

[COVID Information Commons \(CIC\) Research Lightning Talk](#)

Transcript of a Presentation by Kristen Funk (University of North Carolina, Charlotte)  
September 23, 2024



Title: [Neurotropic Viral Infection in CNS Aging and Alzheimer's Disease COVID-19 Supplement](#)

NIH Award #: [3R00AG053412-04S1](#)

[YouTube Recording with Slides](#)

[September 2024 CIC Webinar Information](#)

Transcript Editor: Lauren Close

---

Transcript

Slide 1

Merci à tous d'être ici. Je suis ravi de vous parler du travail que j'ai mené dans mon laboratoire, où nous avons étudié l'immunité des cellules T CD8+ dans le cerveau des personnes âgées en réponse à une infection virale respiratoire, notamment dans le contexte des troubles cognitifs.

Slide 2

Cela fait longtemps que nous savons que l'âge avancé impacte la gravité des infections virales. Les infections virales surviennent dans tous les groupes d'âge, mais les résultats les plus graves touchent de manière disproportionnée les personnes de plus de 60 ans. Nous avons déjà observé cela. Mon travail a porté sur la maladie neuroinvasive du virus du Nil occidental, puis, plus récemment, sur l'épidémie de coronavirus. Nous voulons comprendre comment l'âge affecte la réponse immunitaire antivirale dans le système nerveux central. Auparavant, nous avons étudié le virus du Nil occidental et cela a été publié il y a quelques années. Plus récemment, ce dont je vais vous parler aujourd'hui, c'est de l'utilisation du coronavirus murin MHV, qui a été publié sur BioRxiv et est actuellement en révision pour publication.

Slide 3

Nous savons que le vieillissement affecte globalement le système immunitaire. Le terme "inflammaging" est utilisé pour désigner cet environnement hautement inflammatoire. En particulier, nous observons une augmentation des cellules T CD8+ mais également une réduction du réservoir de cellules T naïves ainsi qu'une diminution de la diversité des récepteurs des

cellules T, ce qui, selon nous, impacte la capacité à répondre à de nouveaux défis. Mon laboratoire s'intéresse à comprendre comment cela affecte la réponse immunitaire antivirale dans le cerveau et comment cela pourrait influencer la récupération cognitive après une infection.

#### Slide 4

Pour étudier cela, mon laboratoire a mis en place un modèle de souris - un modèle murin - utilisant MHV-A59. Nous inoculons des souris C57 black six mâles de 8 semaines ou de 18 mois par voie intra-nasale avec  $10^3$  unités formant des plaques ( $10^3$  unités infectieuses) ou avec HBSS. Nous observons ces souris pendant 30 jours. Ce modèle a été établi par la Dr. Katie Regan dans mon laboratoire, qui était post-doctorante et qui nous a récemment quittés. Grâce à ce modèle, nous avons montré que les souris âgées sont plus sensibles à une infection virale létale, ce qui n'était pas surprenant. Elles pourraient également présenter un cours de maladie plus sévère, avec une plus grande perte de poids ainsi que des scores cliniques plus élevés que nous pouvons mesurer.

#### Slide 5

Nous voulions comprendre comment cela se corrélait particulièrement avec la réponse immunitaire cellulaire dans le cerveau. Pour cela, nous avons utilisé la spectrométrie afin d'analyser les cellules T CD4+ et CD8+ dans le cerveau. Notamment, dans des conditions normales, il y a très peu ou pas de cellules T dans le cerveau. Lors d'une infection, nous observons un recrutement de ces cellules T vers le cerveau. Ici, nous regardons à 12 jours et à 30 jours après l'infection. Nous constatons que les souris âgées présentent des niveaux plus élevés de ces cellules T CD8+ dans le cerveau, tant à 12 qu'à 30 jours après l'infection. Nous avons également étudié les poumons, qui sont la principale source d'infection, ainsi que les ganglions lymphatiques cervicaux, les ganglions lymphatiques médiastinaux et la rate. Vous pouvez observer ces niveaux plus élevés de cellules T dans toutes ces régions des souris âgées.

#### Slide 6

Cependant, lorsque nous examinons la spécificité virale de ces cellules T, nous avons observé qu'un pourcentage plus faible de ces cellules T dans les souris âgées est spécifique au virus MHV avec lequel nous les avons infectées, aussi bien à 12 qu'à 30 jours après l'infection. Cela suggère que, bien que nous ayons un afflux de cellules T vers le cerveau, un pourcentage plus faible de celles-ci chez les souris âgées est spécifique au virus et contribue à l'élimination du virus.

#### Slide 7

Nous voulions comprendre comment cela pourrait se traduire dans un modèle d'apprentissage spatial. Nous avons observé dans notre modèle du virus du Nil occidental que les souris post-infection présentent des déficits cognitifs. Nous avons testé cela en utilisant le Barnes Maze, représenté ici. Il s'agit essentiellement d'une table circulaire sur laquelle nous plaçons une souris au centre. Nous les testons deux fois par jour pendant cinq jours consécutifs. Le trou cible est

toujours placé au même endroit chaque jour et les souris finissent par apprendre où se trouve ce trou. Cela sert de cachette où la souris peut se réfugier pour échapper à la tâche anxigène qui lui est assignée. Ce test se déroule entre le jour 25 et le jour 29 après l'infection, soit environ deux semaines après la disparition du virus du cerveau. Pendant ce test, nous les testons deux fois par jour pendant cinq jours consécutifs, ce qui est montré ici. La ligne pointillée noire représente les souris adultes non infectées et la ligne pleine noire représente les souris adultes infectées par MHV. Vous pouvez voir que les deux groupes de souris s'améliorent au fil des cinq jours. Nous ne constatons pas de différence significative entre ces groupes non infectés et infectés. En revanche, les souris âgées non infectées (ligne rouge pointillée) montrent une amélioration au fil de la période de cinq jours, mais avec un petit retard au jour 2. Mais lorsque nous regardons les souris âgées infectées (ligne rouge pleine), la courbe est nettement déplacée vers le haut, suggérant un déficit d'apprentissage spatial important chez ces souris. Nous pouvons réduire cela à un seul point de données en utilisant la latence ou la zone sous la courbe, normalisée. Les souris témoins (mock) semblent normaliser l'effet que l'on voit chez les souris âgées, mais les souris âgées infectées montrent une augmentation significative de la latence, surtout au jour 2, 3 et 4, ce qui suggère un déclin cognitif.

#### Slide 8

Nous voulions comprendre le mécanisme cellulaire sous-jacent à cet effet. Dans notre modèle du virus du Nil occidental, nous avons observé que cela était dû à une élimination des synapses médiée par les microglies, ce qui perturbe la communication entre les neurones. La démyélinisation est également connue dans les modèles MHV. Cependant, nous n'avons observé aucune preuve de ces phénomènes dans notre système. Au contraire, nous avons vu des signes de mort neuronale, en particulier dans l'hippocampe, une région clé pour l'apprentissage spatial. Ici, je vous montre les images de souris âgées de 8 semaines et de 18 mois. En particulier dans la région CA3 de l'hippocampe, nous observons en bleu le marquage DAPI, en vert le marquage NeuN (qui est spécifique des noyaux neuronaux), et en rouge le marquage TUNEL, indiquant l'apoptose. Nous avons quantifié chaque marqueur individuellement. Voici nos marquages NeuN et TUNEL, ainsi que leur co-localisation calculée par le coefficient de corrélation de Pearson et le coefficient de Manders. Ce que nous voyons, c'est qu'en particulier chez les souris non infectées, nous observons un léger marquage TUNEL. Cependant, à 12 jours, nous voyons une élévation du marquage chez les souris de 18 mois et de 8 semaines, avec des co-localisations mises en évidence par les flèches. Nous voyons une élévation marquée à ce stade aigu pour les deux groupes, mais cette élévation semble se stabiliser avec une récupération dans les deux groupes d'âge, bien qu'elle demeure légèrement plus élevée chez les souris âgées. Cela suggère que le déclin cognitif que nous observons est probablement médié par la mort neuronale dans le circuit trisynaptique, qui est essentiel à l'apprentissage spatial.

#### Slide 9

Nous voulions comprendre le mécanisme cellulaire à l'origine de cette apoptose neuronale. Pour cela, nous avons établi un système de culture cellulaire dans lequel nous avons pris des neurones primaires de souris, que nous avons soit laissés non infectés, soit infectés avec MHV-A59. Nous avons effectué ces expériences seul, en utilisant toujours le marquage NeuN (en vert) et TUNEL (en rouge), avec la co-localisation mise en évidence en jaune par les flèches. Le virus seul ne semblait pas vraiment tuer les neurones, mais lorsque nous les avons co-cultivés avec des cellules T CD8<sup>+</sup> isolées de souris infectées par MHV à 7 jours post-infection, nous avons observé une co-localisation beaucoup plus marquée, suggérant la mort neuronale. Cela suggère que le virus seul ne tue pas nos neurones, mais que les cellules T provenant des souris infectées le font.

#### Slide 10

Nous voulions savoir si cela était une réponse spécifique à un antigène ou indépendante de l'antigène. Nous avons à nouveau utilisé notre système de co-culture avec des neurones non infectés ou infectés, que nous avons cultivés seuls ou co-cultivés avec des cellules T CD8<sup>+</sup> naïves (provenant de souris non infectées) ou des cellules T qui avaient été simulées en masse avec PMA et ionomycine. Toujours avec les marquages NeuN et TUNEL. Nous pouvons observer que les cellules T simulées par PMA/ionomycine réduisent le marquage des noyaux neuronaux et augmentent la co-localisation du marquage TUNEL. Cela nous suggère que ce n'est pas nécessairement une réponse spécifique à un antigène, mais plutôt que ces cellules T activées sont probablement responsables du phénotype de mort neuronale. Nous pensons que cela est particulièrement important dans le groupe âgé, qui présentait un afflux de cellules T qui n'étaient pas nécessairement spécifiques à l'antigène ou à notre virus.

#### Slide 11

En conclusion, nous pensons que les infections virales causent la mort des neurones via cette réponse des cellules T CD8<sup>+</sup>. Nous cherchons à mieux comprendre le mécanisme sous-jacent à cette réponse.

#### Slide 12

Nous sommes également intéressés par la progression des cellules T effectrices et des cellules T mémoire, et quels facteurs peuvent influencer ce processus lors du vieillissement. Nous nous intéressons également à la manière dont les infections virales ou les cellules T peuvent promouvoir la pathologie liée à la maladie d'Alzheimer (AD), notamment en induisant un stress génotoxique.

#### Slide 13

Pour finir, je tiens à remercier les personnes qui ont contribué à ce travail, en particulier Katie Reagan. Si vous êtes intéressé, voici le lien vers notre soumission sur BioRxiv. Merci !