

Prédisposition Génétique aux maladies infectieuses chez l'homme; L'exemple des infections mycobactériennes

EVIDENCE POUR LE ROLE DE FACTEURS GENETIQUES

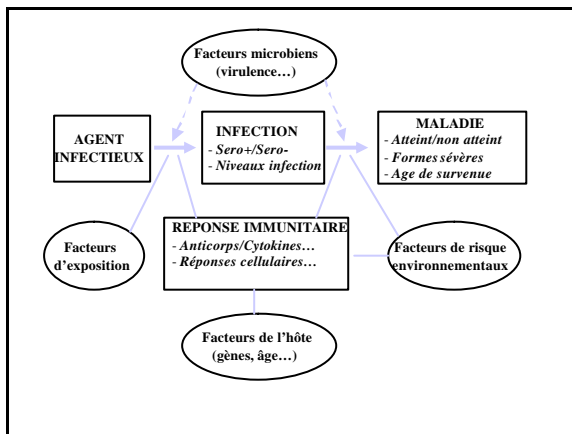
OBSERVATIONS EPIDEMIOLOGIQUES

Grande variabilité individuelle de réponse à un agent infectieux
Concentration familiale (rôle des facteurs environnementaux)
Ressemblance ethnique
Etudes de jumeaux (MZ vs. DZ)

MODELES EXPERIMENTAUX

Contrôle infection, facteurs de milieu
Utilisation souris congéniques, recombinantes, KO

Un gène (chromosome 1) contrôle la résistance naturelle à l'infection par
Leishmania donovani, *Mycobacterium lepraemurium*...
→ *Nramp1* (Natural resistance associated macrophage protein)



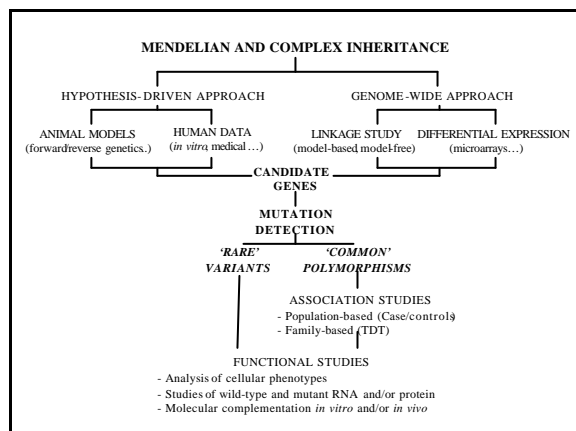
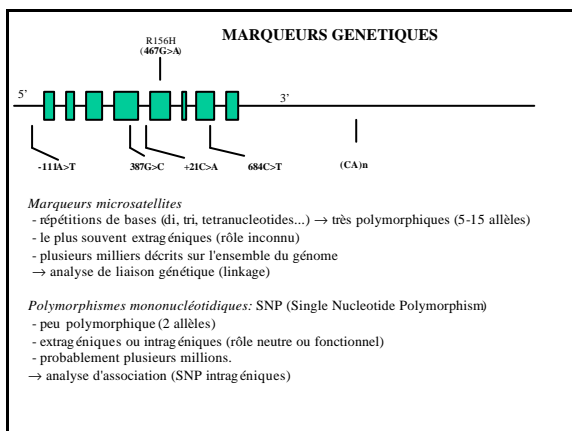
METHODES DE RECHERCHE CHEZ L'HOMME

® GENETIQUE MENDELIENNE

- Phénotypes rares et sévères (infection mycobactérienne disséminée)
- sur de petits échantillons (patients/familles)
- pour identifier les mutations causales

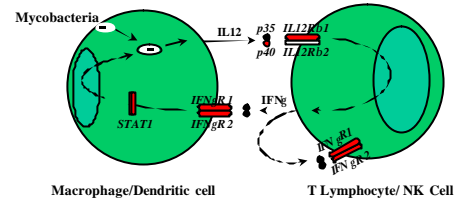
® GENETIQUE EPIDEMIOLOGIQUE

- Phénotypes communs (tuberculose pulmonaire, Épre...)
- sur de grands échantillons (populations/familles)
- combinant: . information épidémiologique (facteurs environnementaux)
- . information génétique (liens familiaux, marqueurs)

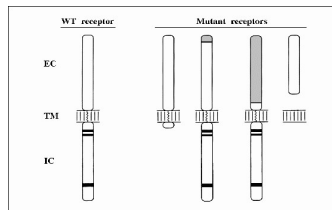


PREDISPOSITION MENDELIIENNE AUX INFECTIONS MYCOBACTERIENNES

- Infections disséminées par des mycobactéries environnementales ou BCG
- Pas de déficit immunitaire connu
- Rares ($10^5 - 10^6$) mais caractère familial fréquent (consanguinité)
- Cinq gènes identifiés jusqu'à présent (immunité IL12 - IFN γ)
- Forte corrélation entre la sévérité des manifestations cliniques et la sévérité du déficit génétique

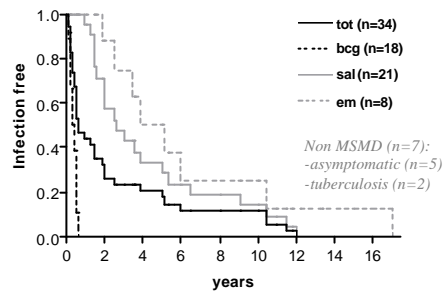


Déficits en IFN γ R1

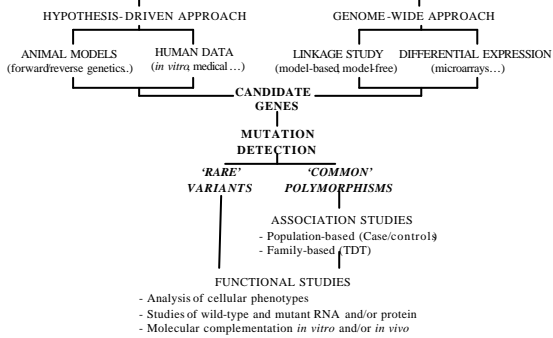


Hérédité	AD	AR	AR	AR
Expression en surface	+++	+	+	-
Fixation de l'IFN γ	+	+/-	-	-
Défaut de signalisation	Partiel	Partiel	Complet	Complet

Infectious diseases in IL-12R β 1 deficiency among 29 probands and 12 affected siblings



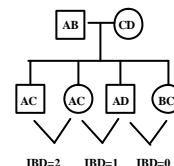
MENDELIAN AND COMPLEX INHERITANCE



ANALYSE DE LIAISON GENETIQUE: PRINCIPES

Tester si des apparentés avec une ressemblance phénotypique (ex. malades) partagent plus d'allèles hérités d'un ancêtre commun qu'attendu du fait de leur lien de parenté

Une approche classique: méthode des paires de germains (sib-pairs)



Basée sur les allèles parentaux partagés identiques par descendance (IBD)

Distribution attendue pour une paire de germains
 IBD = 2 : 0.25
 IBD = 1 : 0.5
 IBD = 0 : 0.25

Phénotypique: méthode des paires de germains malades

→ Recueil d'un échantillon de paires de germains malades avec leurs valeurs IBD
 → Liaison quand excès d'allèles IBD partagés par des germains malades

ETUDES D'ASSOCIATION : PROTOCOLES

Essentiellement dans une stratégie de gènes candidats
ex: étude de polymorphismes mononucléotidiques @ SNP avec 2 allèles : A, G

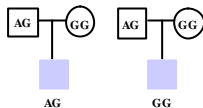
Etudes en populations:

→ Etudes cas/témoins comparant la distribution de A entre malades et témoins.

Etudes en familles:

Evite les problèmes liés au choix des témoins ou à des stratifications de population

Exemple: Test de Déséquilibre de Transmission (Spielman et al, Am J Hum Genet, 1993)

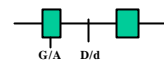


Si A est le variant fonctionnel D ou est en déséquilibre de liaison avec D, il aura été transmis de parents AG à leurs enfants malades avec une probabilité $\neq 0.5$

ETUDES D'ASSOCIATION : INTERPRETATION

Interprétation d'une association positive entre une maladie et un allèle A:

- A est l'allèle délétère D (variant fonctionnel) impliqué dans la maladie



- Déséquilibre de liaison (LD) entre A et D

. Liaison étroite entre le locus marqueur et le locus maladie (dans le même gène)

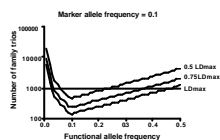
. f_A est préférentiellement associé à D [$f_{req}(A-D) > f_{req}(A) \times f_{req}(D)$]

	pas de LD	LD complet ($f_A > f_D$)	LD complet ($f_A = f_D$)
A-D	$f_A \times f_D$ (0.005)	f_D (0.05)	$f_A = f_D$
A-d	$f_A \times f_d$ (0.095)	$f_A - f_D$ (0.05)	0
G-D	$f_G \times f_D$ (0.045)	0	0
G-d	$f_G \times f_d$ (0.855)	f_G (0.9)	$f_G = f_d$

ex. $f_A = 0.1$, $f_D = 0.05$

ETUDES D'ASSOCIATION : INTERPRETATION

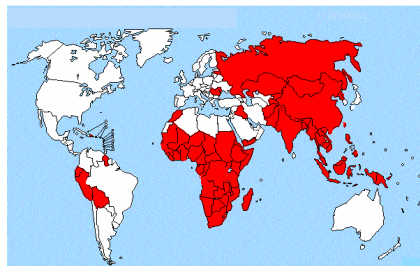
@ Puissance très dépendante:
- importance du déséquilibre
- fréquences de A et D



- Stratification de populations (mélange de populations avec \neq fréquences alléliques et \neq fréquences de maladie) @ Intérêt des études basées sur des familles

- Problème tests multiples

TUBERCULOSE



Pays avec une incidence > 0.001 en 1999

- 8 millions nouveaux cas et 1.9 millions décès par an
- ~ 90% des sujets infectés ne développent pas la maladie

GENETIQUE ET TUBERCULOSE

Il existe des cas de tuberculose mendélienne

- 3 cas avec défaut complet de *IL12RB1*
- 1 cas avec défaut partiel de *IFNGR1*

Un seul criblage complet publié (Tuberculose pulmonaire):

85 paires provenant de Gambie, 88 d'Afrique du Sud (Bellamy et al, PNAS, 2000)
→ Deux régions avec suggestion de liaison ($p \sim 10^{-3}$): 15q and Xq

Approches gène candidat:

- HLA
- *IL12RB1*
- *NRAMP1*
- autres

TUBERCULOSIS AND *IL12RB1*

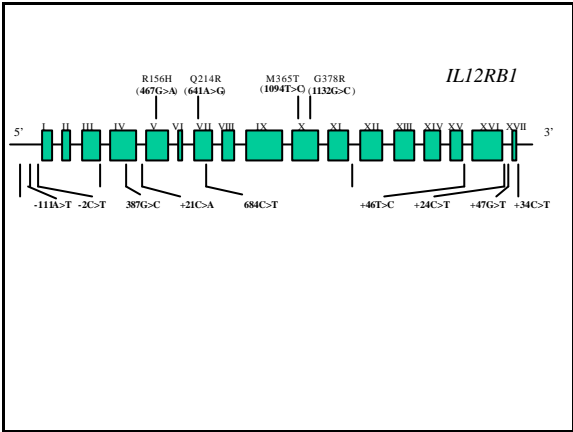
Family-based association study in Morocco:

→ 101 families including 157 offspring >15 years old with PTB (culture +)

Strategy:

- Sequencing of promoter, exons and flanking intron regions in 40 patients
→ Search for null mutations and common polymorphisms >5%

- Genotyping of common polymorphisms in the whole sample
→ Test for association with PTB



TUBERCULOSIS AND *IL12RB1*

Association with two promoter polymorphisms in strong LD

- especially in the families of Arabic origin ($p < 0.004$ for $-2C > T$)
- frequency of the T allele ~ 0.10
- Odds ratio for CT or TT vs. CC = 3.80 [1.62-10.19]
- T is an uncommon allele at position -2 (consensus site)

→ Functional studies

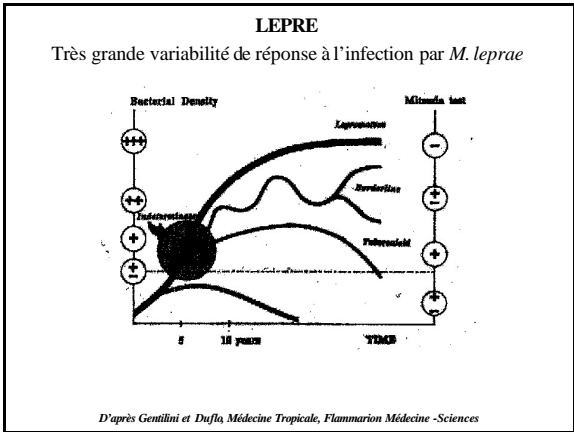
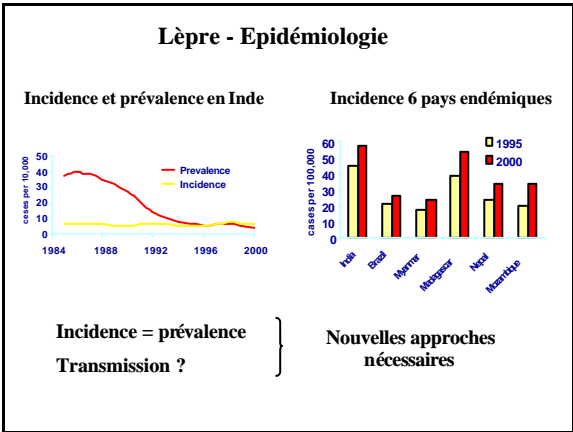
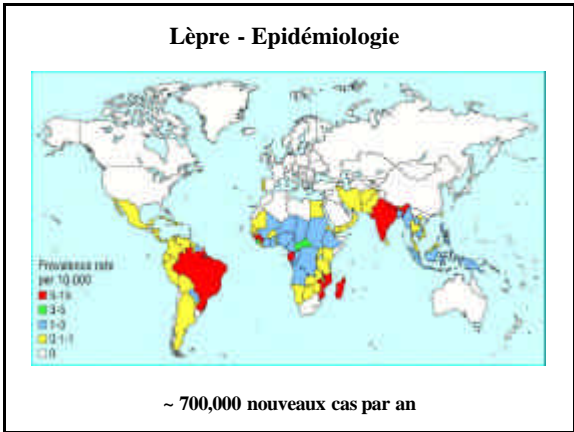
ETUDES DE LIAISON : TUBERCULOSE - *NRAMP1*

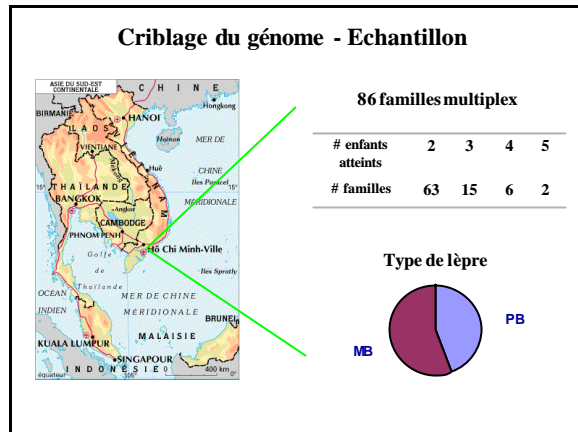
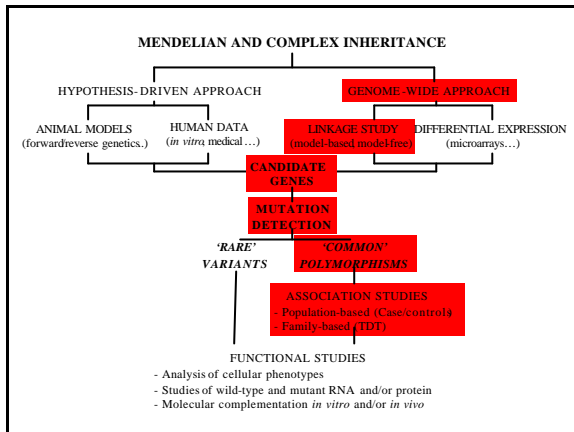
NRAMP1: Homologue humain du gène murin *Nramp1*

Etude par analyse modèle-dépendante (lod-score classique) d'une grande famille d'amérindiens Canadiens (67 membres, 24 TB) après une épidémie:

→ Liaison significative ($p \sim 10^{-5}$) avec la région *NRAMP1* (Greenwood et al. Am J Hum Genet, 2000) :

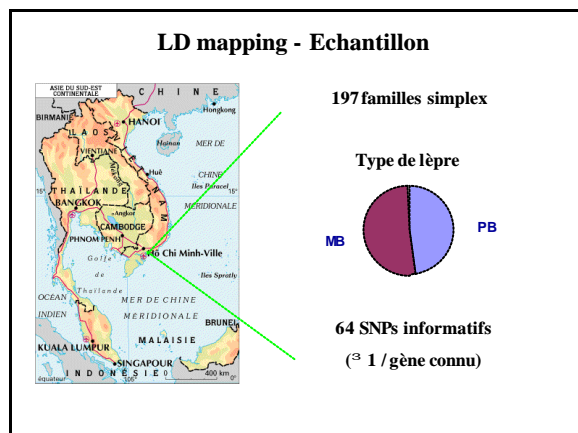
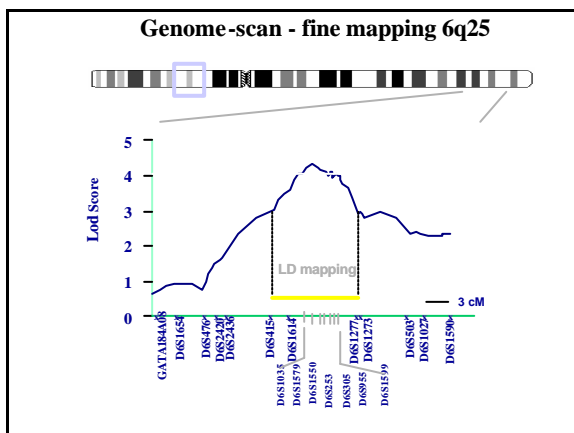
- allèle dominant (0.05) prédisposant à la tuberculose avec un risque relatif de 10
- pénétrance dépend de l'âge, exposition, vaccination
- pas de démonstration du rôle direct de *NRAMP1*

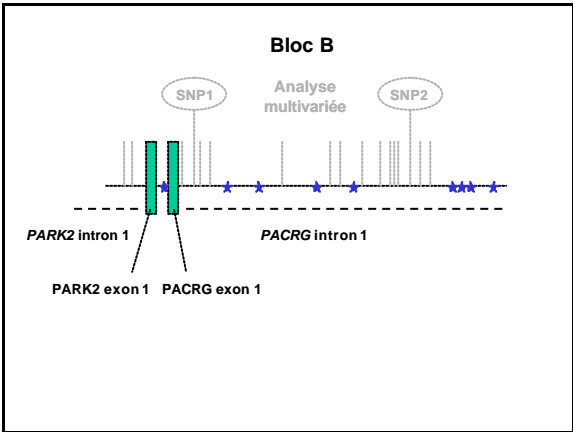
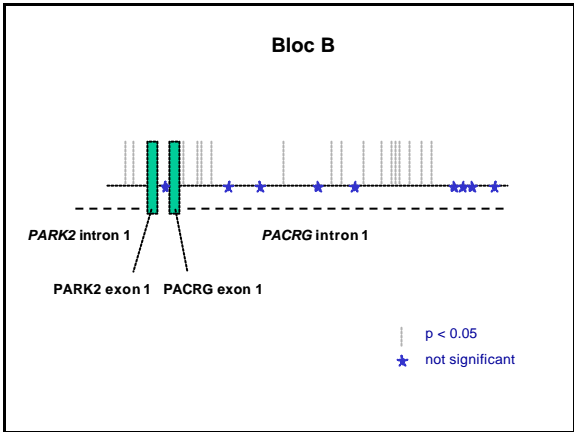
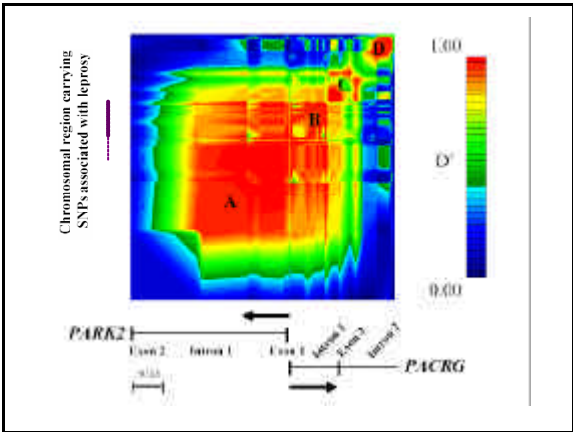
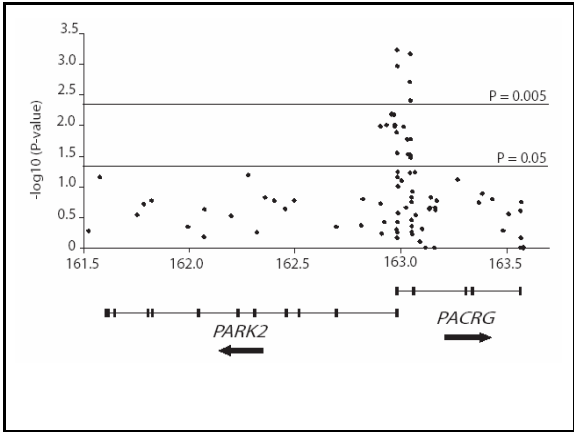
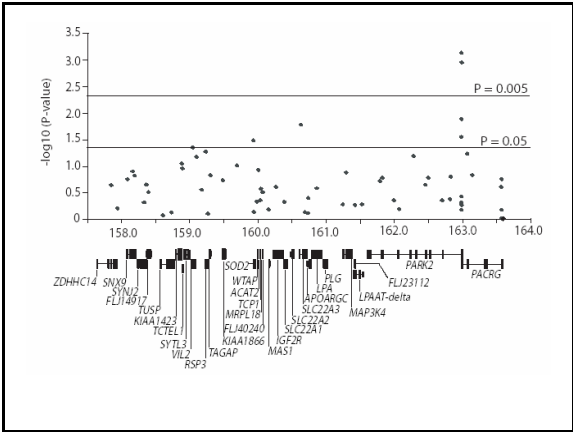




- ### Criblage du génome - Design
- **Carte primaire:**
 - 388 microsatellites (CHLC screening set)
 - Distance inter-marqueurs ~ 10 cM
 - **Méthode MLB:**
 - Modèle indépendante
 - Orientée fratrie
 - Distribution asymptotique valide
 - Statistique de test = lod score
- ➡ 8 régions p-value < 0.01 (lod score > 1.18)

- ### Criblage du génome – Fine mapping
- 89 microsatellites supplémentaires dans les 8 régions
 - Information content > 0.95





		OR*	CI 95%	P-value
Snp 1	C	1.00	-	-
Snp 2	T			
C	T	3.23	[1.34 - 7.82]	0.009
	T			
C	T	5.28	[2.06 - 13.55]	0.0005
	C			

* Estimé par régression logistique conditionnelle

Etude de répliation au Brésil



587 cas – 388 contrôles

Même distribution ethnique



13 SNPs significatifs

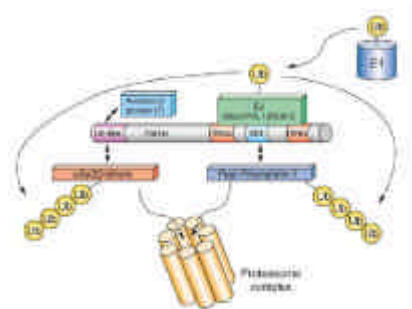
Marker	Vietnam		Brazil	
	Risk allele	p-value	Risk allele	p-value
rs2803104	A	0.011	-	ns
10Kb_5_2	T	0.013	T	0.008
e01(-697)	G	0.013	G	0.0002
SNP 1	T	0.0006	T	0.0006
e01(-3024)	C	0.029	-	ns
e01(-3800)	G	0.001	G	0.003
28Kb_2_1	T	0.017	-	ns
28Kb_4_1	A	0.002	A	0.0009
rs1514343	T	0.03	T	0.023
rs1333955	C	0.0007	C	0.016
SNP 2	C	0.004	C	0.0002
40Kb_F60	A	0.034	A	0.015
40Kb_F706	G	0.017	-	ns

Analyse
Multivariée
0.0000005

PARK2 / PACRG

PARK2	PACRG
1.4 Mb - 12 exons - 465 AA	0.5 Mb - 6 exons - 257 AA
Shared regulatory region	
Ubiquitin Protein E3 Ligase (Synphilin 1 / Pael-R / α -synuclein/ CyclinE ..)	Linked to ubiquitin- proteasomesystem
Juvenile Parkinson AR	?

PARK2 - Ubiquitin Protein E3 Ligase



Giasson and Lee, *Neuron*, 2001

Conclusion Lèpre

- 1^{er} clonage positionnel dans une maladie infectieuse commune
- Nouveau pathway: ubiquitination/dégradation protéique
- Lien maladies infectieuses – maladies neurodégénératives ?

® Etudes fonctionnelles

Prédisposition génétique aux mycobactéries → un spectre continu?

- 1) Mutations rares à pénétrance quasi complète
 - bases moléculaires établis
 - corrélation génotype/phénotype
- 2) Polymorphismes fréquents avec effets modérés (RR ~2-4):
 - validation du rôle causal difficile
 - effet important au niveau de la population
- 3) Situation intermédiaire: effet gène majeur (RR ~10):
 - dans des populations particulières (isolée, sans long passé d'exposition...)
 - pour des phénotypes spécifiques (formes sévères...)

® Rôle d'un même gène dans les différentes situations?
® Importance d'une recherche combinant les différentes approches

