

Infections et réponse antivirale du testicule

Tropisme testiculaire du virus Zika

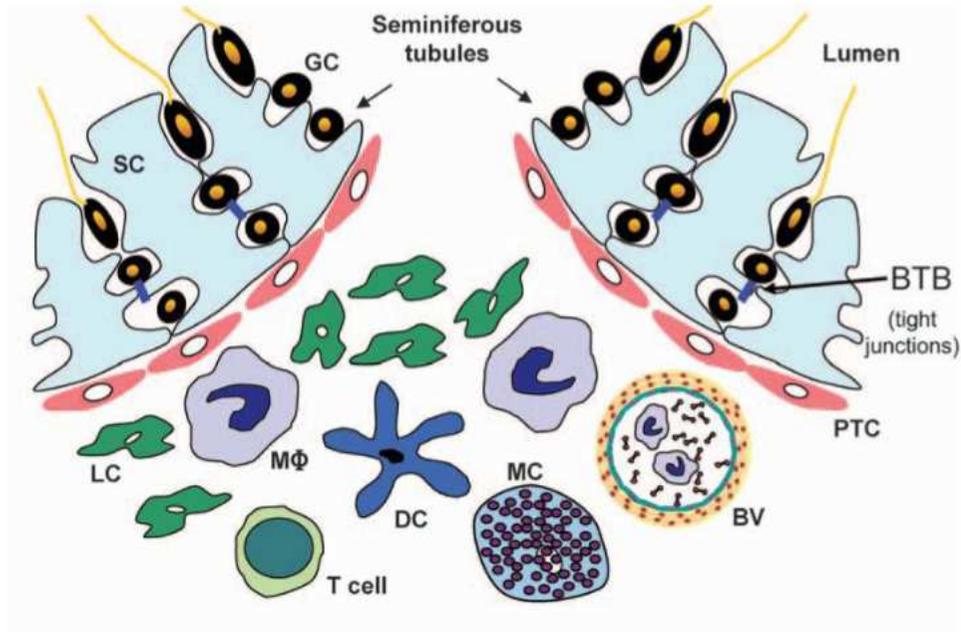
Anna Le Tortorec

IRSET- INSERM U1085, Rennes

Equipe Physiologie et physiopathologie du tractus urogenital

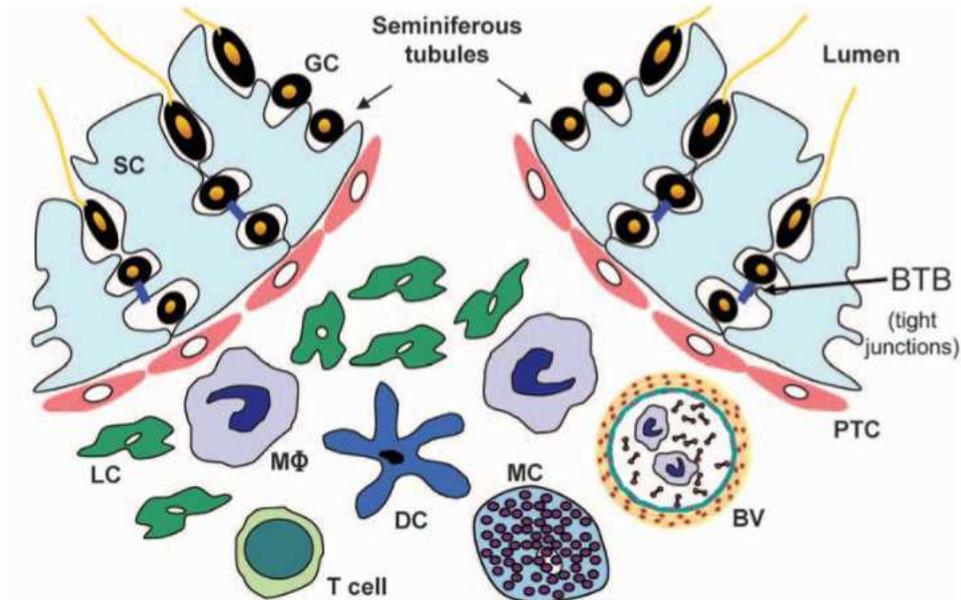
Dr Nathalie Dejudq-Rainsford

Structure du testicule de mammifère



Le testicule, un organe immunoprivilégié

- tolérance des cellules germinales autoantigéniques



Intéactions cellules somatiques/ cellules immunitaires cruciales au maintien de l'environnement immunoprivilégié
Ex: Leydig ↔ macrophages ↔ Sertoli
Sertoli ↔ Treg

Chez les rongeurs:

- Barrière hémato-testiculaire
- Mécanismes immuno-suppresseurs actifs:
 - Cellules immunitaires :
 - Macro: IL-1b, TNFa \searrow , IL-10 \nearrow
 - Cellules dendritiques immatures et tolérogéniques
 - Treg immunosuppressives
 - Pas de lymphocytes B
 - Autres cellules :
 - Sertoli et péricubulaires: sécrétion IL-10, TGFb
 - Androgènes +++ :
 - maintien de la BHT
 - \searrow prop. pro-inflammatoires cell. immunitaires,
 - \nearrow Treg
 - IDO, lyso-GPC : \searrow activité des LT, \nearrow fonction Treg



Privilège immunitaire et cellules immunitaires humaines très peu caractérisées

Infections virales du testicule humain

Virus des oreillons

VIH

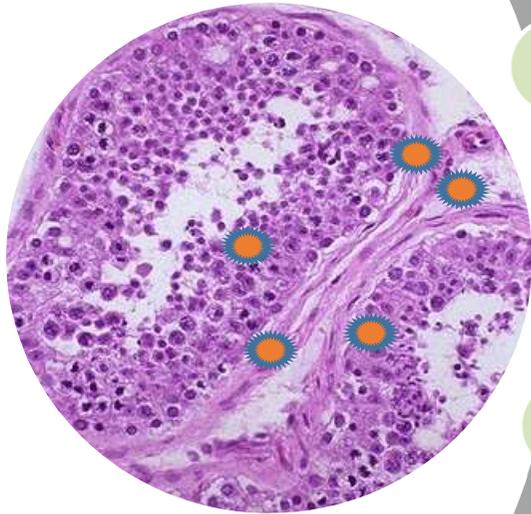
VHB

HSV

Zika

Ebola

...



Orchite > stérilité

Eg: virus des oreillons, EBV, adenovirus

Altération qualité du sperme, perturbation fonction endocrine : ∇ fertilité

Eg: virus des oreillons, HSV, AAV

Carcinome testiculaire ?

Eg: EBV, parvovirus B19

Persistance virale dans le testicule et le sperme > transmission sexuelle

Eg: VIH, Zika, Ebola

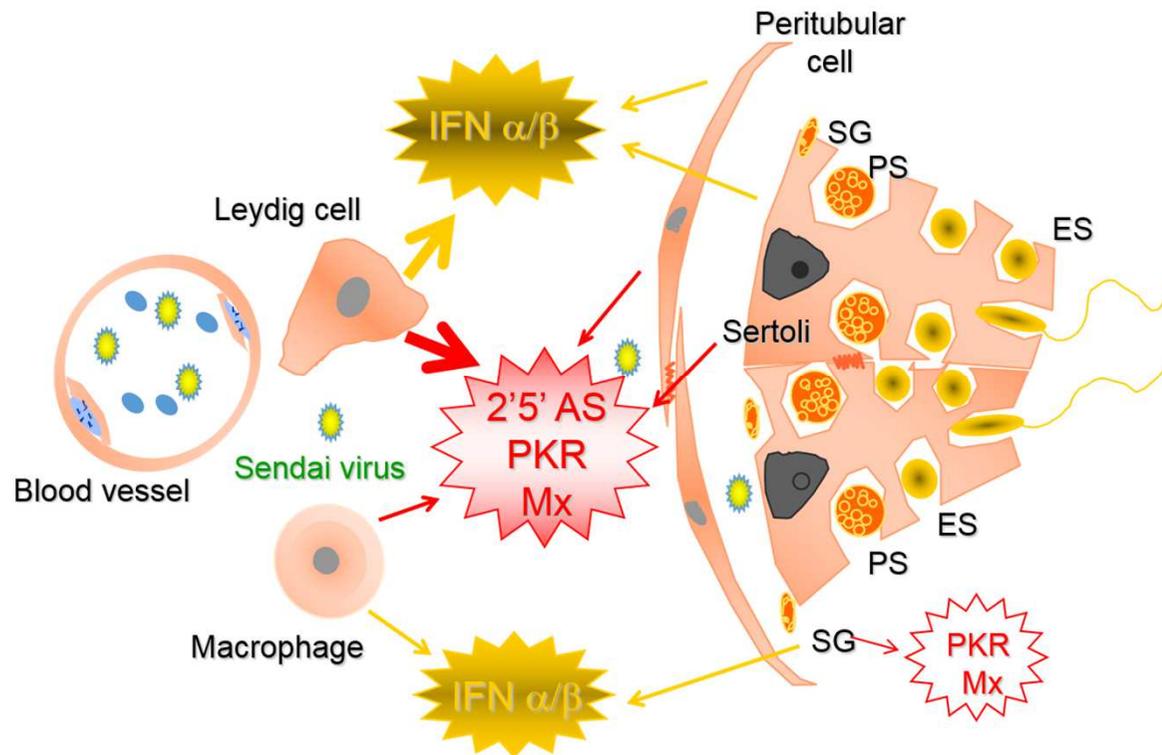
? Transmission à l'embryon ?

**Dans ce contexte immunoprivilégié,
Quid des mécanismes de défense antivirale
?**

Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez le modèle rongeur

- Réponse immunitaire antivirale des cellules testiculaires isolées de rat à l'infection par le virus Sendai



Dejuca et al. (1995) Endocrinology
Dejuca et al. (1998) Endocrinology
Dejuca et al. (1997) J. Cell Biol.
Dejuca et al. (1998) J. Reprod. Immunol.
Melaine et al (2003) J. Reprod. Immunol.

Wu et al. 2016 and 2017: les cellules de Sertoli et Leydig isolées de souris infectées par le virus des oreillons produisent des IFN de type I, des cytokines proinflammatoires via TLR2 et RIG1 + 7 protéines antivirales (ISG15, 2'5'AS, MX1).

Et dans le testicule humaine ?

Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

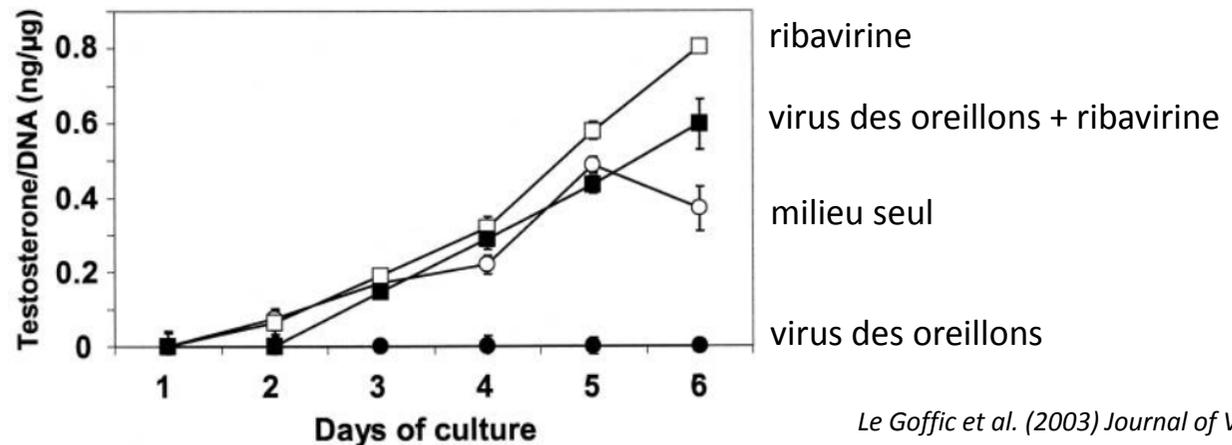
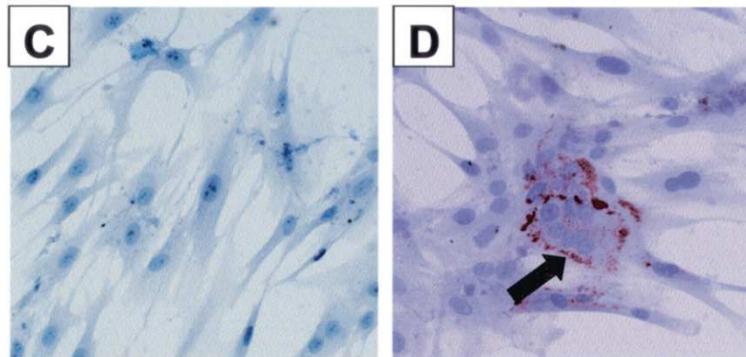
Études chez l'homme

➤ Infection par le virus des oreillons

Paramyxoviridae

Infection chez l'homme adulte > orchite (20 à 30% des cas) >>> stérilité
> ∇ testostérone circulante

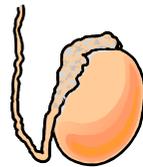
Culture de cellules
de Leydig humaines
isolées infectées par
une souche de virus
des oreillons



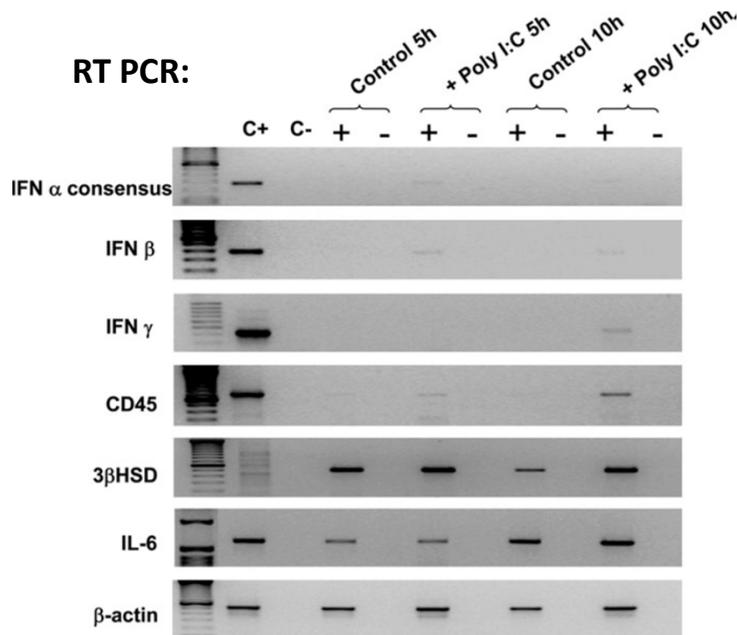
Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

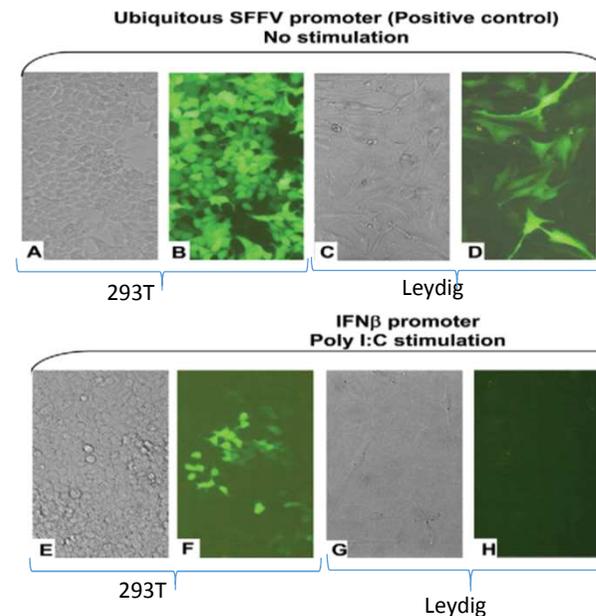
- Infection par le virus des oreillons des cellules de Leydig isolées



Collagénage
gradient discontinu de Percoll



Transduction avec vecteur lentiviral pseudotypé exprimant pIFNβ - GFP



ELISA, IFN bioassay: ∅ production d'IFN type I et II



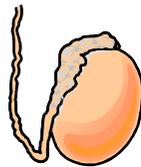
Contrairement à leurs homologues rongeurs, les cellules de Leydig humaines ne produisent pas d'IFN suite à une stimulation mimant un virus.

Le Tortorec et al. (2008) Human reprod.

Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

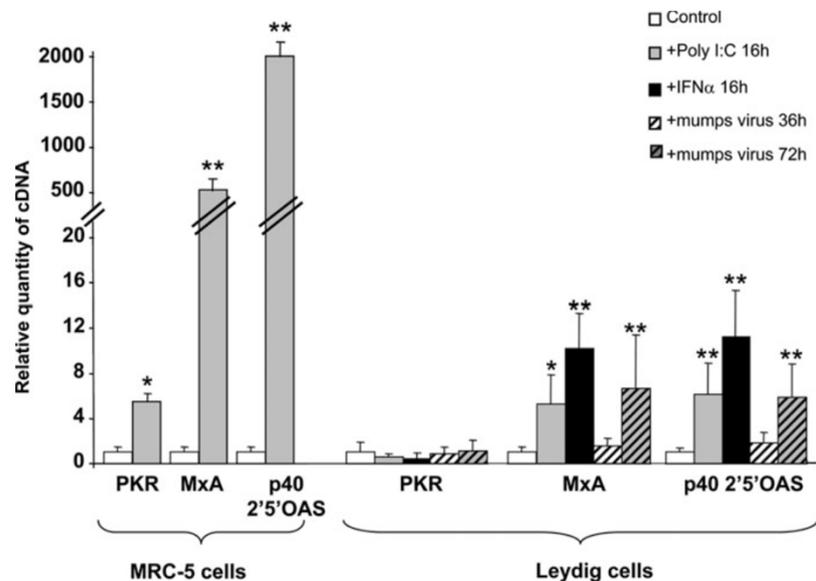
- Infection par le virus des oreillons des cellules de Leydig isolées



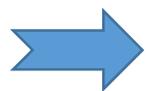
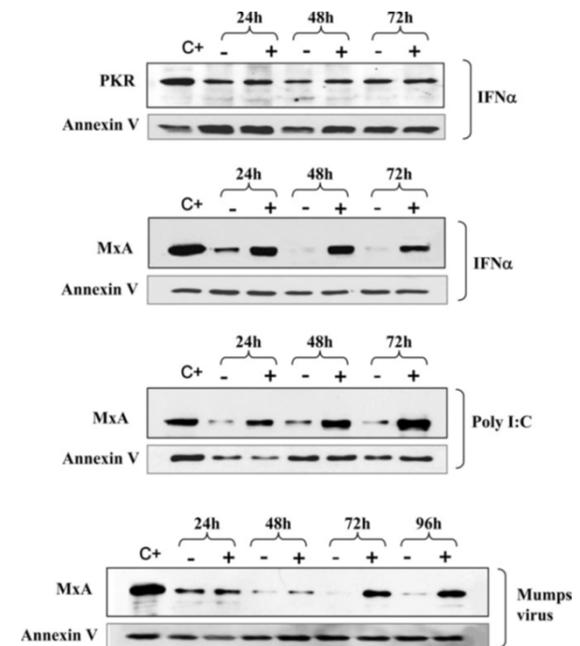
Collagénage
gradient discontinu de Percoll



RT PCR quantitative:



Western Blot:



Faible activité antivirale des cellules de Leydig humaines par rapport à leur homologues chez le rongeur. Mécanisme IFN indépendant ?

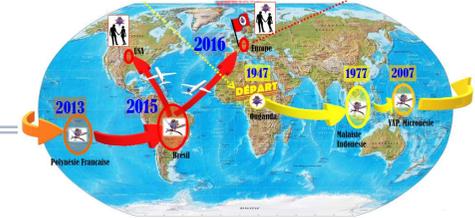
Le Tortorec et al. (2008) Human reprod.

Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

- infection du testicule humain par le virus Zika

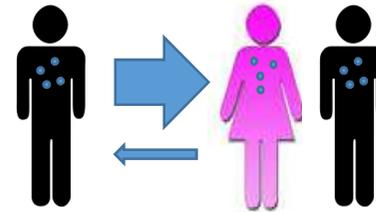
Transmission sexuelle du virus zika



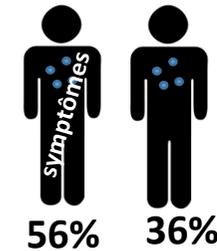
- Vecteur principal de transmission: moustique *aedes*
- **Epidémie 2015-2016:** syndromes neurologiques (Guillain-Barré, microcéphalie)
60-80% de cas asymptomatiques

cas de transmission sexuelle avérés et rapportés dans 14 pays

- Quasi-exclusivement homme -> femme
Inclut hommes asymptomatiques



- Pourcentage élevé d'hommes présentant du virus dans le sperme
- Charge virale élevée dans le sperme



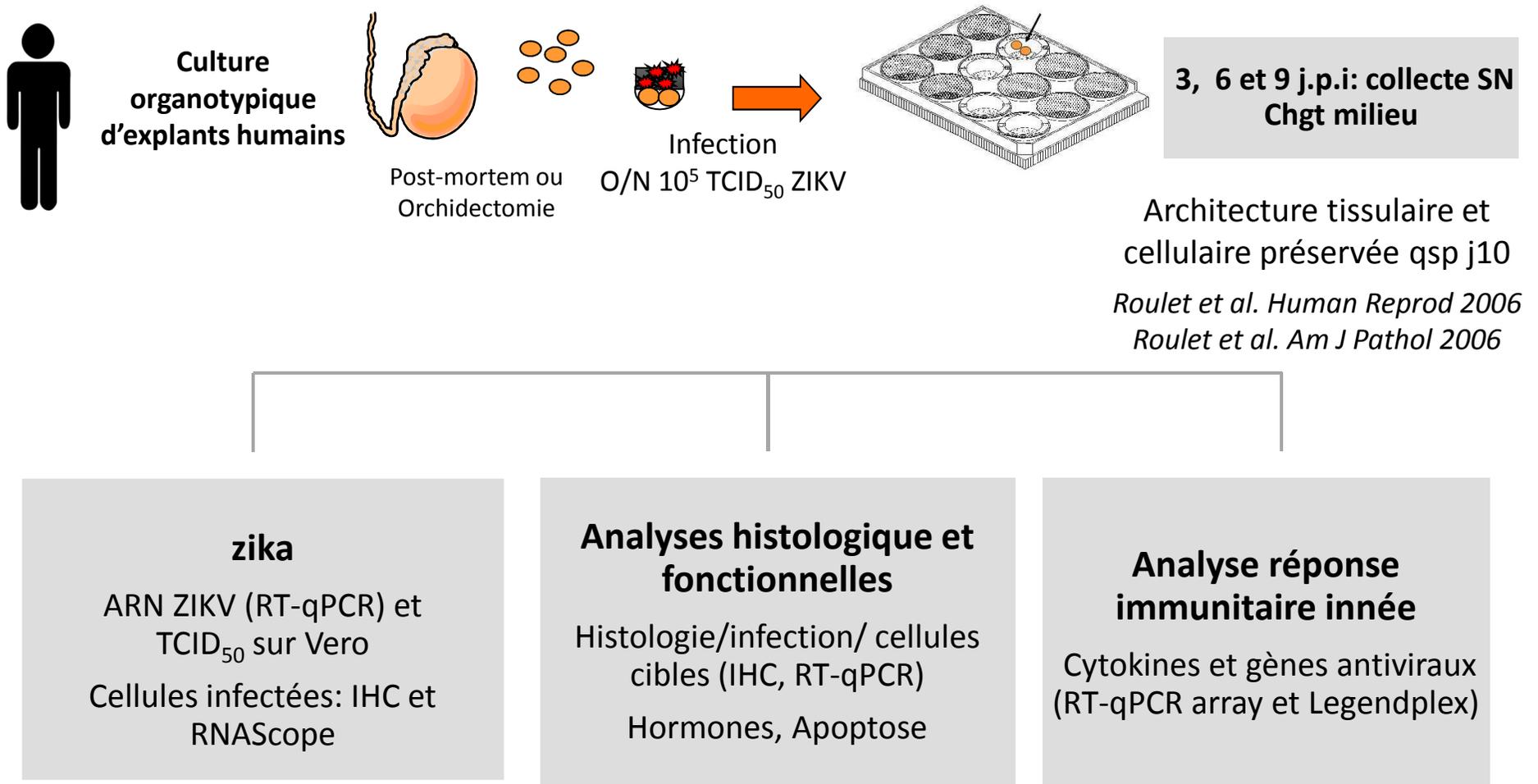
- **Persistance** du virus dans le sperme (ARN viral et particules virales infectieuses) en l'absence de virémie

Organes du tractus génital mâle à l'origine de cette persistance?

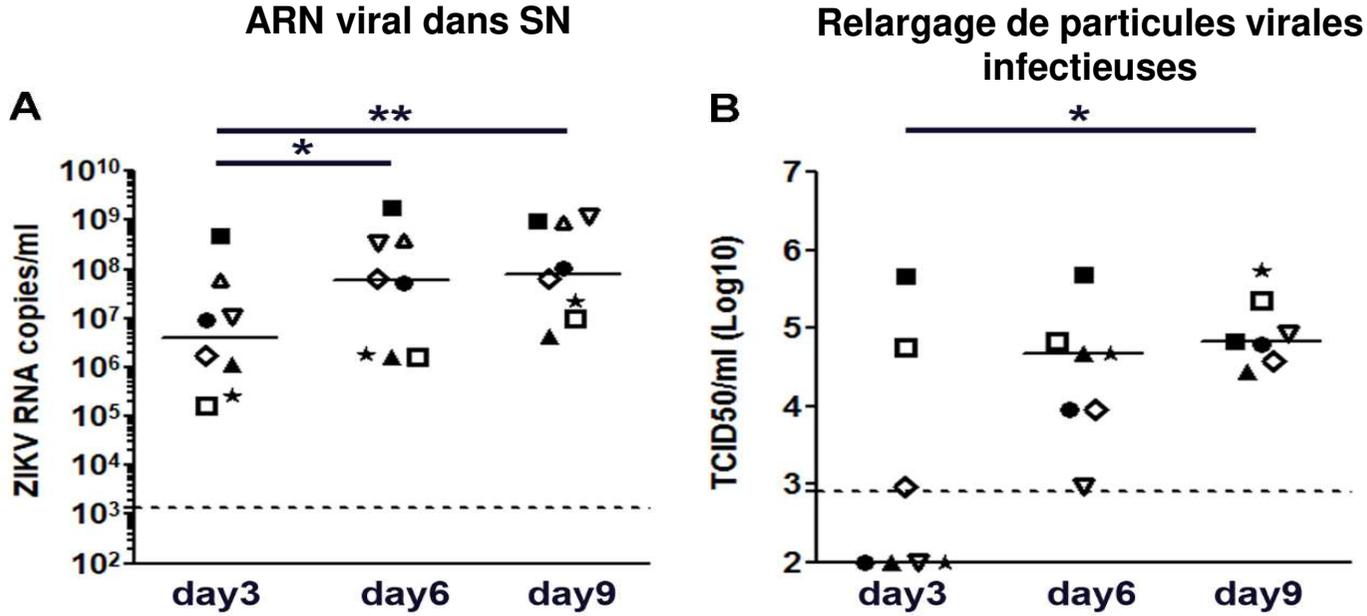
Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

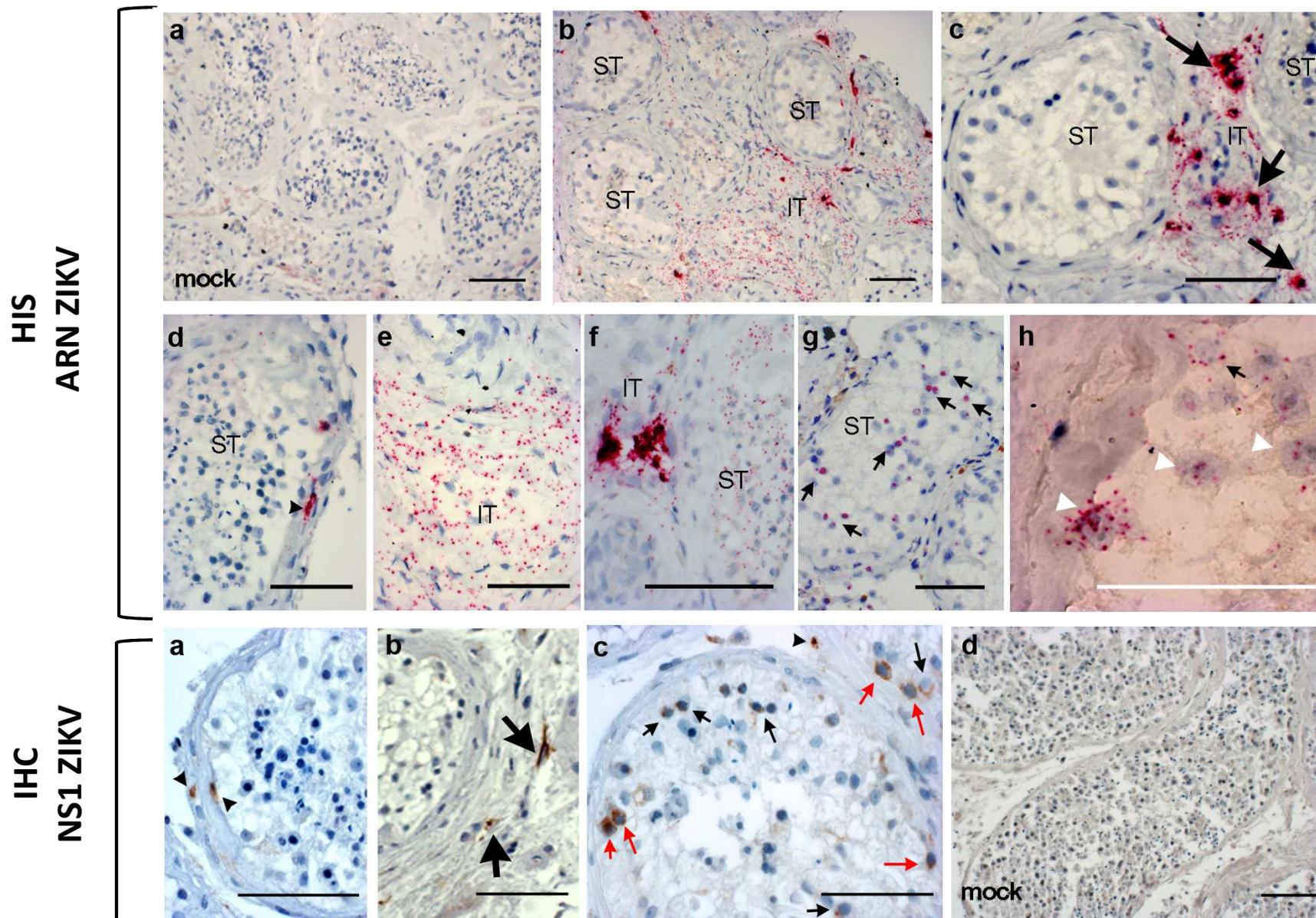
➤ infection du testicule humain par le virus Zika



ZIKV se réplique dans les explants testiculaires humains



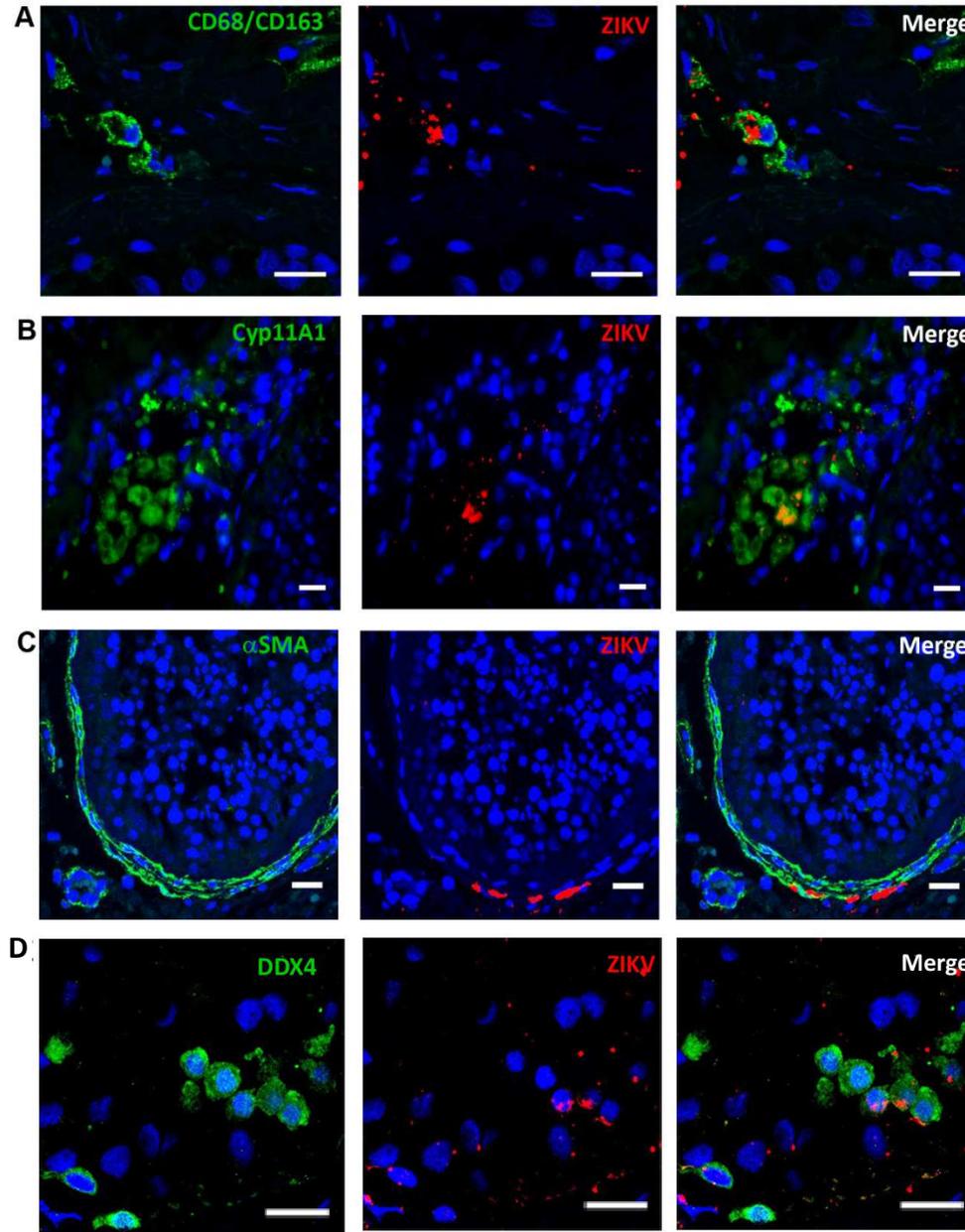
ZIKV infecte les cellules somatiques et germinales *ex vivo*



Matusali et al. JCI 2018

Caractérisation des cellules testiculaires humaines infectées ZIKV

HIS ARN ZIKV /
IHC marqueur
cellulaires



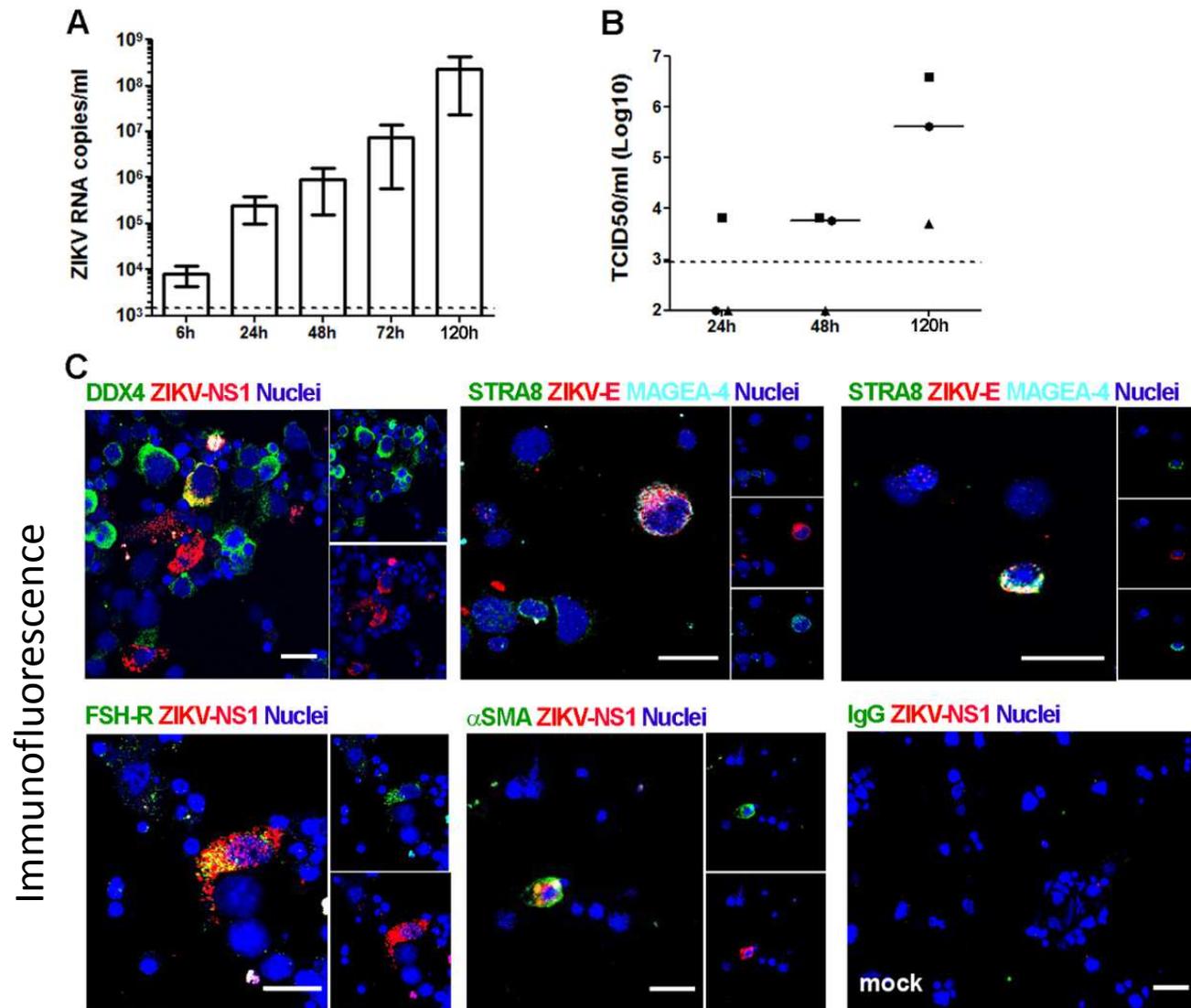
**Macrophages
résidents**

**Cellules de
Leydig**

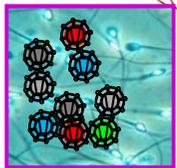
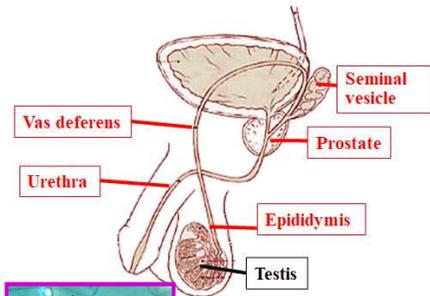
**Cellules
péritubulaires**

**Cellules
germinales**

ZIKV infecte les cellules somatiques et germinales *in vitro*

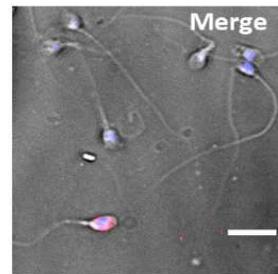
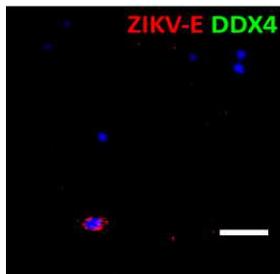
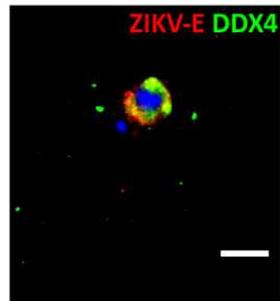
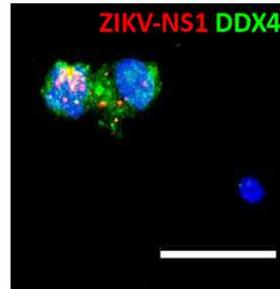


ZIKV infecte les cellules germinales et les spermatozoïde *in vivo*



Sperme

Sperme patients infectés
J7-11 post-symptômes



✓ cellules germinales infectées
confirme le tropisme testiculaire
in vivo

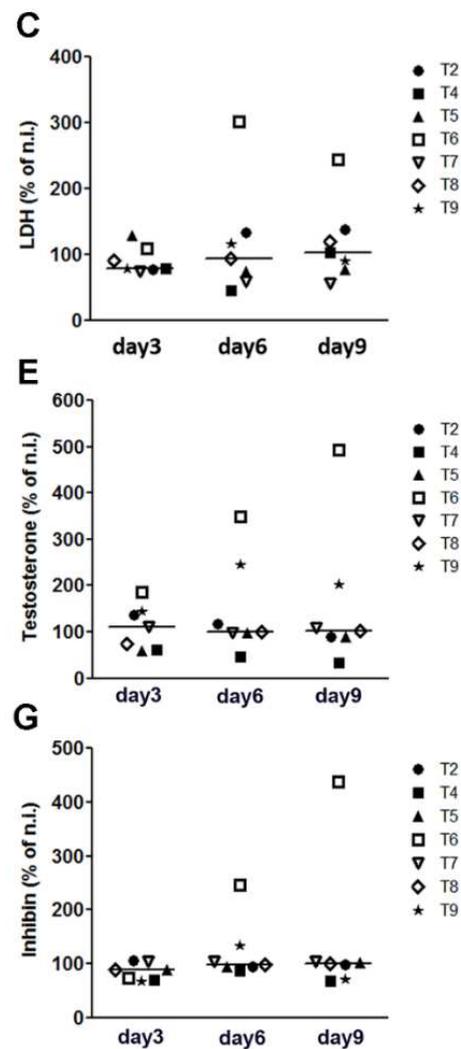
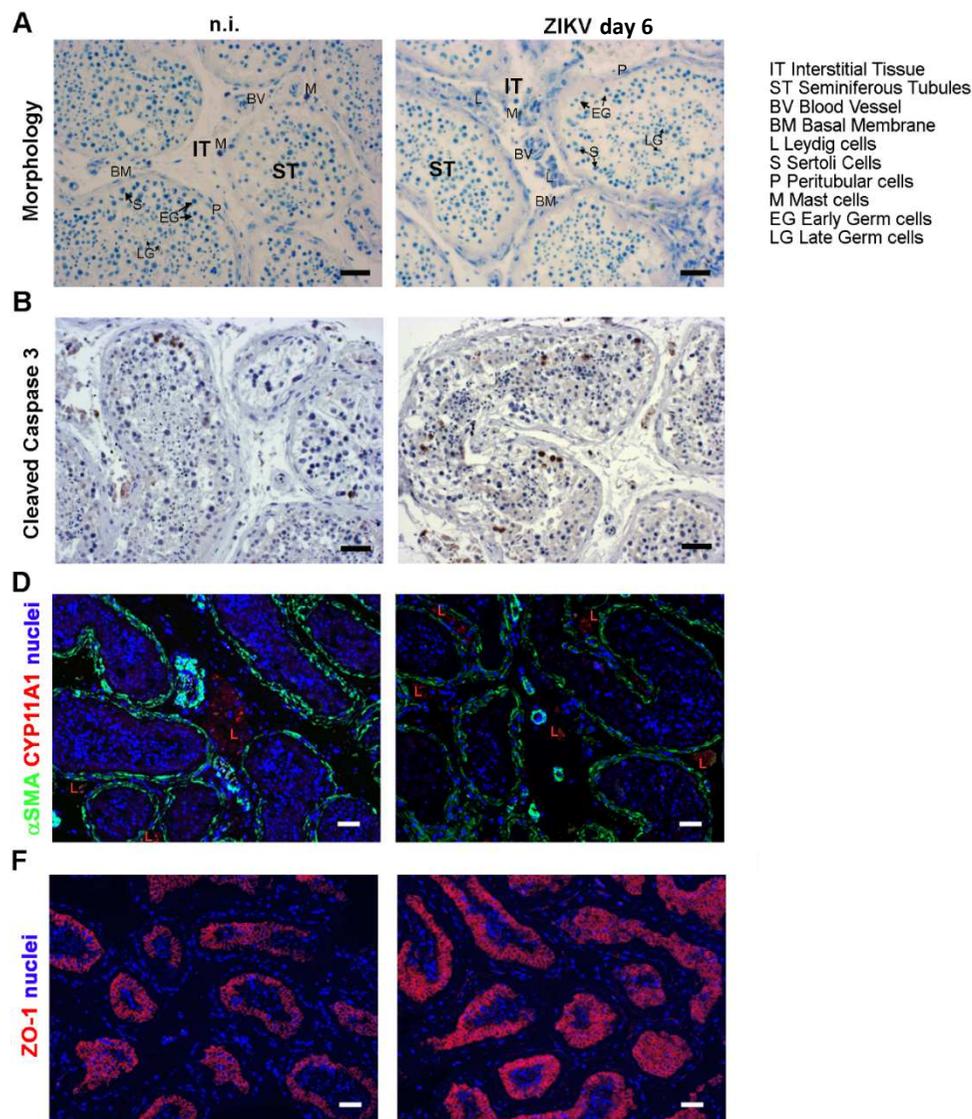
Matusali et al JCI 2018

✓ virus associés aux
spermatozoïdes

Matusali et al JCI 2018

Joguet et al. Lancet Inf Dis 2017

Infection ZIKV *ex vivo*: pas d'impact majeur sur la morphologie testiculaire, la viabilité cellulaire, la BHT et la production d'hormones

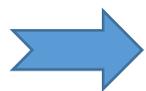
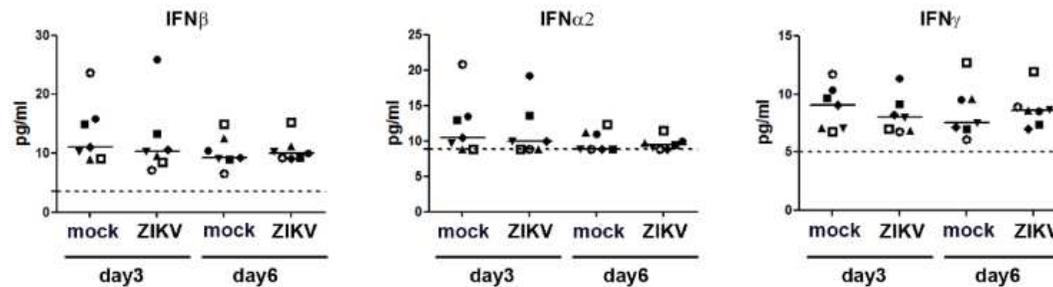


Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

- infection du testicule humain par le virus Zika

Sécrétion de cytokines antivirales dans le surnageant de culture
(Immunoassay legendplex)

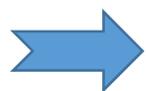
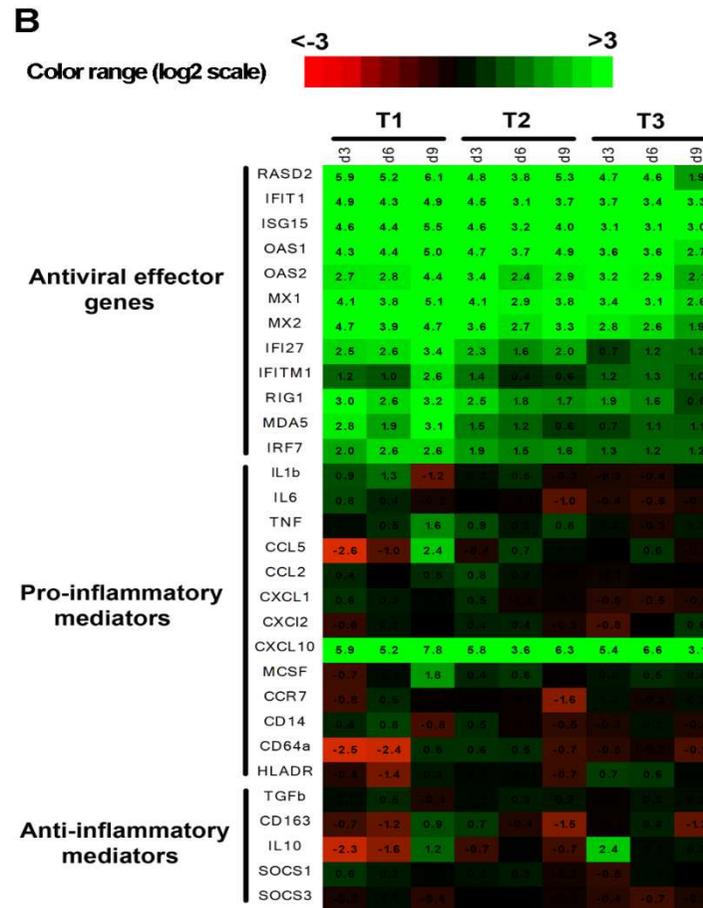


Pas d'induction transcriptionnelle ou protéique des IFN type I et II observée

Réponse immunitaire antivirale dans le testicule

Études chez l'homme

- infection du testicule humain par le virus Zika

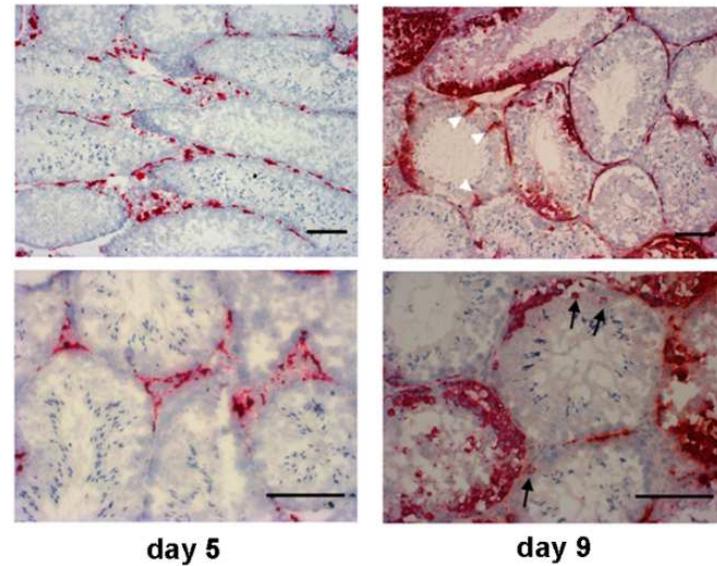
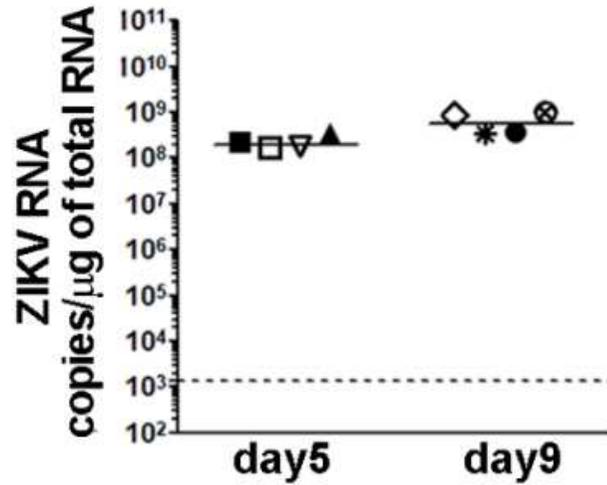


Large réponse antivirale mais réponse proinflammatoire minimale en réponse à l'infection ZIKV. Mécanisme indépendant des IFNs?

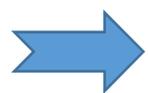
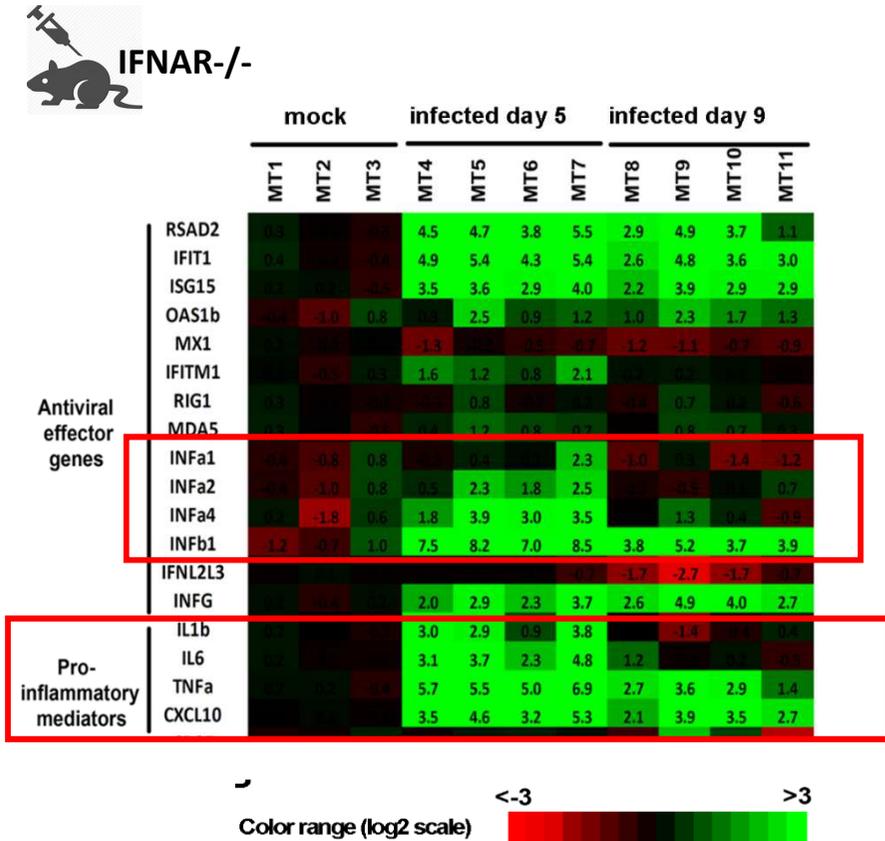
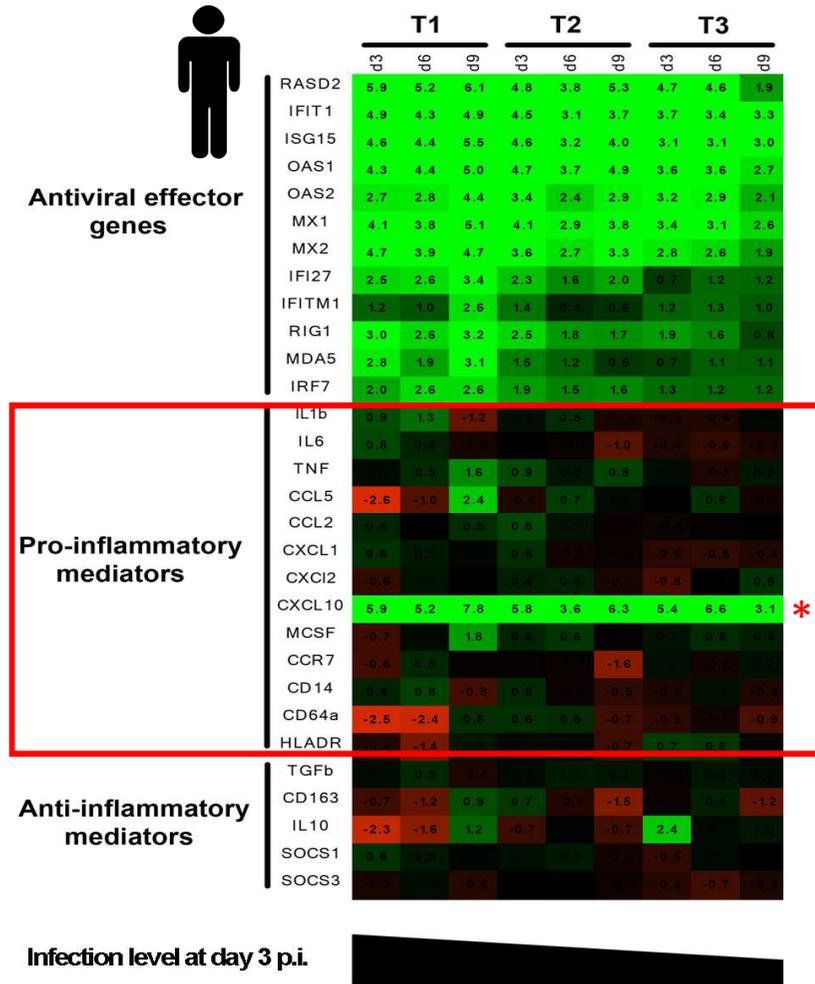
Infection in vivo ZIKA souris IFNAR^{-/-} : tropisme testiculaire



5 et 9 jp.i:
collecte organes TGM



Comparaison interespèce réponse immune innée testiculaire

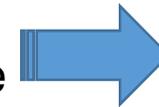
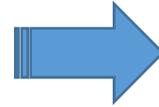


Réponse antivirale amoindrie chez l'homme par comparaison au modèle souris...
Existence d'une réponse à l'infection ZIKA indépendante des IFN dans le testicule.

Conclusions

ZIKV et explants testiculaires humains

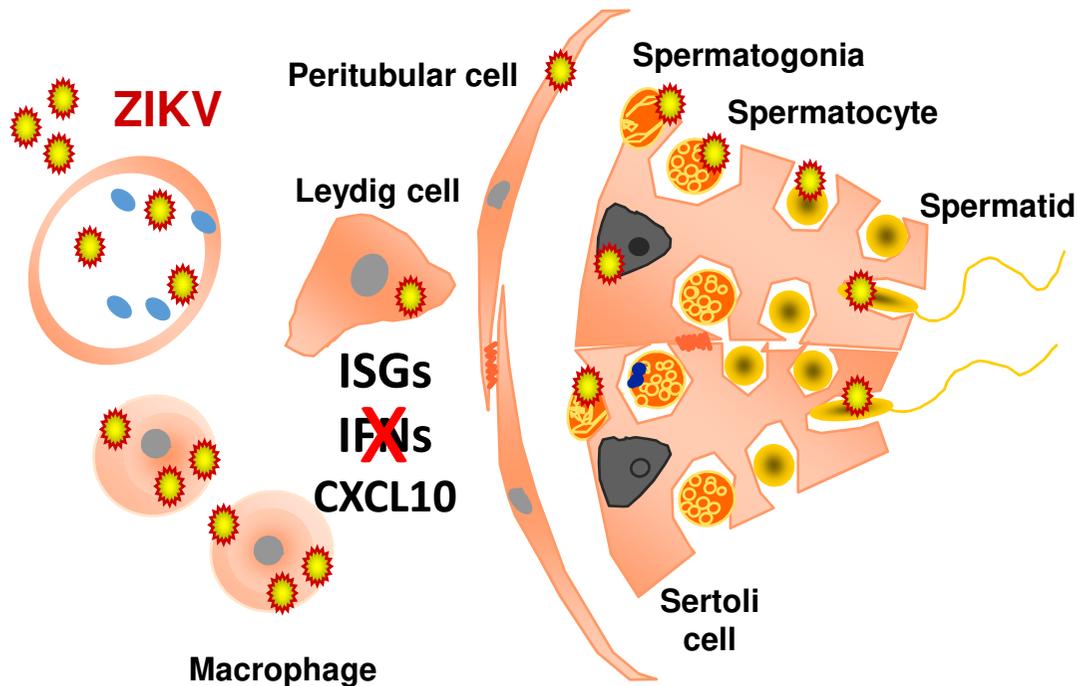
- ✓ Infection de cellules somatiques et germinales
- ✓ Pas de mort cellulaire
- ✓ Faible réponse pro-inflammatoire
- ✓ ISGs mais pas d'IFN: réponse antivirale inefficace?



Altération spermatogénèse et paramètres du sperme

Transmission à l'embryon par spz infectés?

Persistance de ZIKV dans le testicule et le sperme.
(cellules germinales infectées dans sperme à 90jpi)



Conclusions

Capacités de défense antivirale testiculaire



Infection in vitro par le virus Sendai
Infection in vivo par le virus Zika



IFN +++

~~Pas d'orchites~~



Infection in vitro par le virus des oreillons
Infection in vivo par le virus Zika



IFN ???

Spécificité du privilège immunitaire chez l'homme ? Éviter potentiels effets délétères IFN sur germ cell ? (Satie et al JBC 2011)

Réponse antivirale inefficace?

Selon les pathogènes:

Orchites

Persistance virale



Nécessités d'études approfondies des mécanismes de défense innée dans le testicule humain

Merci pour votre attention!

IRSET- Inserm U1085, Rennes

G. Matusali, Post-doc
L. Houzet, Post-doc
AP Satie, tech
F. Aubry, MCU
D. Mahé, Ingénieur
J. Frouard, Doc
S. Bourgeau, Doc
A. Le Tortorec, MCU
N. Dejuçq-Rainsford

CHU, Rennes

N. Rioux-Leclercq, K. Bensalah, S. Lavoué

Institut Pasteur, Paris

T. Couderc, M. Lecuit

UFMG, Belo Horizonte, Brésil

G. Avelar/ L.R. de França



CHU Toulouse, Fort de France and Pointe à Pitre

L. Bujan, G. Joguet, A. Cabié

