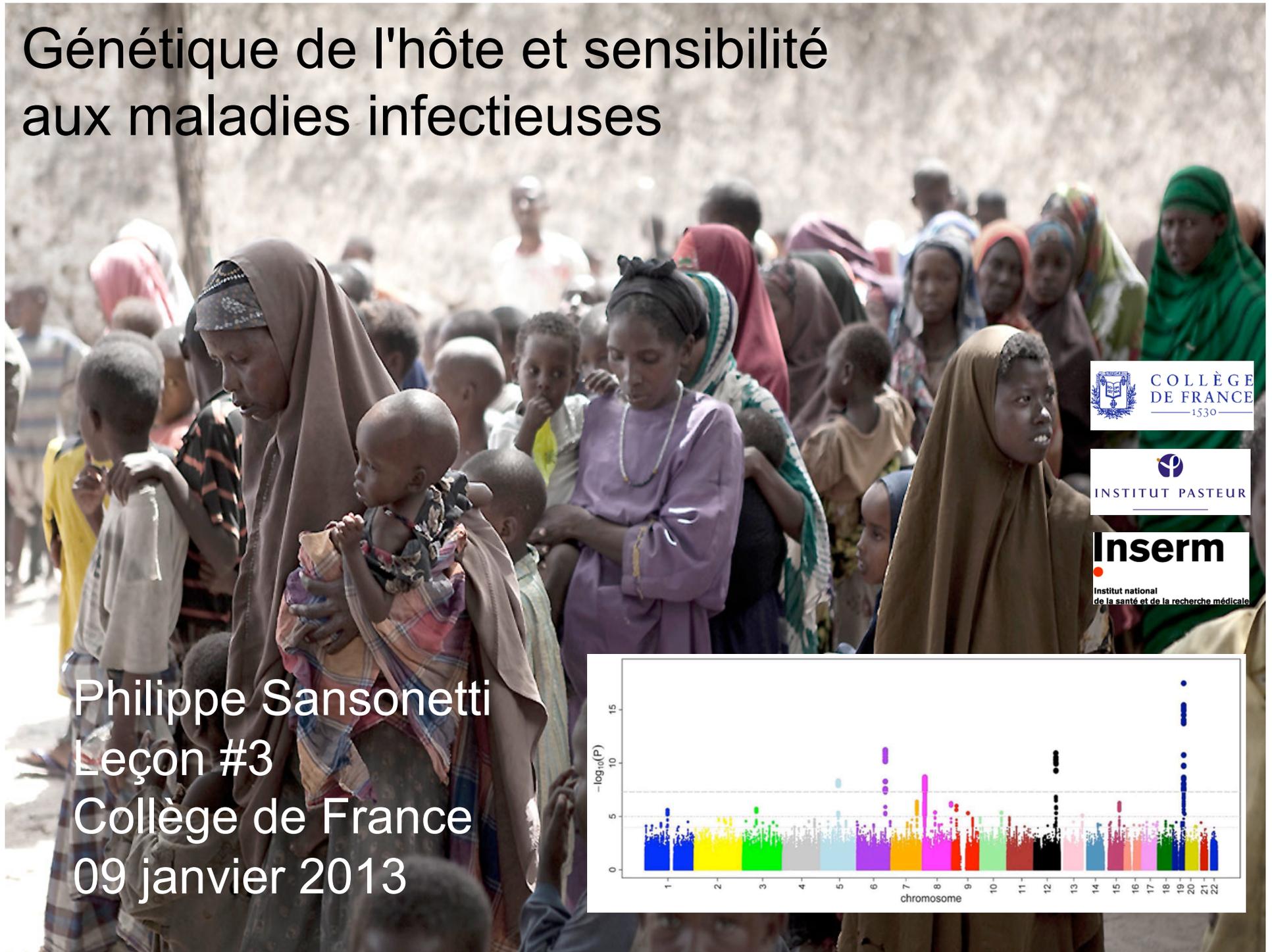
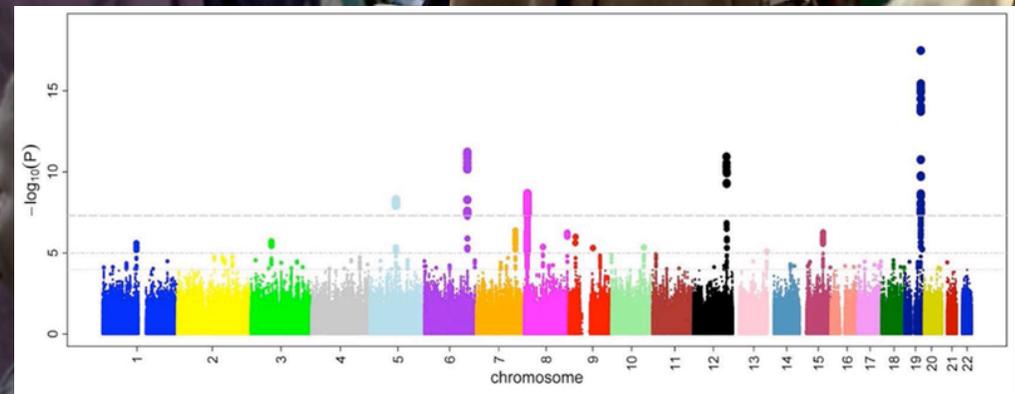
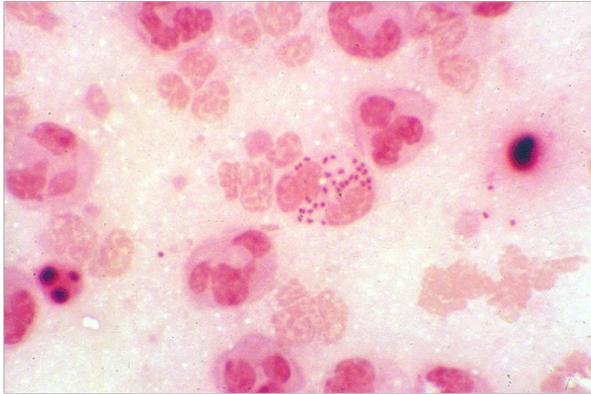


# Génétique de l'hôte et sensibilité aux maladies infectieuses



Philippe Sansonetti  
Leçon #3  
Collège de France  
09 janvier 2013





Purpura fulminans  
méningococcique

*N. meningitidis*



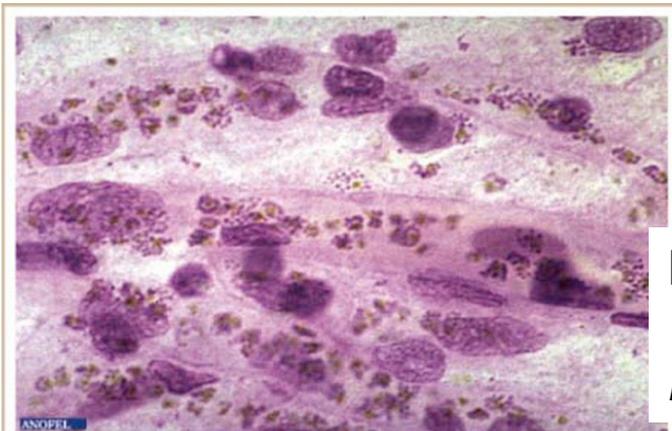
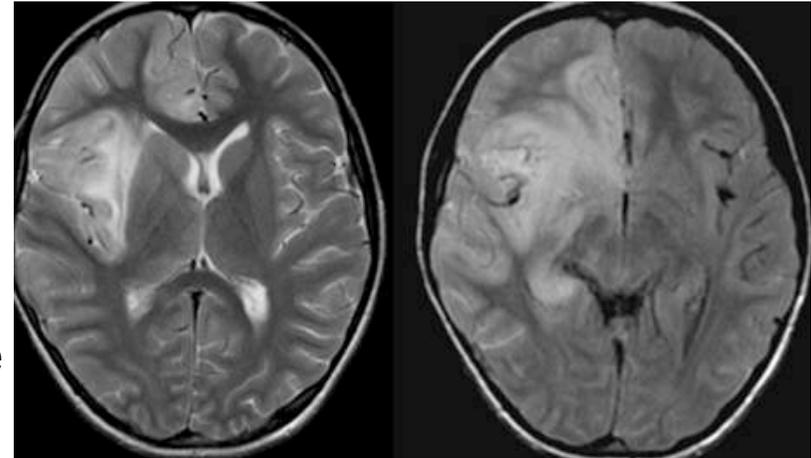
Angine herpétique

HSV1

Herpes labial



Encéphalite  
herpétique



Neuropaludisme

*P. falciparum*



Sur cette coupe on distingue de nombreux schizontes dans les capillaires cérébraux.

Photo J-F Pays, CHU Necker, Paris, Cdrom Anofel-3

## Variabilité individuelle et sensibilité aux agents infectieux

Seule une partie des individus exposés à un agent infectieux développe la maladie et le degré de gravité peut être variable. Charles Nicolle.

Causes ?

Variabilité au sein de l'espèce pathogène

Facteurs environnementaux

**Facteurs génétiques de l'hôte**

La possibilité de facteurs héréditaires a été envisagée très tôt:  
cas agrégés de tuberculose au sein de familles = maladie héréditaire ?

Puis théorie infectieuse des maladies, intérêt centré sur le pathogène, responsabilité de l'hôte négligée.

Louis Pasteur avait su anticiper:

- Rôle du pathogène ET
- Rôle du "terrain"

Premières évidences de facteurs génétiques de l'hôte: observation d'agrégats ethniques / familiaux de cas d'infections rares ou communes, avec parfois de vrais schémas de transmission mandélicienne (Alcaïs A & Abel L. 2004)

# Maladies infectieuses et diversité génétique humaine

Les maladies infectieuses sont une fenêtre sur la diversité génétique humaine à la génération de laquelle elles ont participé par pression sélective (Walsh EC. 2005. Hum Genet).

Les gènes de l'immunité sont les plus nombreux dans le génome humain, soulignant l'avantage sélectif de bénéficier de réponses immunitaires variées à un large spectre de pathogènes (Murphy PM. 1993. Cell; Apanius V et coll. 1997. Crit Rev Immunol).

Les allèles codant les antigènes HLA de classe I responsables de la présentation des antigènes aux lymphocytes T CD8+ et ceux codant les antigènes HLA de classe II responsables de la présentations des antigènes aux lymphocytes T CD4+ représentent les régions les plus diverses du génome humain.

L'hétérozygotie au niveau des allèles HLA corrèle avec une plus grande résistance aux infections, probablement parce qu'elle élargit la gamme de variants de molécules de classe I et II disponibles, donc la capacité du système immunitaire de présenter un plus grand nombre et une plus grande diversité d'antigènes

Augmentation de la sensibilité aux infections dans les populations génétiquement isolées (Black FL et coll. 1995. Exp Clin Immunogenet)

## Déficits Immunitaires Héréditaires: évidences pour une base génétique de la sensibilité / résistance aux infections

La découverte des déficits immunitaires héréditaires (DIH) ou déficits immunitaires primaires (DIP) de transmission mendélienne a été l'un des arguments forts pour le rôle du "terrain" dans l'expression clinique des infections.

Dès le début des années 50, l'hygiène, la vaccination et les premiers antibiotiques avaient fait très brutalement baisser la morbidité / mortalité périnatale et infantile, révélant de rares situations où certains nouveaux-nés / nourrissons étaient anormalement sensibles aux agents infectieux.

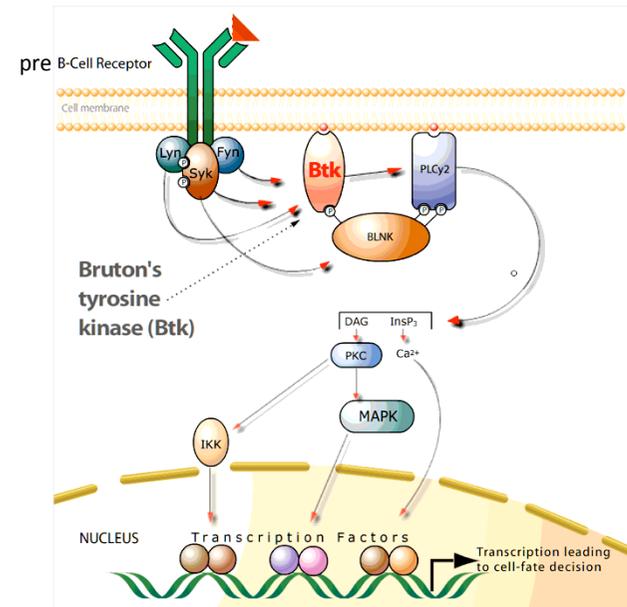
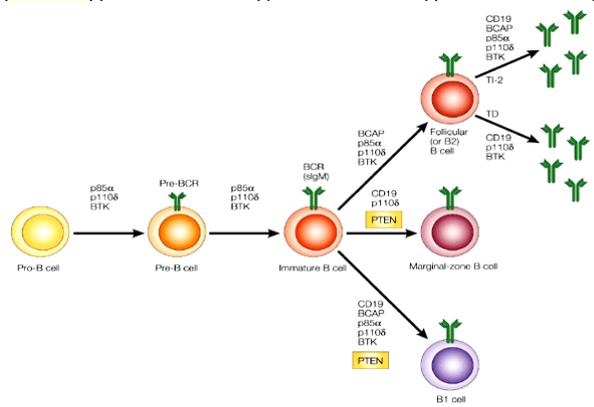
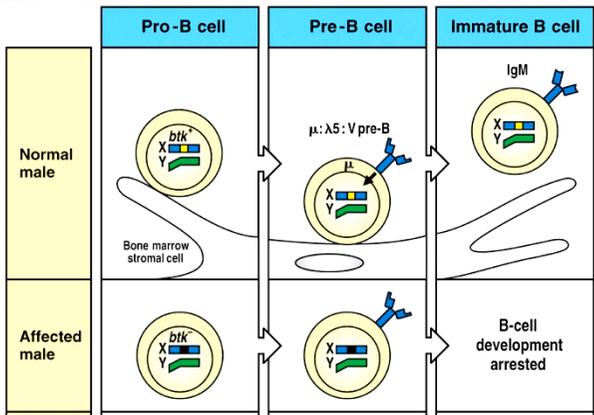
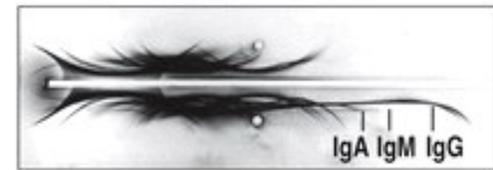
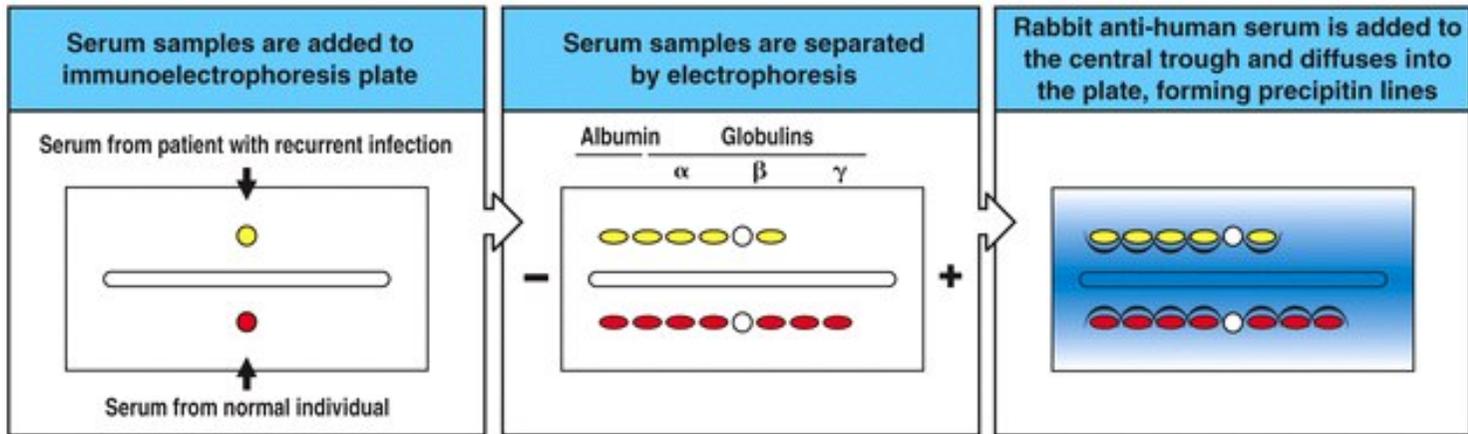
Maladies individuellement rares, mais grande diversité (180 décrites à ce jour), d'où une fréquence non négligeable de 1/5000 naissances (plus si consanguinité élevée)

## Déficits Immunitaires Héréditaires (DIH): évidences pour une base génétique de la sensibilité / résistance aux infections

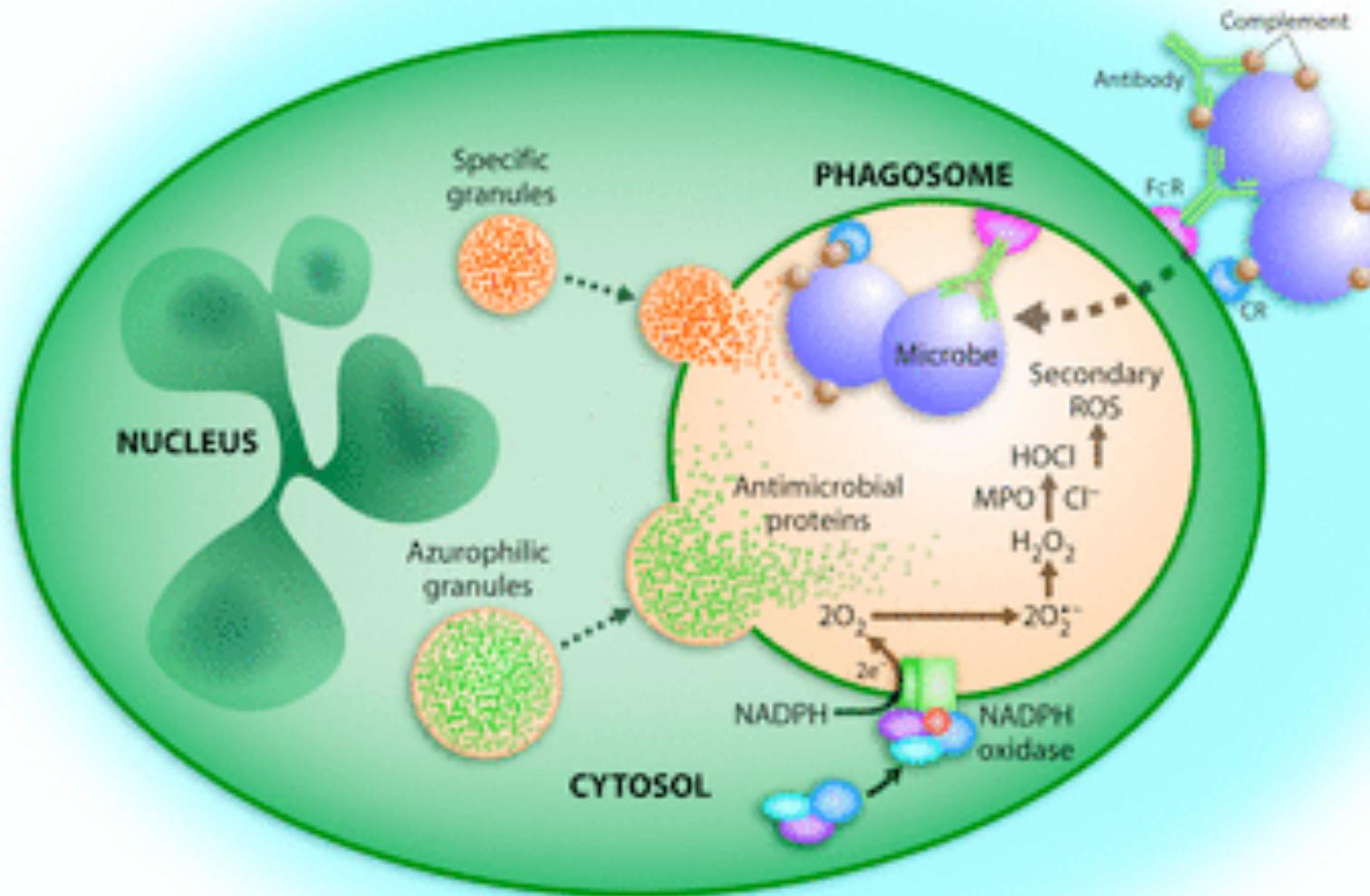
**1952:** description par Ogden Bruton du premier cas de déficit immunitaire, l'agammaglobulinémie liée au sexe (Bruton. 1952. Paediatrics) devant un adolescent présentant des infections systémiques itératives à pyogènes bactériens extracellulaires (18 pneumonies !) illustrant un déficit de l'immunité adaptative humorale et illuminant la compréhension de la fonction anti-infectieuse des immunoglobulines / anticorps. Traitement par fraction II de Cohn (immunoglobulines humaines) = première thérapeutique d'un DIH.

**1957:** description par Berendes, Bridges et Good de la granulomatose septique familiale liée au sexe (Berendes H, Bridges RA, Good RA. 1957. Minn Med) devant de jeunes patients présentant des abcès profonds récidivants à pyogènes bactériens et fongiques. Illustre un déficit caractéristique de l'immunité innée. Mutation entraînant une dysfonction de la NADPH oxydase, l'enzyme clé de la bactéricidie des cellules phagocytaires.

# Agammaglobulinémie de Bruton



# Polynucléaire neutrophile: phagocytose et bactéricidie



## Déficits Immunitaires Héréditaires (DIH): évidences pour une base génétique de la sensibilité / résistance aux infections

**1967:** Di George et Lischner décrivent une série **d'enfants athymiques** souffrant d'infections à pathogènes bactériens à croissance intracellulaire et viraux (Di George AM et coll. 1967. Lancet). Cette DIH fut essentielle dans la compréhension du rôle du thymus dans l'éducation des lymphocytes T. Guérison par greffe de thymus.

**1968:** Hitzig, Barandun et Cottier en Suisse (Hitzig WH, Barandun S, Cottier H. 1968. Ergebn inn Med Kinderheilk) décrivent le complexe le plus fréquent et le plus sévère, **le déficit immunitaire combiné sévère (DICS)**. Immunité humorale et cellulaire sont déficientes, expliquant l'extrême diversité et gravité des cas.

Une partie des DICS est due à une mutation dans le gène codant pour ADA, une enzyme convertissant l'adénosine en inosine. L'accumulation de dérivés phosphorylés de l'adénosine et de la déoxy-adénosine entraîne l'apoptose rapide des précurseurs des cellules B et T dans la moelle et le thymus.

Une forme clinique X-DICS (déficit en cellules T & NK) fut l'objet de la première thérapie génique (Cavazzana-Calvo M et coll. 2000. Science)

Ces DIH et les suivants (180 décrits actuellement) ont permis une dissection non biaisée du système immunitaire humain: ontogénie, fonction, physiopathologie (Casanova JL & Abel L. 2005. J Exp Med)

## Réévaluation du rôle du terrain dans la sensibilité aux infections

### **Etudes chez des jumeaux et chez des enfants adoptés**

#### **Etudes de jumeaux:**

Le taux de concordance de survenue de maladies infectieuses est plus élevé chez les jumeaux homozygotes que dizygotes (Kwiatkowski D. 2000. BMJ)

Evidence pour le rôle de facteurs génétiques de l'hôte dans la sensibilité à:

Tuberculose (Comstock GN. 1978. Ann Rev Resp Dis)

Lèpre (Misch E et coll. 2010. Microb Mol Biol Rev)

Polio (Herndon CN & Jennings RG. 1951. Am J Hum Genet)

Hépatite B (Lin TM et coll. 1989. Anticancer Res)

#### **Mais !**

Contribution relative des facteurs génétiques et environnementaux remise en cause dans la sensibilité à la tuberculose déduite des études de jumeaux (van der Eijk EA et coll. 2007. Am J Resp Crit Care Med)

#### **Enfants adoptés:**

Etude fondatrice, risque de décès causé par une maladie infectieuse augmenté chez les enfants adoptés dont un parent biologique était lui même décédé de maladie infectieuse. Association plus nette que pour le cancer (effet environnemental plus important dans le cancer ?) (Sorensen JTA et coll. 1988. N Engl J Med)

**Données généralement "validées" expérimentalement chez la souris**

## En quête de gènes de sensibilité / résistance aux maladies

La sensibilité aux maladies infectieuses et à de nombreuses autres maladies humaines (diabète, maladies cardiovasculaires) découlent de l'interaction complexe entre des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques.

En général, de nombreux loci génétiques contribuent - chacun modestement - à la sensibilité aux maladies (traits génétiques complexes) et pourtant l'essentiel des efforts leur a été dédié (Burgner D, Jamieson SE, Blackwell JM. 2006. Lancet Infect Dis)

**Découverte d'un locus dominant = Graal !**

# Approches pour l'identification de gènes de sensibilité

## ETUDES INITIALES:

### **A - ANALYSE DE LIAISON (Lod Score, Analyse Paramétrique, Morton, 1955)**

log<sub>10</sub> du rapport entre la vraisemblance de liaison entre le marqueur (position connue) et le gène de la maladie (position inconnue) pour une distance génétique donnée représentée par le taux de recombinaison  $q$  ( $0 < \theta < 0,5$ ) et l'hypothèse d'indépendance génétique entre ce marqueur et le gène recherché (hypothèse nulle:  $\theta = 0,5$ ).

$Z(\theta) = \log_{10}(L(\theta)/L(0,5))$ . Plus le lod-score est élevé, plus la probabilité de liaison entre gène et marqueur est grande et inversement.

Lod score  $> +3$ : hypothèse d'indépendance rejetée,  $P = 10^{-4}$ . Il y a liaison génétique

Lod score  $< -2$ : hypothèse de liaison rejetée (pas de "linkage")

Analyse de liaisons à l'échelle du génome puis recherche de gènes candidats

- Petit nombre de loci fortement associés après replication de l'étude
- Succès (plutôt) dans l'étude des maladies monogéniques
- Secondairement élargi aux maladies infectieuses "communes"
- Importance d'identifier des paires de sujet apparentés/germains ("sibling pairs"), analyses non paramétriques, mais imitant par la difficulté de recruter des individus apparentés ayant présenté la maladie, sinon, ces études manquent de "puissance" (Burgner et coll. 2006. Lancet Infect Dis)

Consanguinité aide !!!

# Approches pour l'identification de gènes de sensibilité

## ETUDES INITIALES

### B – GENES CANDIDATS

Génotypage des polymorphismes (single nucleotide polymorphisme = SNP) dans des gènes candidats plausibles dans des cas non liés, par rapport à des contrôles.

Le degré de replication entre les études de gènes candidats est souvent faible

- Validité du choix des gènes candidats !!!
- Petite taille des échantillons
- Stratification inadéquate de la population
- Différences méthodologiques dans les analyses statistiques
- Différences dans les modalités/critères d'analyse phénotypique (microbio/immuno)

Malgré ces limitations, ces études ont identifié certaines associations robustes:

- VIH
  - Pronostic des infections pneumococciques/méningococciques (complément)
- (Brouwer MC et coll. 2009. Lancet Infect Dis)

"Stratification": présence au sein d'une population de plusieurs sous-populations différant dans leurs caractéristiques génétiques

## Les débuts: "Big 8"

Le premier gène de sensibilité / résistance à une maladie infectieuse spécifique fut identifié en 1954: **drépanocytose et résistance au paludisme.**

Le paludisme a probablement représenté l'une des plus fortes pressions sélectives sur lesquelles s'est faite l'évolution de l'espèce humaine.

1 - Protection conférée par la présence hétérozygote du gène de la drépanocytose (HbS) à l'infection humaine par *Plasmodium falciparum* (Allison AC. 1954. Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. Br Med J)

2 – L'absence d'expression de l'antigène Duffy à la surface des érythrocytes protège contre l'infection par *Plasmodium vivax* (Miller LH & coll. 1976. N Engl J Med)

3 - Très forte protection contre les formes sévères de paludisme (paludisme cérébral) chez les Mélanésien ayant une délétion spécifique dans le gène d'un transporteur d'anions de la membrane érythrocytaire = Ovalocytose (Allen SJ et coll. 1999. Am J Trop Med Hyg; Genton B et coll. 1995. Nature)

In view of the regional differences in sensitivity found in the earlier experiments one would expect that the units responding, for example, to acetone would be found more often in the front part of the bulb and those responding to heavy oil at the back. There is undoubtedly a segregation of this kind, although, in the middle region, unit discharges have been obtained with substances from all the groups. It is true that most of these units can be made to discharge to a wide range of stimuli if the concentration is raised, but there will always be outlying parts of the olfactory organ where it has the threshold value needed to bring out the differential effects.

#### Assessment of the Different Factors

A great deal remains to be done before we can assess the different factors concerned in olfactory discrimination, but the important point is that neighbouring groups of olfactory receptors have marked differences in their sensitivity to different smells. I have no doubt, therefore, that olfactory discrimination is not due solely to the complex structure of the organ—that is, to the deposition of the material in different patterns on its surface owing to differences in the rate of air flow, size of molecules, etc.

In fact the olfactory epithelium proves to be a large collection of nerve cells which look alike, apart from the position of the nucleus, but differ so much in their properties that some will be excited by a trace of acetone vapour and others by a trace of benzene. This, of course, is no more than would be expected by anyone who contemplates the remarkable discriminative power of the nose. But it is an important point to have established, and I do not regret the time I have spent in trying to develop a different hypothesis.

It may be that the point is important only in connexion with the working of the olfactory organ; the receptors there may be the only cells which have developed such a high degree of chemical discrimination. But nerve cells in other places may show traces of the same discriminative power. Let us suppose, then, that there are sheets of such cells in the central nervous system with dendrites ending freely amongst the dendrites of afferent neurones, so that material liberated from these might come into contact with the dendrites from more than one cell. It cannot be expected that the terminations of the afferent neurones

Since its nerve cells are found to have such selective properties we must be ready to look for similar properties in nerve cells elsewhere.

#### Conclusion

That, I am afraid, is a poor conclusion to a lecture which commemorates a man whose researches were of such immediate practical benefit to so many people. I wish I had something better to offer than these incomplete results on a sense organ which has never roused much interest. I can still recall the intense interest which the work of Banting and Best aroused in all of us, in physiologists as well as in every doctor. But such triumphant victories come very rarely, and they are separated by the slow, plodding attack on a wide front. I have described a minor incident in that attack with a speculation attached to it; but I have done so because most of our research is like that, and because it is with such inconclusive results that you must contrast the spectacular advance which came with the finding of insulin.

---

## PROTECTION AFFORDED BY SICKLE-CELL TRAIT AGAINST SUBTERTIAN MALARIAL INFECTION

BY

A. C. ALLISON, D.Phil., B.M.\*

(From the Clinical Pathology Laboratory, the Radcliffe Infirmary, Oxford)

The aetiology of sickle-cell anaemia presents an outstanding problem common to both genetics and medicine. It is now universally accepted that the sickle-cell anomaly is caused by a single mutant gene which is responsible for the production of a type of haemoglobin differing in several important respects from normal adult haemoglobin (Pauling *et al.*, 1949; Perutz and Mitchison, 1950). Carriers of the sickle-cell trait who are heterozygous for the sickle-cell gene have a

TABLE I

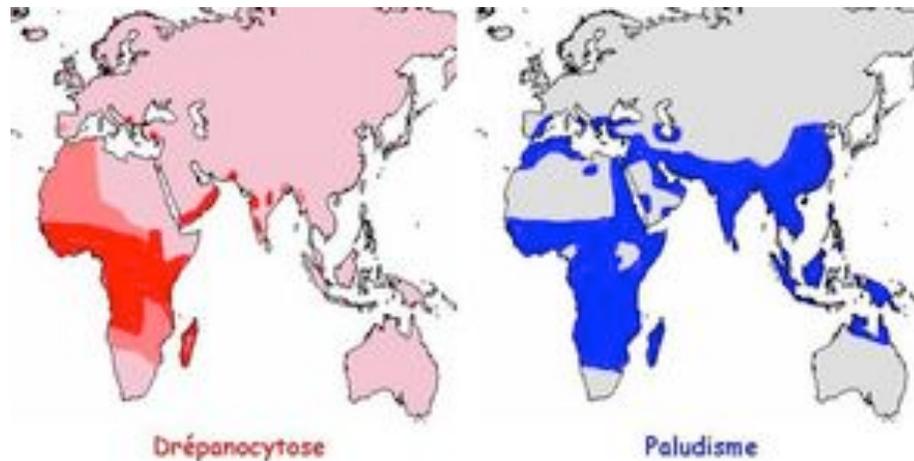
	With Parasitaemia	Without Parasitaemia	Total
Sicklers .. ..	12 (27.9%)	31 (72.1%)	43
Non-sicklers ..	113 (45.7%)	134 (53.3%)	247

It is apparent that the incidence of parasitaemia is lower in the sickle-cell group than in the group without sickle cells. The difference is statistically significant ( $\chi^2=5.1$  for 1 d.f.). In order to test as many families as possible only one child was taken from each family. There is no reason to suppose that these groups are not comparable, apart from the presence or absence of the sickle-cell trait.

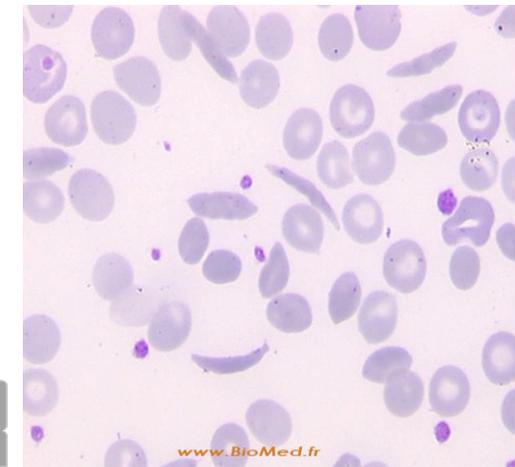
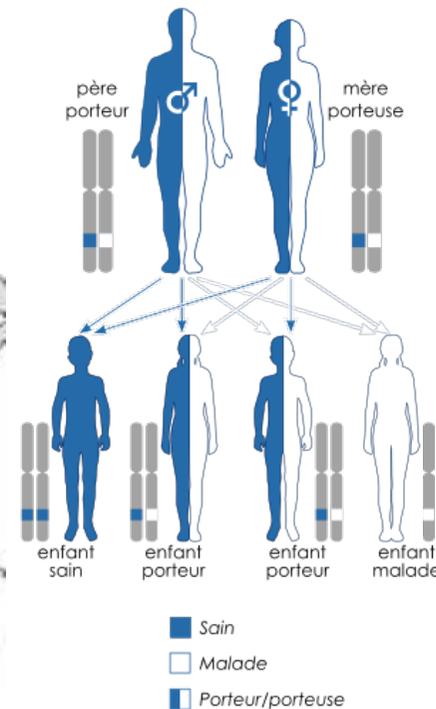
The parasite density in the two groups also differed:

of a  
apart  
Two  
isolat  
in Ta  
respec  
tion  
troph  
infect  
out o  
and t  
tion o  
The  
each

# Drépanocytose



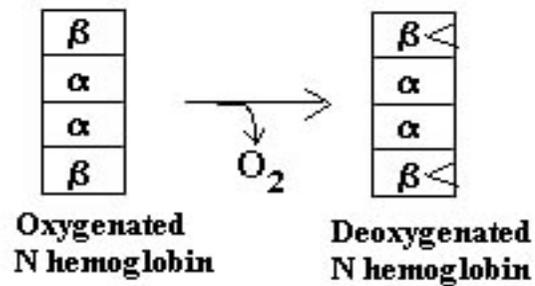
Transmission autosomique récessive



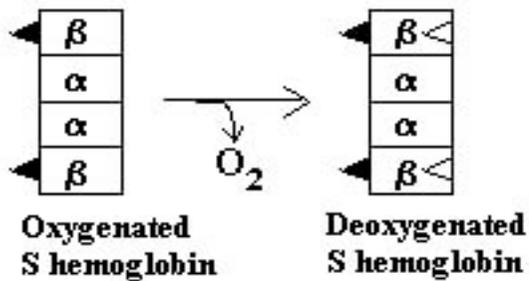
Erythrocytes falciformes  
+ schizocytes

Transmission autosomique  
récessive

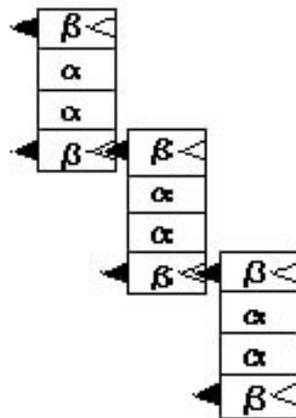
- \* Mutation unique, ponctuelle, du gène beta-globine situé sur le chromosome 11 (11p 11-5). Substitution A/T codon 6 (GAG/GTG) = VAL/GLU (Ingram VM.1956. Nature).
- \* Trois formes de la maladie
  - o Drépanocytose homozygote (HbS/HbS) 70% : Drépanocytose maladie. Comprenant Anémie et Crises vaso-occlusives.
  - o Drépanocytose HbS/HbC (25%)
  - o Drépanocytose HbS/Thalassémie (5%)
- \* Drépanocytose hétérozygote (HbS/HbA) : Pas de symptômes. Porteurs sains



◁ = Uncharged amino acid exposed when oxygen binds to hemoglobin  
 ◀ = The mutant amino acid in S hemoglobin



β = Beta subunit  
 α = Alpha subunit



En milieu acide ou en concentration croissante de CO<sub>2</sub>, HbN/HbS libèrent leur oxygène (Effet Bohr).

L'apparition d'un acide aminé chargé (GLU au lieu de VAL) entraîne la formation de fibres/chaînes d'HbS en conditions de déoxygénation de la molécule

Dans l'érythrocyte, *Plasmodium* a une intense activité métabolique entraînant baisse du pH et formation de CO<sub>2</sub>. Bascule vers la forme déoxygénée fibreuse de HbS.

*Plasmodium* piégé dans des érythrocytes malades:

Destruction accrue dans la rate

Fuite d'électrolytes et de nutriments empêchant son développement et sa replication

Le fait d'être porteur sain de la drépanocytose confère un avantage naturel sélectif vis-à-vis du paludisme. Les patients hétérozygotes AS ont significativement moins d'atteintes neurologiques du paludisme que les sujets AA.

PLoS Med. 2005 May; 2(5): e128.

Published online 2005 May 31. doi: 10.1371/journal.pmed.0020128

PMCID: PMC1140945

## An Immune Basis for Malaria Protection by the Sickle Cell Trait

Thomas N Williams, Tabitha W Mwangi, David J Roberts, Neal D Alexander, David J Weatherall, Sammy Wambua, Moses Kortok, Robert W Snow, and Kevin Marsh

Age Range (Years)	Genotype	Number of Participants <sup>a</sup>	Child Years of Follow-Up	Number of Malaria Episodes <sup>b</sup>	Malaria Incidence <sup>c</sup>	IRR <sup>d</sup> (95% Confidence Interval)	p-Value
All	AA	892	1,958.2	3,189	1.74	1.00	
	AS	162	354.4	362	1.07	0.62 (0.51–0.76)	<0.001
0.25–2	AA	302	290.9	439	1.99	1.00	
	AS	52	51.4	63	1.52	0.81 (0.53–1.24)	0.337
2–4	AA	417	331.4	704	2.12	1.00	
	AS	73	56.7	82	1.45	0.69 (0.50–0.95)	0.024
4–6	AA	423	318.4	694	2.18	1.00	
	AS	81	58.4	75	1.28	0.63 (0.46–0.85)	0.003
6–8	AA	361	273.8	515	1.88	1.00	
	AS	82	59.3	56	0.94	0.50 (0.36–0.69)	<0.001
8–10	AA	275	190.9	309	1.61	1.00	
	AS	62	42.4	28	0.66	0.45 (0.30–0.67)	<0.001
≥10 <sup>e</sup>	AA	283	552.8	528	0.96	1.00	
	AS	48	86.0	58	0.67	0.73 (0.51–1.05)	0.086

Incidence des cas de paludisme symptomatique par âge et type d'Hb

## Absence d'expression de l'antigène de groupe sanguin Duffy et résistance à *Plasmodium vivax*

L'absence d'expression de l'antigène Duffy à la surface des érythrocytes protège contre l'infection par *Plasmodium vivax* (Miller LH & coll. 1976. N Engl J Med). L'allèle qui entraîne l'absence d'expression de l'antigène Duffy est un exemple d'une probable sélection d'individus présentant des anomalies érythrocytaires incompatibles avec le développement du cycle sanguin de *Plasmodium*, donc avec le développement de la maladie.

Contrairement à la drépanocytose et au déficit en G6P, la mutation Duffy ne semble pas pathologique.

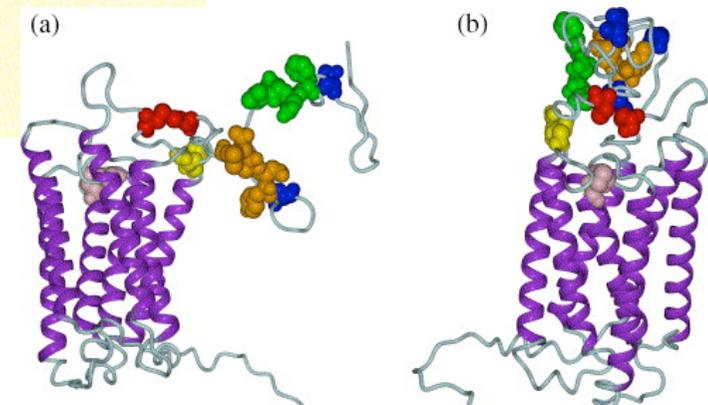
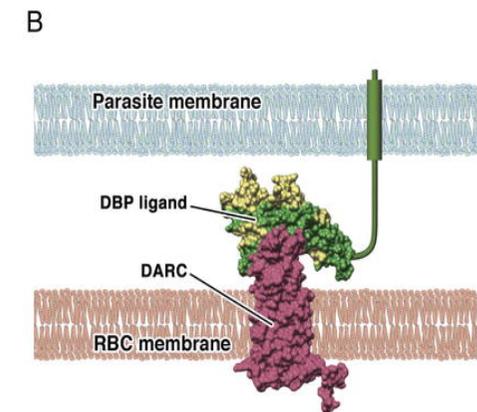
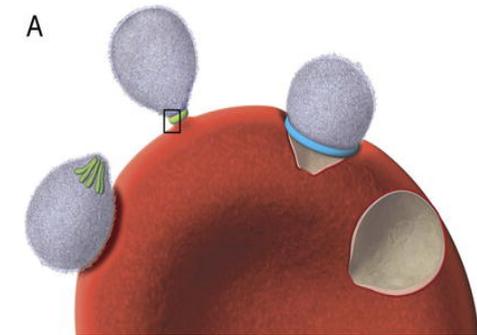
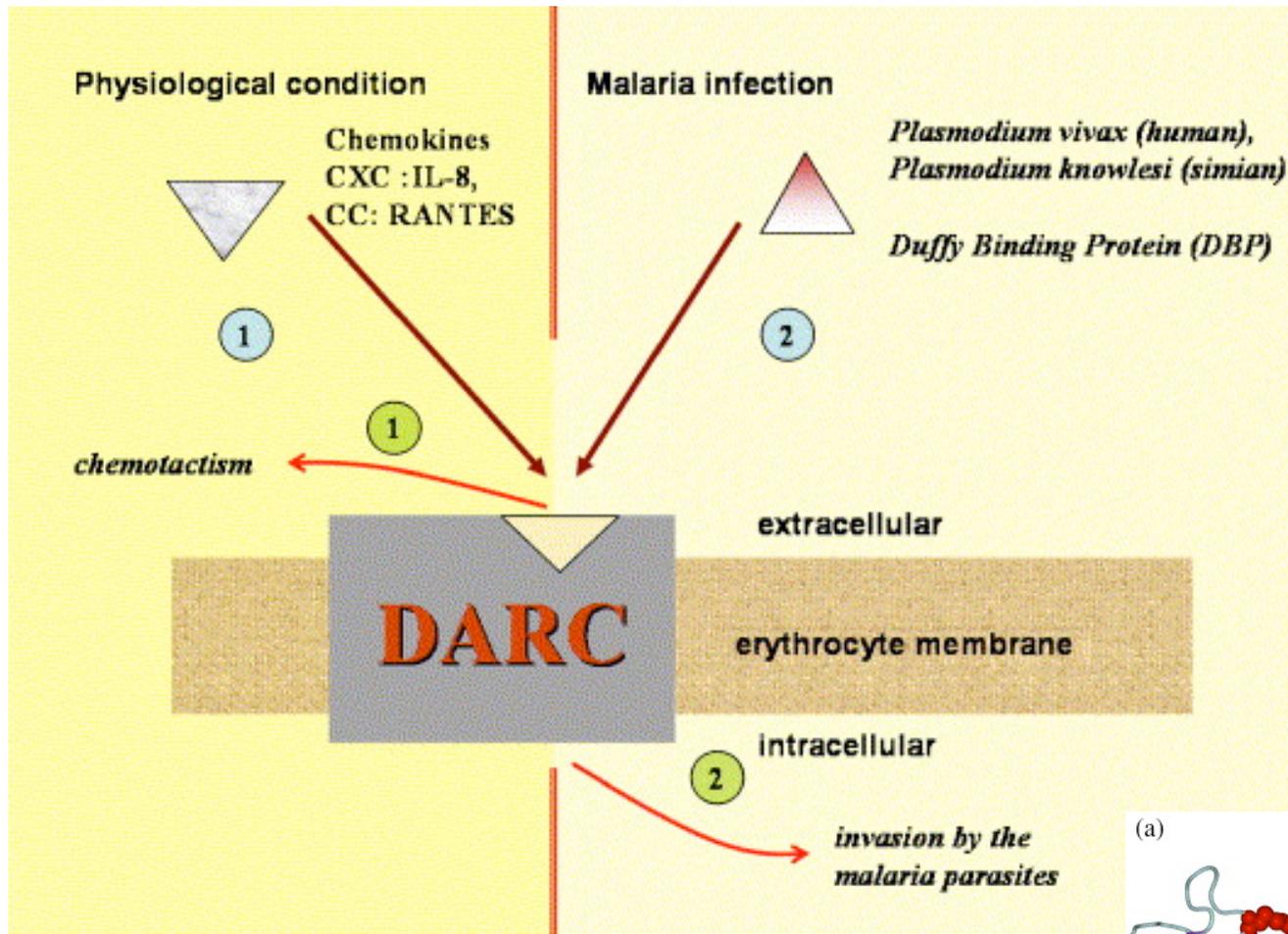
Dans certaines régions où une grande partie de la population est Duffy -/-, le paludisme à *P. vivax* est inexistant. Il a sans doute disparu par absence d'un pourcentage suffisant d'individus permettant sa replication/transmission de *P. vivax*. Trop d'impasses...

Le paludisme à *P. vivax* exerce encore une pression sélective. Le même allèle qui cause la résistance en Afrique par absence d'expression de l'antigène Duffy a vu sa prévalence croître en Papouasie-Nouvelle Guinée où *P. vivax* demeure très prévalent (Zimmerman et coll. 1999. PNAS)

## Fréquence des phénotypes Duffy chez les Africains et les Caucasiens

<i>Génotype</i>		<i>Phénotype</i>	<i>Fréquence</i>	
<i>Allèle 1</i>	<i>Allèle 2</i>		<i>Caucasiens</i>	<i>Africains</i>
<i>Fya (FY1)</i>	<i>Fya (FY1)</i>	Fy (a+, b-) (FY: 1; -2)	20 %	20 %
<i>Fya (FY1)</i>	<i>Fyb (FY2)</i>	Fy (a+; b+)(FY: 1; 2)	47 %	2 %
<i>Fyb (FY2)</i>	<i>Fyb (FY2)</i>	Fy (a-; b+) (FY: -1; 2)	33 %	10 %
-	-	Fy (a-; b-) (Fy:-1;-2)	Très rare	68 %

# Duffy Antigen/Chemokine Receptor (DARC)



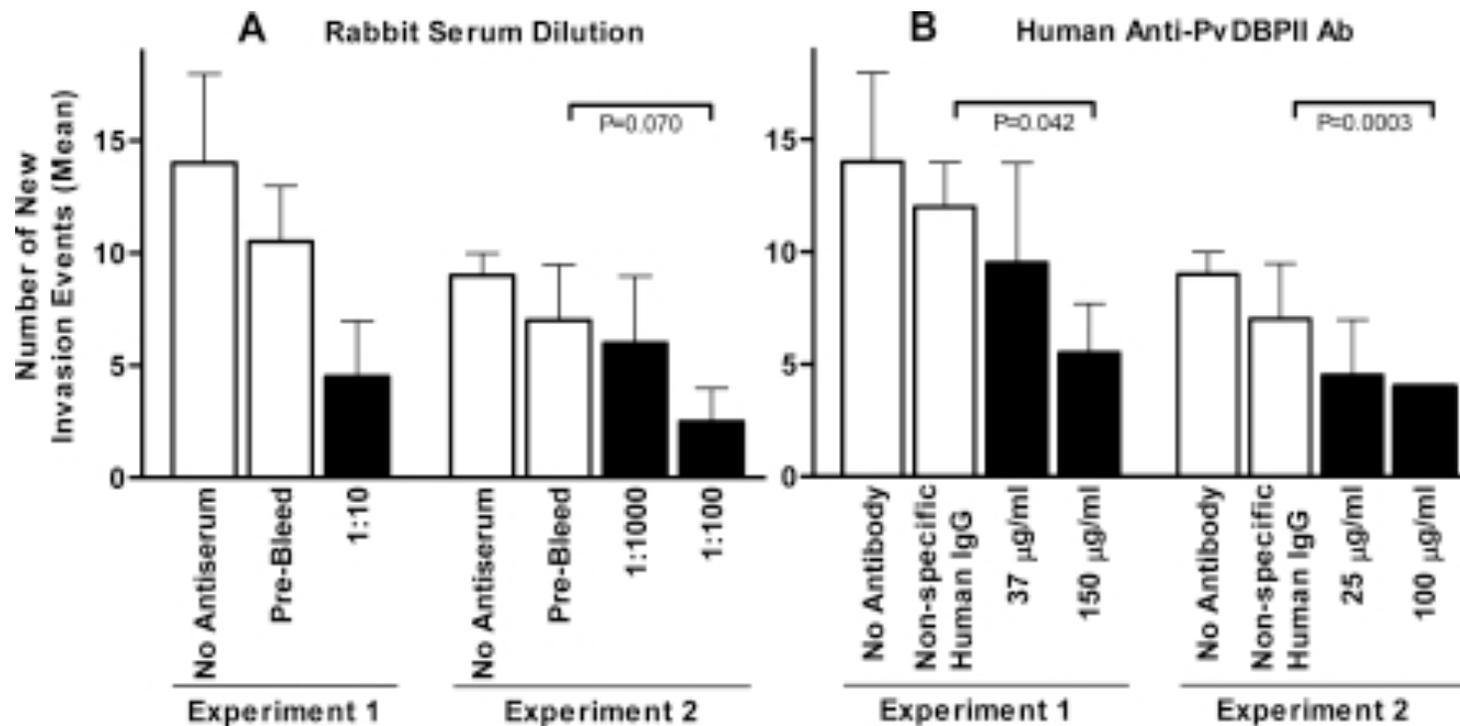
- DARC dans la membrane érythrocytaire
- 1 – Liaison de chimiokines des deux classes (CXC & CC)
  - 2 – Liaison de DBP (Duffy-binding protein)

PLoS Med. 2007 Dec;4(12):e337.

Plasmodium vivax invasion of human erythrocytes inhibited by antibodies directed against the Duffy binding protein.

Grimberg BT, Udomsangpetch R, Xainli J, McHenry A, Panichakul T, Sattabongkot J, Cui L, Bockarie M, Chitnis C, Adams J, Zimmerman PA, King CL.

The Center for Global Health and Diseases, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, United States of America.

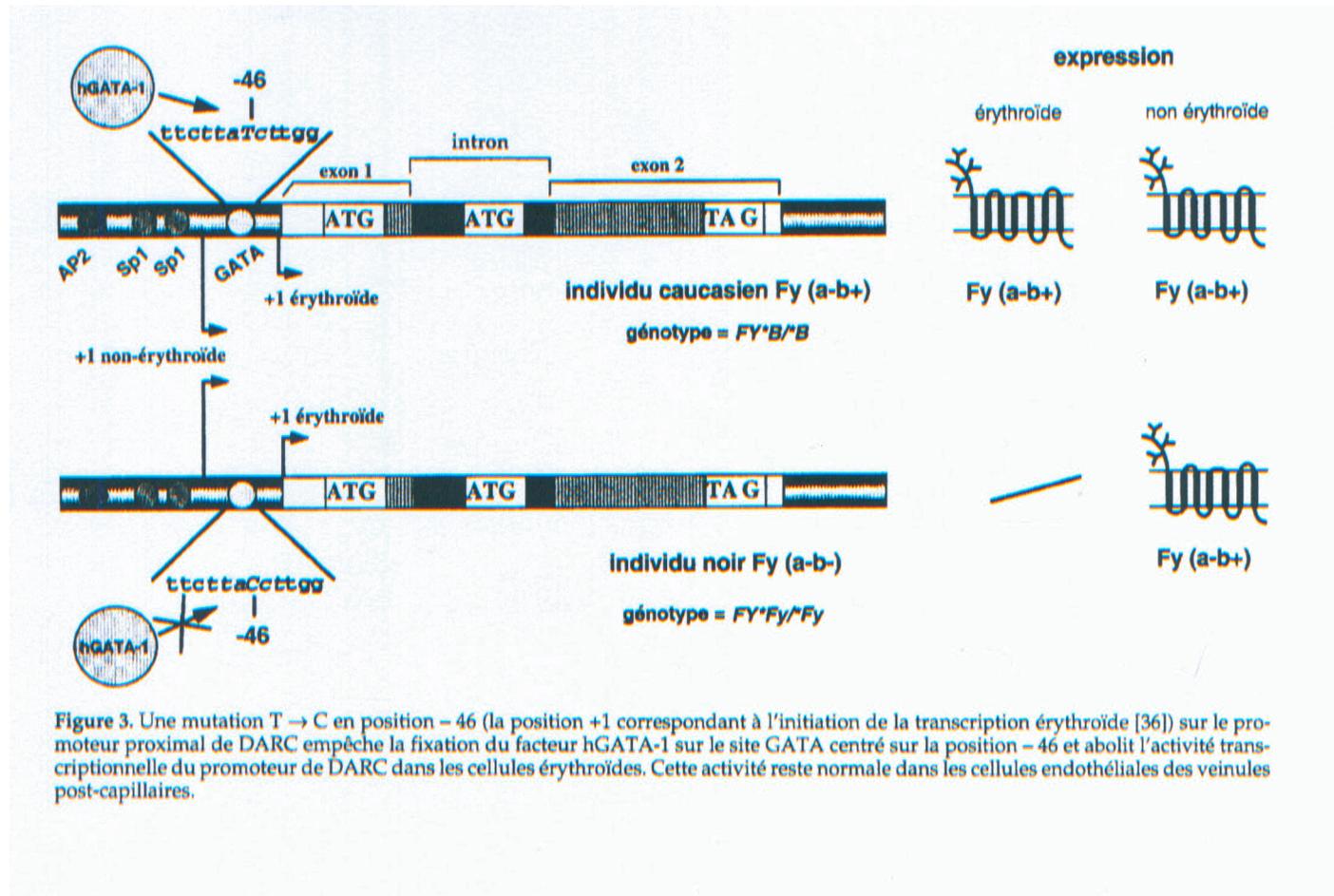


Inhibition de l'invasion des érythrocytes humains par serum / anticorps anti-PyBDPII

Nature Genetics 10, 224 - 228 (1995)

Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals

Christophe Tournamille, Yves Colin, Jean Pierre Cartron & Caroline Le Van Kim  
Unité INSERM U76, GIP-Institut National de la Transfusion Sanguine, 6 rue Alexandre Cabanel, 75015 Paris, France



## "Big 8", suite

4 - Résistance quasi complète au VIH des individus homozygotes pour une délétion de 32 Bp dans le gène du récepteur CCR5 pour la chimiokine SF1  
(Liu R et coll. 1996. Cell  
O'Brien TR et coll. 1997. Lancet)

5 - Résistance quasi-complète à la maladie de Creutzfeld-Jacob des individus homozygotes pour une valine au codon 129 de leur propre protéine prion  
Zeidler M. 1997. Lancet

6 - Un variant non sécréteur de Duffy affecte la sensibilité au virus Norwalk  
(Lindesmith L & coll. 2003. Nat Med)  
Et la progression de l'infection VIH  
(Kindberg E & coll. 2006. AIDS)

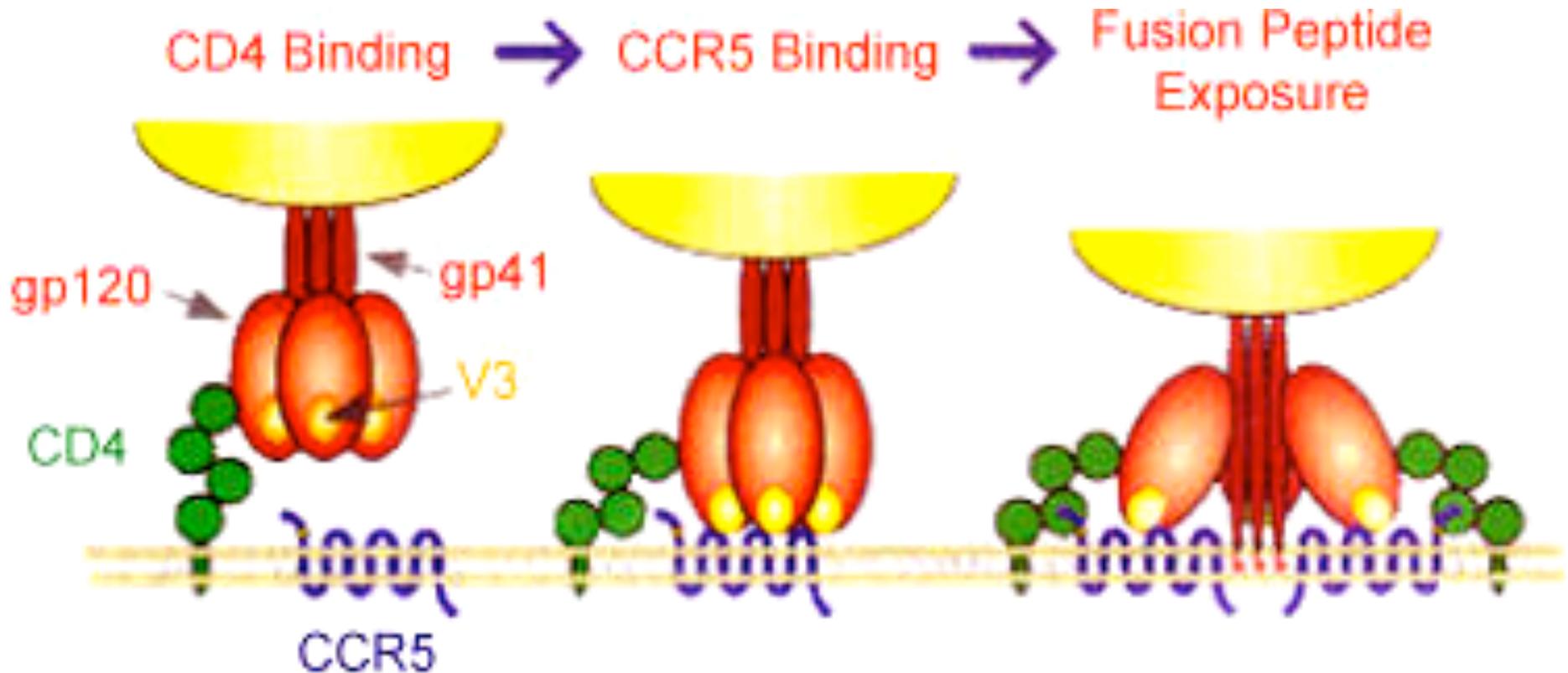
7 – Groupes sanguins ABO et sensibilité au choléra: les individus O+ ont une probabilité 50 % moindre de développer le choléra que les individus non-O+. Si infectés, ils ont deux fois plus de chances de développer une infection sévère (Harris JB et coll. 2008. PLoS Negl Trop Dis)

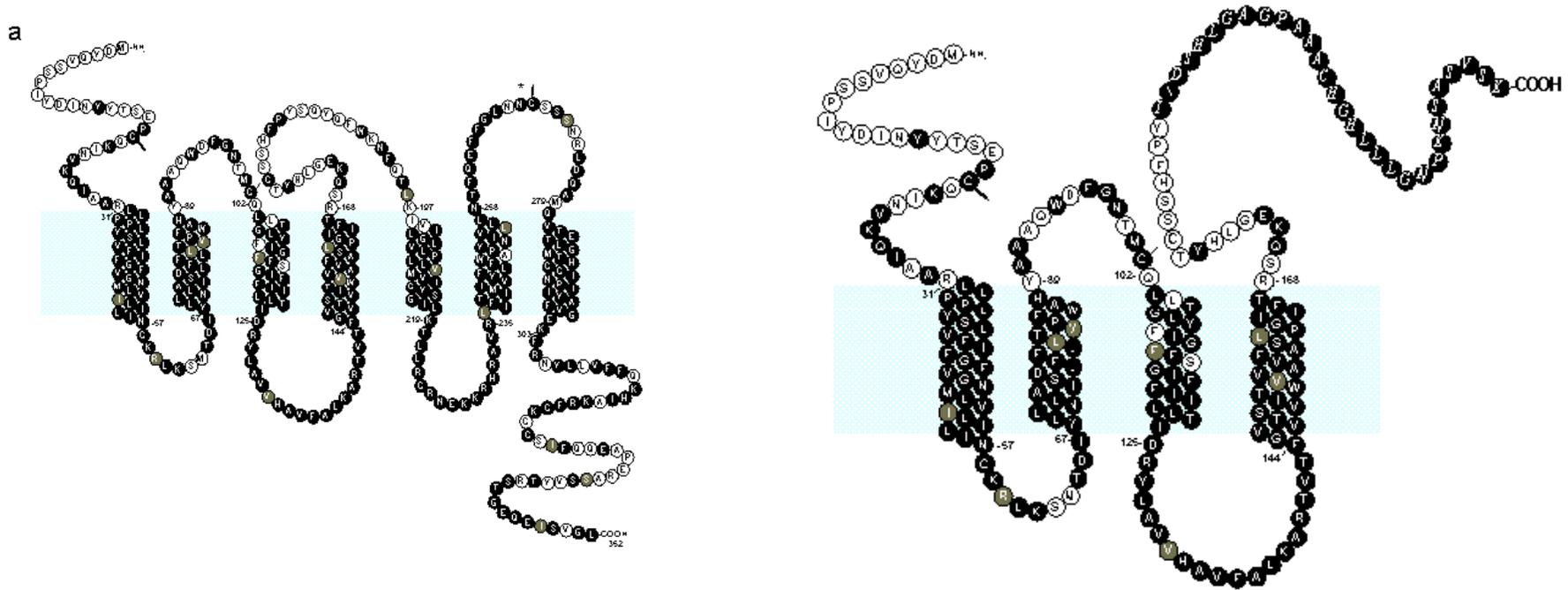
8 – Tuberculose: HLA-DR, IFN-gamma, SLC11A1, VDR, MAL/TIRAP, CCL2  
Lèpre : HLA-DR, PARK2 / PACRG

Cell, Vol. 86, 367–377, August 9, 1996

Homozygous Defect in HIV-1 Coreceptor Accounts  
for Resistance of Some Multiply-Exposed  
Individuals to HIV-1 Infection

Rong Liu, William A. Paxton, Sunny Choe, Daniel Ceradini, Scott R. Martin,  
Richard Horuk, E. MacDonald, Heidi Stuhlmann, Richard A. Koup, and  
Nathaniel R. Landau





Une délétion de 32 nucléotides rend le récepteur non fonctionnel  
 Les sujets homozygotes  $\Delta 32/\Delta 32$  n'ont pas de phénotype connu  
 Ils sont résistants à l'infection par la souche R5 monocytotropique (M-tropique) de VIH1  
 Les sujets hétérozygotes  $\Delta 32/\text{wt}$  semblent aussi protégés (adultes mais pas enfants)  
 Prévalence de l'allèle D32 jusqu'à 20% en Europe du Nord, diminue jusqu'à environ 0% en Afrique

```

CCR5  F P Y S Q Y Q F W K N F Q T L K I V I L G L V L P
      TTC C A T A C A G T C A G T A T C A A T T C C G A A G A A T T C C A G A C A T T A A A G A T A G T C A F C T T G G G G C T G G T C C T G C C G
ΔCCR5 F P Y I K D S H L G A G P A
      deletion
CCR5  L L V M V I C Y S G I L K T L L R C R N E K K R
      C T G C T T G T C A T G G C A T C T G C T A C T G G G G A T C C T A A A A A C T C T G C T T C G G T T C G A A A T G A G A A G A A G A G G
ΔCCR5 A A C H G H L L L G N P K N S A S V S K *
  
```

A few weeks ago it was reported that a 40-year-old Caucasian patient with leukemia and HIV underwent hematopoietic stem cell transplants using peripheral blood from a donor homozygous for CCR5- $\Delta$ 32 and, over 20 months later, not only has the leukemia gone into complete remission, but the patient has no HIV detectable in his body either (Hütter et al., 2009). Before the transplant, the patient was on highly active antiretroviral therapy (HAART), the combined use of several antiretroviral drugs that has been found most effective in decreasing mortality rates caused by AIDS (Palella et al., 1998). The patient ceased taking HAART immediately prior to undergoing chemotherapy, due to the toxicity of the powerful drugs, but after the following stem cell transplant he has not since resumed the therapy and there have been no detectable signs of HIV in his system. The CCR5- $\Delta$ 32 homozygous hematopoietic stem cells appear to have replaced his irradiated immune system with CCR5- $\Delta$ 32 homozygous, HIV-resistant cells. Previously, hematopoietic stem cell transplants have been attempted to cure patients with both HIV and leukemia with some success (Sorà et al., 2001; Huzicka, 1997), but none used CCR5- $\Delta$ 32 homozygous donors.

# Approches pour l'identification de gènes de sensibilité

## **GWAS (Genome Wide Association Studies)**

### **Identification de polymorphismes associés à la sensibilité / résistance à une maladie infectieuse**

"Common disease, common variant"

Approche rendue possible par les (r)évolutions technologiques récentes:

- (Re)séquençage du génome humain
- Génotypage à haut débit par "micro arrays"

Offre une capacité de génotypage de centaines de milliers de polymorphismes sur l'ensemble du génome sans biais /hypothèses sur la localisation des variants responsables.

- Projet international Hap Map

La capacité de GWAS d'identifier des associations inattendues avec des maladies communes a maintenant été prouvée.

Nécessité de larges cohortes pour générer suffisamment de puissance statistique pour détecter de vraies associations après corrections par des tests multiples

### **STANDARDS ACCEPTES:**

P value <  $10^{-8}$

Taille importante des échantillons (importance des cohortes)

Exigence de taille devient énorme pour des maladies moins communes

**Problème: l'Afrique !**

## Spécificités, difficultés des études sur les populations africaines

La plupart des études génétiques d'ampleur ont été conduites sur des populations d'origine Européenne

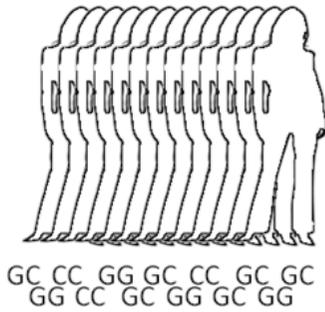
Applicabilité discutable aux populations africaines qui ont subi la plus forte pression sélective par les maladies infectieuses ou parasitaires

Caractéristiques des populations africaines:

- Plus grande diversité génétique
- Régions en déséquilibre de liaison plus courtes (LD) que dans les autres populations

Nécessité d'un génotypage effectué à plus haute densité sur des groupes ethniques spécifiques (stratification) pour assurer une couverture correcte à l'échelle du génome

# GWAS Manhattan plot étude cas / contrôles

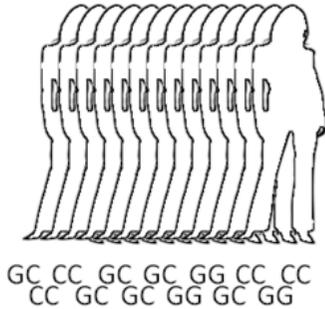


SNP1

**Cases**

Count of G:  
2104 of 4000

Frequency of G:  
52.6%



**Controls**

Count of G:  
2676 of 6000

Frequency of G:  
44.6%

**P-value:**  
 $5.0 \cdot 10^{-15}$

SNP2

**Cases**

Count of G:  
1648 of 4000

Frequency of G:  
41.2%

**Controls**

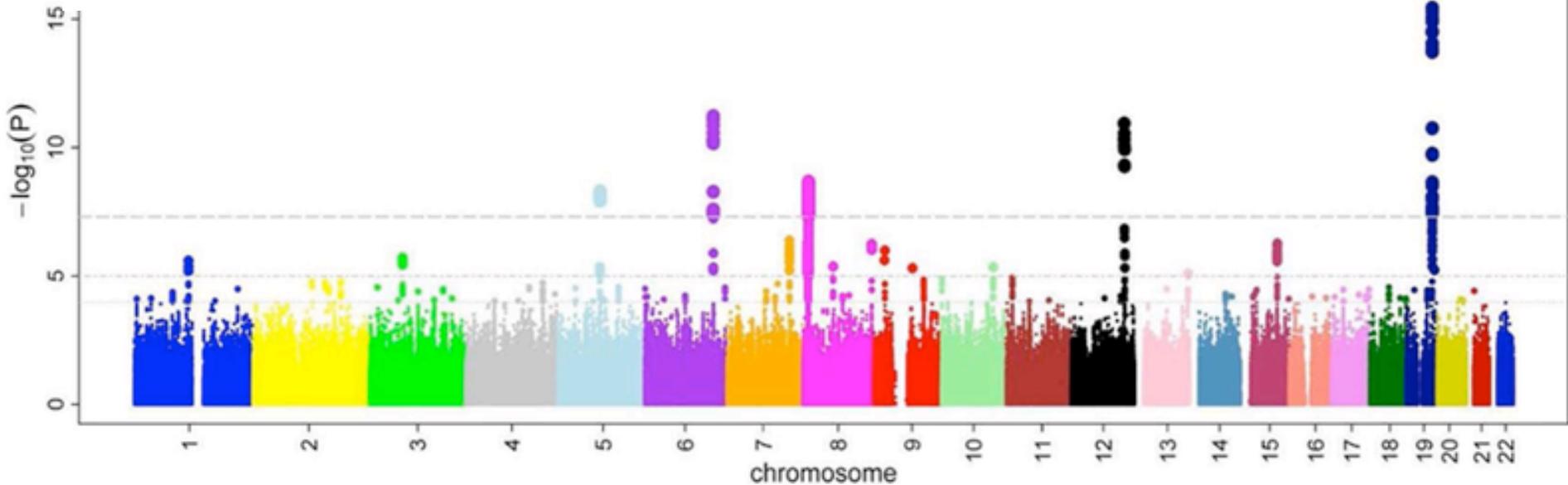
Count of G:  
2532 of 6000

Frequency of G:  
42.2%

**P-value:**  
0.33

SNP ...

*Repeat for all  
SNPs*



# Analyse critique des résultats des études

La validation ou la replication d'une étude est essentielle pour comprendre / évaluer sa réelle signification et trier les faux-positifs des faux-négatifs (NCI-NHGRI Working Group. 2007. Nature)

Identification du vrai SNP en cause est essentielle. Quels SNPs sont aussi en déséquilibre de liaison avec le phénotype, lequel d'entre eux est le plus significatif ?

La possibilité de repliquer une étude dans une autre population dépend de la rigueur du dessin de l'étude, d'une définition claire du phénotype et d'un appariement optimal des cas et des témoins.

Contrôle de qualité/standardisation du génotypage: codage, identification des échantillons, traitement des échantillons, qualité/concentration d'ADN, tester si distribution Mandélienne si étude d'individus apparentés

Validation des données critiques par une autre méthode de génotypage

Exiger des P values très basses pour confirmer la validité des études GWAS

Confirmer quand cela est possible par analyse expérimentale chez l'animal

## Limitation des approches (1)

- La sensibilité aux maladies infectieuses est polygénique. La participation de nombreux gènes signifie que chacun d'eux contribue modestement (odds ratios  $< 2$ ) Un grand nombre de sujets (patients et contrôles) est nécessaire:
  - . 1000 patients vs 1000 contrôles pour une étude GWAS
  - . très nombreux pédigrées pour des études de liaison
- En dépit de la chute des coûts de séquençage et de génotypage, les budgets de ces études demeurent très élevés.
- L'analyse de gènes candidats est moins coûteuse, mais nécessite une idée préconçue sur le gène impliqué, niant ainsi l'approche non biaisée qu'offre l'approche "expérimentale" de la nature (polymorphismes génétiques) pour identifier le / les gène(s) d'intérêt.

## Limitation des approches (2)

- Les SNPs associés à un phénotype donnent rarement lieu à la formation d'un codon stop ou même à une substitution d'un acide aminé et vont être le plus souvent trouvés à l'extérieur des exons dans une région d'ADN non codante rendant l'analyse de la fonction biologique impossible tant que la fonction régulatrice n'a pas été identifiée.
- Certaines régions du génome sont en large déséquilibre de liaison, en l'absence de recombinaisons fréquentes dans une région, il peut s'avérer impossible d'identifier un gène.  
Facteurs environnementaux, immunité naturelle préalable, polymorphisme du microorganisme dépendant de la région où il est isolé (parasites +++)

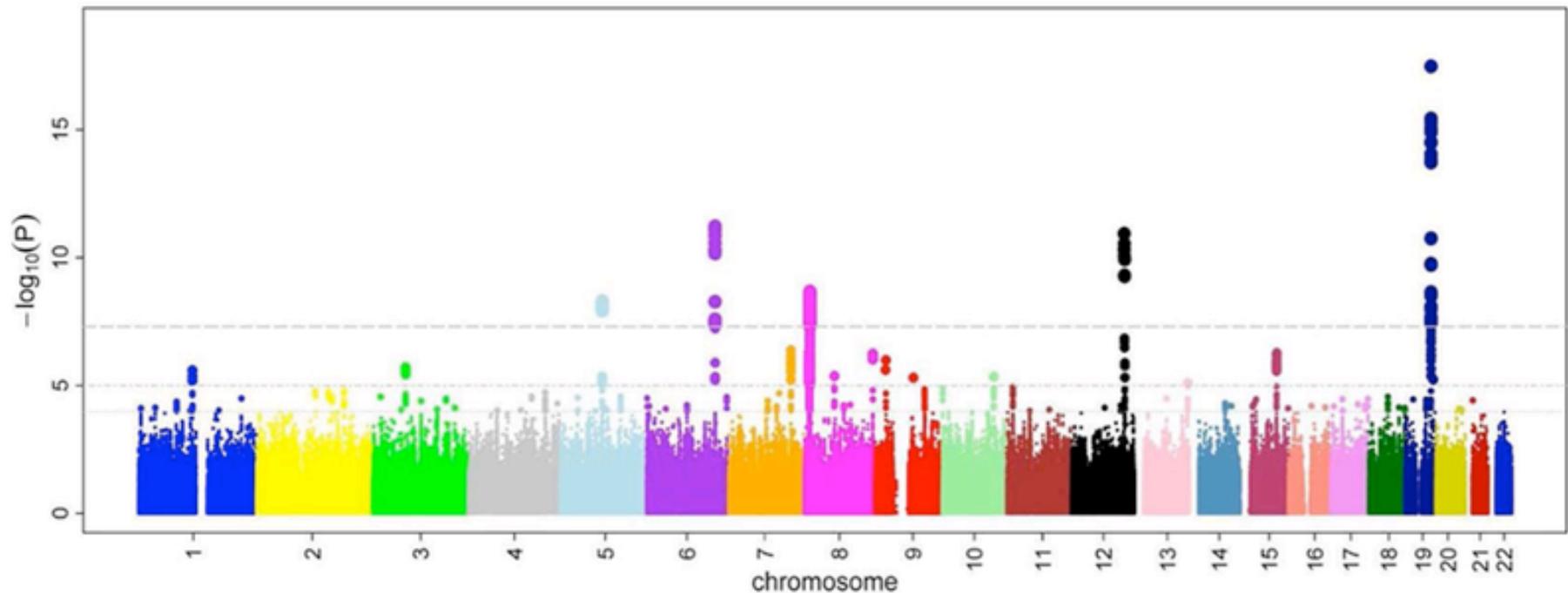
## Limitation des approches (3)

La plupart des études GWAS reposent sur des "arrays" centrés sur des polymorphismes génétiques communs

Nécessité de rechercher des variants RARES d'effet plus fort susceptibles de combler le vide de la composante héritable ("héritabilité manquante") = Hap Map.

Le séquençage profond de nouvelle génération devrait permettre l'identification de ces variants rares. Coûts...

Les études GWAS ont largement confirmé, puis enrichi, les études d'association et de gènes candidats



Disease	Phenotype	Population	Sample size*	Most significant marker or markers	SNP location	P value*	Odds ratio		
HIV-1 and AIDS	Viral load at set point <sup>‡</sup>	European	2,554	rs9264942	HLA-C	5.9 × 10 <sup>-32</sup>	NA		
				rs2395029	HLA-B, HCP5	4.5 × 10 <sup>-35</sup>	NA		
	Viral load at set point <sup>‡</sup>	African American	515	rs2523608	HLA-B	5.6 × 10 <sup>-10</sup>	NA		
	HIV-1 control <sup>‡</sup>	European	1,712	rs9264942	HLA-C	2.8 × 10 <sup>-35</sup>	2.9		
				rs4418214	MICA	1.4 × 10 <sup>-34</sup>	4.4		
				rs2395029	HLA-B, HCP5	9.7 × 10 <sup>-26</sup>	5.3		
				rs3131018	PSORS1C3	4.2 × 10 <sup>-16</sup>	2.1		
				African American	1,233	rs2523608	HLA-B	8.9 × 10 <sup>-20</sup>	2.6
						rs2255221	Intergenic	3.5 × 10 <sup>-14</sup>	2.7
						rs2523590	HLA-B	1.7 × 10 <sup>-13</sup>	2.4
						rs9262632	Intergenic	1.0 × 10 <sup>-9</sup>	3.1
	Disease progression <sup>‡</sup>	European	1,071	rs9261174	ZNRD1, RNF39	1.8 × 10 <sup>-9</sup>	NA		
Progression to AIDS 1987 <sup>‡</sup>	European American	755	rs11884476	PARD3B	3.4 × 10 <sup>-9</sup>	NA			
Long-term nonprogression <sup>‡</sup>	European	1,627	rs2395029	HLA-B, HCP5	6.8 × 10 <sup>-10</sup>	3.47			
Long-term nonprogression <sup>‡</sup>	European	1,911	rs2234358	CXCR6	9.7 × 10 <sup>-10</sup>	1.85			
Hepatitis C	Spontaneous clearance	European	1,362	rs8099917	IL28B	6.1 × 10 <sup>-9</sup>	2.31		
Hepatitis B	Chronic infection	Japanese, Taiwanese	6,387	rs3077	HLA-DPA1	2.3 × 10 <sup>-10</sup>	0.56		
				rs9277535	HLA-DPB1	6.3 × 10 <sup>-19</sup>	0.57		
Dengue	Dengue shock syndrome	Vietnamese	8,697	rs3132468	MICB	4.4 × 10 <sup>-11</sup>	1.34		
				rs3765524	PLCE1	3.1 × 10 <sup>-10</sup>	0.80		
Severe malaria	Susceptibility	African (Gambian)	5,900	rs11036238	HBB	3.7 × 10 <sup>-11</sup>	0.63		
Tuberculosis	Susceptibility	African (Ghana, The Gambia, Malawi)	11,425	rs4334126	18q11.2 (GATA6, CTAGE1, RBBP8, CABLES1)	6.8 × 10 <sup>-9</sup>	1.19		
Leprosy	Susceptibility	Chinese	11,140	rs3764147	LACC1	3.7 × 10 <sup>-54</sup>	1.68		
				rs9302752	NOD2	3.8 × 10 <sup>-40</sup>	1.59		
				rs3088362	CCDC122	1.4 × 10 <sup>-31</sup>	1.52		
				rs602875	HLA-DR-DQ	5.4 × 10 <sup>-27</sup>	0.67		
				rs6478108	TNFSF15	3.4 × 10 <sup>-21</sup>	1.37		
				rs42490	RIPK2	1.4 × 10 <sup>-16</sup>	0.76		
Meningococcal disease	Protection	European	7,522	rs1065489	CFH	2.2 × 10 <sup>-11</sup>	0.64		
				rs426736	CFHR3	4.6 × 10 <sup>-13</sup>	0.63		
Variant Creutzfeldt-Jakob disease	Susceptibility	European, Papua New Guinea	5,183	rs1799990	PRNP	2.0 × 10 <sup>-27</sup>	NA		

CABLES1, CDK5 and ABL enzyme substrate 1; CCDC122, coiled-coil domain-containing 122; CFH, complement factor H; CFHR3, CFH-related 3; CTAGE1, cutaneous T cell lymphoma-associated antigen 1; CXCR6, chemokine (C-X-C motif) receptor 6; GATA6, GATA-binding protein 6; HBB, haemoglobin beta; HCP5, HLA complex P5 (non-protein-coding); HLA, human leukocyte antigen; IL28B, interleukin-28B; LACC1, leucine aminopeptidase domain-containing 1; MIC, MHC class I polypeptide-related sequence; NA, not applicable or not provided in publication; NOD2, nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2; PARD3B, par-3 partitioning-defective 3 homologue B; PLCE1, phospholipase C, cytosolic 1; PRMT6, protein arginine methyltransferase 6; RIPK2, receptor-interacting protein kinase 2; TNFSF15, tumor necrosis factor superfamily member 15.

## Sensibilité aux infections: études GWAS

1 - VIH / SIDA

(Revue: Chapman SJ & Hill AVS. 2012. Nat Rev Gen)

2 - Hépatite C: clearance spontanée du virus et sensibilité au traitement par IFN-alfa  
SNP en amont du gène de IL28B (IFN-lambda3)

(Rauch A et coll. 2010. Gastroenterology)

3 - Hépatite B: protection contre la survenue d'une infection chronique  
SNP dans antigène HLA de classe I

(Kamatani Y et coll. 2009. Nat Gen)

4 - Dengue: risque de formes graves / hémorragiques

MICB (MHC class I polypeptide related sequence) impliqué dans la réponse antivirale  
cytotoxique et NK

(Khor CC et coll. 2011. Nat Genet)

5 - Paludisme: risque de forme grave

SNIP valine/acide glutamique à AA6 de la beta-globine = HbS

Trait fréquent dans la population africaine

Autres à repliquer (Jalow M et coll. 2009. Nat Genet)

## Sensibilité à l'infection VIH: études GWAS

Disease	Phenotype	Population	Sample size*	Most significant marker or markers	SNP location	P value*	Odds ratio	Refs		
HIV-1 and AIDS	Viral load at set point <sup>‡</sup>	European	2,554	rs9264942	HLA-C	$5.9 \times 10^{-32}$	NA	33,34		
				rs2395029	HLA-B, HCP5	$4.5 \times 10^{-35}$	NA	33,34		
	Viral load at set point <sup>‡</sup>	African American	515	rs2523608	HLA-B	$5.6 \times 10^{-10}$	NA	38		
				HIV-1 control <sup>‡</sup>	European	1,712	rs9264942	HLA-C	$2.8 \times 10^{-35}$	2.9
	rs4418214	MICA	$1.4 \times 10^{-34}$				4.4			
	rs2395029	HLA-B, HCP5	$9.7 \times 10^{-26}$				5.3			
	rs3131018	PSORS1C3	$4.2 \times 10^{-16}$				2.1			
	African American	1,233	rs2523608				HLA-B	$8.9 \times 10^{-20}$	2.6	
			rs2255221				Intergenic	$3.5 \times 10^{-14}$	2.7	
			rs2523590	HLA-B	$1.7 \times 10^{-15}$	2.4				
	African American	1,233	rs9262632	Intergenic	$1.0 \times 10^{-9}$	3.1				
			European	1,071	rs9261174	ZNRD1, RNF39	$1.8 \times 10^{-5}$	NA	33,34	
Progression to AIDS 1987 <sup>‡</sup>					European American	755	rs11884476	PARD3B		$3.4 \times 10^{-9}$
	Long-term nonprogression <sup>‡</sup>	European	1,627	rs2395029			HLA-B, HCP5	$6.8 \times 10^{-10}$	3.47	42
Long-term nonprogression <sup>‡</sup>				European	1,911	rs2234358	CXCR6	$9.7 \times 10^{-10}$	1.85	43

## Sensibilité aux infections: études GWAS

6 - Infection à méningocoque: portage fréquent / maladie rare

Formes gravissimes (purpura fulminans)

Données jusqu'à présent peu repliquées

GWAS: multiples SNP dans le gène CFH (complement factor H) et dans un gène adjacent, CFHR3 fortement associés à la survenue de la maladie méningococcique (Davila S et coll. 2010. Nat Genet)

7 - Maladie de Kreuzfeld-Jacob

Polymorphisme dans la protéine prion humaine (PRNP)

Variant codant pour méthionine au codon 129

Kaski D et coll. 2009. Lancet

8 - Tuberculose et Lèpre: cours de Laurent Abel.

## Mutations uniques

Intérêt croissant pour des traits monogéniques rares mais à fort impact dans la sensibilité à des agents infectieux

Déficits immunitaires primaires (PID) ou héréditaires (DIH) entraînant un déficit profond dans une fonction immunitaire avec sensibilité à une gamme étroite de pathogènes

Certains de ces mutants peuvent être de "pénétrance" variable, contrairement à ce que l'on pensait auparavant, donnant à ces traits monogéniques la capacité de ne pas donner un phénotype majeur (Casanova JL & Abel L. 2007)

Spectre d'efficacité souvent plus étroit que chez l'animal et tendance à la perte du phénotype de sensibilité à l'infection avec le temps

# TLRs et signalisation associée

## TLR, NF-kappaB, infections pneumococciques... et autres

NEMO

NF-kappaBIA

**IRAK-4**

**Myd88**

(Revue: Picard C et coll. 2010. Medicine)

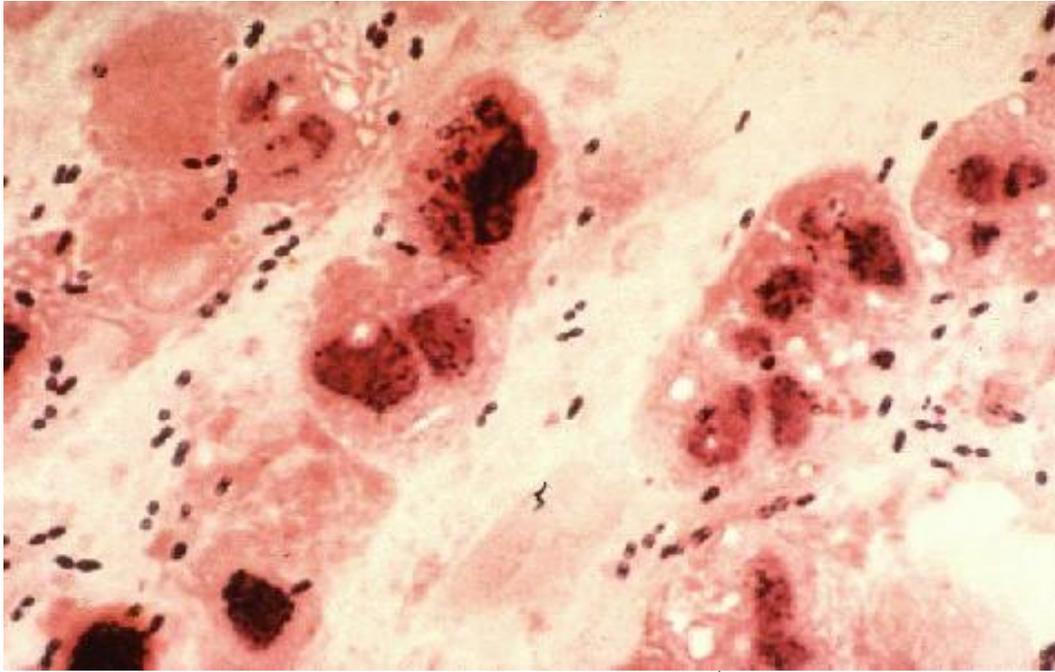
Outre ces mutations rares, il existe des polymorphismes associés à des gènes de la voie TLR-NF-kappaB en relation avec des phénotypes de sensibilité aux agents infectieux.

Polymorphisme dans TIRAP = sensibilité aux infections pneumococciques

Et à d'autres bactéries Gram +, Gram -, tuberculose et paludisme

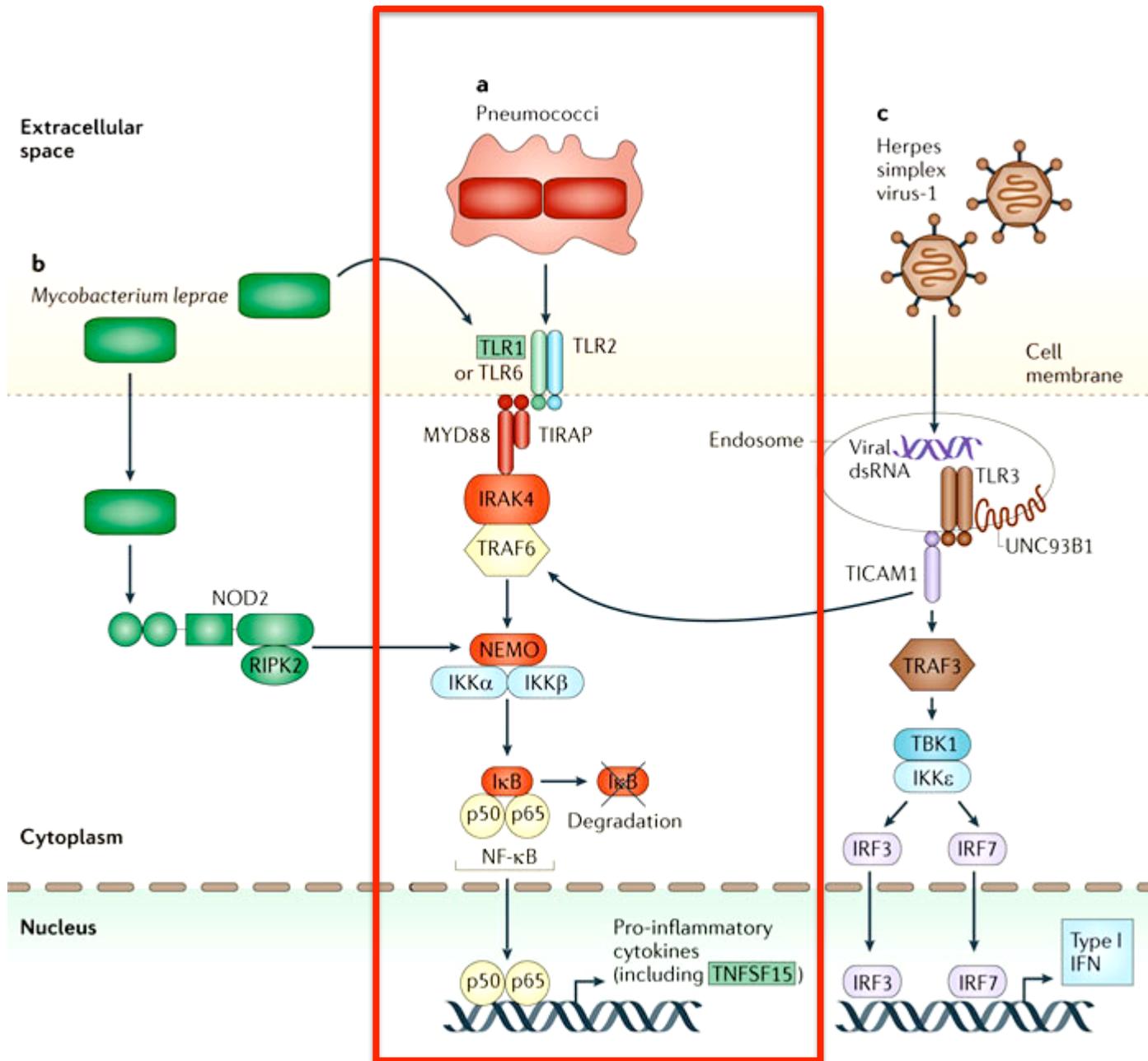
(Khor CC et coll. 2007. Nat Gen, Mish EA & Hawn TR. 2008. Clin Sci).

Les hétérozygotes répondent à 50% au LPS = allèle de protection contre le choc septique (Ferwerda B et coll. 2009. PNAS)

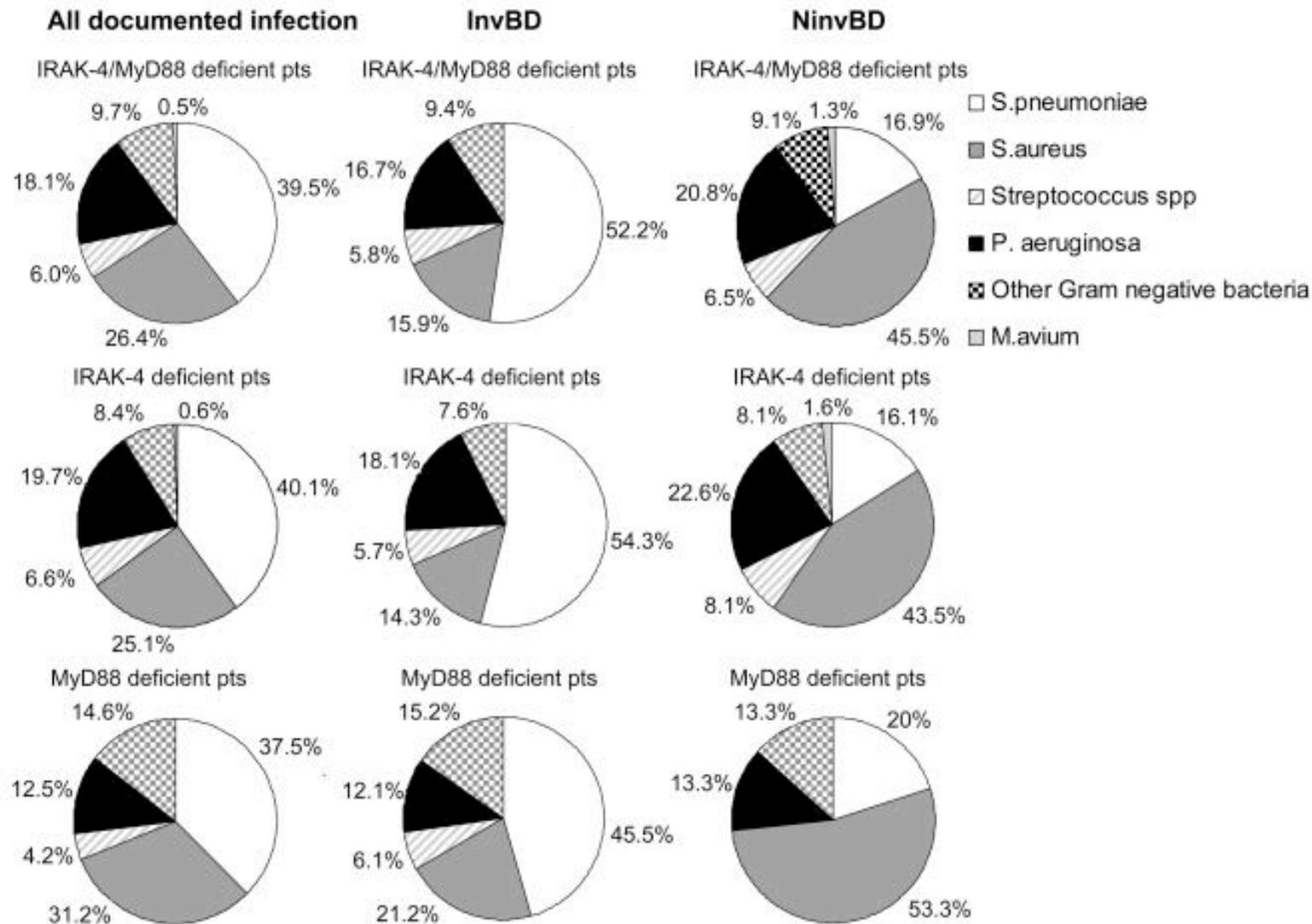


*Streptococcus pneumoniae*



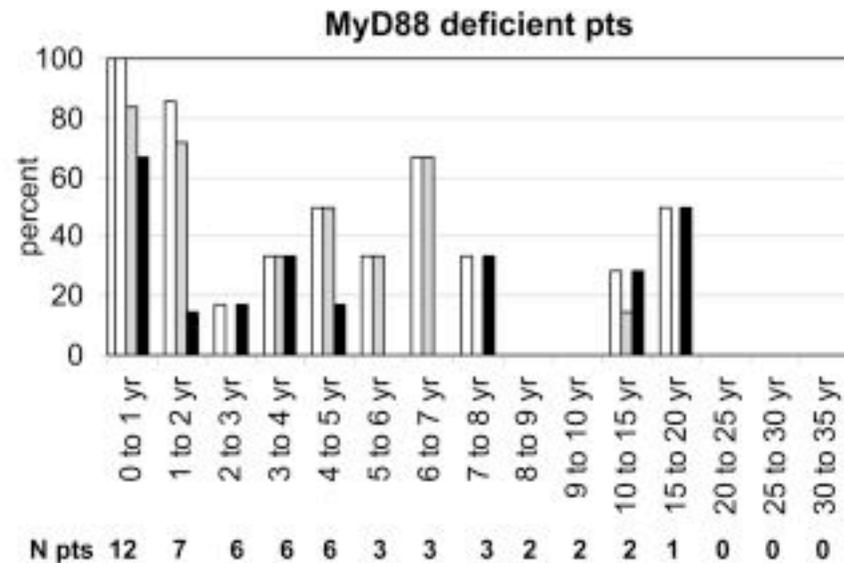
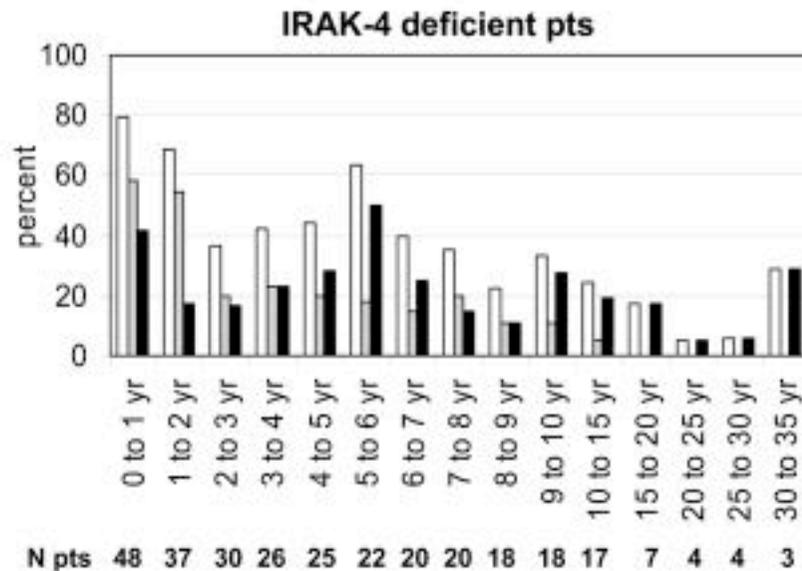
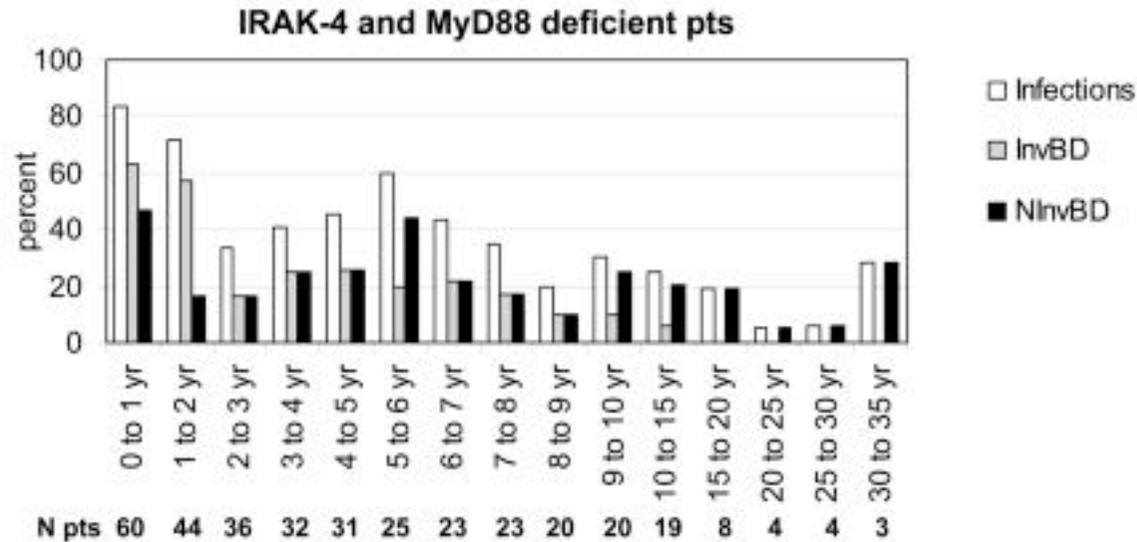


# Pathogènes isolés chez les patients présentant une mutation IRAK-4 / MyD88



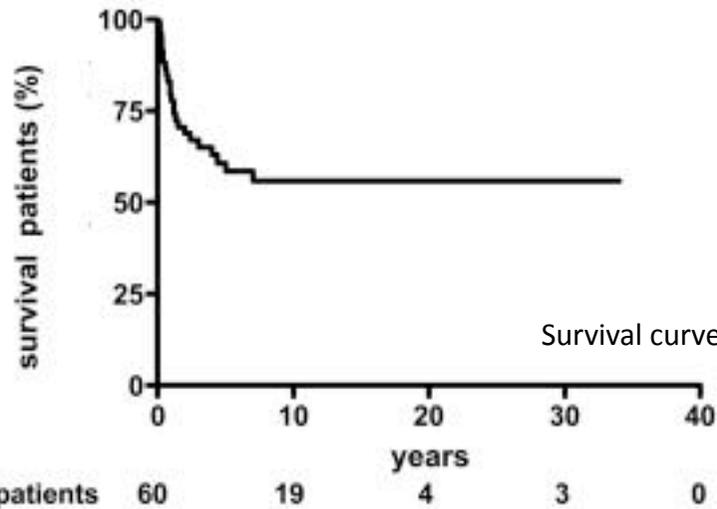
# Taux annuel d'infections par malade (IRAK-4 / Myd88)

Nb de malades présentant au moins une infection par an / nb total de malades

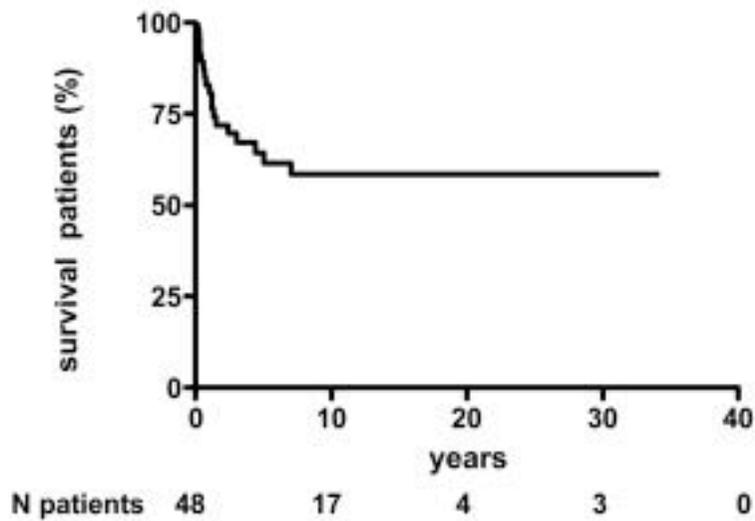


# Schéma de mortalité des malades IRAK-4 / MyD88

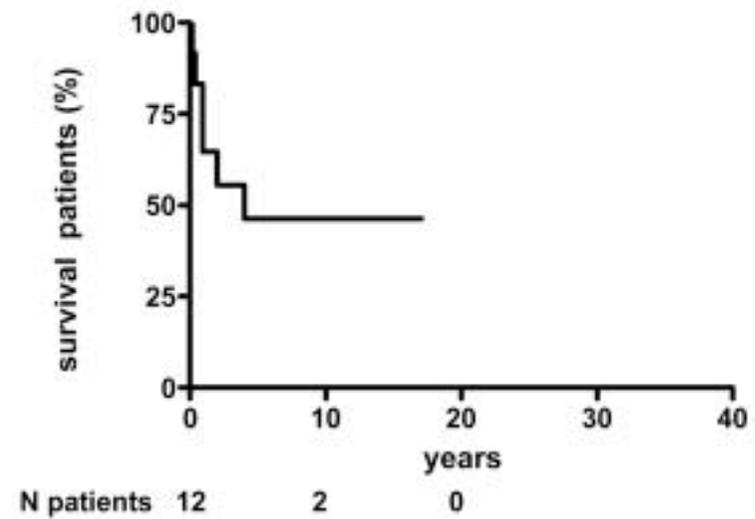
IRAK-4 and MyD88 deficient pts



IRAK-4 deficient pts



MyD88 deficient pts



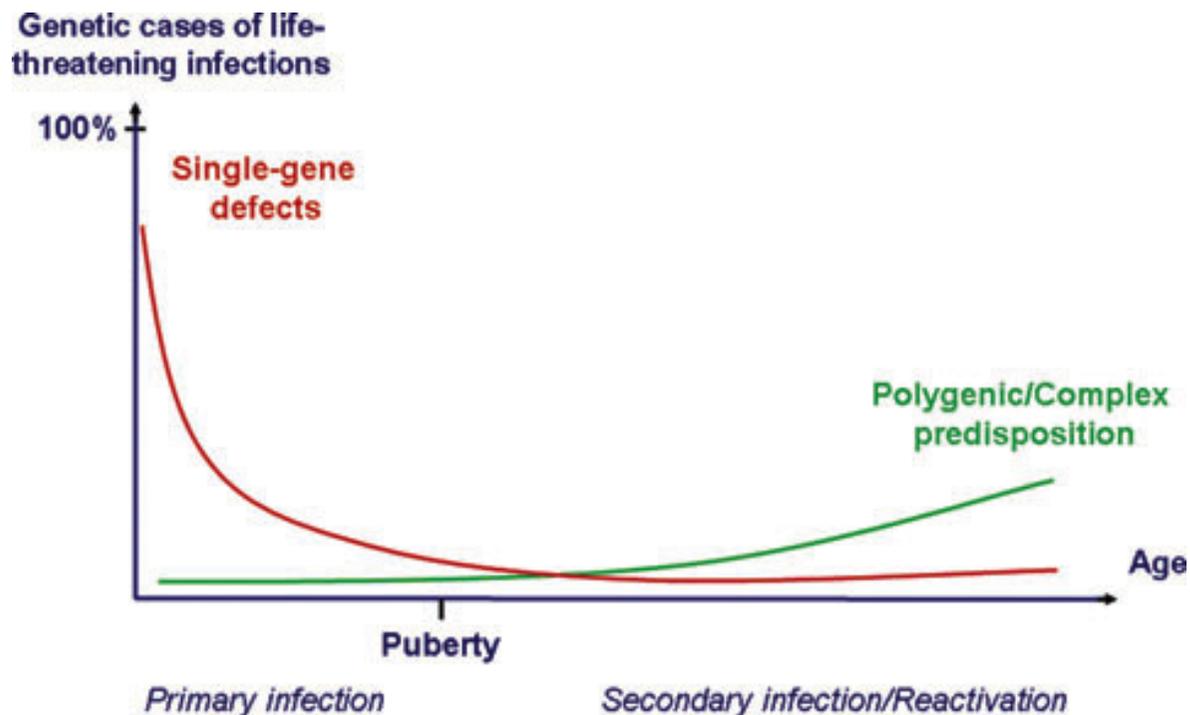
ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES

Issue: The Year in Human and Medical Genetics, 2010

Life-threatening infectious diseases of childhood:

single-gene inborn errors of immunity?

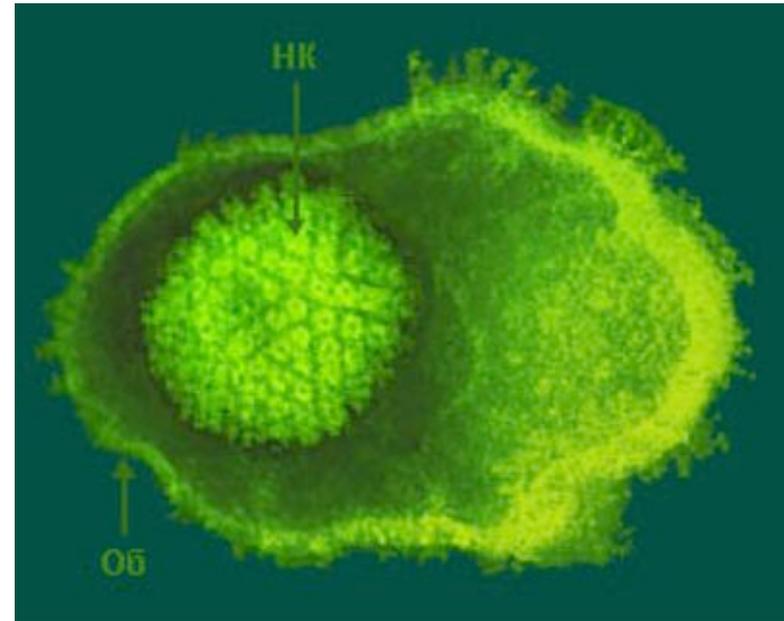
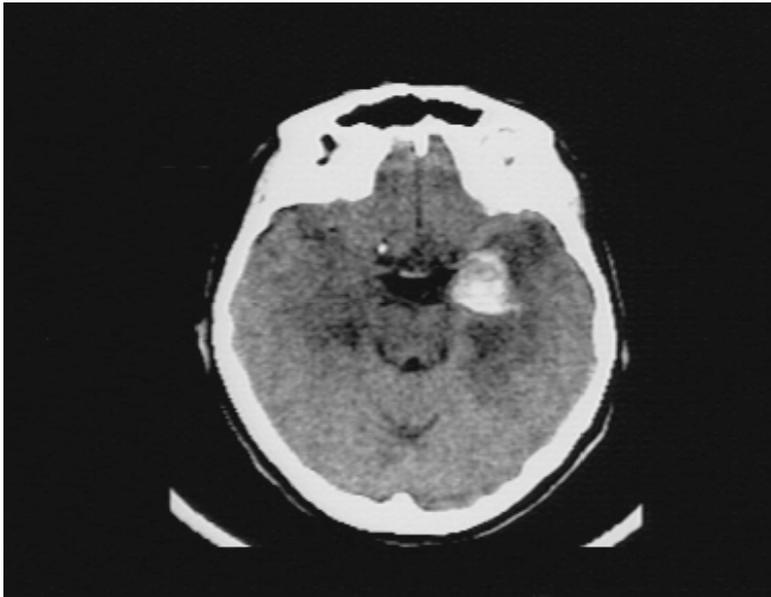
Alexandre Alcaïs, Lluís Quintana-Murci, David S. Thaler, Erwin Schurr, Laurent Abel, and Jean-Laurent Casanova



Hypothèse: des variants monogéniques contribuent de manière importante à la survenue d'infections (primo-infections) sévères, voire mortelles, chez l'enfant.

En contraste, la prédisposition à des infections sévères chez l'adulte, résultant d'infections secondaires ou de la réactivation d'infections latentes, est moins dépendante de ces traits monogéniques et répond à des schémas génétiques complexes, polygéniques, intégrant des altérations épigénétiques.

# Encéphalopathie herpétique



L'encéphalite herpétique est une complication rare de l'infection par le virus de l'Herpes simplex 1 (HSV1), infection habituellement inoffensive et souvent asymptomatique qui touche 80% des jeunes adultes dans le monde. Elle peut prendre la forme d'une angine lors de la primo-infection et d'un bouton de fièvre lors des récurrences.

**L'encéphalite herpétique** touche environ une personne sur 250 000 par an, souvent des enfants lors de la primo-infection virale. Elle était mortelle dans 70% des cas avant l'avènement des premiers traitements anti-viraux dans les années 80 (acyclovir). Malgré la survie de la plupart des enfants grâce à ce traitement, beaucoup gardent des séquelles neurologiques graves.

# TLRs et signalisation associée

## **TLR3-IFN et encéphalite herpétique**

HSV-1 est une cause fréquente d'infection chez l'enfant, allant de l'infection

Asymptomatique à l'angine herpétique.

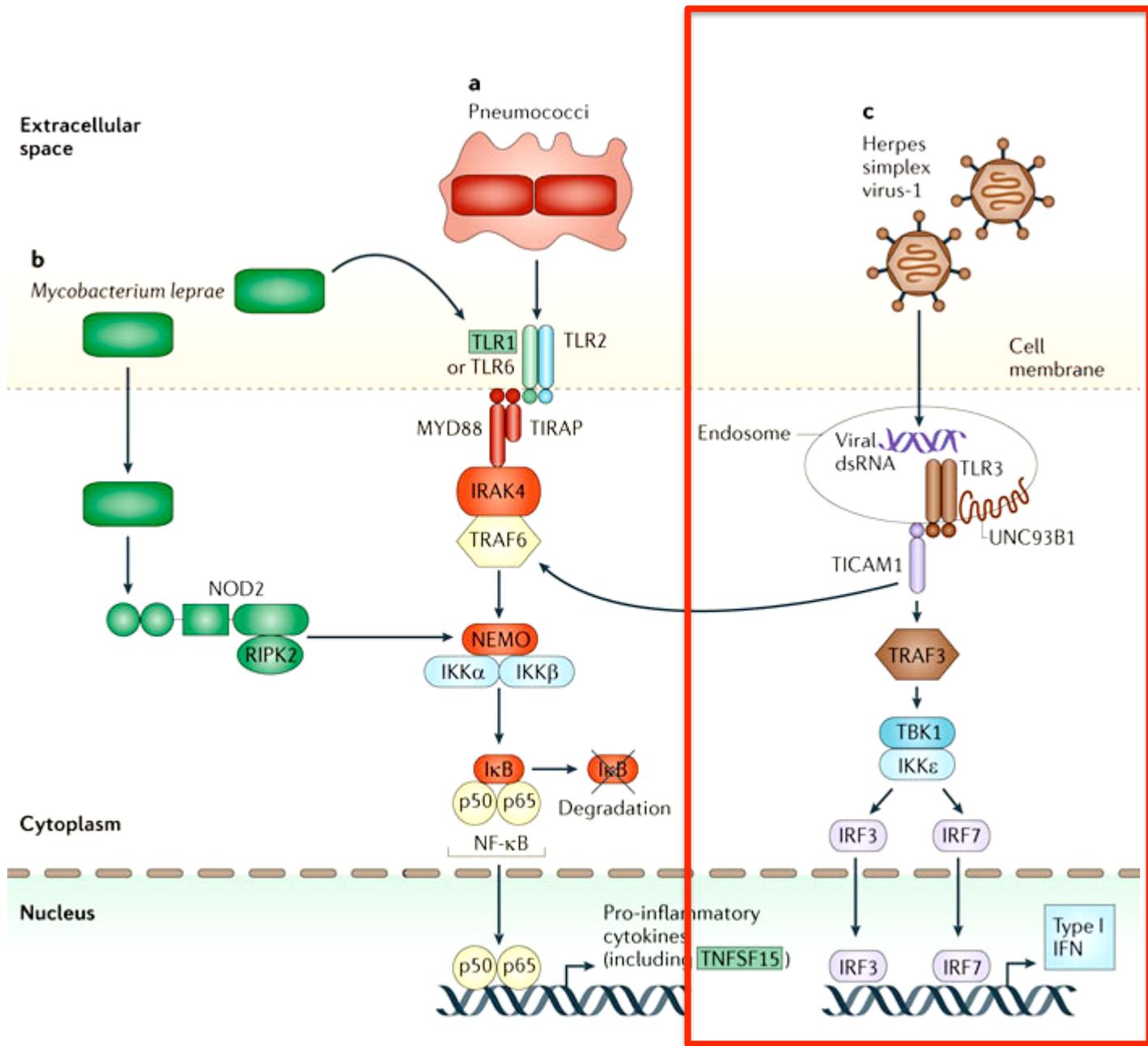
Une forme gravissime, l'encéphalite herpétique, ne se développe que rarement

Trois mutations identifiées:

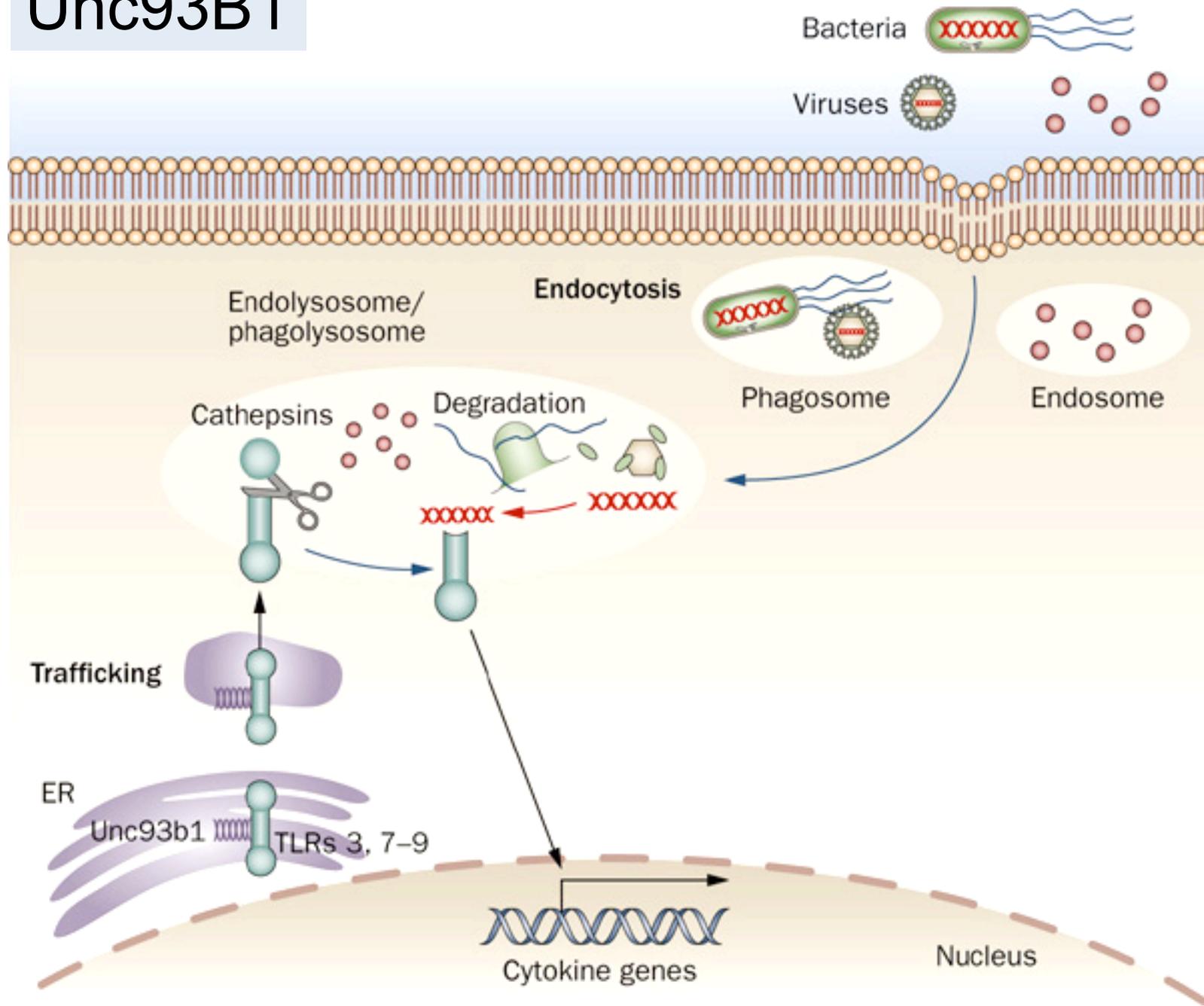
UNC93BI (Casrouge et coll. 2006. Science)

TLR3 (Zhang ZY et coll. 2007. Science)

TRAF3 (Perez de Diego R et coll. 2010. Immunity)



# Unc93B1



## Sensibilité génétique aux maladies infectieuses et médecine translationnelle

### **Plus fort potentiel actuel = pharmacogénétique / pharmacogénomique**

Hypersensibilité à l'Abecavir dans le traitement de l'infection VIH

Association avec allèle HLAB\*5701. Variant dans le sillon de liaison peptidique de HSP70

Recherche demandée avant initiation de ce traitement

(Hallal S et coll. 2002. Lancet

Martin AM et coll. 2004. PNAS

Young B et coll. 2008. AIDS)

- L'identification de la délétion homozygote de 32 bp dans le co-récepteur CCR5 chez les sujets VIH + non progressseurs offre la possibilité d'une approche immunothérapeutique visant cette séquence pour bloquer l'endocytose du virus

(Lederman MM et coll. 2007. JAMA)

- Réponse au traitement de l'hépatite C par IFN pegylé et Ribavirine

GWAS chez différentes populations. Association avec des polymorphismes en amont du gène de l'IL-28B (Européens: 2x, Africains: 3x, Asiatiques: >3x)

(Ge D et coll. 2009. Nature). Pas suffisant pour en faire un critère de décision thérapeutique

**Futur:** anticipation / prévention / traitement du sepsis ?

Traitement de l'encéphalopathie herpétique ?

Diagnostic génétique peu probable dans l'immédiat.