



Bilan des activités d'APEX pour l'année 2008

Collaborations scientifiques

Caractérisation d'un modèle animal d'infection par le virus Chikungunya

Collaboration initiée en novembre 2006 avec Pierre Roques (CEA, Service d'ImmunoVirologie, Fontenay-aux-Roses) et élargie depuis début 2008 à Andreas Suhrbier (Queensland Institute of Medical Research, Brisbane, Australie). Un projet coordonné par APEX a également été proposé au CRVOI en janvier 2008 mais refusé en l'absence d'implication d'une équipe de la Réunion.

En complément du suivi clinique et biologique assurés par le CEA, l'analyse lésionnelle systématique et l'étude de la distribution virale réalisées par APEX ont permis de valider le modèle de reproduction expérimentale de l'infection chez le macaque. Le rôle central des macrophages dans la dissémination et la persistance du virus pendant plus de trois mois post inoculation a été mis en évidence pour la première fois.

La reproduction expérimentale de l'infection chez la souris adulte est en cours.

Publications :

Roques P, **Larcher T**, Malleret B, Labadie K, Joubert C, Delache B, Brochard P, Mannioui A, Martinon F, **Guigand L**, **Dubreil L**, Lebon P, Verrier B, Lotteau V, de Lamballerie X, Suhrbier A, **Cherel Y**, Le Grand R: Chikungunya Virus Disease: Involvement of Macrophages and Dendritic Cells in a Non-Human Primate Model. *Journal of Clinical Investigation*, soumis

Communications :

Larcher T, Labadie K, Delache B, **Guigand L**, Joubert C, Le Grand R, Roques P, **Cherel Y**: Central role of macrophages in Chikungunya virus infection and persistence in an experimental macaque model. In: *7th Louis Pasteur Conference*. Paris, 2008

Labadie K, **Larcher T**, Joubert C, Delache B, Méaudre C, **Cherel Y**, Le Grand R, Roques P : Physiopathology of chikungunya virus (chikv) infection: Determination of viral replication sites and tissular reservoirs. In: *Meeting of the Australian Virology Group*, Fraser Island, 2008

Roques P, Joubert C, Malleret B, Delache B, Brochard P, Mannioui A, Martinon F, Lebon P, Verrier B, Lotteau V, De Lamballerie X, **Cherel Y**, **Larcher T**, Aumont G, Le Grand R : Chikungunya Reunion outbreak: experimental infection of macaques as a model of the acute pathology. Communication orale au *Meeting of the Australian Virology Group*, Fraser Island, 9-13 décembre 2007

Roques P, Joubert C, Malleret B, Delache B, Brochard P, Calvo J, Morin J, Mannioui A, Martinon F, Lebon P, Verrier B, Lotteau V, de Lamballerie X, **Cherel Y**, **Larcher T**, Aumont G, Le Grand R. Physiopathologie de l'infection à Chikungunya : infection expérimentale du macaque par la souche ChikV OPY1 isolée d'un patient réunionnais. Communication orale au *Colloque Chikungunya and arbovirose*, Réunion, 3-4 décembre 2007

Roques P, Joubert C, Delache B, Calvo J, Morin J, Martinon F, Lebon P, **Cherel Y**, **Larcher T**, Aumont G, de Lamballerie X, Le Grand R. Effet adverse d'un traitement à la chloroquine sur l'infection à Chikungunya dans le modèle macaque/ChikV OPY1. Communication orale au *Colloque Chikungunya and arbovirose*, Réunion, 3-4 décembre 2007.

Potentiel pathogène des virus Influenza aviaires chez le poulet et le canard

Étude initiée en avril 2007 avec Nadia Naffakh (Institut Pasteur, Génétique moléculaire des virus respiratoires, Paris) et Daniel Marc (Département : Santé animale, Unité : IASP, Nouzilly) dans le cadre d'un **PTR INRA-IP** et complétée en mai 2008 par l'obtention d'un **FRIA**.

L'analyse lésionnelle et l'étude de la distribution tissulaire du virus permettent de documenter et de comparer la pathogénicité de différentes souches virales mutantes obtenues par génétique inverse par rapport au virus sauvage. L'objectif de cette étude est de comprendre les mécanismes précoces de transmissions inter-espèces.

Caractérisation de la maladie de surcharge en polysaccharides chez le Cob Normand

Étude réalisée en collaboration avec Gérard Guérin (Département : Génétique animale, Unité LGBC, Jouy-en-Josas) de juin 2005 à janvier 2008.

L'identification des animaux atteints par examen histologique est à la base des travaux de génétique qui ont permis d'identifier le gène responsable de la maladie chez le cob. En parallèle, une caractérisation lésionnelle complète a été réalisée.

Publications :

Larcher T, Herszberg B, Molon-Noblot S, **Guigand L**, Chaffaux S, Guerin G, **Cherel Y**: Polysaccharide storage myopathy in Cob Normand draft horses. *Vet Pathol* **45**: 154-158, 2008

Herszberg B, McCue ME, **Larcher T**, Mata X, Vaiman A, Chaffaux S, **Cherel Y**, Valberg SJ, Mickelson JR, Guerin G: A GYS1 gene mutation is highly associated with polysaccharide storage myopathy in Cob Normand draught horses. *Anim Genet*, 2008

Etude de molécules vaccinales contre l'oncoprotéine HER2 chez un modèle murin

Étude initiée par Isabelle Teulon (INSERM, Unité d'Immunociblage et Radiobiologie en Oncologie, Montpellier) en juillet 2008.

L'identification histopathologique et le grading des tumeurs mammaires développées spontanément chez un modèle murin transgénique sont nécessaires à l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin contre ces tumeurs.

Différenciation des cellules souches hépatiques en cellules productrices d'insuline

Étude initiée par Juliette Cuvelier et Steffi Bosch Guérin (Département : SA, Unité : UMR707, Nantes).

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la thèse de troisième cycle de Juliette Cuvelier soutenue le 4 avril 2008 et intitulée : *Etude de la différenciation de cellules souches hépatiques en cellules productrices d'insuline : effets de la transduction des protéines Pdx-1 ou Pdx-1-VP16 dans les lignées cellulaires WB et BMEL*. Les acquisitions en microscopie confocale réalisées par APEX ont permis de montrer que pdx1 est bien internalisé dans les cellules, en suivant le signal GFP de la protéine de fusion pdx1-gfp.

Publications :

Cuvelier Delisle J, Martignat L, **Dubreil L**, Saï P, Bach JM, Louzier V, Bösch S: Pdx-1 or Pdx-1-VP16 protein transduction induces β -cell gene expression in liver-stem WB cells. *BioMed Central*, 2009, *in press*

Analyse de l'effet de différents types d'implants sur la régénération osseuse

Étude initiée par Pierre Layrolle et Guy Daculsi, U791 INSERM, Nantes.

Analyse comparée des conséquences de l'implantation de carbonates tricalciques sous forme microparticulaire ou nano-particulaire chez le lapin.

Analyse et codification des lésions de dégénérescence du disque vertébral

Étude initiée par Jérôme Guicheux, U791 INSERM, Nantes.

Analyse comparée des lésions de dégénérescence du disque intervertébral et application de la classification de Boos chez le lapin.

Clouet J, Vinatier C, Masson M, Lesoeur J, Chérel Y, Guigand L, Rannou F, Bord E, Grimandi G, Guicheux J: Phenotypic comparison of intervertebral disc cells with articular and nasal chondrocytes: towards a phenotypic signature for *annulus fibrosus* and *nucleus pulposus* cells. Communication au congrès de la Société Française de Rhumatologie, Paris, décembre 2008

Analyse immunohistochimique de l'expression de Gla protein.

Julien M, Magne D, Masson M, Rolli-Derkinderen M, Chassande O, Cario-Toumaniantz C, Cherel Y, Weiss P, Guicheux J: Phosphate stimulates matrix Gla protein expression in chondrocytes through the extracellular signal regulated kinase signaling pathway. *Endocrinology* 148: 530-537, 2007

Caractérisation de la population cellulaire infectée par le CAEV dans les tissus de l'appareil génital de la chèvre et du bouc

Etude initiée par Francis Fieni (ENVN, UPSP RSB, Nantes).

Le CAEV, lentivirus responsable d'une affection très fréquente chez la chèvre (80% du cheptel contaminé), présente un tropisme préférentiel pour la lignée monocyte-macrophage. Cependant, différentes études ont démontré *in vitro* que les cellules épithéliales sont sensibles à l'infection CAEV. Le but de l'étude est de préciser *in vivo* quel type cellulaire, selon les différentes portions de l'appareil génital de la chèvre et du bouc, est infecté par le CAEV. APEX apporte son expertise dans le choix des anticorps et des sondes fluorescentes, valide les protocoles d'immunomarquages et réalise les acquisitions en microscopie confocale. Nous avons ainsi pu montrer la présence de CAEV dans les cellules épithéliales de la corne utérine de chèvre infectée.

Publications :

Ali Al Ahmad MZ, Fieni F, Pellerin JL, Guiguen F, **Cherel Y**, Chatagnon G, Bouzar AB, Chebloune Y: Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. *Theriogenology* 69 (2008) 473-480.

Suivi au cours du temps, dans le foie, d'une substance fluorescente après son injection par voie intra-veineuse chez le rat

Prestation réalisée pour Clean Cells (SARL, Nantes).

L'objectif de l'étude consiste à suivre une substance fluorescente dans le foie de rat après son injection par voie intra-veineuse. APEX quantifie le signal fluorescent par analyse d'image, caractérise les cellules marquées par immunofluorescence et analyse les lésions hépatiques induites suite à l'administration de la substance fluorescente.

Actions de soutien et de formation

Soutien technique et méthodologique

Influence de la leptine sur le développement du porcelet nouveau né

Étude réalisée avec Jean Djiane (Dpt AlimH, Unité : NOPA, Jouy-en-Josas).

Une analyse quantitative par histomorphométrie a permis de mettre en évidence le rôle de la leptine d'une part sur la composition du tissu adipeux et d'autre part sur le développement et la maturation des tissus du nouveau né. L'ensemble de ces résultats montre l'effet bénéfique de cette hormone dans le traitement des retards de croissance.

Publications :

Attig L, Djiane J, Gertler A, Rampin O, **Larcher T**, Boukthir S, Anton P, Madec JY, Gourdou I, Abdennebi-Najar L: Study of hypothalamic leptin receptor expression in low birth weight piglets and effects of leptin supplementation on neonatal growth and development. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008

L. Attig L, **Larcher T**, A. Gertler, J. Djiane: Postnatal leptin blockage impairs neonatal development. *En cours de rédaction*

Identification des stades sexués de Babesia chez la tique

Étude réalisée avec Sarah Bonnet (Dpt : SA, Unité : BioEpAR, Nantes).

Les techniques d'inclusion et de coupe de tiques ont d'abord dues être mises au point avant de pouvoir développer une méthode d'immunomarquage des stades sexués de *Babesia* dans le repas sanguin.

Analyses sérologiques croisées entre *Babesia divergens* et *Babesia capreoli*

Étude réalisée avec Laurence Malandrin (Département : SA, Unité : UMR1300, Nantes)

APEX a réalisé les acquisitions en microscopie confocale pour étudier les croisements sérologiques entre le chevreuil et la vache.

Formation

APEX a co-organisé une formation en microscopie confocale avec la plateforme d'imagerie cellulaire et de vidéo microscopie (*INSERM, IFR 26, Nantes*).

Programme de la formation théorique (19 mai 2008, CHU, Nantes) :

La microscopie confocale : Principes et applications. *Michel Biocco (Leica Microsystems SAS)*

Méthode de préparation des échantillons. *Caroline Colombeix (IFR26, Nantes), Laurence Dubreil (APEX, Nantes)*

Microscopie confocale fibrée (Imagerie du petit animal). *Jean-Christophe Laval (Leica Microsystems SAS)*.

Programme de la formation pratique (19 au 22 mai 2008, Faculté de chirurgie dentaire, Nantes) :

Acquisition multidimensionnelles, propriétés de l'image, analyse de colocalisation, reconstruction 3D. *Caroline Colombeix (IFR26, Nantes)*

Suppression du bruit de fond par décorrélation spectrale pour optimiser un signal faible GFP dans les tissus, intérêt de la microscopie confocale sur coupes épaisses. *Laurence Dubreil (APEX, Nantes)*

Les présentations sont consultables sur le site : www.ifr26.nantes.inserm.fr et bientôt sur le site de APEX : http://www.inra.fr/anatomie_pathologique_sante_animale

Expertise diagnostique

Aide à l'identification de cellules

Demande de Pascale Quéré (Dpt : SA, Unité : IASP, Nouzilly) afin de distinguer les populations leucocytaires issues de broyats de poumons de poules.

Diagnostic histopathologique

Identification de la cause de la mortalité observée chez des souris immunodéficientes dans une animalerie dédiée à la recherche médicale. L'analyse lésionnelle a permis de mettre en évidence une infection par le virus de l'hépatite murine et de mettre en place les mesures sanitaires nécessaires à la décontamination de l'animalerie.

Actions de développement

Développement des techniques de biologie moléculaire sur lame

Les techniques de biologie moléculaire sur lame viennent en complément de l'immunohistochimie, classiquement utilisée au laboratoire. La technique d'hybridation in situ (HIS) a été optimisée afin de permettre la détection et la localisation de transcrits

présents en très faible quantité pour répondre en particulier aux besoins d'évaluation de protocoles de thérapie génique. La combinaison des techniques d'HIS et immunohistochimie actuellement en cours de développement permettra le typage des cellules exprimant le transcrit.

Publications :

Toromanoff A, Adjali O, **Larcher T**, Hill M, **Guigand L**, Chenuaud P, Deschamps JY, Gauthier O, Blancho G, Vanhove B, Rolling F, **Chérel Y**, Moullier P, Anegon I, Le Guiner C : Lack of immunotoxicity after regional intravenous (RI) of rAAV to nonhuman primate skeletal muscle. Soumis *Mol Ther*

Promotion de l'activité de la cellule d'expertise

Labellisation IBiSA

APEX s'est associée avec deux autres sites, l'un INSERM (U649), l'autre ENVN (Centre de thérapie génique et cellulaire de Boisbonne) pour former la plateforme « Biothérapie et physiopathologie animale » qui a été labellisée IBiSA en novembre 2008.

La plate-forme était initialement composée de 2 entités (RIO 2003 et 2006) : le Laboratoire d'Amplification de Vecteurs (L.A.V.) au CHU Hôtel-Dieu à Nantes et du Centre de Boisbonne (BOISBONNE) à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Le périmètre de la plate-forme a été agrandi en 2008 en y ajoutant un laboratoire d'expertise en anatomo-pathologie (APEX), également situé à l'ENVN.

Il y a donc maintenant une continuité fonctionnelle de la production des vecteurs de transfert de gène jusqu'à leur évaluation pré-clinique. De plus, la plate-forme offre une compétence en physiopathologie animale aussi bien pour le traitement de maladies génétiques de l'animal que pour l'analyse de maladies infectieuses émergentes.

Site internet et formulaire de demande en ligne

http://www.inra.fr/anatomie_pathologique_sante_animale

Grâce à l'implication de Marie-Colette Fauré et de Vincent Donnat, cet outil est opérationnel depuis juin 2007 et bénéficie de révisions et mises à jours régulières (mise en ligne du rapport d'activité...).

19 décembre 2008
- L'équipe APEX -