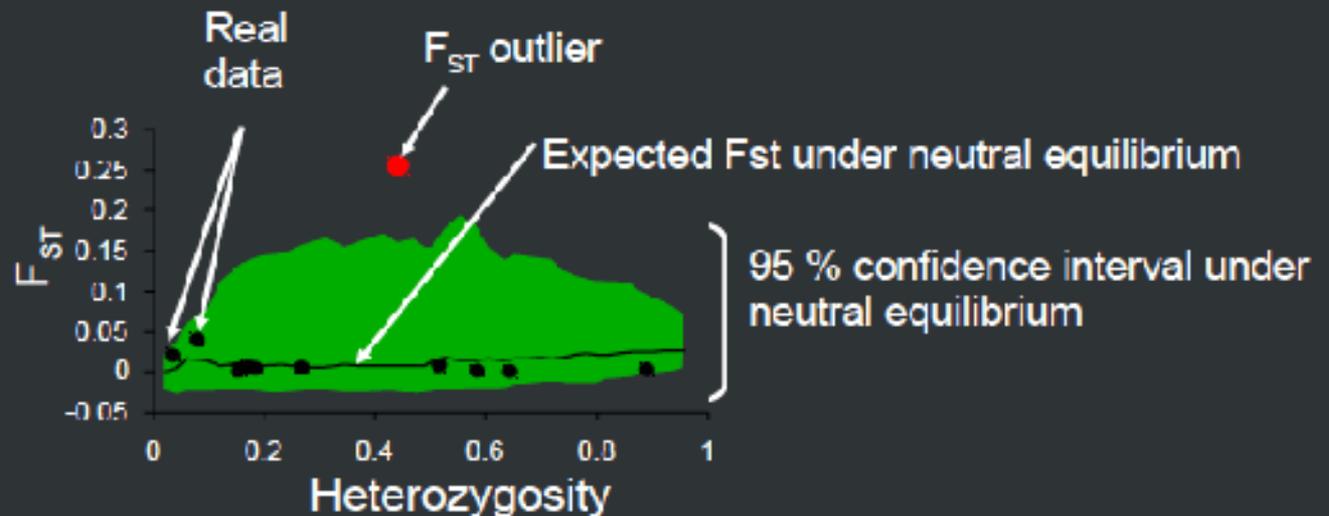
## Résultats

### 2- Signatures de sélection

Génotypage:

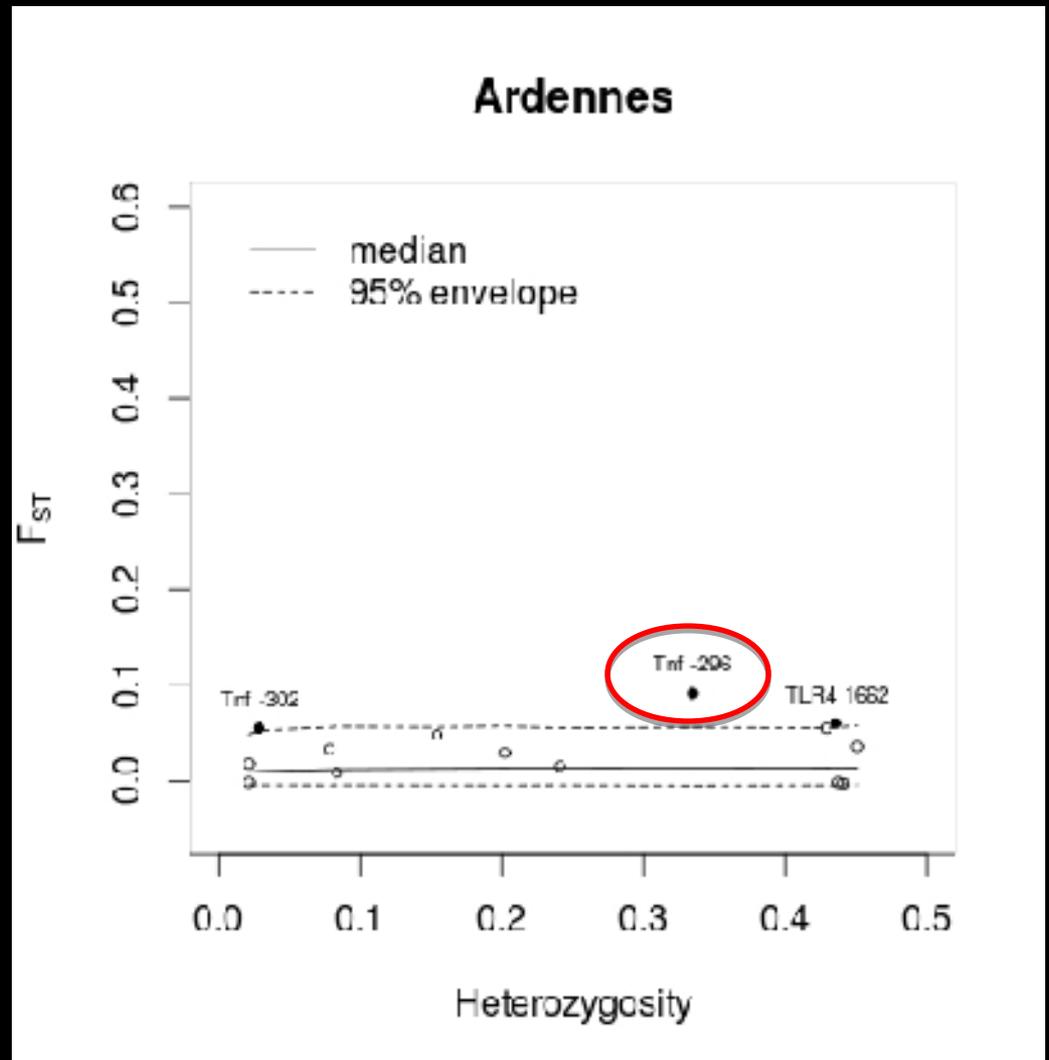
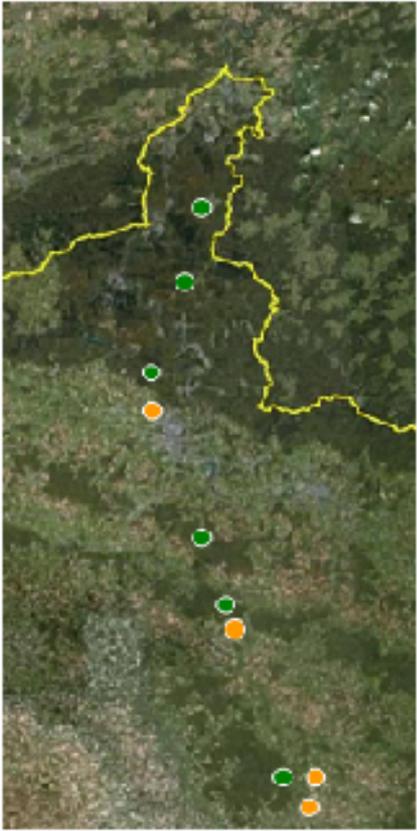
- 16 marqueurs microsatellites (prédiction neutre)
- Gènes candidats
  - CMH, Drb (pyroséquençage, 16 haplotypes cluster 1)
  - Tnf- $\alpha$ , Tlrs, Mx2 (24 SNPs)

Based on simulated distributions of genetic differentiation estimators ( $F_{ST}$ ) between population pairs



## Résultats

### 2- Signatures de sélection

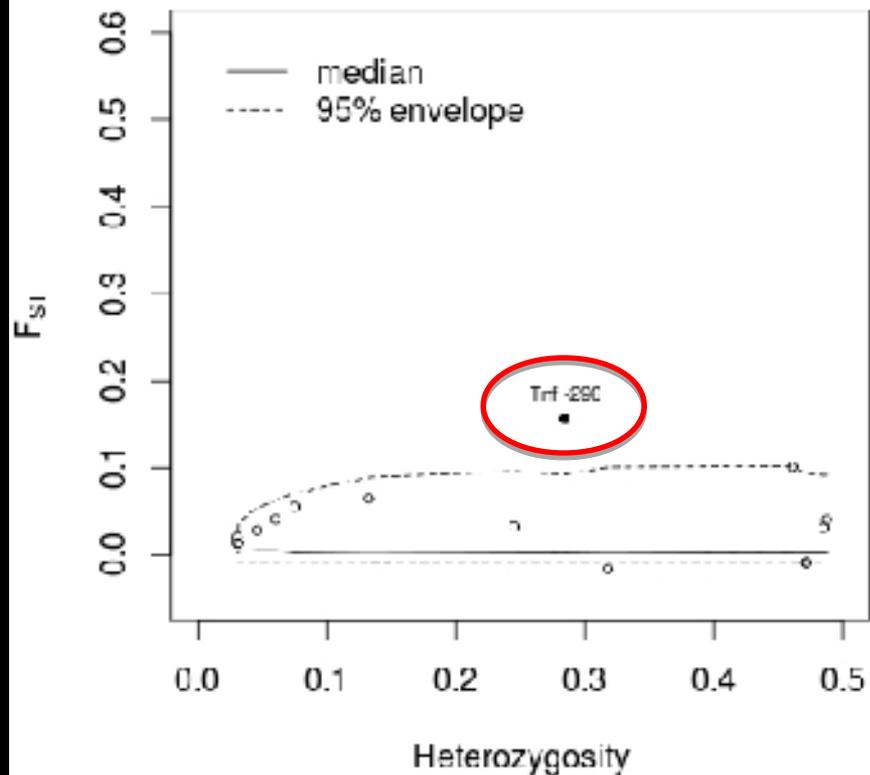


Un site détecté 'outlier' à l'échelle des Ardennes : plus forte différenciation qu'attendue sous l'hypothèse neutre

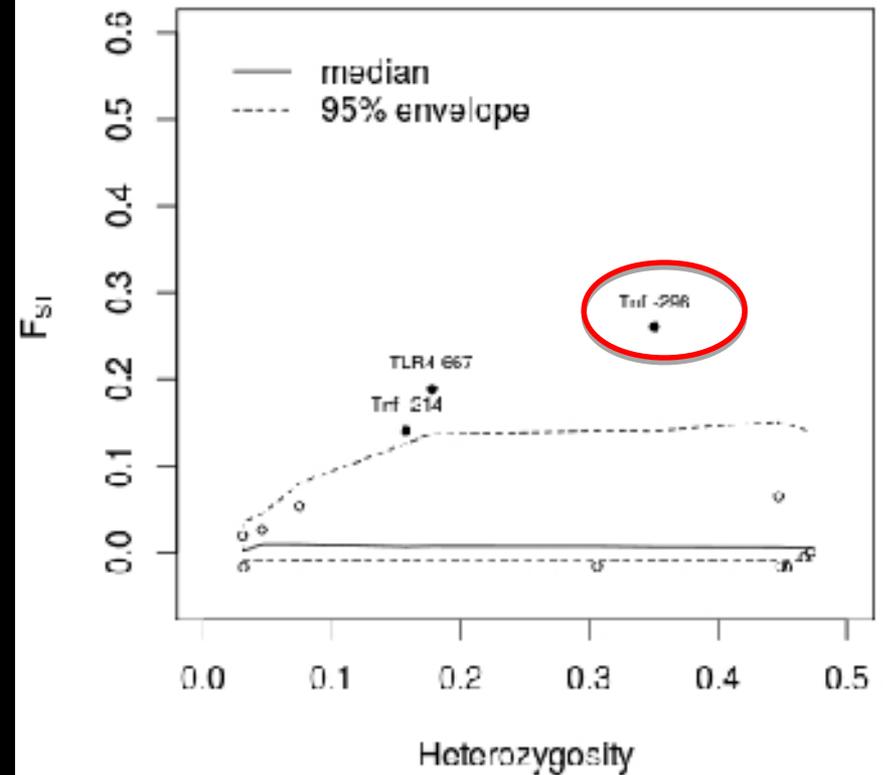
## Résultats

### 2- Signatures de sélection

#### Croix - Hargnies



#### Croix - Woiries

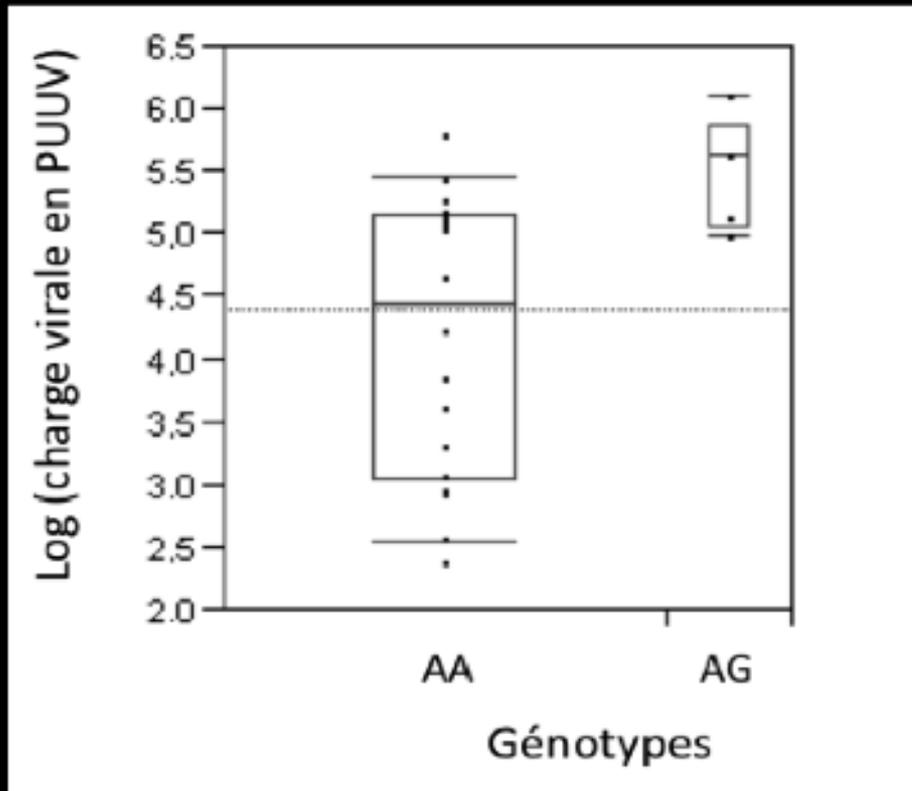


Confirmation : Un site évoluant sous sélection divergente entre Nord (fortes prévalences en PUUV) et Sud (faibles prévalences) des Ardennes

## Résultats

### 3- Associations phénotypes génotypes

#### Association génotype promoteur du Tnf- $\alpha$ et infection par PUUV



Les individus présentant le génotype AG ont des charges virales en PUUV plus fortes que les AA ( $p=0,03$ ).

La mutation G est très rare dans les populations sud des Ardennes mais atteint 30 % dans le nord.

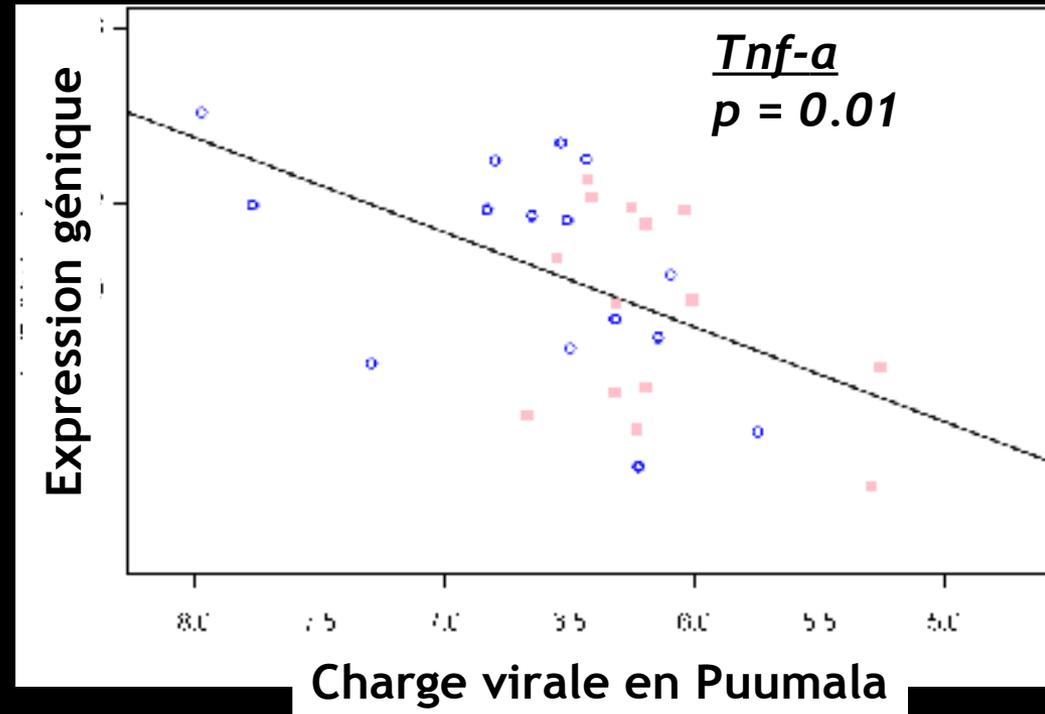
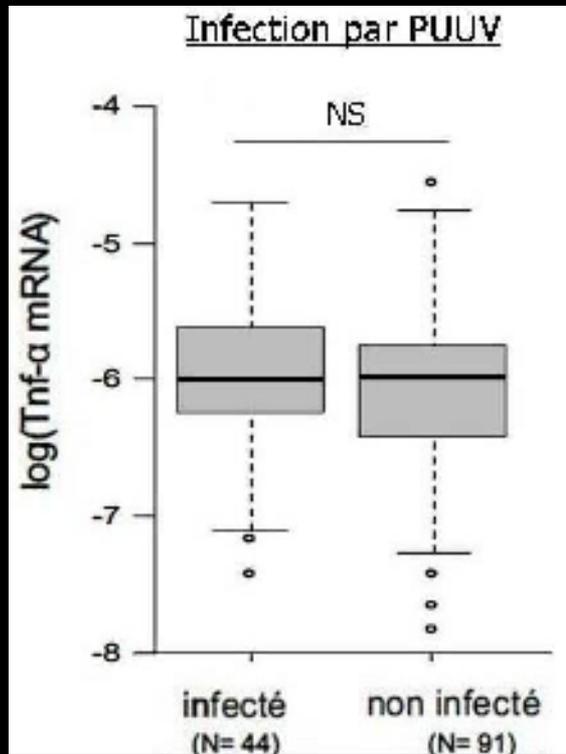
Sélection liée au coût / bénéfique de cette mutation ?

## Résultats

### 3- Associations phénotypes génotypes

Expression du gène *Tnf- $\alpha$*  chez les campagnols infectés

Organe cible = rate, peu de réplication de PUUV = expression basale de *Tnf- $\alpha$* , non induite par PUUV



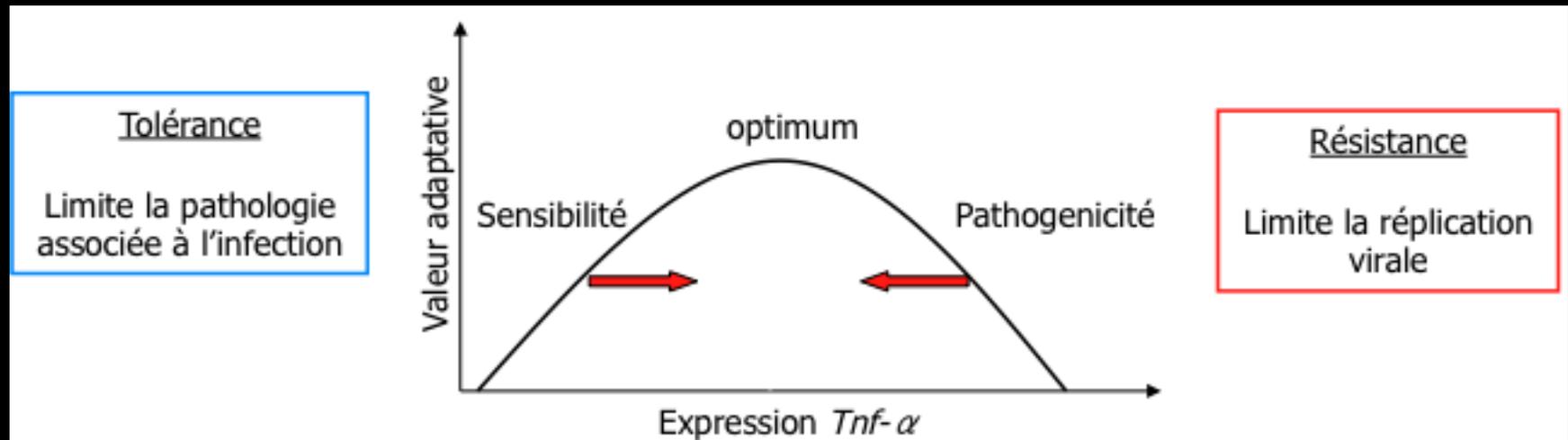
Les individus exprimant fortement *Tnf- $\alpha$*  ont des charges virales en PUUV plus faibles

Le promoteur du gène  $Tnf-\alpha$  évolue sous l'effet de la sélection dans les Ardennes françaises

La sélection est différente dans le nord (forte prévalence en PUUV) et le sud (faible prévalence en PUUV)

Hypothèse coût - bénéfice:

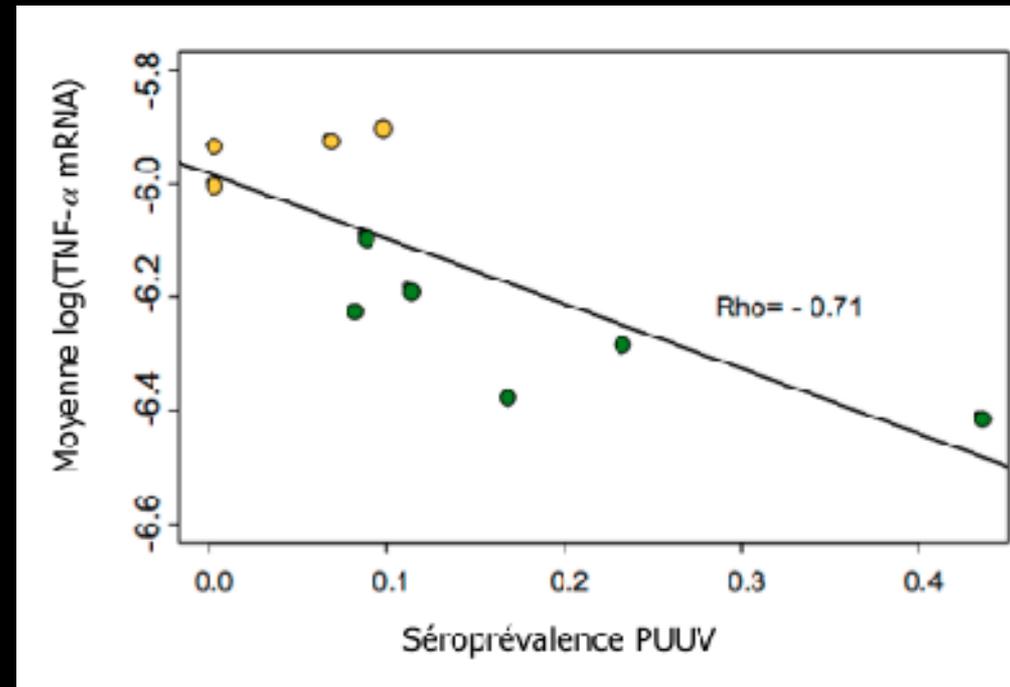
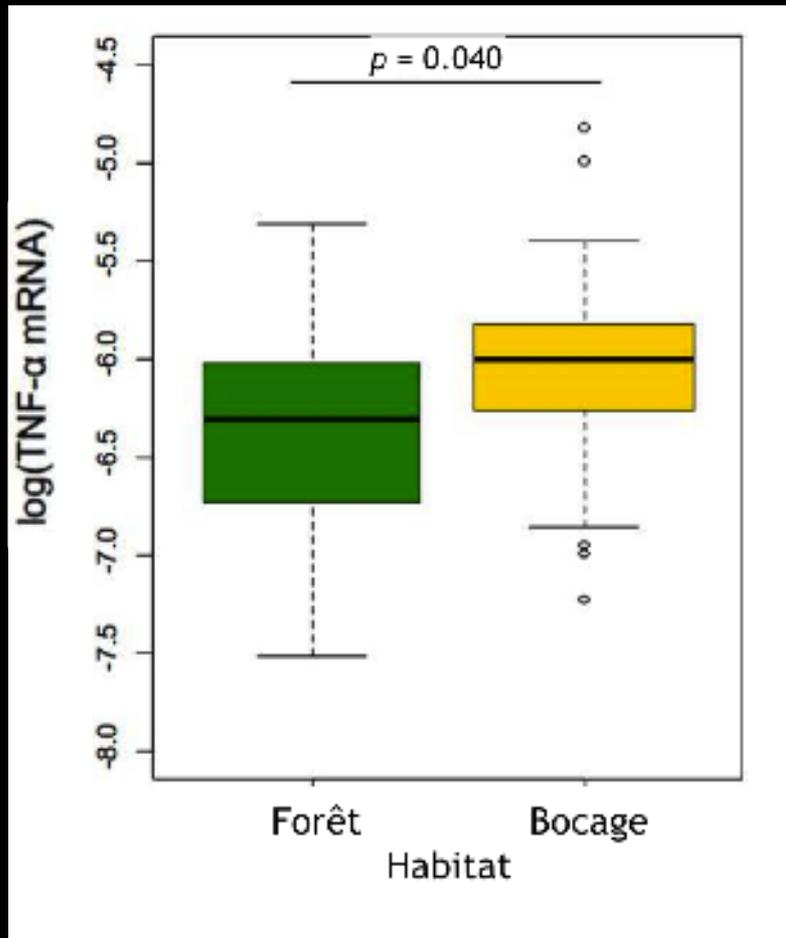
$Tnf-\alpha$  a des propriétés antivirales et inflammatoires  
Mais une forte expression induit des immunopathologies



## Résultats

### 4- Processus microévolutifs

## Hétérogénéité du paysage et sélection

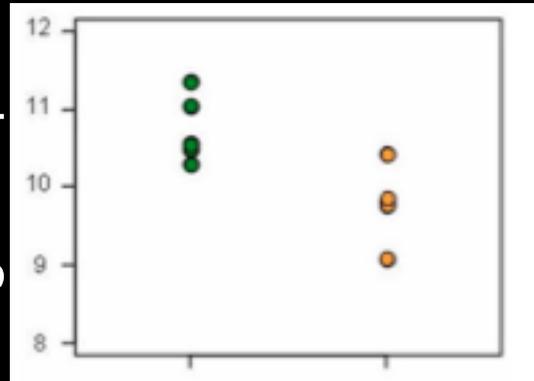


Les niveaux d'expression de Tnf- $\alpha$  sont plus faibles dans les populations de forte prévalence à PUUV, et dans les forêts comparativement aux haies

Résultats  
4- Processus  
microévolutifs

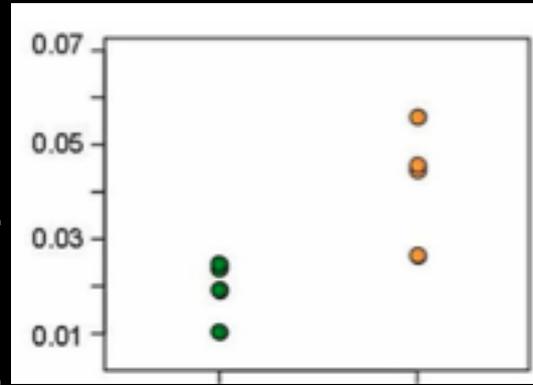
Processus évolutifs neutres et fonctionnement en métapopulation

Diversité  
génétique



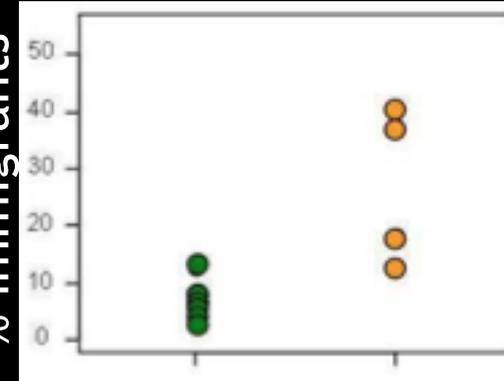
Forêts Haies

Différenciation  
génétique locale

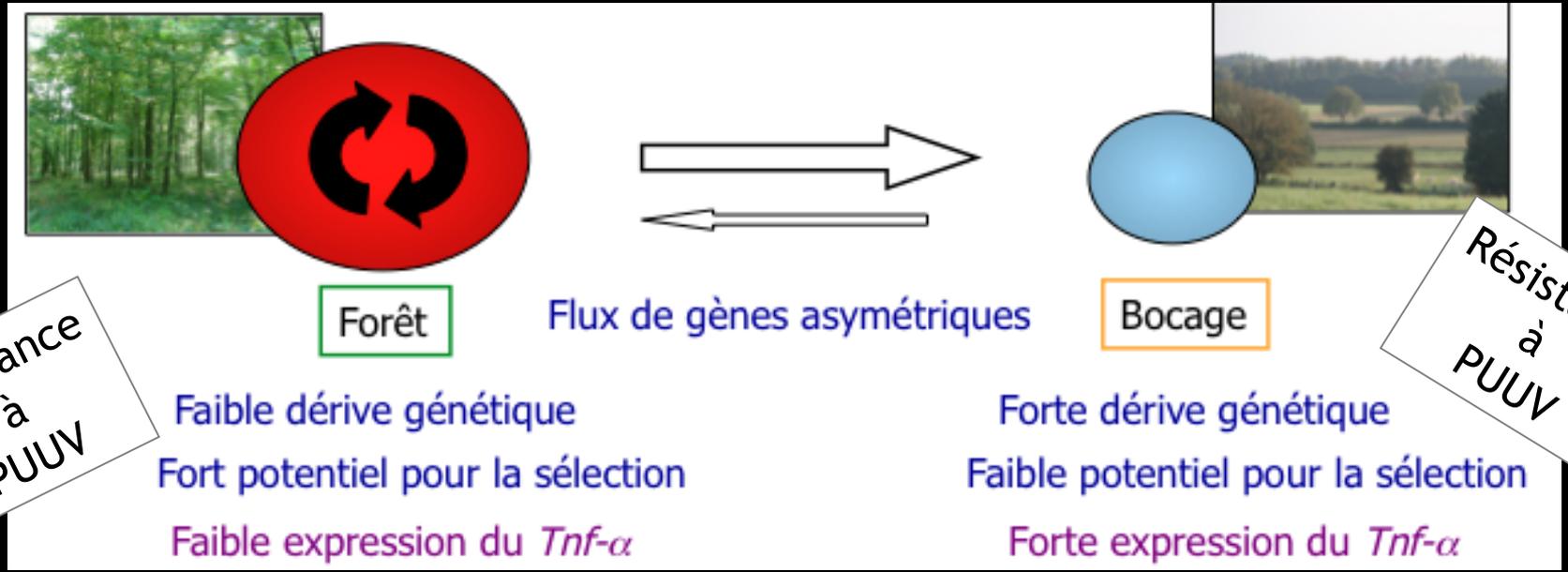


Forêts Haies

% immigrants



Forêts Haies



Cette approche gène candidat a permis de montrer des différences d'expression et de séquence du gène TNF- $\alpha$  et de son promoteur entre des populations de campagnols roussâtres plus ou moins exposées à PUUV

La sélection est un des processus évolutifs qui semble façonner la distribution géographique de cette variabilité génétique

Cette variabilité pourrait refléter un compromis entre tolérance et résistance aux hantavirus, dont l'équilibre pourrait varier directement en fonction de la pression exercée par PUUV, ou indirectement en fonction d'autres caractéristiques environnementales

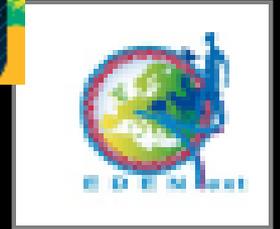
Ces résultats nécessitent désormais une validation expérimentale

Cette approche gènes candidats ne donne qu'une vue restreinte du déterminisme génétique des interactions *M. glareolus* / PUUV.



C'est pourquoi nous développons une approche génomique, en aveugle, qui a pour but de déterminer sans a priori l'architecture génétique de cette adaptation du campagnol roussâtre à PUUV

# merciements



## **Financeurs**

Projets européens : EDEN & EDENext  
INRA-EFPA

## **Collaborateurs**

**Heikki Henttonen, Tarja Sironen et Liina Voutilainen**  
**Marie-Lazarine Poulle**