

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Résumé

- Orientation:** Médecine Vétérinaire
- Titre de la thèse en français :** L'infection expérimentale de différentes lignées consanguines de souris (*Mus musculus*) par le virus Sendai révèle des degrés variables de résistance innée.
- Titre de la thèse en anglais :** Experimental infection of inbred mice (*Mus musculus*) strains by Sendai virus reveals a wide spectrum of innate resistance/susceptibility patterns.
- Candidat :** Rui Pedro BRAS MARTINS FAISCA
- Promoteur :** Professeur Daniel DESMECHT
- Département et Service :** Département de Morphologie et Pathologie, Service de Pathologie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique
- Date de la défense publique :** 30 mai 2007
- Composition du Jury:** Profs. N. Antoine, T. Art, C. Clercx, F. Coignoul, F. Crespeau, D. Desmecht, M. Georges, P. Leroy, E. Thiry et Drs M. Draye et P. Kerkhofs.

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

Lorsque je suis arrivé à Liège, les activités scientifiques menées dans le laboratoire consistaient à essayer d'identifier des gènes candidats dont les différents allèles exerceraient une influence sur la résistance/sensibilité des animaux contre les maladies infectieuses. Précédemment, plusieurs résultats s'étaient accumulés, qui suggéraient que des facteurs génétiques étaient capables d'influencer le contrôle des maladies infectieuses, tant du point de vue de l'ampleur des niveaux d'infection mesurés que de la sévérité clinique de la maladie induite. Deux gènes étaient intensivement étudiés au laboratoire (*Mx* et *OAS*) en raison de leur potentiel théorique d'interférence avec le cycle répliatif de certains virus responsables de pneumonies bovines.

Dans ce contexte, mon travail a consisté à engager un processus de longue haleine visant à identifier de nouveaux gènes impliqués dans la résistance contre les Paramyxovirus. La famille des *Paramyxoviridae* inclut une série de virus pathogènes pour les animaux comme, par exemple, le virus parainfluenza-3 des bovins, le virus respiratoire syncytial des bovins, le virus de Newcastle, le virus de Carré, etc. L'identification de gènes contrôlant la réponse de l'hôte aux Paramyxovirus devrait permettre, à terme, d'élucider les processus physiopathologiques qui affectent la relation hôte-pathogène et donc la sévérité clinique des paramyxoviroses.

D'autres expériences réalisées précédemment dans le laboratoire avaient démontré que toute extrapolation d'un résultat obtenu chez la souris à une autre espèce était extrêmement risquée

si ces résultats émanaient d'une infection par un virus hétérologue. Pour éviter ce biais toujours possible, nous avons décidé de modéliser les paramyxoviroses en général en utilisant le virus Sendai (SeV) parce que, d'une part, la souris est son hôte naturel et que, d'autre part, ce virus est l'archétype de sa famille taxonomique, comme l'atteste l'observation que la plupart des propriétés biochimiques, moléculaires et biologiques associées aux *Paramyxoviridae* émanent d'expériences utilisant SeV. Dans ce contexte et avec cet objectif en tête, ma thèse a été divisée en cinq étapes successives.

RÉSULTATS

Dans le but de standardiser un modèle d'infection par le SeV, la première étape a consisté à déterminer le volume idéal d'inoculum permettant d'obtenir une déposition pulmonaire homogène

chez la souris, reproductible, ne provoquant pas de conséquence fonctionnelle/morphologique retardée et inoffensif. Deuxièmement, nous avons développé et validé un modèle d'infection respiratoire chez la souris par le SeV qui utilise des procédures sophistiquées permettant un suivi quantitatif de la sévérité et de la progression de la maladie induite. Ensuite, nous avons comparé la maladie induite par un inoculum standard entre six souches de souris consanguines les plus distantes possibles sur un plan génétique sur base des données généalogique et phylogénique disponibles. L'application de ces procédures a révélé des différences de résistance/sensibilité très significatives entre les différentes lignées. Plus spécifiquement, la souche 129/Sv est très sensible tandis que la souche BALB/c est particulièrement résistante au virus, cette dernière montrant une maladie asymptomatique restreinte à l'épithélium des voies respiratoires, sans impact fonctionnel, avec une infiltration discrète de cellules mononucléées, dans laquelle la réplication virale est réprimée et le virus rapidement éliminé. La quatrième étape de la thèse a consisté à mettre en oeuvre une série de croisements dirigés utilisant les souches 129/Sv et BALB/c dans le but de décrire le mode de transmission du phénotype résistant et, ultérieurement, de se donner les moyens d'identifier le ou les gènes sous-jacents. En pratique, cette étude a conduit à la création d'une collection d'ADN génomique provenant des deux souches parentales extrêmes en termes de sensibilité (129/Sv) et de résistance (BALB/c) et de leurs descendances F1 et F2. Chacun des ADN de cette collection est associé à un portefeuille de valeurs phénotypiques qui sont des estimateurs de la résistance que

la souris concernée a opposé au SeV. Cette collection nous a permis d'établir que la transmission du phénotype de résistance était autosomale, sans *imprinting* et repose sur deux gènes au moins. Nous espérons que, entre des mains expertes, notre collection permettra d'identifier les gènes dont les allèles contribuent à la résistance spectaculaire de BALB/c. La dernière étape de notre travail a consisté à mettre notre modèle en oeuvre pour établir si le récepteur TLR4 intervenait dans la physiopathologie des Paramyxoviroses. Comme le rôle de ces récepteurs/senseurs avait déjà été exclu pour le SeV, nous avons utilisé un autre virus de la même famille et homologue pour la souris, le PVM (pour *pneumonia virus of mice*). Ce travail a démontré que, à l'inverse de ce que des modèles hétérologues avaient révélé dans le passé, le récepteur-senseur TLR4 ne joue pas de rôle dans la physiopathologie des paramyxoviroses.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

The perspectives open in the end of the research work presented here repose under three items : (i) the development of a murine model of Paramyxovirus infection in which the level of standardisation allow a quantitative assessment of disease severity and progression ; (ii) the revelation of highly significant differences in susceptibility to SeV infection between distinct strains of mice and (iii) the gathering of a genomic DNA bank associated to a corresponding phenotype. Several virus-resistant genes have been identified in the past by using the mouse-virus system. The *Mx*, the *Hv2*, the *Flv*, the *Cmv1* and so on, are only a few examples of genes first discov-

ered in mice that were later proven to be also responsible for the host-resistance against virus infection in other species. This work however suggests that resistance to SeV is not underlied by the viral resistance loci identified so far, opening new hopes to the discovery of new genes.

The gathering of a genomic DNA collection from the parental extreme lines in terms of susceptibility (129/Sv) and resistance (BALB/c) and their F1 and F2 offspring associated with a portfolio of phenotypic values that are estimators of the resistance each mouse opposed to the SeV, will allow the detection of those genes of which the alleles contribute, at least in part, to the spectacular resistance of BALB/c. Study of the genomic organization and content of widely divergent vertebrate species has shown a remarkable degree of evolutionary conservation, which enables meaningful cross-species comparison and analysis of newly discovered genes. So we believe that our work will in the future, expand our understanding of human and domestic animals immune defense against the paramyxoviruses, since the corresponding genes are prime candidates for (i) the targeted development of drugs for the treatment of measles, mumps, parainfluenza, Nipah and Hendra viruses-dependent diseases, and (ii) the identification of polymorphism that might underlie susceptibility/resistance to these diseases in humans and domestic animals.

Besides that, the success of this model, in enabling the detection of differences in severity of an infectious disease to be explained in terms of genetic background, has already allowed the development of parallel studies using other viruses such as the PVM and influenza A.

REFERENCES

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

- FAISCA P, DESMECHT D. Sendai virus, the mouse parainfluenza type 1: a longstanding pathogen that remains up-to-date. *Res. Vet. Sci.*, 2007, **82**, 115-125.
- FAISCA P, BUI TRAN ANH D, THOMAS A, DESMECHT D. Suppression of pattern-recognition receptor TLR4 sensing does not alter lung responses to pneumovirus infection. *Microbes Infect.*, 2006, **8**, 621-627.
- FAISCA P, BUI TRAN ANH D, DESMECHT D. Sendai virus-induced alterations in lung structure/function correlate with viral loads and reveal a wide resistance/susceptibility spectrum among mouse strains. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2005, **289**, L777-L787.