

Bilan des activités d'APEX pour l'année 2009

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).

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 un modèle simien de la maladie. Le rôle central des macrophages dans la dissémination et la persistance du virus pendant plusieurs mois après l'inoculation a été identifié pour la première fois ce qui pourrait expliquer les symptômes récurrents au long cours chez l'homme.

La reproduction expérimentale de l'infection chez la souris adulte a également été réalisée.

Publications :

Labadie K, **Larcher T**, Joubert C, Delache B, Brochard P, Mannioui A, **Guigand L**, **Dubreil L**, Lebon P, Verrier B, de Lamballerie X, Suhrbier A, **Cherel Y**, Le Grand R, Roques P : Long-term Persistent infection of Macrophages in Non-Human Primate Model of Chikungunya Disease. *Journal of Clinical Investigation*, 2009, *in press*.

Gardner J, Anraku I, **Larcher T**, Major L, Schroder W, **Suhrbier A** : Chikungunya virus arthritis in adult wild-type mice. *Soumis*

Communications :

Larcher T : Persistent Chikungunya virus infection of macrophages in a macaque model. In: *Fall Meeting of the ANRS Group*, Paris, 12 novembre 2009

Larcher T, Labadie K, Delache B, **Guigand L**, Joubert C, Le Grand R, Roques P, **Cherel Y** : Implication des macrophages dans l'infection et la persistance du virus du Chikungunya dans un modèle expérimental simien. *Journées d'animations scientifiques du département SA*. Port d'Albret, 25-28 mai 2009.

Labadie K, **Larcher T**, Meaudre C, Joubert C, Delache B, **Cherel Y**, Le Grand R, Roques P : Physiopathologie de l'infection par le virus Chikungunya (ChikV) : détermination des sites de réplication virale et des réservoirs tissulaires viraux. *Journées Francophones de Virologie*, Paris, 23-24 avril 2009

Identification de facteurs de virulence de virus Influenza 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 poursuivie à partir de mai 2008 grâce au 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.

Publication :

Munier S, **Larcher T**, Cormier-Aline F, Soubieux D, Su B, **Guigand L**, Labrosse B, **Cherel Y**, Quere P, Marc D, Naffakh N. Increased virulence for chickens of a genetically engineered waterfowl influenza virus with a deletion in the stalk of the neuraminidase. *J Virol*, 2009 [*Epub ahead of print*]

Communications :

Marc D, Aline F, **Larcher T**, Munier S, Soubieux D, **Guigand L**, Le Gal S, Van Der Werf S, Quere P, **Cherel Y**, Naffakh N. Déterminants de virulence et d'adaptation des virus Influenza : une délétion de la tige de la neuraminidase constitue un facteur de virulence chez des volailles domestiques. *Journées d'animations scientifiques du département SA*. Port d'Albret, 25-28 mai 2009.

Esnault E, **Larcher T**, **Guigand L**, Soubieux D, Marc D, Quéré P. Caractérisation et infection par le virus influenza

aviaire d'une lignée cellulaire adhérente d'origine pulmonaire chez le poulet. *Journées d'animations scientifiques du département SA*. Port d'Albret, 25-28 mai 2009.

Munier S, **Larcher T**, Aline F, Soubieux D, Su B, Le Gal S, Van Der Werf S, Labrosse B, Quere P, **Cherel Y**, Marc D, Naffakh N. Rôle d'une délétion dans la tige de la neuraminidase dans la pathogénicité et l'adaptation à la volaille domestique d'un virus grippal issu de l'avifaune sauvage. *Journées Francophones de Virologie*, Paris, 23-24 avril 2009

Validation d'un modèle murin d'allergie alimentaire et évaluation de l'efficacité de la désensibilisation épicutanée

Étude initiée en mai 2009 avec DBV technologies (Hopital Cochin, Paris).

L'analyse lésionnelle de différentes portions du tube digestif de souris, ayant été soumises à un régime alimentaire à base d'arachide, a permis d'identifier un modèle original d'allergie alimentaire. Un traitement de désensibilisation épicutanée est en cours d'évaluation.

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 :

Barrey E, Mucher E, Jeansoule N, **Larcher T**, **Guigand L**, Herszberg B, Chaffaux S, Guérin G, Mata X, Benech P, Canale M, Alibert O, Maltere P, Gidrol X : Gene expression profiling in equine polysaccharide storage myopathy revealed inflammation, glycogenesis inhibition, hypoxia and mitochondrial dysfunctions. *BMC Vet Research* **5**:29, 2009

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*, 40:94-6, 2009

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

Etude 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 :

Delisle JC, 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. *BMC Notes*, 2:3, 2009

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

Actions de soutien et de formation

Soutien technique et méthodologique

Influence de l'alimentation sur la reproduction du lapin

Étude réalisée avec Pascale Chavatte (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.

Communication :

Cordier AG, Peynot N, Laigre P, Dahirel M, **Larcher T**, Chavatte-Palmer P, Duranthon V: Influence of a Hyperlipidic Hypercholesterolemic diet on Folliculogenesis and Adipophilin expression in the preimplantation embryo in rabbits. *Gemini general meeting*, Alghero, 1-3 octobre 2009

Identification des stades sexués de Babesia chez la tique

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

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

Publications :

Becker C, Malandrin L, Depoix D, **Larcher T**, David P.H, Chauvin A, Bischoff E, Bonnet S: *Babesia divergens*: characterization of three novel proteins BdCCp1, BdCCp2 and BdCCp3, that leads to identification of sexual stages. *Molecular microbiology*, soumis.

Formation

APEX a organisé une initiation à l'autopsie des petits ruminants d'expérimentation à la PFIE (Département : SA, Tours) les 14, 15 et 16 octobre. Cette formation avait pour objectif de présenter aux techniciens au contact des animaux d'expérimentation les principes de la technique d'autopsie ainsi que la méthode de description des lésions.

Les présentations seront prochainement consultables sur le site d'APEX :

http://www.inra.fr/anatomie_pathologique_sante_animale

Expertise diagnostique

Aide à l'identification de lésions

Demande de Laurence Guilloteau (Dpt : SA, Unité : IASP, Nouzilly) afin de distinguer les lésions induites chez des chèvres par l'inoculation de *Mycobacterium avium paratuberculosis* en coloration de Ziehl.

Diagnostic nécropsique et histopathologique

Identification des causes de mortalité accidentelle observée des chiens et chats d'expérimentation hébergés au centre de thérapie génique de Boisbonne (Ecole vétérinaire, Nantes) afin de mettre en place les mesures correctives nécessaires à la prévention de ces événements. Une vingtaine d'autopsie sont pratiquées chaque année dans ce cadre.

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, Aneon I, Le Guiner C : Lack of immunotoxicity after regional intravenous (RI) of rAAV to nonhuman primate skeletal muscle. Soumis *Mol Ther*

- L'équipe APEX -