

**MEMOIRE  
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES  
DE PHARMACIE SPECIALISEE**

Soutenu devant le Jury interrégional  
le 22 septembre 2004

par **Laure DENIS**

Conformément aux dispositions de l'arrêté  
du 06 mai 1987 tient lieu de :

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**DIVERSITE GENETIQUE DES MARQUEURS KIR DES  
CELLULES NK – DANS LES POPULATIONS  
FRANCAISES, FINLANDAISE ET SENEGALAISE  
« IMPLICATION EN GREFFE DE MOELLE  
ALLOGENIQUE »**

Président : M. le Professeur A. PINEAU  
Directeur de thèse : M. le Docteur J.D. BIGNON  
Membres du jury : M. le Professeur J.Y. MULLER  
M. le Professeur N. GENETET  
M. le Docteur G. FOLLEA  
M. le Docteur J.C. MAUPETIT

## Table des matières

<b><i>LISTE DES ILLUSTRATIONS</i></b>	<b>7</b>
<b><i>LISTE DES ABREVIATIONS</i></b>	<b>10</b>
<b><i>INTRODUCTION ET OBJECTIFS</i></b>	<b>13</b>
<b>1 introduction</b>	<b>14</b>
<b>2 objectifs</b>	<b>17</b>
<b><i>Partie I</i></b>	<b>19</b>
<b><i>LES RECEPTEURS KIR, MARQUEURS DES CELLULES NATURAL KILLER « NK »</i></b>	<b>19</b>
<b>1 Les cellules Natural Killer (NK)</b>	<b>20</b>
1.1. Généralités	20
1.2. Fonctions des cellules NK : deux types de cytotoxicité	22
1.3. La régulation NK : les récepteurs activateurs et inhibiteurs	24
<b>2 Les récepteurs Killer cell Immunoglobulin like Receptor (KIR)</b>	<b>26</b>
2.1. Analogie avec le système murin	26
2.2. Nomenclature	28
2.3. La diversité structurale des KIR: bases génétiques	31
2.4. La spécificité des récepteurs KIR pour les molécules HLA de classe I	34
2.5. Le polymorphisme génétique des récepteurs KIR activateurs et inhibiteurs	37
2.6. Bases de la génétique KIR dans la population caucasoïde	40
2.7. Le répertoire KIR : expression protéique	43
<b><i>Partie II</i></b>	<b>44</b>
<b><i>APPLICATIONS GENETIQUE ET CLINIQUE DES RECEPTEURS KIR</i></b>	<b>44</b>
<b>1 Génétique des populations</b>	<b>45</b>
1.1. Terminologie générale et modèle de polymorphisme des marqueurs du soi : le système HLA (Human Leukocyte Antigen)	45
1.1.1. Définitions	45
1.1.2. Application au système HLA : histoire génétique des populations humaines	46
1.2. Les récepteurs KIR « marqueurs génétiques humains »	48
<b>2 Les gènes KIR en greffe de moelle osseuse</b>	<b>50</b>
2.1. Généralités sur la greffe de moelle osseuse et rôle des cellules NK	50
2.2. Implications des récepteurs KIR dans le devenir des GMO	52
<b><i>Partie III</i></b>	<b>54</b>
<b><i>NOTRE ETUDE : DIVERSITE DES GENES KIR</i></b>	<b>54</b>
<b>1 Matériel et méthode</b>	<b>55</b>
1.1. Patients	55

1.2.	Génotypage KIR	56
1.3.	Analyse statistique	59
1.3.1.	Les fréquences des porteurs et les fréquences géniques KIR	59
1.3.2.	Les distances génétiques	60
<b>2</b>	<b>Resultats</b>	<b>61</b>
2.1.	Les fréquences des porteurs et les fréquences géniques	61
2.1.1.	Présentation des résultats et analyse	61
2.1.2.	Commentaires	65
2.2.	Les fréquences génotypiques	69
2.2.1.	Présentation et analyse des résultats	69
2.2.2.	Commentaires	73
2.3.	Les fréquences haplotypiques	74
2.3.1.	Méthode statistique	74
2.3.2.	Présentation et analyse des résultats	75
2.3.3.	Commentaires	77
2.4.	Les distances génétiques	78
2.4.1.	Présentation et analyse des résultats	78
2.4.2.	Commentaires	80
	<b><i>Partie IV</i></b>	<b>82</b>
	<b><i>DISCUSSION</i></b>	<b>82</b>
	<b><i>Partie V</i></b>	<b>90</b>
	<b><i>CONCLUSIONS</i></b>	<b>90</b>
	<b><i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i></b>	<b>94</b>
	<b><i>ANNEXES</i></b>	<b>100</b>

# **LISTE DES ILLUSTRATIONS**

- Figure 1 :** Mécanisme de la cytotoxicité
- Figure 2 :** Les récepteurs activateurs et inhibiteurs et leurs ligands
- Figure 3 :** Organisation des gènes des récepteurs des cellules NK chez l'homme
- Figure 4 :** Structure des récepteurs KIR
- Figure 5 :** Structure des exons-introns des gènes KIR
- Figure 6 :** Ordre et nature des gènes dans les haplotypes A et B
- Figure 7 :** Les différentes possibilités d'haplotypes KIR, basées sur leur contenu en gènes KIR
- Figure 8 :** Flux migratoires dans le monde
- Figure 9 :** Pourcentages F de porteurs des gènes KIR inhibiteurs (A) et activateurs (B)
- Figure 10 :** Pourcentages de génotypes communs aux 4, 3 ou 2 populations étudiées, ou spécifiques de chacune d'elles
- Figure 11 :** Pourcentages des homozygotes AA, BB et des hétérozygotes AB (A) et fréquences  $f_A$  et  $f_B$  des haplotypes A et B avec vérification de l'équilibre de Hardy-Weinberg
- Figure 12 :** Arbre des distances génétiques ou dendrogramme des 4 populations étudiées

**Tableau 1 :** Nomenclature des gènes KIR

**Tableau 2 :** Les ligands connus des récepteurs KIR

**Tableau 3 :** Fréquences antigéniques et géniques des récepteurs KIR dans différentes populations (données de la littérature)

**Tableau 4 :** Pourcentages F de porteurs et fréquences géniques fg des marqueurs KIR inhibiteurs et activateurs

**Tableau 5 :** Pourcentages F de porteurs et fréquences géniques fg des allèles KIR2DS4 et KIR1D du marqueur activateur 2DS4

**Tableau 6 :** Répartition en nombre de gènes inhibiteurs et activateurs moyens, entre les 4 populations étudiées, sur un total de 8 gènes inhibiteurs et de 6 gènes activateurs

**Tableau 7 :** Nombres de porteurs et de non-porteurs des 16 spécificités KIR, dans les 4 populations étudiées.

**Tableau 8 :** Génotypes (n=12) dont les fréquences sont au moins supérieures à 5% dans une population

**Tableau 9 :** Comparaison des nombres de génotypes différents et de génotypes spécifiques dans chaque population étudiée. Pourcentage de diversité génotypique, de spécificité génotypique

**Tableau 10 :** Matrice des distances, par la méthode des moindres carrés (Arlequin, Programme Fitch, logiciel Phylip)

**Tableau 11 :** Classement des populations par ordre croissant des distances génétiques obtenues à l'aide de la matrice des distances

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

ADCC :	Antibody Dependant Complement Cytotoxicity
ADN :	Acide désoxyribonucléique
BET :	Bromure d'éthidium
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMV :	Cytomégalovirus
CSH :	Cellules Souches Hématopoiétiques
CSP :	Cellules Souches Périphériques
dNTP :	désoxynucléotide triphosphate
Fc :	Fragment constant
GMO :	Grefe de Moelle Osseuse
aGvHD :	acute Graft versus Host Disease
GvL:	Graft versus Leukemia
HLA :	Human Leukocyte Antigen
HGNC :	Comité de nomenclature du génome HUGO
Ig :	Immunoglobulin
ILT :	Immunoglobulin Like Transcript
ITIM :	Immune Tyrosine-based Inhibitory Motif
KIR :	Killer-cell-Immunoglobulin-like-Receptor
LAIR :	Leukocyte-Associated-Inhibitory-Receptor
LAM :	Leucémie Myéloïde Aigüe
LGL :	Large Granular Lymphocytes
LILR :	Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors
LRC :	Leukocyte Receptor Complex
NCAM :	Neural Cell Adhesion Molecule
NCR :	Natural Cytotoxicity Receptors



NK : Natural Killer

NKC : Natural Killer Complex

Pb : Paire de bases

PCR-SSO : Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotides

PCR-SSP : Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Primers

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

TBE : Tris borate EDTA

TCR : T Cell Receptor

ULBP : UL16-binding protein

# **INTRODUCTION ET OBJECTIFS**

# **1 INTRODUCTION**

Les êtres humains sont à la fois semblables et différents. Les ressemblances évidentes entre les humains constituent la « nature humaine » : la station debout, la minceur de la peau, une pilosité peu développée... C'est ce qui nous rassemble et nous distinguent des autres organismes et des autres mammifères. Au sein même de la nature humaine, les êtres humains sont caractérisés par une incroyable diversité, tant sur un plan physique (taille, poids, pilosité, couleur de peau...) que psychique.

Pour le généticien, la raison ultime de la différence entre les gens est la différence entre leurs gènes. Pour le comportementaliste, les différences psychiques ont pour seule origine les habitudes acquises sous l'effet de l'environnement. En fait, la compréhension de la diversité humaine passe par une synthèse où interviennent à la fois la biologie moléculaire, la génétique, l'embryologie, la physiologie, la sociologie, l'anthropologie, l'économie politique, l'histoire... Ainsi, la compréhension de la diversité humaine passe par la connaissance de la balance entre les différences biologiques d'origine génétique et celles dues à l'environnement qui constitue la célèbre opposition entre « nature » et « culture ». En effet, les organismes sont en continuel développement, influencé par l'interaction réciproque des gènes et de l'environnement [1].

Les variations génétiques héritables visualisées grâce aux « marqueurs génétiques », tels que le système des groupes sanguins ABO, certaines protéines (haptoglobine, transferrine) ou le système des antigènes d'histocompatibilité leucocytaire, ont permis de reconstituer notre passé.

Le système d'histocompatibilité humain, nommé HLA (Human Leucocyte Antigen ou antigènes des leucocytes humains) a été caractérisé à partir de 1952 par Jean Dausset, prix

Nobel de Médecine en 1980 [2]. Ces gènes, regroupés dans une même région du chromosome 6 chez l'homme, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), codent pour des protéines d'histocompatibilité.

Ces marqueurs moléculaires, qui caractérisent chaque individu d'une espèce, déterminent ainsi une identité tissulaire et de ce fait la capacité d'un organisme à tolérer un greffon issu d'un autre individu HLA identique (compatibilité tissulaire).

Le polymorphisme –ou diversité génique- constitue une des particularités très spécifique de ce système de groupes.

Les gènes du CMH proviennent de gènes ancestraux datant de plus de 65 millions d'années et l'étude statistique du patrimoine génétique HLA des populations permet de reconstituer l'histoire du peuplement des différentes régions du globe.

L'espèce humaine constitue une population naturelle d'apparition récente. Par conséquent, presque toutes les variantes des gènes sont présentes dans toutes les populations humaines (ainsi aucune classification raciale ne permet de caractériser les individus par des présences ou absences de gènes). Seules les fréquences de ces gènes varient selon les populations.

De plus, la variation des fréquences géniques HLA à travers le monde dépend de la distance géographique entre les populations. Ainsi, la carte de la répartition mondiale des gènes humains révèle l'existence d'un noyau central constitué de l'Afrique de l'Est, l'Afrique du Nord, le Proche Orient et la péninsule indienne [1, 3]. Il y a 50000 à 100 000 ans, des groupes de migrants ont quitté cette zone géographique pour aller vers l'Orient et l'Océanie puis vers l'Europe et l'Amérique, enfin vers l'Afrique de l'Ouest et du Sud. Chacun de ces groupes a emporté un échantillon de gènes puisé dans le répertoire d'origine. Ainsi, ces petits groupes ont fondé des populations qui présentent des différences dues à ces échantillonnages successifs, inégaux en taille et en variété.

De découverte plus récente, les molécules KIR, Killer-cell-Immunoglobulin-like-Receptor, sont des récepteurs activateurs et inhibiteurs, exprimés à la surface des cellules Natural Killer (NK), acteurs essentiels du système immunitaire : ces cellules jouent un rôle prépondérant lors de la réponse immunitaire innée antivirale et antitumorale, provoquant la lyse des cellules cibles infectées ou transformées. Ces récepteurs possèdent comme ligands majoritaires les molécules HLA de classe I classiques (HLA-A, -B, -Cw) et non classique (HLA-G) et permettent la régulation de l'activité lytique NK, celle-ci résultant des signaux activateurs et inhibiteurs. Néanmoins, de nombreux ligands, spécifiques de ces molécules, en particulier des récepteurs activateurs, ne sont pas connus, mais probablement pas uniquement représentés par les molécules HLA.

En plus d'une relation « Récepteur-Ligand », les molécules KIR possèdent une caractéristique commune avec les molécules HLA, à savoir celle d'un polymorphisme peptidique, traduisant un polymorphisme des séquences nucléotidiques ou polymorphisme allélique important. Ils représentent pour cela de bons candidats comme marqueurs de génétique humaine, même si à l'heure actuelle, peu d'études de population ont été publiées concernant les fréquences géniques de ces récepteurs KIR.

Enfin, le dernier point concernant les récepteurs KIR, les rapprochant toujours plus de leurs ligands HLA, est le rôle important qu'ils semblent jouer dans la greffe de moelle osseuse (GMO) ou plus généralement dans la greffe de cellules souches hématopoiétiques (CSP). En effet, les gènes KIR, récemment étudiés en GMO, pourraient être dans certaines conditions fortement impliqués dans le devenir du greffon, en particulier en terme de compatibilités KIR et ligands HLA entre le Donneur et le Receveur. Une connaissance plus approfondie des mécanismes d'action des récepteurs KIR en relation (ou non) avec leurs ligands HLA, semble déjà faire apparaître un rôle variable des différentes spécificités KIR. En effet, les spécificités

KIR activateurs seraient fonctionnellement plus impliquées que les spécificités KIR inhibiteurs.

## **2 OBJECTIFS**

Les études sur les récepteurs KIR, marqueurs des cellules NK, et/ou de leurs ligands, dans les greffes de CSP se multiplient actuellement dans le but de découvrir un « modèle parfait » d'incompatibilité/compatibilité KIR [4], au-delà des compatibilités HLA, entre le donneur apparenté ou non-apparenté et le receveur. En parallèle, les récentes analyses de polymorphisme génétique des récepteurs KIR dans les différentes populations doivent être étendues dans le but d'approfondir les connaissances actuelles concernant ces marqueurs génétiques récemment découverts, en terme de diversité et donc de fréquence de gènes, génotypes, haplotypes et d'éventuels déséquilibres de liaison existants. Conjuguées à des études rétrospectives de l'impact des diversités KIR entre le donneur et le receveur de CSP sur la prise de greffe, les risques de GvH, de rejet... ces différentes études devraient permettre à terme une meilleure sélection génétique (HLA et KIR) de donneurs provenant de différents fichiers internationaux de donneurs volontaires de CSP, et ainsi une amélioration du taux de survie des receveurs greffés.

La première partie de ce travail dressera un état des lieux des connaissances actuelles publiées dans la littérature scientifique, concernant les cellules NK ainsi que leurs marqueurs KIR. Dans une seconde partie seront abordées les données essentielles concernant ces récepteurs KIR en particulier, l'intérêt génétique en tant que marqueurs de populations et l'intérêt clinique dans la greffe de moelle osseuse.

Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse consisteront à étudier les récepteurs KIR, dans leur diversité génétique, dans 4 populations géographiquement différentes, sélectionnées en fonction de disparités génétiques attendues: la population sénégalaise, les populations caucasoïdes française et finlandaise, et enfin la population guadeloupéenne, représentant à ce titre des populations reflétant des courants migratoires complexes et différents. Les fréquences des gènes, génotypes et haplotypes KIR seront ensuite déterminées pour chaque population, puis comparées entre elles et avec les données de la littérature. L'analyse des distances génétiques nous permettra, à partir de lois statistiques validées antérieurement sur le modèle HLA, de vérifier nos résultats, en considérant l'histoire du peuplement sur terre.

Ces données devraient se révéler très utiles secondairement en greffe de CSH pour des calculs de probabilité de sélection de donneurs de moelle sur la base de compatibilités KIR comme cela est déjà le cas pour le système HLA.

## **Partie I**

# **LES RECEPTEURS KIR, MARQUEURS DES CELLULES NATURAL KILLER « NK »**



# **1 LES CELLULES NATURAL KILLER (NK)**

## **1.1. Généralités**

Les cellules Natural Killer (NK) sont une sous-population de lymphocytes, différente des lymphocytes B et T et constituent une composante cellulaire majeure du système immunitaire inné. Chez l'homme adulte, elles représentent 5 à 20% des lymphocytes du sang circulant et sont présentes également dans de nombreux organes comme le foie, la rate, les poumons, les ganglions lymphatiques, le placenta et les intestins. Elles reconnaissent et éliminent les cellules cibles anormales, notamment les cellules infectées par des virus ou les cellules tumorales.

Les cellules NK se définissent à la fois sur des critères morphologiques, phénotypiques et fonctionnels.

### ➤ Ontogénie des cellules NK

Les cellules NK dérivent d'un progéniteur médullaire commun aux lymphocytes T, mais contrairement aux lymphocytes T et B, n'expriment pas de récepteur spécifique pour l'antigène (TCR ou Immunoglobuline). Leur maturation est extra-thymique et s'effectue au contact du micro-environnement médullaire, dans un contexte cytokinique particulier (IL15, IL21).

### ➤ Morphologie

Les cellules NK sont de grands lymphocytes granuleux (large granular lymphocytes LGL) contenant des granules cytoplasmiques riches en perforine et granzymes, libérées lors de la phase effectrice de cytotoxicité.

### ➤ Caractérisation des cellules NK

Les lymphocytes NK se caractérisent par l'absence des récepteurs spécifiques de l'antigène des lymphocytes B (Immunoglobulines Ig) et des lymphocytes T (TCR/CD3). Chez l'homme, ces cellules expriment un récepteur de basse affinité pour le fragment Fc des IgG, CD16 (FcγRIIIA) ainsi qu'une molécule d'adhérence du système nerveux, CD56 (Neural Cell Adhesion Molecule NCAM).

Ainsi les cellules NK sont de phénotype caractéristique CD3<sup>-</sup> CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> [5].

La densité des molécules CD56 à la surface des cellules NK permet de distinguer deux sous-populations (CD56<sup>bright</sup>, CD56<sup>dim</sup>), fonctionnellement différentes dans le sang circulant [6]. La grande majorité des cellules NK (90%) expriment faiblement CD56 (CD56<sup>dim</sup>) et fortement CD16 (CD16<sup>bright</sup>); elles ont des capacités cytotoxiques importantes et prolifèrent mal en réponse à l'IL2. A l'inverse, les cellules NK CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>dim</sup> ou CD16<sup>neg</sup>, représentent 10% des NK, sont peu cytotoxiques et capables de proliférer en réponse à de faibles doses d'IL2. Ces dernières produisent en grande quantité des cytokines comme l'IFN $\gamma$ , IL10, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ . [7].

Les marqueurs spécifiques des cellules NK du sang périphérique sont les molécules NKp46 et NKp30.

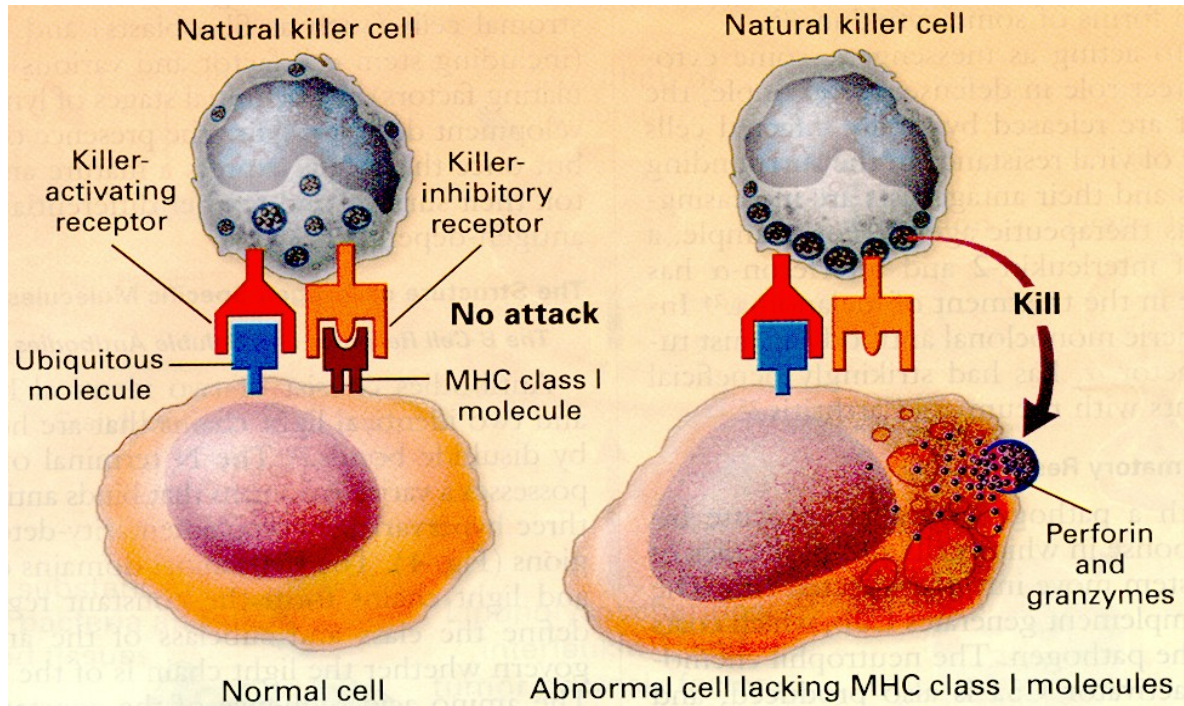
## 1.2. Fonctions des cellules NK : deux types de cytotoxicité

Les cellules NK jouent un rôle important dans la réponse immunitaire innée via leurs fonctions de cytotoxicité dite naturelle. De plus elles produisent des cytokines et chemokines [8] et interviennent ainsi dans la coopération cellulaire et l'orientation de la réponse immunitaire acquise.

Les cellules NK peuvent exercer deux types de cytotoxicité (Figure 1):

- la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) au cours de laquelle la molécule CD16 exprimée à la surface des cellules NK reconnaît le fragment Fc des Ig fixé sur les cellules cibles, provoquant secondairement leur lyse.
- la cytotoxicité naturelle, non restreinte par le CMH mais qui en dépend. L'activation des cellules NK est régulée par un équilibre entre des signaux activateurs et inhibiteurs, passant par des récepteurs, qui reconnaissent les molécules du CMH de classe I. L'interaction entre ces récepteurs inhibiteurs et leurs ligands exprimés à la surface des cellules cibles inhibe l'activation du programme de lyse et de production des cytokines. Chaque clone NK d'un individu exprime au minimum un récepteur inhibiteur spécifique d'une molécule CMH de classe I du soi et permet ainsi la protection des cellules autologues non altérées. Au contraire, l'absence ou le nombre insuffisant de molécules de CMH de classe I ou la présence de ligands activateurs (qui restent à identifier) à la surface des cellules cibles conduit à l'activation de la lyse, ce qui caractérise l'hypothèse du "soi manquant" [9]. Ces événements se produisent fréquemment dans les infections virales ou les pathologies tumorales [10]. Ces réactions d'immunosurveillance

naturelles sont donc complémentaires à celles acquises des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques qui, à l'inverse, ne peuvent lyser que des cibles, CMH classe I positives, présentant un antigène spécifique.



**Figure 1** Mécanisme de la cytotoxicité NK [11]

Les cellules NK activées et en particulier la sous-population NK CD56<sup>bright</sup> chez l'homme, sécrètent un grand nombre de cytokines de type Th1, Th2 ou pro-inflammatoires et des chimiokines. L'IFN $\gamma$  (cytokine Th1), joue un rôle majeur dans la défense antivirale impliquant les cellules NK. D'autre part, les réactions inflammatoires s'accompagnent souvent de la libération locale de cytokines qui peuvent ainsi activer les cellules NK (les cellules NK exprimant de nombreux récepteurs pour les cytokines et chimiokines) et également augmenter l'expression des ligands membranaires.

### 1.3. La régulation NK : les récepteurs activateurs et inhibiteurs

Les cellules NK expriment de nombreux récepteurs activateurs et inhibiteurs (Figure 2) à leurs surfaces et leurs fonctions lymphocytaires sont la résultante de signaux activateurs et de signaux inhibiteurs [12 , 13 , 14].

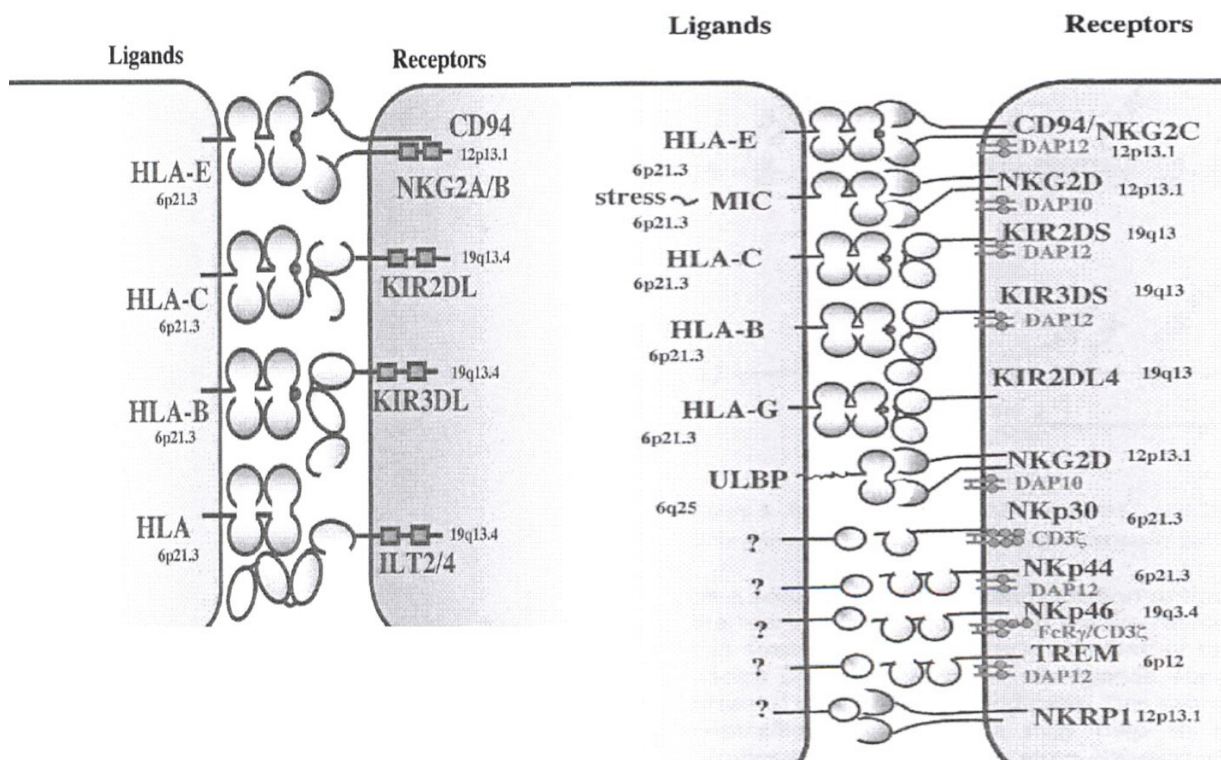
On distingue deux familles de récepteurs des cellules NK :

- Les récepteurs de la superfamille des Immunoglobulines : les KIRs (Killer cell Immunoglobulin-like Receptors), les LILR (Leucocyte Immunoglobulin-Like Receptors), les LAIR (Leucocyte-Associated-Inhibitory-Receptor) et enfin, le récepteur activateur NKp46 dont les gènes correspondants sont localisés sur le chromosome 19 au niveau de la région LRC (Leukocyte Receptor Complex). Les NCR (Natural Cytotoxicity Receptors), incluant le récepteur NKp46 ainsi que les récepteurs NKp30 et NKp44, sont eux codés par des gènes localisés sur le chromosome 6 et permettent l'activation directe de la cellule NK [15].

Les récepteurs KIR et LILR sont majoritairement inhibiteurs et la plupart possède comme ligands les molécules HLA de classe I, alors que les NCR sont activateurs, de ligands cellulaires encore inconnus.

- Les récepteurs de la famille des lectines de type C : hétérodimères formés par l'association d'une molécule CD94, chaîne « invariante », et d'une glycoprotéine codée par un gène de la famille des NKG2. Cette famille comporte 5 gènes codés chez l'homme par le chromosome 12, au niveau de la région NKC (Natural Killer Complex). Le ligand des complexes CD94/NKG2 (A/C/E) est la molécule HLA-E, molécule HLA de classe I non classique chargée de peptides issus de la séquence

« signal » des molécules HLA de classe I classiques [16]. La molécule NKG2D homodimère, récepteur activateur, reconnaît à la surface cellulaire les molécules HLA non classiques MICA, MICB [17] et ULBP (UL16-binding protein) [18], protéine virale du CMV. Ces molécules sont surexprimées dans des situations de stress ou dans un environnement tumoral. Notons que NKG2D est également considéré comme un récepteur NCR.



**Figure 2** Les récepteurs activateurs et inhibiteurs et leurs ligands (The KIR gene cluster, M. Carrington, P. Norman, 2003)

Dans la seconde partie de ce chapitre nous détaillerons tout particulièrement les récepteurs KIR activateurs et inhibiteurs évoqués ci-dessus, récepteurs exprimés à la surface des cellules

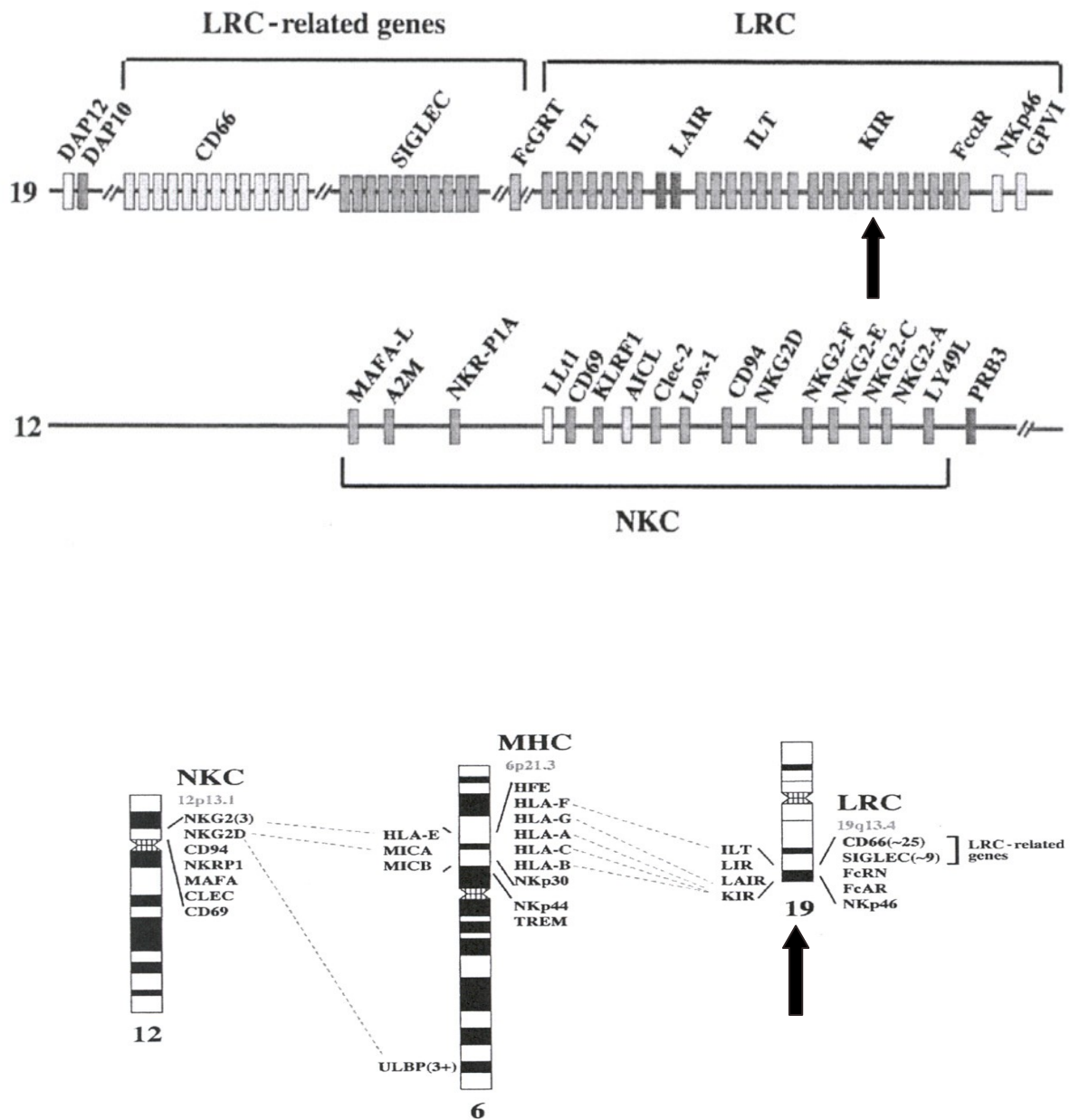
NK et possédant comme ligands connus les molécules HLA de classe I classiques et non classiques. En effet, ces récepteurs ont été récemment définis par des propriétés génétiques et cliniques dans la greffe de moelle osseuse qui nous ont intéressées dans ce travail de thèse et que nous expliciterons par la suite.

## **2 LES RECEPTEURS KILLER CELL IMMUNOGLOBULIN LIKE RECEPTOR (KIR)**

### **2.1. Analogie avec le système murin**

Les premières études effectuées chez la souris ont permis d'identifier des gènes codant pour des récepteurs Ly49, spécifiques de ligands CMH classe I murins [19 , 20]. Par la suite, les gènes humains codant pour les récepteurs KIR ont été identifiés ; ils présentent eux aussi des spécificités pour des ligands du MHC classe I : HLA de classe I, [21] ainsi que des fonctions identiques aux récepteurs Ly49 [22 , 23]. Ces molécules possèdent néanmoins des structures protéiques distinctes puisque les gènes KIR codent pour des protéines de la famille des Ig alors que les gènes Ly49 codent pour des protéines de type lectine C.

Chez l'homme, les gènes KIR sont localisés sur le chromosome 19q13.4 [24 , 25 , 26] dans la région LRC (Leukocyte Receptor Complex) qui contient également les autres membres de la superfamille des Ig (ILTs, LAIRs, NKp46) (Figure 3). Le LRC possède une région homologue chez la souris sur le chromosome 7 ; cependant malgré de nombreuses similitudes entre les LRC humains et murins, aucun équivalent aux gènes KIR humains n'ont été retrouvés chez la souris.



**Figure 3** Organisation des gènes des récepteurs des cellules NK chez l’homme [27].

Les événements de duplication de gènes qui ont permis la génération de la région des gènes KIR semblent dater de 30-45 millions d’années [28]. Cette région KIR du génome humain est très certainement apparue rapidement (quelques millions d’années) durant la



divergence des primates à partir des autres mammifères, conséquence à long terme de l'évolution rapide des gènes MHC de classe I classique [29 , 30 , 31 , 32].

## **2.2. Nomenclature**

Le premier récepteur KIR défini était un récepteur inhibiteur, expliquant l'acronyme "killer-cell inhibitory receptor" initialement choisi. Malgré le fait que cette famille de molécules inclu aujourd'hui aussi bien des récepteurs activateurs que inhibiteurs, l'acronyme KIR a été conservé mais signifie aujourd'hui "Killer-cell Immunoglobulin-Like Receptor" [33].

La nomenclature [34] des gènes KIR (Tableau 1) a été déterminée par le comité de nomenclature du génome HUGO (HGNC) en 2002 ; elle est basée sur la structure des molécules qu'ils codent. Le premier chiffre suivant l'acronyme KIR correspond au nombre de domaines Immunoglobulines extracellulaires de la molécule, « 2D » ou « 3D ». La lettre suivante indique la présence d'un long « L » domaine intra-cytoplasmique ou d'un court "S" domaine intra-cytoplasmique. Dans le cas de gène non codant, ce chiffre (2 ou 3) est suivi de la lettre « P » pour pseudogène. Enfin, le dernier chiffre précise le numéro du gène codant la protéine déterminée. Lorsque 2 ou plusieurs gènes possèdent des structures très similaires, les deux gènes ne sont distingués que par une lettre finale; par exemple les gènes KIR2DL5A et KIR2DL5B, certainement récemment dupliqués.

La nomenclature utilisée afin de nommer les allèles KIR a été calquée sur celle appliquée aux allèles HLA; le nom du gène est ainsi suivi d'un astérisk, le séparant de la désignation numérique de l'allèle précisée par les 3 premiers digits. Les deux digits suivant permettent de distinguer les allèles ne différant que par des mutations synonymes à l'intérieur

de la séquence codante. Enfin les deux derniers digits distinguent les allèles qui diffèrent par des substitutions dans les introns, le promoteur, ou autre région non codante de la séquence.

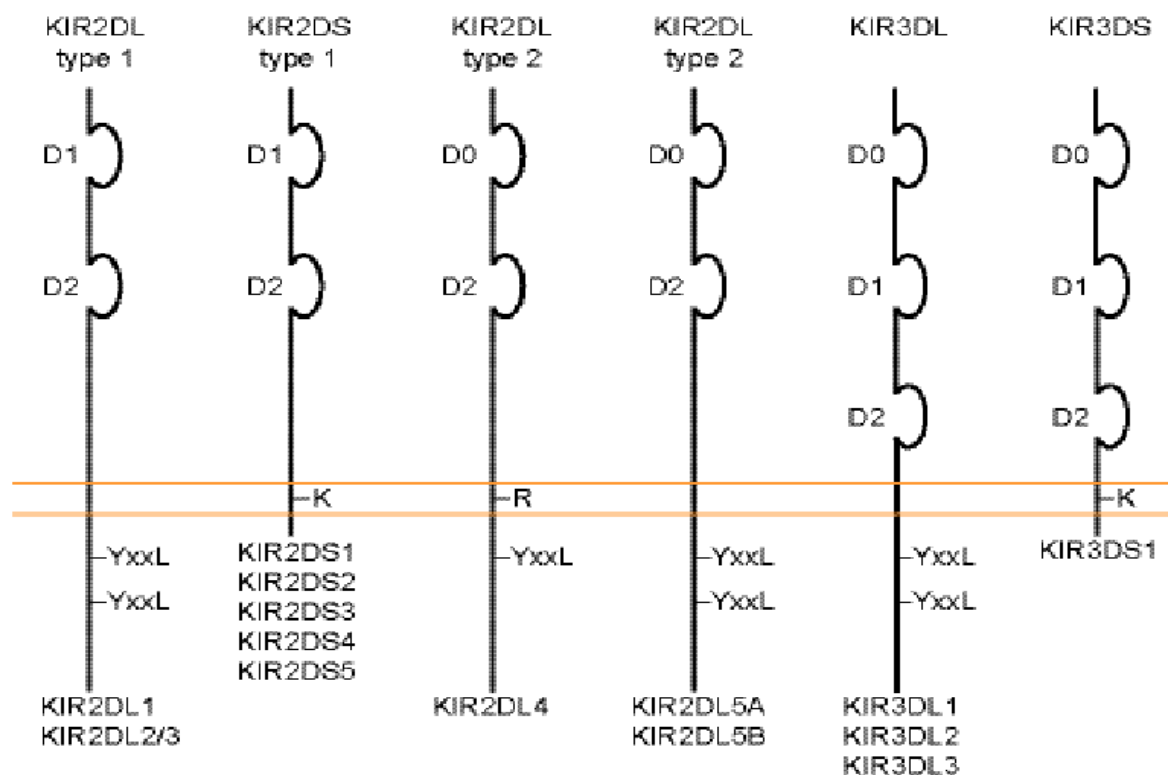
Par exemple, le pseudogène 3DP1 existe sous 4 formes alléliques : 3DP1\*001, 3DP1\*002, 3DP1\*00301, 3DP1\*00302.

Symbole	Nom	Alias CD	Anticorps	N° accession	Nb allèles
KIR2DL1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 1	CD158a	EB6, HP3E4	L41267	10
KIR2DL2	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 2	CD158b1	GL183, CH-L	L76669	5
KIR2DL3	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 3	CD158b2	GL183, CH-L	L41268	10
KIR2DL4	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 4	CD158d		X97229	18
KIR2DL5A	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 5A	CD158f		AF217485	
KIR2DL5B	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique long, 5B			AF217486	
KIR2DS1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique court, 1	CD158h	EB6, HP3E4	X89892	4
KIR2DS2	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique court, 2	CD158j	GL183, CH-L	L76667	8
KIR2DS3	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique court, 3			L76670	3
KIR2DS4	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique court, 4	CD158i	p70	L76671	9
KIR2DS5	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, bras cytoplasmique court, 5	CD158g		L76672	3
KIR2DP1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 2 domaines, pseudogène 1	KIRZ, KIR2DL6		AF204908	?
KIR3DL1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 3 domaines, bras cytoplasmique long, 1	CD158e1	DX9, Z27	L41269	22
KIR3DL2	Killer cell immunoglobulin like receptor, 3 domaines, bras cytoplasmique long, 2	CD158k	DX31	L41270	20
KIR3DL3	Killer cell immunoglobulin like receptor, 3 domaines, bras cytoplasmique long, 3	CD158z		AF352324	7
KIR3DS1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 3 domaines, bras cytoplasmique court, 1	CD158e2	DX9?, Z27?	L76661	6
KIR3DP1	Killer cell immunoglobulin like receptor, 3 domaines, pseudogène 1	KIRX, KIR2DS6, CD158c		AF204919	4

**Tableau 1** Nomenclature des gènes KIR

### **2.3. La diversité structurale des KIR: bases génétiques**

Aujourd'hui, 17 gènes et pseudogènes ont été caractérisés, se répartissant de la façon suivante: KIR2DL1, 2, 3, 4, 5 (A et B), KIR2DS1, 2, 3, 4, 5, KIR2DP1, KIR 3DL1, 2, 3, KIR3DS1, KIR3DP1. Les récepteurs KIR inhibiteurs possèdent un long domaine intracytoplasmique contenant des motifs inhibiteurs ITIMs (Immune Tyrosine-based Inhibitory Motifs) [35], alors que les récepteurs activateurs sont caractérisés par un court domaine intracytoplasmique [36] (Figure 4). De plus, ces récepteurs activateurs sont associés à une protéine de signal activateur DAP12, via un résidu lysine chargé positivement au niveau de leur domaine trans-membranaire. Le récepteur KIR2DL4 représente une exception parmi les KIR puisqu'il possède à la fois un résidu arginine chargé positivement dans sa région transmembranaire et un motif ITIM au niveau d'un long domaine intracytoplasmique, expliquant ses fonctions à la fois activatrices et inhibitrices.



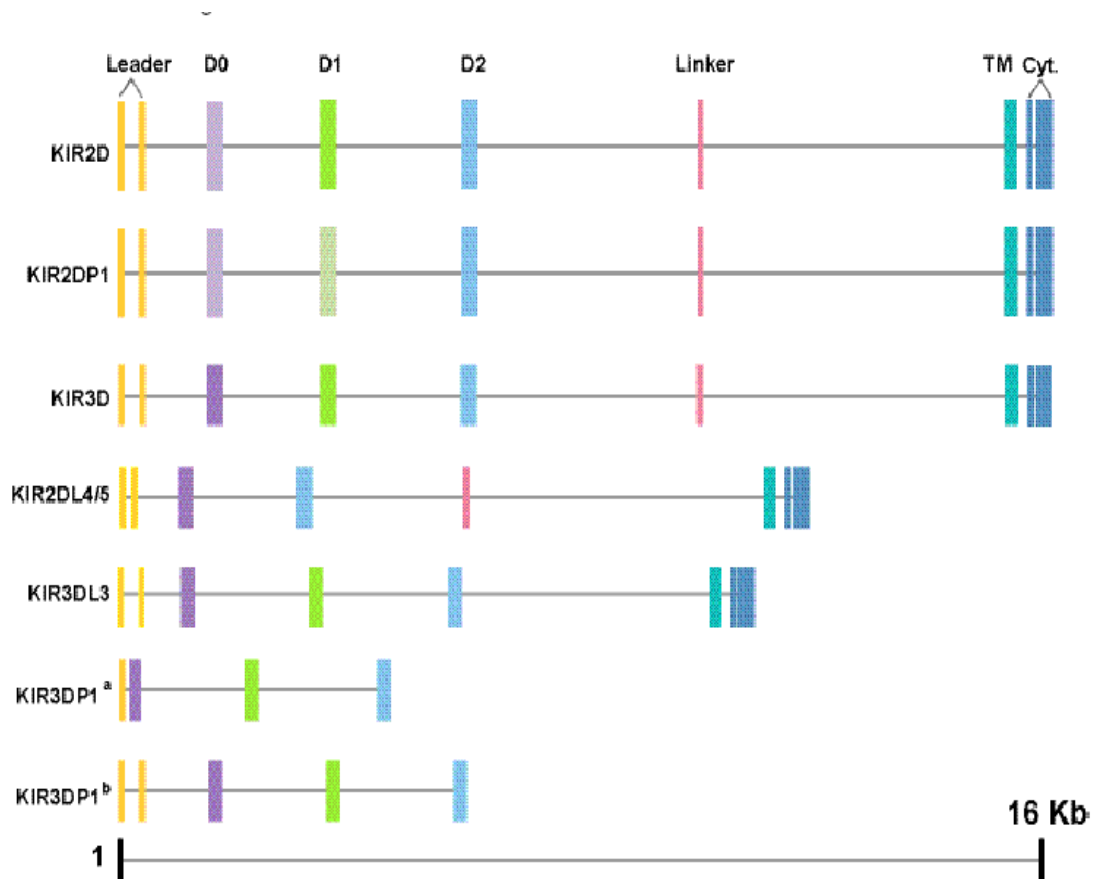
**Figure 4** Structure des récepteurs KIR (M. Carrington et al. The KIR gene cluster, 2003)

Le récepteur KIR à partir duquel dériveraient tous les autres est un KIR à long domaine intra-cytoplasmique, avec 3 domaines Ig-like extra-membranaires, représenté chez l'homme par KIR3DL1, KIR3DL2 et KIR3DL3.

Les gènes KIR sont organisés en 9 exons (Figure 5) qui correspondent à des régions et des fonctions différentes de la protéine: les exons 1 et 2 codent chacun pour un peptide signal ainsi que les deux premiers acides aminés du polypeptide mature. Les exons 3, 4, 5 codent pour les domaines immunoglobulines, D0, D1 et D2 respectivement. L'exon 6 permet la connection entre D2 et la région trans-membranaire codée par l'exon 7; le fragment intra-cytoplasmique est codé par les exons 8 et 9.

La majorité des KIR humains ont 2 domaines extracellulaires Ig-like qui sont de deux types: les KIR2D qui possèdent des domaines homologues à D1 et D2 de KIR3DL (2DL1-3

et 2DS1-5) et les KIR2D qui possèdent des domaines homologues à D0 et D2 de KIR3DL (KIR2DL4 et KIR2DL5).



**Figure 5** Structure des exons-introns des gènes KIR (M. Carrington et al.)

Les exons codant pour les différents domaines des molécules KIR sont les suivants : exons 1 et 2 pour la séquence du signal leader (jaune), exons 3 à 5 pour les domaines Immunoglobulines D0, D1 et D2 respectivement (violet, vert, bleu), exons 6 et 7 pour la région « Linker » et la région transmembranaire respectivement (rose et turquoise), exons 8 et 9 pour le domaine cytoplasmique (bleu foncé).

Le 1<sup>er</sup> groupe de KIR à 2D (KIR2DL-1/-2/-3 et tous les 2DS) possèdent une organisation génomique identique aux KIR 3D, mais l'exon 3 (D0) de ce 1<sup>er</sup> groupe est un pseudogène (violet clair) ; l'exon 3 correspond également à un pseudogène sur KIR2DP1 qui possède en outre un pseudo-exon 4 (vert clair). Le second groupe de KIR à 2D (2DL4, 2DL5A et 2DL5B) est caractérisé par une absence complète de l'exon 4.

## 2.4. La spécificité des récepteurs KIR pour les molécules HLA de classe I

Différentes approches ont permis d'établir la relation « récepteur-ligand » que partagent les récepteurs KIR vis à vis des molécules HLA de classe I : étude de neutralisation par des anticorps monoclonaux, expériences de "binding" [37, 38, 39] et enfin transfert direct de gènes [40]. Fonctionnellement, les molécules KIR2D reconnaissent majoritairement les ligands HLA-C [36, 41] et HLA-G alors que les molécules KIR3D interagissent avec les allèles HLA-A et HLA-B [42, 43, 44].

Deux groupes d'allotypes HLA-C ont été identifiés en fonction de la nature des acides aminés en position 77 et 80 de l'hélice  $\alpha 1$  de la molécule HLA-C :

Le premier groupe (groupe 1) d'allèles HLA-Cw possèdent les résidus Serine et Asparagine en position 77 et 80 respectivement (Ser77/Asn80) et regroupe entre autre HLA-Cw\*01, -Cw\*03, -Cw\*07, -Cw\*08, -Cw\*12, -Cw\*13, -Cw\*14, -Cw\*1601, -Cw\*1603. Les NKR inhibiteurs KIR2DL2 et KIR2DL3 reconnaissent les allèles HLA-C de ce groupe; les récepteurs activateurs KIR2DS2 et KIR2DS3, portant les mêmes domaines extra-cellulaires que les récepteurs inhibiteurs correspondants reconnaissent ce même groupe 1 d'allèles HLA-Cw.

Le groupe 2 d'allèles HLA-C possèdent les résidus Asparagine et Lysine en position 77 et 80 (Asn77/Lys80) respectivement et incluent les molécules HLA-Cw\*02, -Cw\*04, -Cw\*05, -Cw\*06 -Cw\*15, -Cw\*1602, -Cw\*1701. Les récepteurs inhibiteur KIR2DL1 et activateur KIR2DS1 reconnaissent les allèles HLA-Cw du groupe 2.

Les récepteurs inhibiteurs semblent avoir une meilleure affinité que leurs équivalents activateurs pour les allèles HLA-C du groupe correspondant. Ainsi, à interactions inhibitrices

et activatrices égales, les cellules NK développent préférentiellement un signal inhibiteur de la lyse [45 , 46].

Comme nous l'avons expliqué précédemment, le récepteur KIR2DL4 est unique parmi les membres de la famille KIR2D puisqu'il possède, outre sa double fonction inhibiteur-activateur, les domaines Ig dans une configuration D0-D2, alors que les autres KIR2D sont en configuration D1-D2. Ce récepteur se lie spécifiquement à la molécule HLA-G de classe I non classique.

Les molécules KIR 3DL1 et KIR 3DS1 reconnaissent les allotypes HLA-B possédant le motif Bw4 au niveau des résidus 77-83 dans le domaine  $\alpha$ 1 de la chaîne lourde HLA.

Enfin, le KIR3DL2 reconnaît certains allèles HLA-A (A\*03 et A\*011).

Les ligands des autres récepteurs KIR (comprenant majoritairement les récepteurs activateurs) n'ont actuellement pas été identifiés.

L'ensemble des ligands identifiés des récepteurs KIR est rassemblé dans le tableau 2.



2DL1 et 2DS1	2DL2/3 et 2DS2	3DL1/S1	3DL2	2DL4	2DS4
HLA-Cw gpe 2	HLA-Cw gpe 1	HLA-B Bw4	HLA-A	HLA-G	HLA-C
Cw*02	Cw*01	B*08	A*03		Cw*04
Cw*04	Cw*03	B*13	A*11		
Cw*05	Cw*07	B*27			
Cw*06	Cw*08	B*44			
Cw*15	Cw*12	B*51			
Cw*1602	Cw*13	B*52			
Cw*1701	Cw*14	B*53			
	Cw*1601	B*57			
	Cw*1603	B*58			

**Tableau 2** Les ligands connus des récepteurs KIR

La reconnaissance KIR dépend vraisemblablement d'autres résidus au niveau de la molécule HLA, puisque par exemple, la présence de résidus Serine et Asparagine, en position 77 et 80 de certains allèles HLA-B (identiques aux marqueurs HLA-C de groupe 1) ne permet pas la reconnaissance KIR2DL2 attendue. Egalement, le récepteur KIR2DS2 activateur ne se lie pas aux molécules HLA-Cw3, reconnues par le récepteur KIR2DL2 inhibiteur, malgré une homologie en acide aminé extracellulaire de 99 %. Ainsi, une variation minimale au niveau des acides aminés impliqués dans la structure tridimensionnelle de la molécule KIR peut altérer les capacités de reconnaissance de la molécule CMH classe I [47].

Dans ce même contexte, des études de cristallographie au niveau de la structure du KIR2DL2 complexé avec son ligand HLA-Cw3 chargé de son peptide, suggèrent la probable

présence d'une région de liaison au ligand sur le récepteur [48 , 49], ainsi que la nécessité d'un peptide préférentiellement en position P8, au niveau de la liaison KIR-ligand. Cette reconnaissance peptide spécifique au niveau du résidu 8 [50] a été récemment confirmée entre le KIR3DL2 et les molécules HLA-A3 et A11 [51].

## **2.5. Le polymorphisme génétique des récepteurs KIR activateurs et inhibiteurs**

L'analyse des séquences clonées à partir de l'ADN de différents individus, ainsi que l'étude de la région 19q13.4, ont permis d'individualiser les différents niveaux de variabilité génétique.

Tout d'abord, chaque individu possède dans son génome un panel variable de ces gènes KIR, portant sur le nombre de gènes et/ou sur la proportion entre les gènes activateurs et inhibiteurs ([52 , 53 , 54]. Ces différents gènes peuvent donc être présents à l'état hétéro- ou homozygote, ou absents dans le génome.

Le typage des 15 gènes KIR exprimés et 2 pseudogènes actuellement caractérisés est effectué par technique de PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction Sequence Specific Primers) le plus couramment et/ou par PCR-SSO (Polymerase Chain Reaction Sequence Specific Oligonucleotides).

Les résultats obtenus à partir d'études de populations ont permis de distinguer plus de 100 génotypes KIR différents [53 , 55 , 56 , 57 , 58 , 59 , 60]. Ces génotypes sont représentés par un nombre de gènes KIR variant de 7 à 14. Le génotype le plus fréquent représente environ 27% de l'ensemble des individus et est caractérisé par un nombre de gènes restreint (7) ne comprenant qu'un unique gène codant pour un récepteur activateur (KIR2DS4) et qui correspond, nous le verrons plus tard, à une homozygotie pour l'haplotype A.

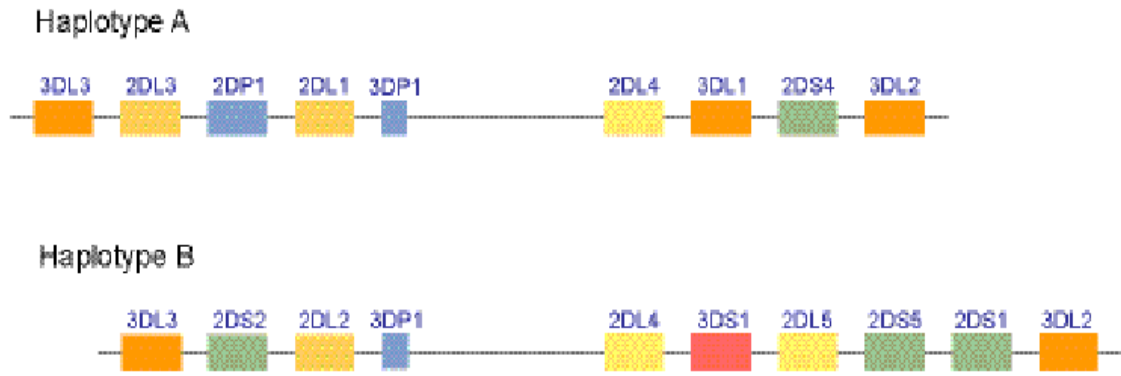
L'étude des génotypes KIR a de plus montré la présence de déséquilibres de liaison entre plusieurs de ces gènes, faisant émerger la notion d'haplotype. Deux approches ont permis de définir les haplotypes KIR chez les individus (Figures 6 et 7) : la première, la plus répandue est représentée par des études familiales et la seconde utilise une analyse génomique directe.

Deux types principaux d'haplotypes « A » et « B » ont été décrits [53 , 59], basés sur la nature des gènes KIR présents. L'haplotype A contient 7 gènes KIR codants, comprenant KIR2DS4 comme seul gène codant pour un récepteur activateur et KIR3DL3, -2DL3, -2DL1, -2DL4, -3DL1, -3DL2 alors que l'haplotype B est défini par l'absence de KIR2DS4 et par une composante KIR plus diverse, comprenant plusieurs récepteurs activateurs et caractérisé par les gènes KIR 2DL2, 2DS1, 2DS2, 2DS3 et 2DS5.

Ces haplotypes peuvent également être distingués par technique RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), le phénotype B possédant un fragment supplémentaire Hind III de 24 Kb.

L'existence de ces deux haplotypes fut ensuite confirmée par le séquençage nucléotidique de la région génomique KIR complète.

L'haplotype A représente de 47 à 59 % des haplotypes totaux [53], contre 41 à 53% pour l'ensemble des haplotypes B. Parmi les haplotypes B (plus de 20 haplotypes B différents identifiés), le plus répandu représente 12% des sujets du panel étudié [27 , 52, 61 , 62 ]



**Figure 6** Ordre et nature des gènes dans les haplotypes A et B (Carrington M. et al.)

	3DL3	2DS2	2DL2 2DL3	2DL5B	2DS3 2DS5	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1 3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	Ref*
1			3							L1					Δ		1-5
2			3							L1					Δ		1-5
3			2							L1					Δ		1-5
4			2							L1							1-5
5			3							S1							1-5
6			3							S1							1-5
7			3							S1					Δ		1,2
8			2		3					L1					Δ		1,4
9			2		3					S1							1,2,4
10			2							S1					Δ		1,2
11			2		5					L1							1,2
12			2							S1							1-5
13			2							L1					Δ		1,2,4
14			2							L1							1,2
15			2		5					L1							1,2
16			2		3					L1							1,2
17			2		3					L1							1,2
18			2		3					S1							1,2,4,5
19			2							S1					Δ		1,2
20			2							S1							1,2
21			3							L1					NS		5
22			2			?	?			L1					NS		4,5
23			2		3	?	?			L1							5
24																	2
25			3							S1					NS		2
26					3					L1					NS		2
27			2							L1					NS		4
28			3							L1							4
29			3							L1							4
30			2							L1					NS		4
31			2							L1					NS		3
32			2														3
33								?	?	L1					NS		3
34															NS		3
35			2							L1					NS		4
36			2		3	?	?			S1		?					5
37			3		3					S1							5

**Figure 7** Les différentes possibilités d'haplotypes KIR, basées sur leur contenu en gènes KIR (Carrington M. et al.)

D'autre part, le second degré de polymorphisme tient aux variations alléliques mises en évidence par l'étude comparative des séquences de cDNA des KIR. Le degré de variation allélique correspond au facteur de diversité le plus important, mais reste à définir. Actuellement, les nombres d'allèles identifiés les plus importants concernent ceux des gènes KIR3DL1, KIR3DL2 avec respectivement 11 et 12 allèles, ainsi que le KIR2DL4 représenté par 9 variants alléliques [55 , 62].

Malgré le fait que ces récepteurs KIR possèdent comme ligands les molécules du CMH de classe I, hautement polymorphes, ces deux groupes de gènes KIR et HLA ne possèdent pas de ségrégation commune, la localisation génomique de ces gènes étant sur deux chromosomes différents : chromosome 19 pour les premiers et chromosome 6 pour leurs ligands. Par conséquent, les cellules NK d'un individu peuvent exprimer des récepteurs KIR pour lesquels ils ne possèdent pas de ligands HLA.

## **2.6. Bases de la génétique KIR dans la population caucasoid**

Quelques études effectuées dans des populations caucasoides ont permis de déterminer les bases actuelles de la génétique des KIRs.

Dans ces populations caucasoides, les gènes KIR sont présents à des fréquences antigéniques très différentes, variant de 27 à 100% (Tableau 3). Trois gènes KIR sont ubiquitaires dans ces populations : il s'agit des gènes KIR2DL4, -3DL2, -3DL3. Les gènes codant pour les récepteurs KIR activateurs sont présents à des fréquences inférieures comparées à celles des gènes des récepteurs inhibiteurs. En particulier, le gène KIR 2DS3 est caractérisé par la fréquence antigénique la plus faible (27%).

D'autre part, il est important de préciser l'existence d'un variant du gène 2DS4, défini par une délétion de 22 pb au niveau du domaine Ig D2. Ce nouvel allèle « KIR 1D », ne s'exprime pas à la surface des cellules. Il est cependant caractérisé par une fréquence antigénique proche de 80% dans la population alors que le KIR 2DS4 n'est présent qu'à environ 35%.

Enfin, ces études de population ont révélé le comportement allélique d'au moins deux couples de gènes KIR : 3DL1/3DS1 et 2DL2/2DL3. Ainsi, ces gènes, s'excluant mutuellement, ne peuvent être portés que sur 2 chromosomes différents chez un même individu.

De nombreux déséquilibres de liaison ont également été découverts, que nous ne détaillerons pas dans ce travail.

KIR	caucasoides <sup>a</sup> n=90 *n=85	caucasoides <sup>b</sup> n=233	caucasoides <sup>c</sup> n=136	caucasoides <sup>d</sup> n=465	caucasoides <sup>e</sup> n=698	africains <sup>f</sup>
KIR2DL1	96 (0,80)	89 (0,67)	91 (0,70)	93,8 (0,75)	92,2 (0,72)	79 (0,54)
KIR2DL2	51 (0,30)	50 (0,29)	49 (0,28)	44 (0,25)	46 (0,26)	52 (0,30)
KIR2DL3	95 (0,77)	88 (0,65)	92 (0,72)	92,7 (0,73)	91,1 (0,70)	85 (0,62)
KIR2DL4	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,0)
KIR2DL5	56 (0,34)	nt	nt	52 (0,30)	nt	52 (0,30)
KIR2DS1	42 (0,24)	43 (0,24)	45 (0,26)	47,7 (0,28)	46 (0,26)	23 (0,12)
KIR2DS2	51 (0,30)	54 (0,32)	51 (0,30)	51,8 (0,30)	52,5 (0,31)	45 (0,26)
KIR2DS3	27 (0,14)	37 (0,20)	24 (0,13)	26,5 (0,14)	30 (0,16)	19 (0,10)
KIR2DS4	35 (0,20)	88 (0,65)	96 (0,79)	91,2 (0,70)	90 (0,68)	97 (0,82)
KIR1D	79 (0,54)*	nt	nt	nt	nt	nt
KIR2DS5	35 (0,20)*	21 (0,11)	32 (0,18)	33,6 (0,18)	29,4 (0,16)	24 (0 ;13)
KIR2DP1	96 (0,80)	nt	nt	nt	nt	nt
KIR3DL1	96 (0,80)	90 (0,68)	97 (0,83)	94 (0,75)	92,5 (72,6)	98 (0,87)
KIR3DL2	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,00)	100 (1,0)
KIR3DL3	100 (1,00)	100 (1,00)	nt	nt	nt	nt
KIR3DS1	47 (0,27)	46 (0,26)	42 (0,24)	41,9 (0,24)	43,3 (0,25)	13 (0,07)
KIR3DP1	93 (0,72)*	nt	nt	nt	nt	nt
KIR3DP1v	32 (0,17)*	nt	nt	nt	nt	nt

**Tableau 3** Fréquences antigéniques (et géniques) des récepteurs KIR dans différentes populations caucasoides et une population africaine (données de la littérature).

a : caucasoides, Irlande [63], \* : caucasoides, NY [61]

b : caucasoides, Grèce [64]

c : 136 caucasoides, UK [57]

d : 52 caucasoides, USA [53]+ 147 caucasoides, Australie [59] + 90 caucasoides, Irlande [56] + c + 49 caucasoides, Australie [60]

e : caucasoides a + b + c + d.

f : Africains, Trinidad [58]

## 2.7. Le répertoire KIR : expression protéique

Les récepteurs KIR sont exprimés à la surface des cellules NK et des cellules T CD8 mémoires [65].

A partir du stock de gènes KIR d'un individu, chaque cellule exprime son propre répertoire plus ou moins restreint de récepteurs activateurs et inhibiteurs, et au final, la cytotoxicité est régulée par un équilibre entre l'activation des signaux activateurs et inhibiteurs de cette cellule, résultant des interactions entre ces récepteurs et les molécules HLA de classe I classiques et non classiques. Le génotype KIR semble être le principal facteur déterminant l'expression du répertoire KIR sur les cellules NK alors que le génotype HLA interviendrait majoritairement au niveau des pourcentages des cellules exprimant les différents KIR [66].

Ainsi, les récepteurs KIR exprimés au niveau des cellules NK et T CD8 mémoires sont caractérisés par une régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle [67]. Pour cette raison, l'expression des gènes KIR est très variable d'une cellule à l'autre et d'un individu à l'autre.

Cependant, chaque individu possède au moins un récepteur KIR inhibiteur spécifique d'au moins une molécule ligand HLA de classe I. Ce système fournit ainsi un signal de régulation inhibitrice nécessaire à la tolérance au soi et permet une protection contre les réactions NK auto-immunes. A l'inverse, les récepteurs KIR activateurs pourraient fournir une réponse activatrice NK contre des pathogènes, en particulier des antigènes viraux et des molécules HLA I altérées.

Le répertoire des récepteurs KIR exprimé à la surface des cellules reste néanmoins difficile à évaluer puisqu'il n'existe aujourd'hui pas d'anticorps monoclonal réellement spécifique d'un récepteur.



## **Partie II**

# **APPLICATIONS GENETIQUE ET CLINIQUE DES RECEPTEURS KIR**

# **1 GENETIQUE DES POPULATIONS**

## **1.1. Terminologie générale et modèle de polymorphisme des marqueurs du soi : le système HLA (Human Leukocyte Antigen)**

### **1.1.1. Définitions**

Une population représente une communauté génétique constituée par l'ensemble des génotypes des individus qui la composent ; elle est caractérisée par un patrimoine génétique (ou pool génétique) qui est la somme des génotypes individuels.

La génétique des populations étudie notamment la variabilité génétique dans et entre les populations, encore appelée polymorphisme, lorsque la fréquence d'un gène donné (ou allèle) est supérieure à 0.01. Ces études présentent trois objectifs principaux :

- 1- tout d'abord mesurer la variabilité génétique par la fréquence des différents allèles d'un même gène,
- 2- ensuite comprendre comment la variabilité génétique se transmet d'une génération à l'autre
- 3- et enfin, comprendre comment et pourquoi la variabilité génétique évolue au fil des générations.

Surtout, elle étudie les proportions des génotypes au sein d'un ensemble d'individus issus de croisements au hasard de couples non apparentés (population panmictique).

Les migrations sont à l'origine de flux géniques importants entre populations. Ces flux géniques tendent à uniformiser les fréquences géniques ou alléliques des populations

interconnectées ; ils s'opposent donc aux facteurs qui font diverger la composition génétique des populations (mutations, dérive génétique ou sélection naturelle).

Toutes les études génétiques de populations reposent sur le principe suivant : plus les fréquences observées pour les différentes formes d'un caractère donné au sein d'une population sont voisines de celles observées dans une autre population, plus ces deux populations sont proches génétiquement, et vice versa.

### **1.1.2. Application au système HLA : histoire génétique des populations humaines**

Selon ce principe, de nombreux travaux internationaux (Degos, Bodmer, Dausset), débutés dans les années 70 se sont attachés à « typer » différentes populations au niveau des antigènes HLA et ont permis à travers les fréquences géniques déduites, de calculer les distances génétiques entre les populations par différentes méthodes (dendrogrammes...).

Ainsi, des cartes de répartition géographique ont pu être réalisées à partir des différents flux de migration établis.

Les déséquilibres de liaison c'est à dire les associations préférentielles entre gènes ou allèles présents à des locus différents sur le même chromosome ou haplotype ont permis d'exprimer des associations correspondant au patrimoine génétique de populations ancestrales.

Ces associations préférentielles reflètent l'impact des facteurs supprimant l'équilibre tels que la sélection naturelle, les migrations humaines, les isolements de populations...

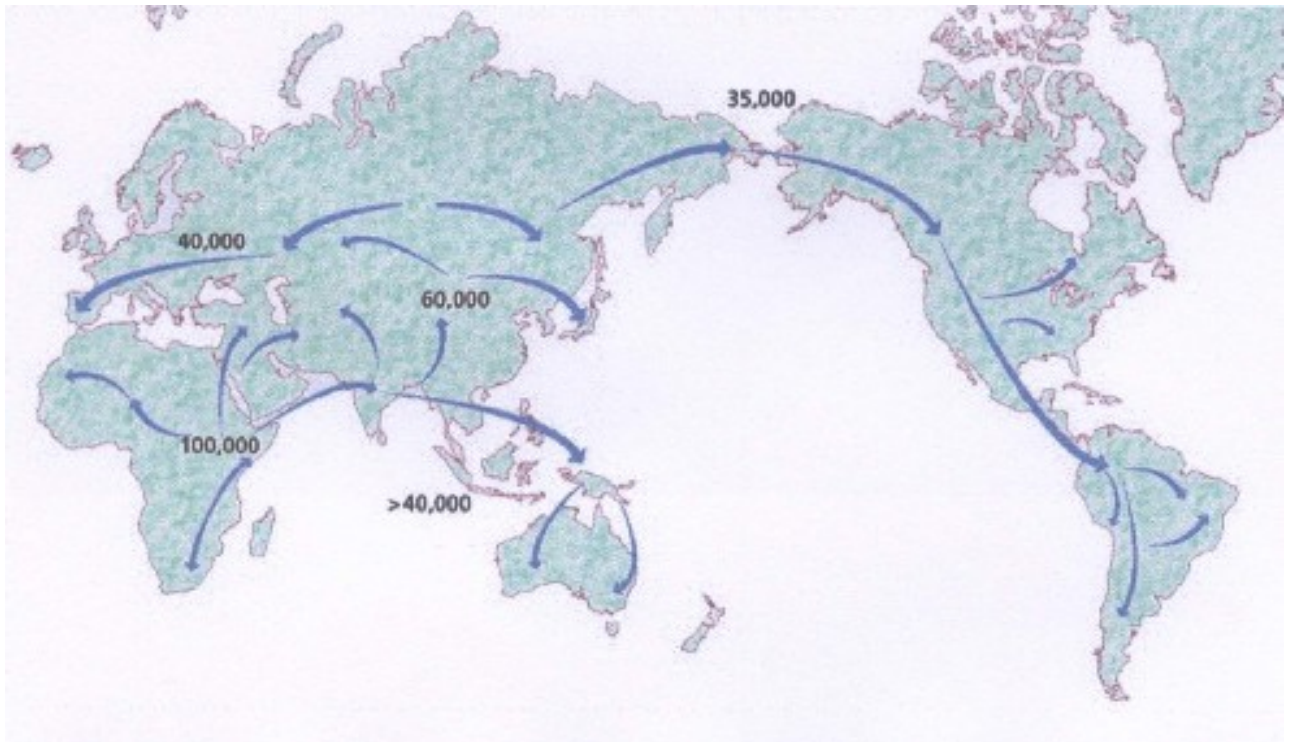
Dans ce même contexte, le généticien américain d'origine italienne Cavalli-Sforza et ses collègues Paolo Menozzi et Alberto Piazza se sont fondés sur les fréquences observées de 128 variables génétiques ou marqueurs (tels que les groupes sanguins, le système HLA...)

dans 42 populations choisies et ont ainsi pu retracer l'histoire génétique des populations humaines à la surface de la planète, depuis l'apparition de notre espèce il y a un peu plus de 100000 ans. Ce travail a été publié en 1994 dans un ouvrage intitulé « The history and Geography of human Genes » [68].

Les données génétiques analysées permettent de dire que la première population d'*Homo sapiens sapiens* habitait certainement en Afrique (en accord avec les données paléontologiques) et serait apparue un peu avant 100 000 av J.C. La population primitive de notre espèce s'est ensuite répandue hors d'Afrique pour s'implanter dans le Moyen-Orient. Puis, à partir de cette région, deux migrations semblent s'être produites vers 60 000 av J.C : la première vers la Nouvelle-Guinée et l'Australie et l'autre vers l'est de l'Asie ; cette dernière s'est ensuite scindée en deux flux de populations, l'un s'est dirigé vers le sud-est de l'Asie et a été à l'origine de tout le peuplement du sud de la Chine, de l'Indochine, de l'Indonésie puis des îles du Pacifique ; l'autre flux a gagné le nord-est de l'Asie et a peuplé la Corée, la Mongolie et le Japon. Entre 35 000 et 15 000 av J.C., les populations du nord-est de l'Asie ont été à l'origine d'un nouveau flux migratoire qui est parvenu en Amérique du nord par le détroit de Béhring ; ces populations migrantes sont à la source de tous les indiens d'Amérique du nord et du sud. Pendant cette même période, une autre partie des populations nord-asiatiques s'est détachée vers l'ouest pour donner les populations européennes (dites caucasoïdes). Cet arbre généalogique distingue ainsi 7 grands groupes de populations mondiales (africains, australiens, asiatiques du sud-est, océaniens, asiatiques du nord-est, amérindiens et caucasoïdes) ; il indique une parenté plus grande entre les asiatiques du nord-est, les amérindiens et les caucasoïdes.

Dans leur ouvrage, Cavalli-Sforza et ses collègues ont examiné plus en détail le peuplement de la France depuis l'arrivée des caucasoïdes en Europe il y a 35 000 ans ; à cette époque, seul le sud-ouest de la France était occupé par les « hommes de Cro-Magnon ». De

plus, il existe des différences génétiques entre les populations actuelles du nord et du sud de la France qui traduisent deux arrivées de populations vers 4000 av J.C. : l'une passant par les Balkans, la vallée du Danube et du Rhin et l'autre le long des côtes méditerranéennes.



**Figure 8** Flux migratoires dans le monde

### 1.2. Les récepteurs KIR « marqueurs génétiques humains »

Les gènes KIR sont caractérisés par un fort degré de polymorphisme, au même titre que les gènes du système HLA. Ces gènes pourraient donc représenter des marqueurs génétiques de population. Le degré de polymorphisme KIR étant inférieur à celui noté pour le système HLA, le degré d'informativité génétique KIR n'est actuellement pas comparable à

celui lié au système HLA puisque plus le polymorphisme est important, plus l'identification de populations par leurs fréquences géniques est fine. Néanmoins, d'une part, peu de travaux ont été publiés jusqu'à maintenant sur l'étude génétique, génotypique et haplotypique des récepteurs KIR et d'autre part, l'analyse plus fine du polymorphisme KIR au niveau allélique n'est qu'à son commencement.

Les résultats fournis à partir des plus récentes études de populations concernent 8 populations avec au total 989 individus [52, 69, 70]. Ces 8 populations ont été divisées en 4 groupes : Est de l'Asie (Thaïlande, Japon), Ouest de l'Asie (Palestine, Pakistan, Asie du Sud, Inde), les Caucasoïdes et l'Afrique. Seuls cinq génotypes étaient communs entre ces 4 groupes géographiques, et à l'inverse, 64 génotypes étaient spécifiques d'une seule population. La fréquence des haplotypes A était augmentée dans la population japonaise (77%) et au contraire diminuée dans la population australienne (13%). L'analyse par cytométrie en flux de l'expression des gènes KIR dans la population japonaise a montré une grande diversité du répertoire KIR qui concernait l'haplotype B et plus étonnamment l'haplotype A. Cependant, les japonais semblaient posséder une variabilité génotypique moins importante par rapport aux autres populations.

Norman et al se sont intéressés aux populations africaine et asiatique et ont révélé des taux de fréquences géniques très différents, notamment concernant le gène KIR2DS4 retrouvé à une fréquence de 82% dans la population africaine et de 47% dans la population asiatique (et pour une fréquence de 35% dans la population caucasoïde) [58]. Ce travail a démontré tout d'abord une inégale distribution des 2 groupes d'haplotypes A et B dans ces populations et a révélé de fortes disparités dans les fréquences haplotypiques avec l'haplotype B sur-représenté dans la population sud asiatique.

Enfin, une étude anglaise réalisée sur des donneurs de sang, a comparé 3 populations ethniques en terme de fréquences des gènes KIR [71]. Les récepteurs KIR 2DS1 et 3DS1 ont été observés à une fréquence inférieure chez les donneurs de sang Afro-Cubains avec néanmoins une augmentation de l'haplotype B également observée chez les donneurs indiens. Cette étude a également décrit plusieurs nouveaux profils KIR mais n'a révélé aucune différence avec les résultats publiés au niveau des déséquilibres de liaisons.

L'ensemble de ces données démontre qu'il existe de fortes disparités génétiques entre les différentes populations, au niveau des gènes KIR. Le nombre d'études réalisées ne permet cependant pas de conclure à des spécificités génétiques par groupe ethnique ; ainsi, les connaissances actuelles nécessitent d'être approfondies à travers des études génétiques de populations supplémentaires, utilisant une seule et même technique (PCR-SSP) pour tester la totalité des gènes KIR désormais connus; ce qui n'était pas le cas dans les études antérieures réalisées.

## **2 LES GENES KIR EN GREFFE DE MOELLE OSSEUSE**

### **2.1. Généralités sur la greffe de moelle osseuse et rôle des cellules NK**

La greffe de moelle osseuse (GMO) allogénique débutée dans les années 70 puis la greffe de cellules souches périphériques (CSP) apparue plus tardivement, représentent actuellement une alternative majeure dans le traitement des hémopathies malignes et des déficits immunitaires.

On distingue les GMO apparentées ou le donneur appartient le plus souvent à la fratrie, des GMO non-apparentées avec un donneur non familial.

Les GMO doivent impérativement prendre en compte les compatibilités HLA classe I et classe II entre receveur et donneur. Les GMO apparentées où donneur et receveur sont HLA identiques, sont dites géno-identiques pour HLA, les non-apparentées sont dites phéno-identiques HLA. Dans de rares cas, en l'absence de donneur identique HLA familial ou non-apparenté, un donneur peut néanmoins être retenu malgré une (ou deux) incompatibilité(s) HLA.

Ces greffes de moelle mettent en confrontation deux systèmes immunitaires : celui du donneur et celui du receveur. Le système immunitaire du receveur se retrouve ainsi dans une situation allogénique et peut manifester différentes réactions immunologiques intenses, pouvant conduire à l'échec de la greffe par une réaction immunitaire de l'hôte contre le greffon (rejet), soit au contraire par une réaction de greffon contre l'hôte (GvHD pour Graft versus-Host-Disease). Dans certains cas toutefois, cette réaction immunitaire peut être bénéfique, comme lors de la réaction du greffon contre les cellules leucémiques du receveur, appelée effet GvL (Graft-versus-Leukemia), conduisant à la destruction des cellules malignes du receveur par les cellules immunocompétentes du donneur.

Une compatibilité maximale des gènes HLA de classe I (-A, -B, -C) et II (-DR, -DQ) du donneur et du receveur est primordiale à la réussite de la greffe mais néanmoins pas toujours suffisante.

En effet, chez des couples receveur/donneur non-apparentés mais aussi apparentés, HLA identiques, on observe un taux de rejet ou de GvHD encore élevé, faisant certainement intervenir d'autres acteurs importants du système immunitaire.

Le rôle des cellules NK dans la lyse des cellules cibles transformées et n'exprimant pas (ou en quantité insuffisante) de ligands HLA a largement été démontré.



Après une greffe autologue ou allogénique, ces cellules, originaires du donneur, sont les premières à réapparaître dans le sang périphérique, avant les granulocytes et les monocytes et peuvent représenter, avec les T-CD8, qui expriment également les récepteurs KIR, jusqu'à 70 % des cellules du sang périphérique.

L'implication des cellules NK et le rôle des récepteurs KIR inhibiteurs du receveur ont tout d'abord été observés dans un modèle murin de rejet de greffe de moelle osseuse appelé « résistance hybride » : dans ce modèle, une souris hybride irradiée F1, issue du croisement entre deux souris homozygotes d'haplotypes CMH (donc H2, équivalent murin de HLA) différents, rejette la greffe de moelle osseuse de ses deux parents. Les cellules NK, radiorésistantes sont responsables de ce rejet [72].

D'autres travaux ont montré que, après une transplantation de moelle osseuse allogénique, l'administration de cellules NK du donneur activées in vitro par l'IL-2 diminue l'incidence de la GvH [73]. Ces effets protecteurs dépendent du moment du transfert adoptif puisqu'une administration retardée conduit à un effet opposé [73].

## **2.2. Implications des récepteurs KIR dans le devenir des GMO**

Chez l'homme, quelques équipes ont étudié les conséquences sur le devenir de la greffe des incompatibilités KIR entre donneur et receveur. Cependant, les résultats restent difficiles à interpréter et peuvent parfois même paraître contradictoires. Les incompatibilités au niveau des gènes KIR ont été étudiées chez des donneurs et receveurs de moelle osseuse au laboratoire d'histocompatibilité de l'Etablissement Français du Sang (EFS) de Nantes (JD. Bignon); la combinaison « gènes KIR du receveurs inclus dans ceux du donneur » s'est

révélée significativement à risque en terme de survenue de GvHD aigue dans les greffes non-apparentées [74].

Ensuite, Ruggeri et al ont travaillé sur les ligands HLA-Cw des récepteurs KIR et ont mis en évidence que des incompatibilités au niveau des ligands HLA-Cw entre donneur et receveur dans des greffes haplo-identiques menaient à une diminution des réactions de GvH avec une augmentation de l'effet GvL ; cet effet n'étant observé que dans les seuls cas de LAM (Leucémie Aigue Myéloïde) [75].

Egalement, Shilling et al ont montré que des greffes entre receveur et donneur HLA identiques comportaient des incompatibilités KIR pouvant avoir des conséquences dans le devenir des greffes en terme de réponse immunologique [76].

Cependant, Davies et al ont analysé les effets des incompatibilités des ligands KIR sur le devenir des GMO de receveur/donneur non apparentés et ne révèlent pas de différence significative dans le sens d'une GvHD ou dans celui d'une GvL [77].

Ainsi, malgré les preuves de l'implication des récepteurs KIR et des incompatibilités au niveau des récepteurs ou de leurs ligands, dans le devenir de greffe de moelle osseuse, il n'y a pas de conclusion consensuelle quant au rôle exact des cellules NK. La diversité KIR, mal précisée pourrait expliquer ces divergences de résultats.

Les avancées dans la compréhension de ces mécanismes d'action KIR-ligand pourraient permettre à terme d'améliorer la survie des greffons par diminution des effets GvH, diminution des rejets, augmentation des effets GvL... en sélectionnant les donneurs, au delà des compatibilités HLA indispensables, sur la base d'incompatibilités KIR avec les receveurs.

Avec ce même objectif, l'étude de Witt et al. s'est attachée à étudier les fréquences des gènes KIR et déséquilibres de liaison haplotypiques dans différentes populations australienne, française, américaine [59].

## **Partie III**

### **NOTRE ETUDE : DIVERSITE DES GENES KIR**

# **1 MATERIEL ET METHODE**

## **1.1. Patients**

Ce travail a été réalisé à partir d'échantillons d'ADN de concentration comprise entre 100 et 600 µg/ml, provenant de quatre populations d'origine géographique différente et concernant des individus sains, sans lien de parenté :

Cent échantillons d'ADN d'une population sénégalaise nous ont été fournis par le laboratoire de génétique du Pr. Moisan au CHU de Nantes.

L'hôpital de Pointe-à-Pitre (Dr. R. Chout) nous a fait parvenir 90 échantillons d'ADN de guadeloupéens.

Nous avons également effectué une collaboration avec une équipe de recherche (Dr. S. Koskela) du centre de transfusion sanguine de la croix rouge en Finlande (Helsinki), désireuse de débiter un travail collaboratif sur le génotypage KIR. Ainsi, à l'aide de la technique de typage KIR développée dans le laboratoire HLA de biologie moléculaire de l'EFS de Nantes (Dr. JD. Bignon) que nous leur avons communiquée ainsi que la séquence des couples d'amorces, cette équipe a réalisé les typages sur un panel de 102 échantillons d'ADN de donneurs de sang finlandais. Pour cette population, les gènes KIR 3DL1 et KIR 3DP1 ont été typés à Nantes dans notre laboratoire.

Enfin, une population de 108 témoins caucasoides, provenant de la région Ouest Bretagne essentiellement, a été typée dans notre laboratoire HLA de Nantes. Il s'agit de donneurs de moelle sains et non apparentés.

Nous disposons également d'une centaine d'échantillons de réunionnais, adressés récemment par le laboratoire HLA du centre hospitalier Felix Guyon de St Denis de La Réunion (Dr. C. Ricard), actuellement en cours de typage. Ces données ne seront pas incluses dans cette étude comparative, mais discutées en conclusion.

L'extraction d'ADN de ces échantillons sanguins a été effectuée par une méthode classique de « salting out » ou précipitation saline, à partir de sang périphérique prélevé sur EDTA.

## **1.2. Génotypage KIR**

Deux techniques différentes de PCR-SSP ont été employées afin de typer les quinze gènes KIR (KIR-2DL1, -2DL2, -2DL3, -2DL4, -2DL5A, -2DL5B, -2DS1, -2DS2, -2DS3, -2DS4/1D, -2DS5, -3DL1, -3DL2, -3DL3, et -3DS1) et deux pseudogènes (KIR-2DP1, -3DP1/-3DP1v) testés. Ces techniques permettent l'amplification de chaque gène et/ou allèle KIR à l'aide d'amorces spécifiques qui se fixent au niveau des exons des gènes.

La première technique est une technique développée au laboratoire et validée avec des cellules témoins Workshop. Elle utilise 23 couples d'amorces qui amplifient des séquences spécifiques des gènes et permet d'amplifier la totalité des allèles correspondant au locus du gène considéré. Pour certains loci KIR, deux paires d'amorces différentes ont été utilisées afin d'établir la présence ou l'absence de variant ou d'allèle de ce gène. Ainsi, deux couples d'amorces ont été utilisés pour l'amplification du pseudogène KIR-3DP1 (344 paires de bases, pb) et de son variant KIR-3DP1v (1817 pb). La séquence des amorces ainsi que les conditions PCR ont été décrites au laboratoire [74] puis réactualisées par Hsu et al. [27].

Chaque PCR est réalisée dans un volume final de 10 µl du mélange réactionnel suivant:

5 µl des amorces KIR 5' et 3' à 2 µM (0.5 µM au final pour chacune)

5 µl mix constitué de :

	concentration finale
Tampon Taq 10X MgCl <sub>2</sub> (Applied)	1X et 15 mM MgCl <sub>2</sub>
dNTP 100 mM (Eurobio)	0.2 mM
glycérol (Sigma) 99.5 %	5 %
rouge crésol	100 µg/ml
Taq Amplitaq 5U/ml (Applied)	0.4 U
ADN 0.33 µl	

Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur Perkin Elmer Cetus 9600 ou 9700 (Applied), selon le programme suivant :

Phase 1 :	1 cycle	92°C	2 min
Phase 2 :	4 cycles	91°C	25 sec
		65°C	45 sec
		72°C	30 sec
Phase 3 :	26 cycles	91°C	25 sec
		60°C	45 sec
		72°C	30 sec
Phase 4 :	5 cycles	91°C	25 sec
		55°C	60 sec
		72°C	120 sec
Phase 5 :		72°C	10 min

Les amplifications sont contrôlées sur gel d'agarose à 2 % dans du tampon TBE (Tris Borate EDTA) 0.5X ; le BET (Bromure d'ethidium) introduit en faible quantité dans la préparation s'intercale entre les bases de l'ADN et permet la révélation des bandes d'amplification spécifiques sous lampe UV.

De façon complémentaire, la seconde approche de PCR-SSP utilise le kit de génotypage KIR (PEL-FREEZ), distribué par DYNAL. Il est constitué de plaques de 96 puits contenant 5 µl de milieu réactionnel chacun, permettant le typage de 4 échantillons d'ADN par plaque. Le test est basé sur l'amplification de 17 gènes et pseudogènes KIR, utilisant 19 couples d'amorces différentes, spécifiques de gènes et/ou allèles décrits et publiés par Hsu et al. [61] et Gomez-Lazano et al. [78]. Ce kit permet d'amplifier l'ensemble des allèles décrits ce jour pour chacun des gènes KIR. Ce génotypage permet également de distinguer les gènes KIR-2DL5A et KIR-2DL5B ainsi que le pseudogène KIR 3DP1 et son variant KIR 3DP1v. De même, ce kit Pel Freez permet de distinguer l'allèle KIR 2DS4, d'un nouvel allèle découvert récemment, désigné KIR 1D et caractérisé par une délétion de 22 pb au niveau du domaine D2, ne permettant pas son expression à la surface cellulaire.

L'amplification est réalisée à partir du milieu réactionnel suivant :

PCR buffer	150 µl
Taq Polymerase ADN	2.4 µl
ADN 75-125 ng/µl	25 µl

dont 8 µl sont distribués dans chaque puit afin d'obtenir un volume final de réaction de 23 µl (milieu réactionnel + huile de parrafine).

L'amplification est ensuite réalisée dans un PE 9700 selon le schéma suivant :

Phase 1 :		95°C	1 min
Phase 2 :	30 cycles	94°C	20 sec
		63°C	20 sec
		72°C	90 sec
Phase terminale :		4°C	

### **1.3. Analyse statistique**

Les tests statistiques ont été effectués en collaboration avec P.A. Gouraud de l'équipe Inserm de Toulouse (A. Cambon-Thomsen), unité U-558 « Génomique, santé, société : analyses multidisciplinaires et décision de santé », faculté de Médecine de Toulouse. Ces tests incluent:

#### **1.3.1. Les fréquences des porteurs et les fréquences géniques KIR**

La fréquence des porteurs "F", c'est-à-dire le pourcentage d'individus possédant le gène KIR considéré, est estimée par comptage, à partir des génotypes établis par population pour l'ensemble des sujets.

La fréquence des gènes KIR "fg" dans une population est alors calculée à partir de la fréquence des porteurs F, avec vérification de l'équilibre Hardy Weinberg, selon la formule suivante :

$$fg = 1 - \sqrt{1 - \bar{F}}$$

Rappelons que l'équilibre de Hardy-Weinberg caractérise la distribution des fréquences géniques dans une population panmictique, dont l'effectif est infini et en l'absence de mutation et de sélection.



### Démonstration :

$$F = f^2 + 2 \times f \times (1-f) \text{ (Equilibre Hardy Weinberg)}$$

$$\Leftrightarrow f = \sqrt{1 - (1-f)^2} \Leftrightarrow (1-f)^2 = 1 - f \Leftrightarrow (1-f) = \sqrt{1-f} \text{ (f et F sont des fréquences)}$$

$$\Leftrightarrow f = 1 - \sqrt{1-f}$$

### Distribution :

L'estimation ci-dessus est accompagnée de la variance ou distribution. La distribution des statistiques de fréquences F est la suivante :

$$F \rightarrow (\varphi, \sigma) \text{ avec } \begin{cases} \varphi \approx F \approx \hat{F} \\ \sigma = \sqrt{\frac{\varphi(1-\varphi)}{n}} \approx \sqrt{\frac{\hat{F}(1-\hat{F})}{n}} \end{cases} \text{ où } \hat{F} \text{ est une estimation de } F \text{ par}$$

comptage.

La distribution de p peut être estimée par la méthode de rééchantillonnage, également appelée « méthode de bootstrap ». Cent échantillons sont sélectionnés (avec remise) afin d'estimer l'intervalle de confiance de 95% des estimations de fréquences des gènes initialement établies.

### **1.3.2. Les distances génétiques**

Les distances génétiques ont été calculées à partir des fréquences des génotypes KIR établis dans chacune des populations de notre étude. A l'aide du logiciel Arlequin

(<http://anthro.unige.ch/arlequin>, version 2000), les distances génétiques ont été traduites sous

la forme d'une matrice des distances, par la méthode des moindres carrés (programme Fitch dans Phylip), représentant les éloignement génétiques, respectivement dans les 4 populations étudiées. Ces distances ont ensuite été illustrées sous la forme d'un dendrogramme ou arbre des distances génétiques à l'aide du programme Unroot également dans le logiciel Phylip.

## **2 RESULTATS**

### **2.1. Les fréquences des porteurs et les fréquences géniques**

#### **2.1.1. Présentation des résultats et analyse**

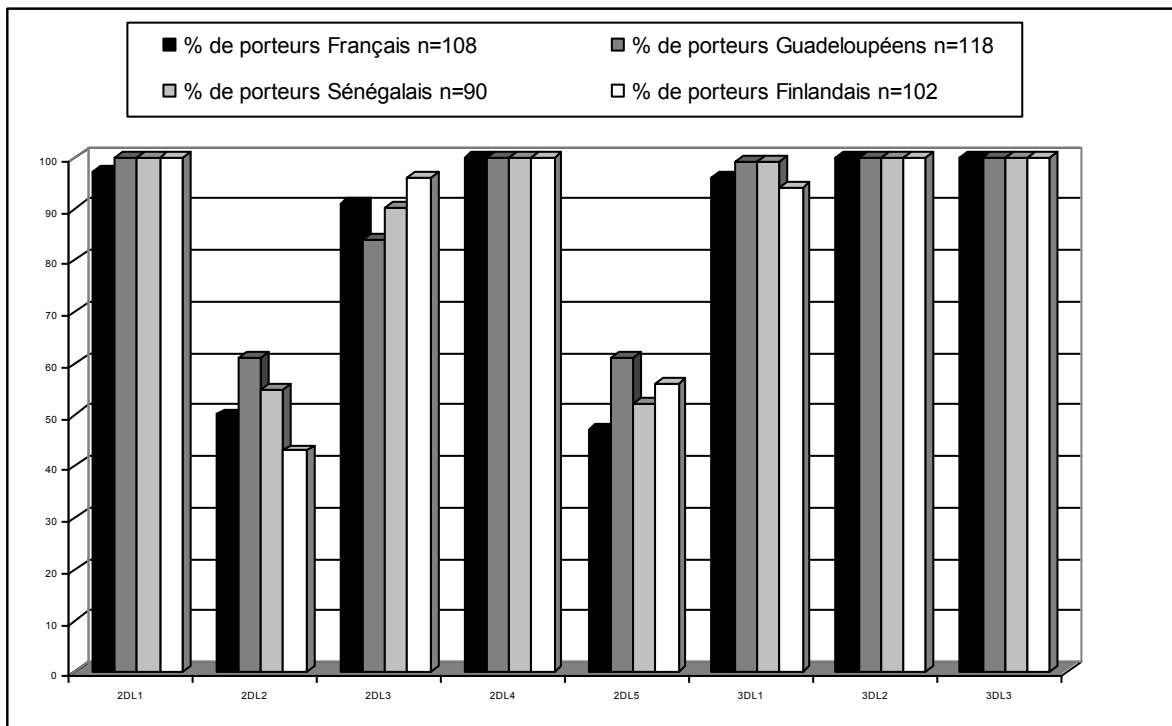
Les pourcentages de porteurs F ainsi que les fréquences géniques fg sont représentés dans le tableau 4 pour chacune des 4 populations testées et concernent les gènes KIR inhibiteurs 2DL1, -2, -3, -4, -5, 3DL1, -2, -3, activateurs 2DS1, -2, -3, -4, -5, 3DS1 et pseudogènes KIR2DP1 et KIR3DP1 ainsi que son variant 3DP1v, soit au total 17 gènes. Les amorces utilisées pour l'amplification du gène 3DP1 dans la population finlandaise amplifiant également le variant allélique 3DP1v, ce dernier n'apparaît par conséquent pas dans le tableau de résultats. Les histogrammes (Figure 9) illustrent les pourcentages de porteurs des marqueurs KIR inhibiteurs (9A) et activateurs (9B). Les pseudogènes ne sont pas représentés, les valeurs étant proches ou égales à 100% dans les 4 populations.

Comme décrit dans la littérature scientifique aussi bien pour les caucasoides [64], que les négroïdes [58] ou asiatiques [58, 70 ], trois marqueurs sont retrouvés présents chez tous les individus, dans les 4 populations étudiées ; il s'agit des gènes KIR inhibiteurs 2DL4, 3DL2 et 3DL3.

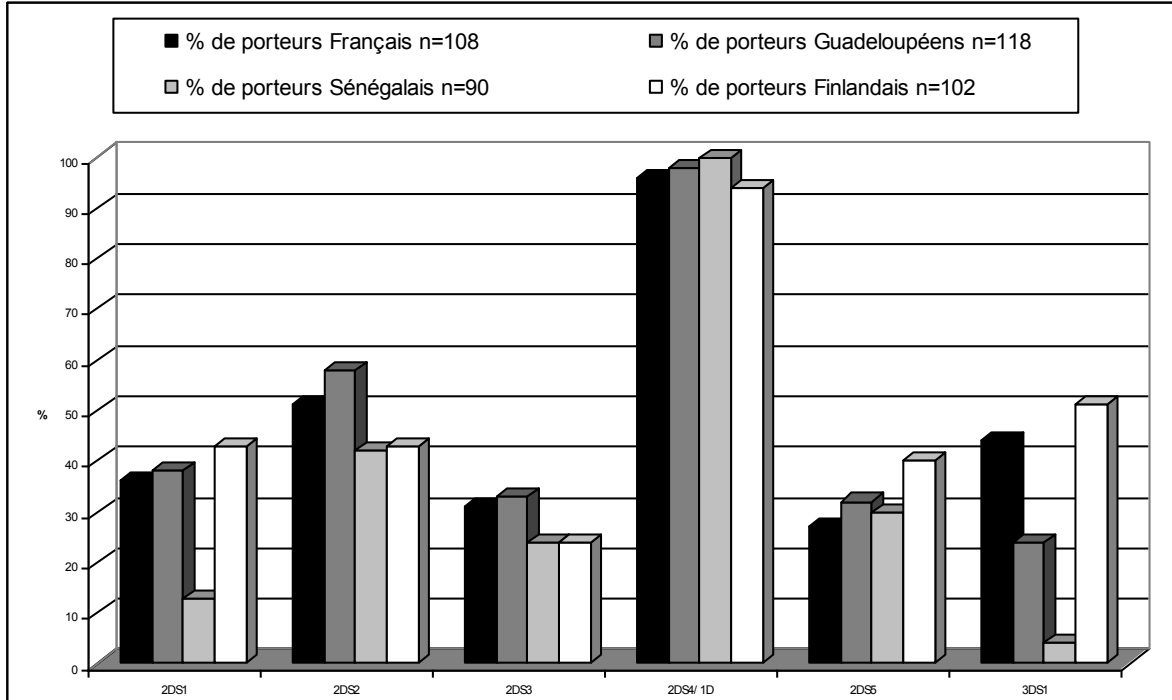
KIR	% de porteurs (F)				Fréquences géniques (fg)			
	Français n=108	Guadeloupéens n=118	Sénégalais n=90	Finlandais n=102	Français IC-95%	Guadeloupéens IC-95%	Sénégalais IC-95%	Finlandais IC-95%
2DL1	97	100	100	100	0,83 [0,76;0,9]	1,00 X	1,00 X	1,00 X
2DL2	50	61	55	43	0,29 [0,24;0,35]	0,38 [0,31;0,45]	0,33 [0,27;0,39]	0,25 [0,2;0,3]
2DL3	91	84	90	96	0,70 [0,62;0,78]	0,61 [0,53;0,7]	0,68 [0,62;0,76]	0,80 [0,74;0,9]
2DL4	100	100	100	100	1,00 X	1,00 X	1,00 X	1,00 X
2DL5	47	61	52	56	0,27 [0,22;0,33]	0,38 [0,31;0,45]	0,30 [0,25;0,37]	0,34 [0,28;0,39]
3DL1	96	99	99	94	0,81 [0,75;0,9]	0,89 [0,83;1]	0,91 [0,84;1]	0,76 [0,69;0,86]
3DL2	100	100	100	100	1,00 X	1,00 X	1,00 X	1,00 X
3DL3	100	100	100	100	1,00 X	1,00 X	1,00 X	1,00 X
2DS1	36	38	13	43	0,20 [0,16;0,25]	0,22 [0,17;0,27]	0,07 [0,04;0,09]	0,34 [0,29;0,4]
2DS2	51	58	42	43	0,30 [0,24;0,35]	0,35 [0,29;0,42]	0,24 [0,19;0,29]	0,23 [0,19;0,29]
2DS3	31	33	24	24	0,17 [0,12;0,22]	0,18 [0,13;0,23]	0,13 [0,08;0,16]	0,13 [0,09;0,18]
2DS4/1D	96	98	100	94	0,81 [0,75;0,9]	0,85 [0,79;1]	1,00 X	0,76 [0,69;0,86]
2DS5	27	32	30	40	0,14 [0,11;0,18]	0,18 [0,14;0,23]	0,16 [0,12;0,2]	0,23 [0,18;0,36]
3DS1	44	24	4	51	0,25 [0,19;0,31]	0,13 [0,09;0,18]	0,02 [0,01;0,04]	0,30 [0,24;0,36]
2DP1	97	100	100	100	0,83 [0,76;0,9]	1,00 X	1,00 X	1,00 X
3DP1	97	100	100	100	0,83 [0,76;0,9]	1,00 X	1,00 X	1,00 X
3DP1v	31	14	8	NT	0,17 [0,13;0,22]	0,08 [0,05;0,11]	0,04 [0,02;0,07]	NT

**Tableau 4** Pourcentages F de porteurs et fréquences géniques fg des marqueurs KIR inhibiteurs (□), activateurs (■) et pseudogènes (▣). Les fréquences géniques sont estimées à partir des fréquences de porteurs F avec un intervalle de confiance (IC) de 95%, estimé par la méthode des « bootstrap ». Lorsque F représente 100%, alors la fréquence génique est égale à 1 et l'intervalle de confiance ne pouvant pas être estimé est noté « X ». Les gènes non typés sont indiqués « NT » pour « non testé ».

A/



B/



**Figures 9** Histogrammes représentant les pourcentages F de porteurs des gènes KIR inhibiteurs (A), activateurs (B).

Si l'on considère l'ensemble des 4 populations : française métropolitaine, guadeloupéenne, sénégalaise et finlandaise, les fréquences des porteurs de marqueurs KIR inhibiteurs sont comprises entre 43 (2DL2 finlandais) et 100% (2DL4, 3DL2 et 3DL3), et celles des marqueurs KIR activateurs entre 4 (3DS1 sénégalais) et 100% (2DS4 sénégalais). Pour ce qui concerne les pseudogènes KIR, les valeurs sont proches de 100%, excepté le variant de 3DP1 (3DP1v) très peu retrouvé dans les 3 populations analysées (31, 14 et 8% respectivement en France, Guadeloupe et Sénégal).

Ainsi, les fréquences des gènes activateurs sont plus hétérogènes et globalement plus faibles par rapport aux fréquences des gènes inhibiteurs, dans l'ensemble des populations. Au total, les fréquences de porteurs des gènes inhibiteurs sont toutes supérieures à 80%, excepté pour les gènes KIR2DL2 et 2DL5 (40 à 60%). En ce qui concerne les gènes activateurs, les fréquences des porteurs sont toutes inférieures à 50%, excepté pour le gène KIR2DS4/1D.

De plus, à l'analyse du tableau 4 et de la figure 9, on note que les fréquences des porteurs (pour les marqueurs inhibiteurs ou activateurs) varient considérablement au sein même d'une population donnée prise isolément. Ainsi, chez les sénégalais, les porteurs du KIR3DS1 sont de 4% comparés à 100% de porteurs exprimant le KIR2DL1. De même chez les français entre KIR2DS3 (31%) et KIR2DL1 (97%).

D'autre part, pour un même marqueur KIR donné, la fréquence des porteurs peut varier grandement d'une population à une autre. Ainsi, la fréquence des porteurs KIR3DS1 est de 4% chez les sénégalais et de 51% chez les finlandais.

### 2.1.2. Commentaires

Les résultats présentés ci-dessus révèlent une importante variabilité entre les différentes populations étudiées et en fonction des gènes considérés. Ainsi, la population sénégalaise enregistre les différences de fréquences les plus extrêmes non seulement en comparaison avec les 3 autres populations, mais également entre les différents marqueurs KIR (notamment activateurs) analysés dans cette population sénégalaise.

Les fréquences des allèles KIR2DS4 et KIR1D ont ensuite été déterminées distinctement, dans les populations françaises métropolitaine et guadeloupéenne et dans la population sénégalaise (Tableau 5).

KIR	% porteurs (F)			Fréquences géniques (fg)		
	Français	Guadeloupéens	Sénégalais	Français	Guadeloupéens	Sénégalais
2DS4	31	66	83	0,17	0,42	0,59
1D	84	64	48	0,60	0,40	0,28

**Tableau 5** Pourcentages F de porteurs et fréquences géniques fg des allèles KIR2DS4 et KIR1D du marqueur activateur 2DS4.

Les fréquences calculées chez les français sont similaires à celles publiées dans la littérature chez les caucasoïdes. Étonnamment, nous observons une inversion dans les fréquences des gènes KIR2DS4 et KIR1D dans les populations française d'une part et sénégalaise d'autre part, la population guadeloupéenne présentant des fréquences équivalentes pour ces 2 allèles. En effet, plus précisément, l'allèle KIR1D est majoritairement représenté dans la population française par rapport à l'allèle KIR2DS4, avec des fréquences géniques

(fg) de 0,60 et 0,17 respectivement. Dans les populations guadeloupéenne et sénégalaise, les fréquences de l'allèle « 1D » sont inférieures (0,40 et 0,28) à celles observées pour 2DS4 (0,42 et 0,59).

Enfin, parmi les gènes KIR inhibiteurs, l'hétérogénéité est moins importante entre les populations et ne concerne que peu de gènes : en particulier, le gène KIR2DL2 possède une fréquence de 0,25 dans la population finlandaise et de 0,38 dans la population guadeloupéenne.

Si l'on étudie distinctement mais dans leur globalité, les nombres de gènes inhibiteurs (maximum 8) et de gènes activateurs (maximum 6) par génotype (Tableau 6), on observe des valeurs significativement différentes au niveau des nombres moyens de gènes activateurs entre la population sénégalaise d'une part, et les 3 autres populations d'autre part. En effet, le nombre moyen de récepteurs activateurs par génotype est largement inférieure dans la population sénégalaise (2,16) par rapport aux populations française métropolitaine, guadeloupéenne et finlandaise (2,84 ; 2,88 et 3,07). Les moyennes par génotype concernant les récepteurs inhibiteurs sont moins hétérogènes entre les populations : de 6,79 chez les finlandais à 7,01 chez les guadeloupéens.

Nombre moyen de récepteurs	Français	Guadeloupéens	Sénégalais	Finlandais
Inhibiteurs (n=8)	6,81	7,01	6,96	6,79
Activateurs (n=6)	2,84	2,88	2,16	3,07

**Tableau 6** Répartition en nombres de gènes inhibiteurs et activateurs moyens, entre les 4 populations étudiées, sur un total de 8 gènes inhibiteurs et de 6 gènes activateurs.

Enfin, nous avons comparé les fréquences des porteurs pour chaque marqueur KIR et pour chaque population. Ce tableau nous a permis de réaliser des comparaisons 2 à 2 entre ces 4 populations (Tableau 7).

KIR	Français (Fr) n=108		Sénégalais (S) n=118		Guadeloupéens (G) n=90		Finlandais (Fi) n=102		Différences significatives observées entre populations ( $\chi^2$ et pc)
	+	-	+	-	+	-	+	-	
2DL1	105	3	118	0	90	0	102	0	
2DL2	54	54	65	53	55	35	44	58	Fi/G
2DL3	98	10	106	12	76	14	98	4	Fi/G
2DL4	108	0	118	0	90	0	102	0	
2DL5	51	57	61	57	55	35	57	45	Fr/G
3DL1	104	4	117	1	89	1	96	6	
3DL2	108	0	118	0	90	0	102	0	
3DL3	108	0	118	0	90	0	102	0	
2DS1	39	69	15	103	34	56	44	58	Fi/S, G/S, Fr/S
2DS2	55	53	50	68	52	38	44	58	Fi/G, G/S
2DS3	33	75	28	90	30	60	25	77	
2DS4	104	4	118	0	88	2	96	6	
2DS5	39	69	35	83	29	61	41	61	
3DS1	47	61	5	113	22	68	52	50	Fr/S, Fr/G, S/G, Fi/S, Fi/G
2DP1	105	3	118	0	90	0	102	0	
3DP1	107	1	118	0	90	0	102	0	

**Tableau 7** Nombres de porteurs et de non-porteurs des 16 spécificités KIR, dans les 4 populations étudiées. Les différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre deux populations après le test du Chi 2 corrigé, sont indiquées dans le tableau.

Ces comparaisons ont été réalisées à l'aide du test du Chi 2 ou de Fischer, en fonction de l'effectif considéré, et présentent les populations significativement différentes (ex : Finlande et Guadeloupe, Fi/G), caractérisées par un p corrigé inférieur à 0,05. Ces tests ont été réalisés à partir du nombre d'individus positifs (porteurs) et négatifs (non-porteurs) pour chaque gène considéré, et pour chaque population.

D'après ces résultats, les plus grands nombres de différences significatives notés concernent les populations de Guadeloupe et du Sénégal qui toutes deux ont des différences significatives avec les 3 autres populations : G/Fi=4, G/S=3 et G/Fr=2, pour la Guadeloupe et



S/G=3, S/FR=2, S/Fi=2 pour le Sénégal. Seules les populations française métropolitaine et finlandaise n'ont pas entre elles de différence significative. Ainsi, sur les 6 comparaisons 2 à 2 possibles, seule la comparaison Fr/Fi n'apparaît pas associée à des différences significatives dans le tableau 6. A l'inverse, c'est entre la Finlande et la Guadeloupe d'une part et la Guadeloupe et le Sénégal d'autre part que l'on note le plus grand nombre de différences significatives (4 et 3). Ceci traduit indirectement les distances génétiques qui semblent particulièrement importantes entre d'une part le Sénégal et la Guadeloupe et d'autre part la Guadeloupe et la Finlande. A l'inverse, les populations française et finlandaise semblent génétiquement les populations les plus proches parmi les 4 testées.

Par rapport aux données des fréquences géniques publiées dans la littérature pour les populations caucasoides (Tableau 3), les populations française métropolitaine et finlandaise testées dans notre étude ne présentent pas de fréquences significativement différentes.

La population sénégalaise révèle une diminution des fréquences de nombreux KIR activateurs (2DS1, 2DS2, 2DS3, 3DS1, 1D) par rapport aux données caucasoides publiées, mais ces données corrèlent avec celles publiées par Norman et al. dans une population de Trinidad d'origine africaine [58].

La Guadeloupe présente des fréquences plus ou moins augmentées par rapport aux données caucasoides, en fonction du gène considéré, tendant soit vers les valeurs observées chez les caucasoides, soit vers celles observés chez les sénégalais.

## **2.2. Les fréquences genotypiques**

### **2.2.1. Présentation et analyse des résultats**

Au total, 50 génotypes différents ont été identifiés, dans l'ensemble des 4 populations (n=418). Douze génotypes peuvent être considérés comme fréquents puisque représentant au moins 5% dans au moins une des populations (Tableau 8). Le génotype le plus fréquent décrit dans la littérature l'est également dans chacune des 4 populations étudiées (génotype 19), en particulier au Sénégal (42% des génotypes). Pour les autres génotypes, la répartition est plus hétérogène et fonction de la population considérée.

Le nombre de génotypes différents varie selon les populations. Les Guadeloupéens et les Sénégalais expriment les nombres de génotypes différents les plus élevés (29 et 23 respectivement), comparativement aux Français et aux Finlandais (19 et 18). Ces chiffres traduisent une diversité génotypique plus importante chez les guadeloupéens (32%) par rapport aux 3 autres populations, inférieures ou égales à 19% (Tableau 9, ligne 1).

D'autre part, le pourcentage de génotypes spécifiques de chaque population (Tableau 11, ligne 2) est plus élevé dans les populations guadeloupéenne (11%) et sénégalaise (7,6%) que dans les populations française (4%) et finlandaise (3%). Mais si la part de génotypes spécifiques (Tableau 9, ligne 3) représente 11% des individus guadeloupéens (qui possèdent par ailleurs la diversité génotypique la plus importante), elle inclut 21% des individus sénégalais. Elle ne représente par contre que 5 et 4 % des français et finlandais respectivement. Ceci traduit la spécificité génotypique KIR de la population sénégalaise par rapport à la grande diversité génotypique KIR observée dans la population guadeloupéenne.



Génotypes	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	% Fr	% G	% S	% Fi
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4	1	1	5
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	6	2	0	6
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	0	2	0	6
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	6	7	1	9
8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	7	13	17	0
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	0	3	5	0
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	13	7	3	10
14	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	8	4	2	19
17	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	0	7	1	1
18	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	6	1	0	2
19	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	32	23	42	31
32	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	0	0	8	0

**Tableau 8** Génotypes (n=12) dont les fréquences sont au moins supérieures à 5% dans une population (■).

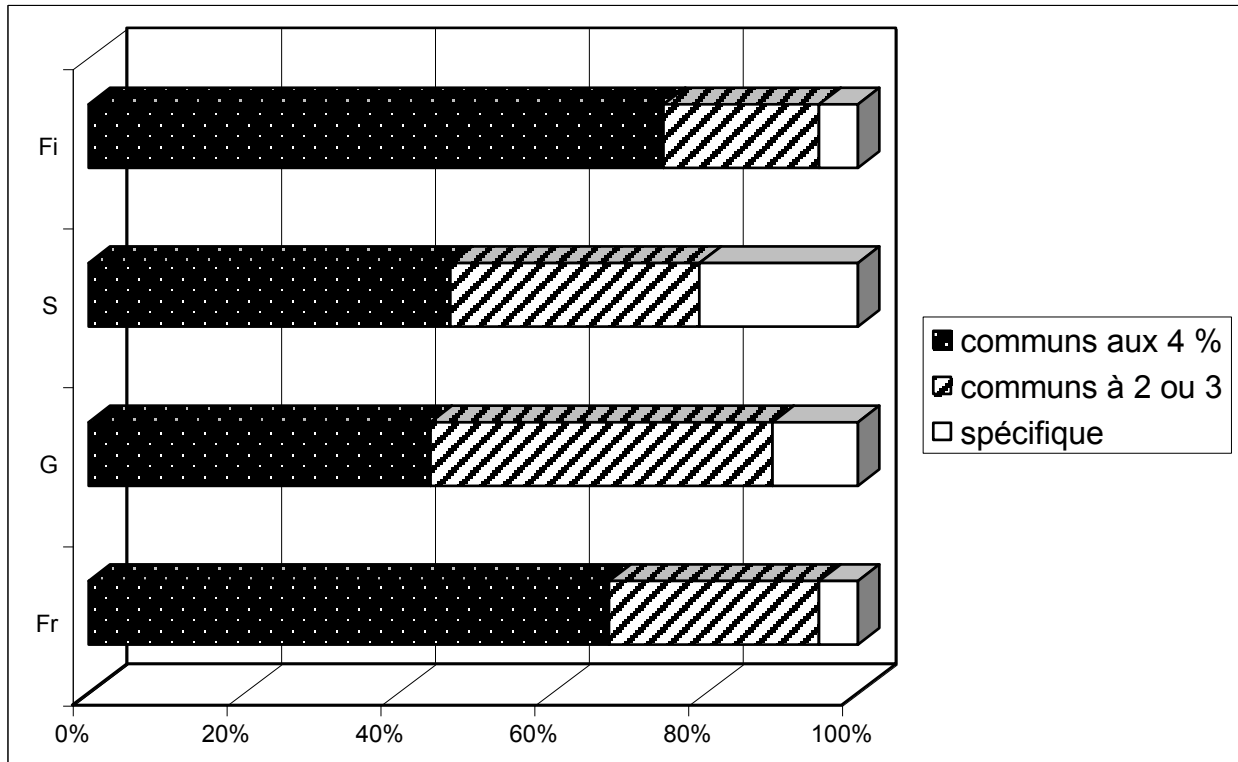
Enfin, le pourcentage représentant le nombre de génotypes spécifiques par rapport au nombre de génotypes différents déterminés dans chaque population (Tableau 9, ligne 4) est de 39 dans la population sénégalaise et 34 dans la population guadeloupéenne, traduisant à la fois leur plus grande diversité (Guadeloupe) et/ou leur plus grande spécificité (Sénégal).

Génotypes	Français n=108	Guadeloupéens n=90	Sénégalais n=118	Finlandais n=102
1/ Nb total (diversité génotypique)	19 (17%)	29 (32%)	23 (19%)	18 (17%)
2/ Nb spécifiques (spécificité génotypique)	5 (4%)	10 (11%)	9 (7,6%)	4 (3%)
3/ Nb de porteurs de génotypes spécifiques	6 (5%)	10 (11%)	25 (21%)	5 (4%)
4/ Nb spécifiques / nb génotypes (%)	26	34	39	22

**Tableau 9** Comparaison des nombres de génotypes différents et de génotypes spécifiques dans chaque population étudiée. Pourcentage de diversité génotypique et de spécificité génotypique ; les deux premières valeurs sont indiquées en   et en   respectivement.

Dans un second temps, nous avons évalué, pour chaque population, la part d'individus possédant un génotype soit commun aux 4 populations, soit commun à 2 ou 3 populations, soit encore spécifique d'une population (Figure 10). Comme nous l'avons évoqué ci-dessus, la France et la Finlande possèdent la diversité génotypique la moins importante avec un fort pourcentage d'individus possédant un génotype commun aux 4 populations (75 et 64% respectivement) et au contraire un faible pourcentage (5%) d'individus exprimant un génotype spécifique. D'après ces données, ces deux populations française et finlandaise semblent génétiquement proches mais au contraire plus éloignées de celles du Sénégal et de la Guadeloupe. La Guadeloupe et le Sénégal révèlent une proportion d'individus possédant des

génotypes communs aux 4 populations inférieures à 50 % (41 et 43% respectivement), avec des proportions plus importantes d'individus présentant des génotypes spécifiques, comparativement à celles de la Finlande et de la France (12 et 22% respectivement).



**Figure 10** Histogrammes représentant les pourcentages de génotypes communs aux 4 populations étudiées ■, communs à 2 ou 3 de ces populations ▨ ou encore spécifiques de chacune des populations □ (Fr = Français, G = Guadeloupéens, S = Sénégalais, Fi = Finlandais)

### 2.2.2. Commentaires

On retiendra de l'analyse des génotypes dans ces 4 populations, les principaux points suivants :

- ✓ L'extrême diversité génétique de la population Guadeloupéenne
- ✓ La grande spécificité de la seule population Sénégalaise
- ✓ La proximité génétique des populations Française et Finlandaise

- ✓ Si l'on considère diversité et spécificité, ces 4 populations peuvent être rangées dans 2 groupes différents : la France et la Finlande d'une part, et la Guadeloupe et le Sénégal d'autre part.

## 2.3. Les fréquences haplotypiques

### 2.3.1. Méthode statistique

A partir des génotypes précédemment décrits dans les 4 populations, nous avons déduit les combinaisons d'haplotypes A et B, à l'aide des données publiées dans la littérature scientifique [61] :

- ✓ L'haplotype A est caractérisé par la présence du gène KIR activateur KIR2DS4/1D, et par l'absence de tout autre gène KIR activateur et à l'inverse,
- ✓ L'haplotype B est caractérisé par l'absence du gène KIR activateur KIR2DS4/1D, mais par la présence d'autres gènes KIR activateurs variant au niveau de leur nombre et/ou de leur combinaison.

Les nombres d'individus homozygotes AA, BB et hétérozygotes AB ont été recensés dans chacune des populations, puis les fréquences p et q de chaque haplotype A et B dans la population ont été calculées à l'aide des formules suivantes :

$$p_A = (2n_{AA} + n_{AB})/2N \text{ et } q_B = (2n_{BB} + n_{AB})/2N$$

avec

{	n <sub>AA</sub> : nombre d'homozygotes pour l'haplotype A
	n <sub>BB</sub> : nombre d'homozygotes pour l'haplotype B
	n <sub>AB</sub> : nombre d'hétérozygotes pour les haplotypes A et B
	N : nombre total d'individus dans la population

Nous avons ensuite vérifier l'équilibre de Hardy-Weinberg en calculant les effectifs attendus :

$$\left\{ \begin{array}{ll} n_{AA} = p^2N & \text{avec } p^2 : \text{proportion attendue de AA} \\ n_{AB} = 2pqN & \text{avec } 2pq : \text{proportion attendue de AB} \\ n_{BB} = q^2N & \text{avec } q^2 : \text{proportion attendue de BB} \end{array} \right.$$

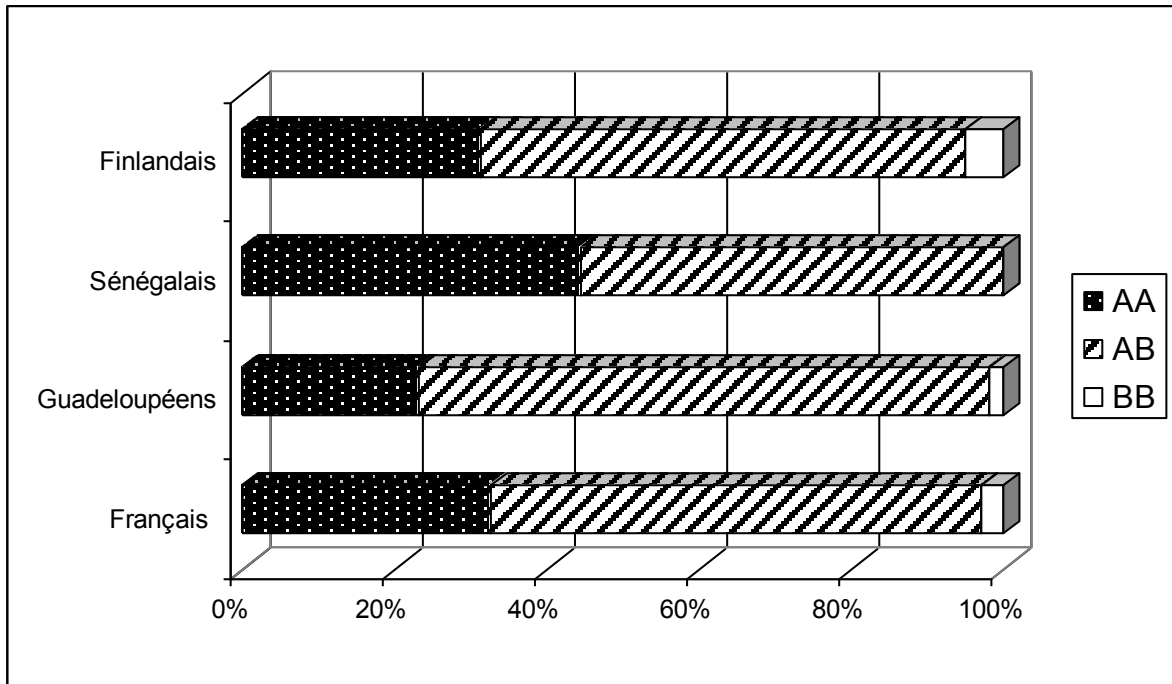
### 2.3.2. Présentation et analyse des résultats

Les fréquences des génotypes homozygotes AA et BB et hétérozygotes AB sont très hétérogènes entre les 4 populations testées, avec notamment un pourcentage d'homozygotes AA supérieur dans la population sénégalaise (Figure 11A). Le génotype homozygote BB est très faiblement représenté dans les 4 populations, voire inexistant dans la population sénégalaise. Enfin, les pourcentages d'hétérozygotes AB sont plus élevés chez les Guadeloupéens.

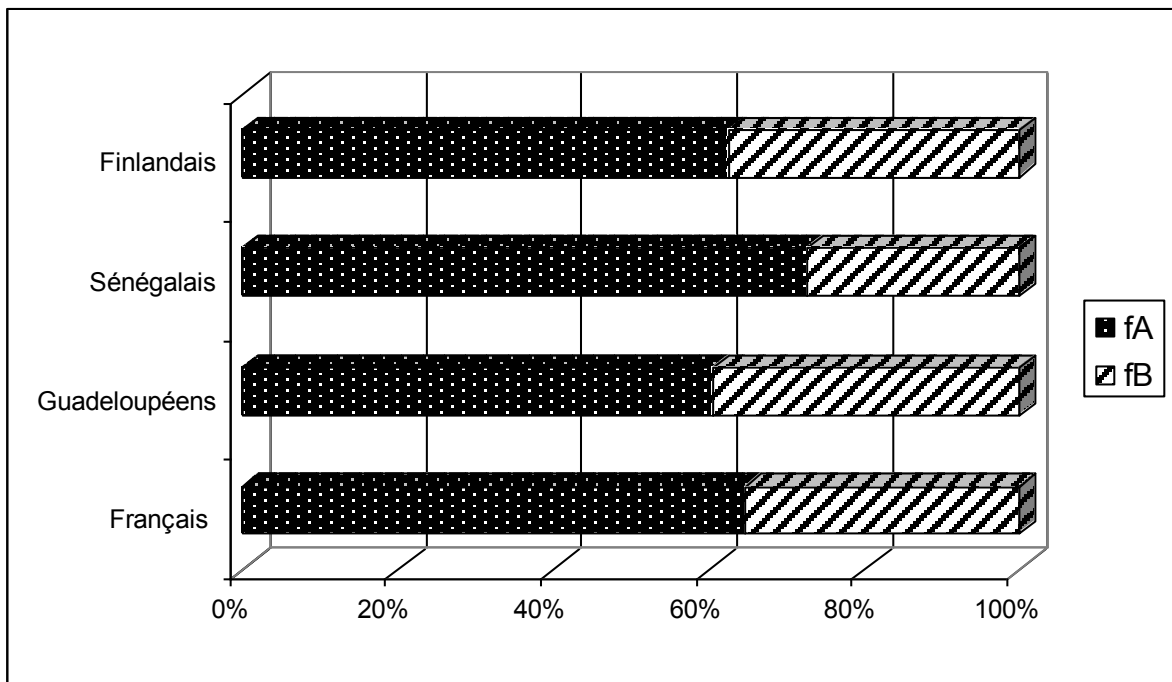
A partir des fréquences de ces génotypes AA, BB et AB, les fréquences de chaque haplotype A et B ont été déterminées (Figure 11B). Les fréquences  $f_A$  de l'haplotype A sont élevées, de 0,6 chez les guadeloupéens à 0,72 chez les sénégalais, comparables aux données publiées dans la littérature scientifique (0,65) [61]. A l'inverse, les fréquences  $f_B$  de l'haplotype B sont faibles dans les 4 populations, allant de 0,27 chez les sénégalais à 0,39 chez les guadeloupéens, pour des données publiées dans la littérature de environ 0,35 [61].



A/



B/



**Figure 11** Pourcentages des homozygotes AA, BB et des hétérozygotes AB (A) et fréquences fA et fB des haplotypes A et B avec vérification de l'équilibre de Hardy-Weinberg (B).

### 2.3.3. Commentaires

Ces résultats démontrent une fréquence plus élevée de l'haplotype A chez les sénégalais, expliquant la forte proportion de sujets homozygotes AA dans cette population. L'haplotype A se caractérisant par la présence d'un unique gène activateur, exprimé (KIR2DS4) ou non (KIR1D), les cellules NK de cette population expriment un répertoire KIR activateur beaucoup plus limité que celui observé dans les populations caucasoides et guadeloupéenne.

Par ailleurs, l'allèle « 2DS4 » exprimé étant surreprésenté dans la population sénégalaise par rapport à l'allèle « 1D » non exprimé, majoritaire dans les autres populations, la majorité des sujets AA sénégalais, de génotype 2DS4/2DS4, exprime un gène activateur. Il est en effet étonnant de constater que la seule population qui présente des fréquences inversées au niveau des allèles 2DS4 et 1D, par rapport à la littérature ainsi qu'aux autres populations étudiées, avec l'allèle 2DS4 très majoritairement représenté, soit la population sénégalaise, ceci compensant la forte proportion de sujets AA. Ce « hasard » pourrait s'expliquer par le phénomène de pression de sélection génétique, dû à l'environnement naturel. Si l'allèle majoritaire était l'allèle 1D non exprimé, comme dans les populations caucasoides, les conséquences fonctionnelles au niveau de l'immunité innée pourraient être importantes puisque ces individus homozygotes AA-1D/1D n'exprimeraient aucun gène activateur.

## 2.4. Les distances génétiques

### 2.4.1. Présentation et analyse des résultats

En accord avec la méthode statistique citée ci-dessus, nous avons obtenu la matrice des distances suivantes (Tableau 10) :

	FIN	FRA	GUA	SEN
FIN	0			
FRA	0,0068	0		
GUA	0,02389	0,00937	0	
SEN	0,06745	0,05727	0,03867	0

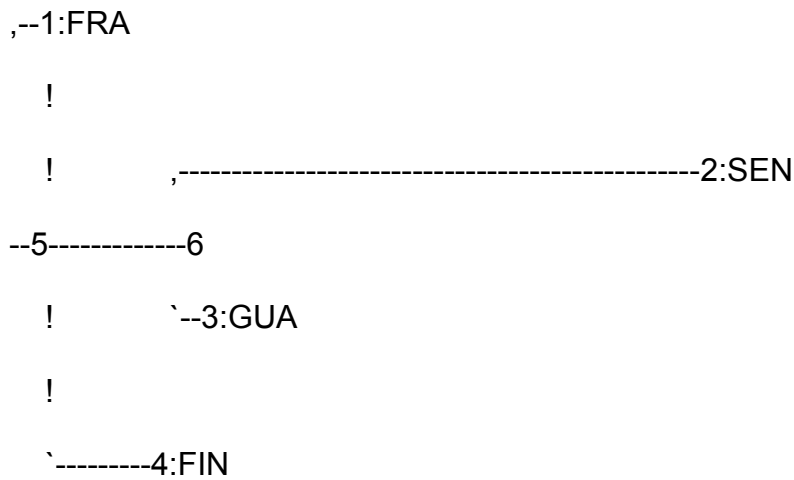
**Tableau 10** Matrice des distances, par la méthode des moindres carrés (Arlequin, programme Fitch, logiciel Phylip)

Ces données ont été classées par ordre croissant (Tableau 11), c'est à dire des populations les plus proches aux populations les plus éloignées.

<b>Couples</b>	<b>Distances</b>
France/Finlande (Fr/Fi)	0,0068
Guadeloupe/France G/Fr	0,0093
Guadeloupe/Finlande G/Fi	0,024
Sénégal/Guadeloupe S/G	0,039
Sénégal/France S/Fr	0,057
Sénégal/Finlande S/Fi	0,067

**Tableau 11** Classement des populations par ordre croissant des distances génétiques obtenues à l'aide de la matrice des distances

Le calcul des distances génétiques permet un classement des 4 populations étudiées, les unes par rapport aux autres, en terme d'éloignement génétique. Nous pouvons déduire du dendrogramme présenté ci-dessous (Figure 12), que les populations les plus éloignées génétiquement sont les populations finlandaise et sénégalaise (score=0,067) ainsi que les populations française métropolitaine et sénégalaise (score=0,057). Les plus proches sont les populations française métropolitaine et finlandaise (score=0,006) puis française métropolitaine et française guadeloupéenne (score=0,009).



**Figure 12** Arbre des distances génétiques ou dendrogramme des 4 populations étudiées française métropolitaine (FRA), sénégalaise (SEN), guadeloupéenne (GUA) et finlandaise (FIN).

#### 2.4.2. Commentaires

Le classement des distances génétiques entre ces populations traduit bien les distances géographiques séparant ces différentes populations. Par exemple, les populations française et finlandaise caucasoides sont les plus proches génétiquement et à l’opposé, la population caucasoides la plus septentrionale, la Finlande, et la population sénégalaise sont les plus éloignées.

De plus, ce classement reflète également les différents flux migratoires connus. Ainsi, par exemple, la proximité apparente entre les populations française métropolitaine et guadeloupéenne s’explique par la vague d’émigration qui a eu lieu à partir de 1835, pendant la colonisation de la Guadeloupe, et qui concernait particulièrement les populations de la façade ouest de la France. Notre population française incluse dans l’étude étant constituée des donneurs de sang de la région ouest, façade Pays de Loire (départements 44 et 85 très

majoritairement), correspond génétiquement aux colons français émigrés en Guadeloupe et permet d'expliquer le rapprochement génétique de ces 2 populations.

De la même façon, les courants migratoires forcés, par le commerce triangulaire, expliquent la relative proximité des populations du Sénégal et de la Guadeloupe, pourtant éloignées géographiquement.

## **Partie IV**

# **DISCUSSION**

Les récepteurs KIR, de découverte récente, sont exprimés à la surface des cellules NK et T CD8 mémoires, et possèdent un rôle dans l'immunité innée antivirale et antitumorale. Ces marqueurs sont caractérisés par un polymorphisme génique et allélique important qui reste néanmoins, encore, bien inférieur à celui de leurs ligands connus, les molécules HLA de classe I.

Ainsi, au même titre que les molécules HLA, ces récepteurs représentent de bons candidats en tant que marqueurs de génétique humaine.

Par ailleurs, de nombreuses études récentes effectuées chez la souris puis chez l'homme ont montré que les récepteurs KIR jouaient un rôle capital dans les greffes de moelle osseuse. En effet, au delà d'une compatibilité HLA indispensable entre le donneur et le receveur, certaines combinaisons KIR doivent être prises en compte dans le devenir de la greffe, notamment dans la survenue de GvHa post-greffe. De nombreuses équipes sont ainsi actuellement à la recherche du « modèle parfait » d'incompatibilité/compatibilité KIR, le « perfect mismatch » de Klas Karre [4], entre le donneur apparenté ou non et le receveur, qui diminuerait le taux de rejet, de GvH aigue post-greffe et améliorerait le taux de survie.

Dans ce contexte, ce travail avait pour objectif, d'élargir les connaissances sur la diversité génétique des molécules KIR dans les différentes populations. Les connaissances acquises sur les spécificités et diversités génotypiques propres à chaque population devraient alors permettre de sélectionner le donneur de moelle génétiquement « idéal », dès lors que le rôle en greffe de CSH des cellules NK et de leurs marqueurs KIR sera plus clairement précisé.

Avec cet objectif, nous avons précisé les pourcentages des porteurs, les fréquences des gènes KIR inhibiteurs KIR-2DL1, -2DL2, -2DL3, -2DL4, -2DL5, -3DL1, -3DL2, -3DL3, activateurs -2DS1, -2DS2, -2DS3, -2DS4, -2DS5, -3DS1 et des pseudogènes -2DP1, -3DP1, -



3DP1v, ainsi que les fréquences haplotypiques, dans 4 populations française métropolitaine, guadeloupéenne, finlandaise et sénégalaise. Les fréquences génotypiques ont ensuite permis de déterminer les distances génétiques existant entre ces 4 populations, puis de construire un arbre des distances ou dendrogramme, illustrant les éloignements génétiques respectifs correspondants. Les calculs ont été effectués à l'aide de méthodes statistiques connues et validées au cours d'études effectuées auparavant sur les molécules HLA.

### **Importante variabilité génique**

L'analyse des fréquences géniques dans les 4 populations étudiées, confirme l'importante variabilité existant entre les différentes populations, et en fonction du gène considéré à l'intérieur même d'une population. Dans cette étude, la variabilité génique est particulièrement prononcée dans la population sénégalaise, avec des fréquences très basses des gènes KIR activateurs par rapport aux gènes KIR inhibiteurs.

### **Les gènes KIR inhibiteurs et activateurs : répartition et signification**

Cette étude confirme la grande hétérogénéité décrite dans la littérature scientifique, en terme de fréquences de gènes et notamment de fréquences des gènes activateurs par rapport aux gènes inhibiteurs.

L'analyse des nombres moyens par génotype des gènes activateurs d'un côté et des gènes inhibiteurs de l'autre, montre que le Sénégal possède le nombre le plus faible de gènes KIR activateurs par génotype, par rapport aux 3 autres populations (p significatifs). Le nombre le plus élevé de gènes activateurs est retrouvé dans la population finlandaise. Au niveau des gènes KIR inhibiteurs, les valeurs sont plus homogènes entre les 4 populations. A titre

indicatif, le nombre le plus élevé d'inhibiteurs est retrouvé dans la population guadeloupéenne, par rapport aux 3 autres (p non significatifs). Ces observations suggèrent que ces marqueurs activateurs pourraient être les témoins d'une pression de sélection naturelle, due à l'environnement, à la localisation climatique ou encore à certaines conditions pathogènes, expliquant cette variabilité du nombre de gènes KIR activateurs et inhibiteurs par génotype, dans la population sénégalaise d'une part, dans les populations caucasoides d'autre part et dans une moindre mesure, dans la population guadeloupéenne.

### **Comparaison avec les données publiées dans la littérature**

Les fréquences géniques (fg) et fréquences de porteurs (F) des marqueurs KIR dans les populations française et finlandaise, sont voisines à celles publiées dans la littérature concernant les populations caucasoides.

De même pour les fréquences concernant la population sénégalaise et celles publiées dans une population africaine de Trinidad [58]. Il est intéressant de constater que les différences observées, aussi bien dans notre population sénégalaise que dans la population africaine publiée, portent principalement sur les gènes KIR activateurs, avec notamment des diminutions de fréquences des gènes KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR3DS1 et KIR1D.

Ceci confirme ainsi les données détaillées dans le chapitre précédent, présentant les nombres moyens de récepteurs activateurs par génotype pour chaque population et identifiant le Sénégal comme la population possédant le nombre moyen de gènes KIR activateurs par génotype, le plus faible parmi les 4 populations testées.

Quelques différences notables ont été relevées au niveau des fréquences dans la population guadeloupéenne. Ces données n'ont cependant pas pu être comparées à celles publiées dans la littérature, cette population n'ayant jusqu'à maintenant pas fait l'objet d'étude génétique sur les marqueurs KIR.

## **Approches comparatives entre les 4 populations à travers les fréquences géniques et les fréquences génotypiques**

D'après le tableau comparatif des fréquences de porteurs des marqueurs KIR testés dans les 4 populations, la France et la Finlande apparaissent comme les populations les plus proches génétiquement, alors que les populations les plus éloignées semblent être, toujours d'après les comparaisons de fréquences entre populations, les populations guadeloupéenne/finlandaise d'une part et sénégalaise/guadeloupéenne d'autre part.

La proximité génétique entre les populations française et finlandaise est ensuite confirmée par l'analyse des génotypes puis le calcul des distances génétiques qui en découle.

Alors que l'étude comparative des fréquences de porteurs des marqueurs KIR confirme l'éloignement génétique des populations guadeloupéenne et finlandaise, l'analyse des génotypes puis le calcul des distances génétiques, précisent la population sénégalaise comme étant la plus éloignée des 3 autres. Notons enfin que la Guadeloupe est relativement proche génétiquement de la population française métropolitaine (voir plus loin).

## **Prédominance de l'haplotype A et répartition des allèles KIR2DS4 et KIR1D dans les populations "caucasoides" et "négroïdes"**

L'étude des haplotypes dans les 4 populations a été réalisée à partir des données publiées dans la littérature :

- la présence de l'unique gène KIR activateur KIR2DS4/1D est caractéristique de l'haplotype A

- la présence de multiples combinaisons de gènes KIR activateurs excepté le gène KIR2DS4/1D est caractéristique de l'haplotype B

Nous n'avons pas pu effectuer d'étude familiale pour vérifier les différentes combinaisons d'haplotypes publiées, ne disposant pas des prélèvements familiaux correspondants aux donneurs témoins.

Notre étude, en accord avec les travaux publiés antérieurement, révèle une fréquence de l'haplotype A largement supérieure à celle de l'haplotype B, et ce dans les 4 populations étudiées. Sachant que le récepteur KIR2DS4/1D est le seul récepteur activateur constitutif de l'haplotype A, les individus homozygotes pour l'haplotype A possèdent soit l'allèle 2DS4 soit l'allèle 1D comme seul représentant activateur dans leur génotype.

Rappelons que la forme 2DS4 est exprimée à la surface cellulaire contrairement à la forme 1D, délétée au niveau du domaine Ig D2. Ainsi, la présence de l'une ou de l'autre forme est capitale fonctionnellement chez les sujets homozygotes AA.

Comme le révèle l'analyse haplotypique, la population sénégalaise possède la proportion d'homozygotes AA la plus forte, correspondant à une fréquence de l'haplotype A élevée (0,72), supérieure à celles des 3 autres populations étudiées. De plus, contrairement aux données publiées dans la littérature scientifiques et qui concernent les populations caucasoides, cette population est caractérisée par une fréquence de porteurs de la forme « 2DS4 » du gène KIR2DS4, très supérieure à celles de la forme « 1D ». Elle comprend donc un nombre important d'individus ne possédant qu'un unique gène activateur dans son génome, majoritairement représenté par la forme KIR2DS4 exprimée, à l'inverse des autres populations qui possèdent la forme 1D non exprimée, de façon prépondérante.

Ces observations soulèvent plusieurs questions :

Quelles peuvent être les conséquences fonctionnelles spécifiques aux populations "négroïdes" (Sénégal et Guadeloupe) induites par une surreprésentation du gène KIR2DS4 exprimé à la surface des cellules NK, notamment au niveau de la cytotoxicité NK au cours de l'immunité innée?

Plus particulièrement, le Sénégal a-t-il sélectivement privilégié la forme exprimée du gène, au dépens de la forme non exprimée ? Soit par sélection naturelle environnementale, soit par phénomène d'adaptation devant la fréquence élevée de l'haplotype A ? Quelles en sont les conséquences fonctionnelles pour les cellules NK ?

Comme nous l'avons précisé dans la première partie de ce travail, les gènes KIR présents au niveau génomique ne sont pas systématiquement traduits et exprimés à la surface des cellules NK (contrairement à leurs ligands HLA), et/ou le sont à des taux très variables d'un clone à l'autre et d'un individu à l'autre. En effet, ces récepteurs sont caractérisés par une régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle importante. Ainsi, dans le cas du gène KIR2DS4, la présence du gène n'implique pas obligatoirement la présence de la protéine à la surface des cellules. Il est donc important de tenir compte de ce facteur dans l'étude du rôle fonctionnel de cet unique récepteur activateur présent dans le génome des individus homozygotes AA.

### **Relations génétique, géographique et historique entre les 4 populations testées**

A la suite de l'analyse des génotypes, la population caractérisée par la plus grande diversité génotypique est représentée par la Guadeloupe et celle caractérisée par la spécificité génotypique la plus marquée est représentée par le Sénégal.

Ces deux aspects peuvent s'expliquer par deux phénomènes :

Tout d'abord, les distances géographiques entre les peuples. En effet, l'éloignement physique d'une population par rapport à une autre pouvant conduire à l'isolement de gènes de ces 2 populations entre elles, permettant ainsi le développement des combinaisons génotypiques spécifiques. Au contraire, la proximité entre 2 populations explique les superpositions des pools de gènes.

Le second phénomène, à l'origine de la diversité génotypique est représenté par les grandes migrations qui ont eu lieu dans le passé et ont marquées l'histoire des peuples et ainsi les mélanges ou juxtaposition de peuples originellement séparés.

L'histoire du peuple guadeloupéen est à cet égard particulièrement explicite:

la diversité génétique de ce peuple s'explique entre autre par une « colonisation » par les français de l'ouest de la France, qui a débutée au 17<sup>ième</sup> siècle. Les colons français firent ensuite venir la main d'œuvre nécessaire aux exploitations de canne à sucre, d'Afrique. Ainsi, pendant plus de 200 ans, des esclaves originaires de la côte ouest de l'Afrique (Cote de Guinée, Angola, Sénégal) et du Cap-Vert ont été envoyés aux Amériques (Antilles, Amérique du Nord, Amérique du Sud) contre des armes, alcool et produits divers. C'est ce qui fut nommé « le commerce triangulaire ». De plus, le peuple guadeloupéen a subi de nombreuses vagues de migrations qui ont précédées puis succédées cet épisode de l'histoire de la Guadeloupe avant qu'elle ne devienne en 1946 un Département d'Outre Mer (DOM). Ces migrations ont concerné notamment des peuples indiens.

Ainsi, il n'est pas étonnant de découvrir une diversité génotypique marquée en Guadeloupe, ainsi qu'une grande proximité avec la France, notamment avec l'ouest de la France, qui correspond à la population étudiée dans ce travail.

## **Partie V**

# **CONCLUSIONS**

## **Les récepteurs KIR : marqueurs génétiques polymorphes**

Les gènes KIR sont donc caractérisés par un polymorphisme important, qu'une analyse plus fine étudiant le polymorphisme allélique de ces gènes pourrait grandement enrichir. Ces études d'allèles seraient réalisées par PCR-SSO [63] ou par séquençage et ainsi permettre une distinction plus précise des spécificités et de la diversité génotypique existant dans les différentes populations. En effet, plus le polymorphisme est important, plus les molécules polymorphes sont informatives en tant que marqueurs génétiques de population.

Ainsi, ces récepteurs constituent comme l'illustre bien ce travail, de bons marqueurs de génétique humaine, à exploiter au même titre que les marqueurs HLA. Rappelons que ces deux familles de gènes, indépendantes génomiquement, sont liées fonctionnellement par une relation « récepteur-ligand » à la surface des cellules qui les expriment. Ces molécules exprimées, jouent un rôle complémentaire dans la défense du système immunitaire : en effet, alors que les molécules HLA interviennent presque exclusivement au cours de la réponse immunitaire spécifique dite « acquise », les récepteurs KIR et l'ensemble des récepteurs inhibiteurs et activateurs exprimés à la surface des cellules NK se manifestent lors de la réponse immunitaire innée, notamment antivirale et antitumorale. Dans ce cas, la régulation des fonctions de cytotoxicité des cellules NK dépend du degré d'expression des molécules HLA, via des interactions inhibitrices.

Dans ce contexte, cette étude démontre qu'il existe différentes combinaisons de gènes KIR appelées génotypes, présentes ou non en fonction de la population testée, et ce, à des fréquences plus ou moins importantes. Ainsi, les populations française, finlandaise, guadeloupéenne, sénégalaise reportées dans cette étude, mais également japonaise, indienne et grecque étudiées dans les quelques travaux publiés, sont caractérisées par des génotypes plus ou moins fréquents, communs à l'ensemble des populations ou simplement à quelques unes



d'entre elles, ou encore spécifiques par rapport aux autres populations. Ces différentes distributions s'expliquent notamment par le phénomène de pression de sélection qui favoriserait le maintien de combinaisons favorables à la survie de l'espèce humaine et la disparition d'autres combinaisons au cours de l'évolution.

De plus, de nombreux déséquilibres de liaison ont été décrits dans la littérature scientifique [61], et sont déterminés par ce phénomène de sélection naturelle, dépendant de l'environnement considéré, des conditions climatiques, de l'isolement de la population ou encore de l'action d'éventuels pathogènes.

Ainsi, comme pour les gènes du CMH, la distribution des gènes KIR varie selon l'ethnie et l'origine géographique des populations, et comme nous l'avons vu elle se définit à travers l'histoire d'un peuple par le biais des différents flux migratoires passés.

Dans le même sens, peut être existe-t-il, une relation entre certains gènes KIR, voire certains allèles, et une susceptibilité ou au contraire une résistance accrue, à certaines maladies selon les populations étudiées.

### **La diversité des marqueurs KIR : rôle en greffe de CSH**

Dans une autre problématique, les récepteurs KIR présentent également un vif intérêt dans la greffe de moelle osseuse. Tout d'abord, les récepteurs KIR possèdent comme ligands les molécules HLA, ces dernières déterminant la compatibilité tissulaire du soi et provoquant les rejets de tissus du non soi en cas d'incompatibilité. Ensuite, conséquence de leur relation avec les molécules HLA, les molécules KIR constituent une première barrière au cours de l'immunité innée, dans la destruction des cellules tumorales qui n'expriment pas ou en

nombre insuffisant des ligands HLA à leur surface. Enfin, de nombreux travaux effectués dans les années 90 sur la souris [72] puis plus récemment chez l'homme [74, 76, 79], ont prouvé le rôle des molécules KIR dans les rejets de greffe, au-delà des incompatibilités HLA. Si ces études sont confirmées et prenant en compte la diversité génotypique démontrée entre autre à travers notre étude entre les différentes populations, la sélection des donneurs de CSH devrait être faite de façon complémentaire, sur la base de leur génotype HLA et de leur génotype KIR, afin de réaliser le « perfect mismatch » [4].

Cette prise en compte des génotypes à la fois KIR et HLA dans le contexte de la greffe de CSH devrait permettre d'éviter les réactions immunitaires délétères post-greffe de moelle et en particulier les GvH aiguës.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Lewontin, *La diversité des hommes - l'inné, l'acquis et la génétique*. L'univers des sciences, 1982. **Pour la science**.
2. Dausset, *Iso-leuko-antibodies*. Acta Haematol., 1958. **20**(1-4): p. 156-66.
3. Langaney, A., *Les Hommes: passé, présent, conditionnel*. Armand Colin, 1988.
4. Karre, *Immunology. A perfect mismatch*. Science, 2002. **295**(5562): p. 2029-31.
5. Robertson MJ, R.J., *Biology and clinical relevance of human natural killer cells*. Blood, 1990. **15**(76(12)): p. 2421-38.
6. Lanier LL, L.A., Civin CI, Loken MR, Phillips JH., *The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes*. J Immunol., 1986. **136**(12): p. 4480-6.
7. Cooper MA, F.T., Caligiuri MA., *The biology of human natural killer-cell subsets*. Trends Immunol., 2001. **22**((11)): p. 633-40.
8. Biron CA, N.K., Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP., *Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines*. Annu Rev Immunol., 1999(17): p. 189-220.
9. Ljunggren HG, K.K., *In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition*. Immunol Today., 1990. **11**(7): p. 237-44.
10. Hoglund P, L.H., Karre K, Jay G., *Role of major histocompatibility complex class-I molecules in tumor rejection. New insights from studies with synthetic peptides and transgenic mice*. Immunol Res., 1990. **9**(4): p. 298-313.
11. Delves PJ, R.I., *The immune system. First of two parts*. N Engl J Med, 2000. **343**(1): p. 37-49.
12. Lanier, *NK cell receptors*. Annu Rev Immunol., 1998. **16**: p. 359-93.
13. Long, *Regulation of immune responses through inhibitory receptors*. Annu Rev Immunol., 1999. **17**: p. 875-904.
14. Raulet DH, V.R., McMahon CW., *Regulation of the natural killer cell receptor repertoire*. Annu Rev Immunol., 2001. **19**: p. 291-330.
15. Moretta L, B.R., Bottino C, Mingari MC, Moretta A., *Human NK-cell receptors*. Immunol Today., 2000. **21**(9): p. 420-2.
16. Braud VM, A.D., O'Callaghan CA, Soderstrom K, D'Andrea A, Ogg GS, Lazetic S, Young NT, Bell JI, Phillips JH, Lanier LL, McMichael AJ., *HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C*. Nature., 1998. **19**(391(6669)): p. 795-9.
17. Steinle A, L.P., Morris DL, Groh V, Lanier LL, Strong RK, Spies T., *Interactions of human NKG2D with its ligands MICA, MICB, and homologs of the mouse RAE-1 protein family*. Immunogenetics., 2001. **53**(4): p. 279-87.
18. Cosman D, M.J., Sutherland CL, Chin W, Armitage R, Fanslow W, Kubin M, Chalupny NJ., *ULBPs, novel MHC class I-related molecules, bind to CMV glycoprotein UL16 and stimulate NK cytotoxicity through the NKG2D receptor*. Immunity., 2001. **14**(2): p. 123-33.
19. Karlhofer FM, R.R., Yokoyama WM., *MHC class I alloantigen specificity of Ly-49+ IL-2-activated natural killer cells*. Nature, 1992. **358**(6381): p. 66-70.
20. Daniels BF, K.F., Seaman WE, Yokoyama WM., *A natural killer cell receptor specific for a major histocompatibility complex class I molecule*. J Exp Med, 1994. **180**(2): p. 687-92.
21. Colonna M, S.J., *Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells*. Science, 1995. **268**(5209): p. 405-8.

22. Barten R, T.M., Haude A, Trowsdale J, Wilson MJ., *Divergent and convergent evolution of NK-cell receptors*. Trends Immunol., 2001. **22**(1): p. 52-7.
23. Trowsdale, *Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes*. Immunity., 2001. **15**(3): p. 363-74.
24. Steffens U, V.Y., Dupont B, Selvakumar A., *Nucleotide and amino acid sequence alignment for human killer cell inhibitory receptors (KIR)*, 1998. Tissue Antigens, 1998. **51**(4 Pt 1): p. 398-413.
25. Trowsdale J, B.R., Haude A, Stewart CA, Beck S, Wilson MJ., *The genomic context of natural killer receptor extended gene families*. Immunol Rev., 2001. **181**: p. 20-38.
26. Wilson MJ, T.M., Trowsdale J., *Genomic organization of a human killer cell inhibitory receptor gene*. Tissue Antigens, 1997. **49**(6): p. 574-9.
27. Hsu KC, C.S., Geraghty DE, Dupont B., *The killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genomic region: gene-order, haplotypes and allelic polymorphism*. Immunol Rev., 2002. **190**: p. 40-52.
28. Vilches C, P.P., *KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity*. Annu Rev Immunol., 2002. **20**: p. 217-51.
29. Khakoo SI, R.R., Shum BP, Weidenbach K, Flodin L, Muir DG, Canavez F, Cooper SL, Valiante NM, Lanier LL, Parham P., *Rapid evolution of NK cell receptor systems demonstrated by comparison of chimpanzees and humans*. Immunity., 2000. **12**(6): p. 687-98.
30. Rajalingam R, H.M., Adams EJ, Shum BP, Guethlein LA, Parham P., *Short KIR haplotypes in pygmy chimpanzee (Bonobo) resemble the conserved framework of diverse human KIR haplotypes*. J Exp Med, 2001. **193**(1): p. 135-46.
31. Canavez F, Y.N., Guethlein LA, Rajalingam R, Khakoo SI, Shum BP, Parham P., *Comparison of chimpanzee and human leukocyte Ig-like receptor genes reveals framework and rapidly evolving genes*. J Immunol, 2001. **167**(10): p. 5786-94.
32. Hershberger KL, S.R., Miura A, Letvin NL., *Diversity of the killer cell Ig-like receptors of rhesus monkeys*. J Immunol., 2001. **166**(7): p. 4380-90.
33. Long EO, C.M., Lanier LL., *Inhibitory MHC class I receptors on NK and T cells: a standard nomenclature*. Immunol Today., 1996. **17**(2): p. 100.
34. Marsh SG, P.P., Dupont B, Geraghty DE, Trowsdale J, Middleton D, Vilches C, Carrington M, Witt C, Guethlein LA, Shilling H, Garcia CA, Hsu KC, Wain H., *Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002*. Tissue Antigens, 2003. **62**(1): p. 79-86.
35. Campbell KS, D.M., Lopez-Botet M, Cella M, Colonna M., *Tyrosine phosphorylation of a human killer inhibitory receptor recruits protein tyrosine phosphatase 1C*. J Exp Med, 1996. **184**(1): p. 93-100.
36. Moretta A, S.S., Vitale M, Pende D, Morelli L, Augugliaro R, Bottino C, Moretta L., *Existence of both inhibitory (p58) and activatory (p50) receptors for HLA-C molecules in human natural killer cells*. J Exp Med, 1995. **182**(3): p. 875-84.
37. Winter CC, G.J., Parham P, Long EO, Wagtmann N., *Direct binding and functional transfer of NK cell inhibitory receptors reveal novel patterns of HLA-C allotype recognition*. J Immunol, 1998. **161**(2): p. 571-7.
38. Winter CC, L.E., *A single amino acid in the p58 killer cell inhibitory receptor controls the ability of natural killer cells to discriminate between the two groups of HLA-C allotypes*. J Immunol., 1997. **158**(9): p. 4026-8.

39. Allan DS, C.M., Lanier LL, Churakova TD, Abrams JS, Ellis SA, McMichael AJ, Braud VM., *Tetrameric complexes of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G bind to peripheral blood myelomonocytic cells.* J Exp Med, 1999. **189**(7): p. 1149-56.
40. Biassoni R, F.M., Cambiaggi A, Costa P, Verdiani S, Pende D, Conte R, Di Donato C, Parham P, Moretta L., *Amino acid substitutions can influence the natural killer (NK)-mediated recognition of HLA-C molecules. Role of serine-77 and lysine-80 in the target cell protection from lysis mediated by "group 2" or "group 1" NK clones.* J Exp Med., 1995. **182**(2): p. 605-9.
41. Colonna M, B.E., Falco M, Ferrara GB, Strominger JL., *Generation of allospecific natural killer cells by stimulation across a polymorphism of HLA-C.* Science, 1993. **260**(5111): p. 1121-4.
42. Dohring C, S.D., Samaridis J, Cella M, Colonna M., *A human killer inhibitory receptor specific for HLA-A1,2.* J Immunol., 1996. **156**(9): p. 3098-101.
43. Litwin V, G.J., Parham P, Phillips JH, Lanier LL., *NKB1: a natural killer cell receptor involved in the recognition of polymorphic HLA-B molecules.* J Exp Med., 1994. **180**(2): p. 537-43.
44. Pende D, B.R., Cantoni C, Verdiani S, Falco M, di Donato C, Accame L, Bottino C, Moretta A, Moretta L., *The natural killer cell receptor specific for HLA-A allotypes: a novel member of the p58/p70 family of inhibitory receptors that is characterized by three immunoglobulin-like domains and is expressed as a 140-kD disulphide-linked dimer.* J Exp Med, 1996. **184**(2): p. 505-18.
45. Biassoni R, P.A., Malaspina A, Cantoni C, Bottino C, Sivori S, Moretta L, Moretta A., *Role of amino acid position 70 in the binding affinity of p50.1 and p58.1 receptors for HLA-Cw4 molecules.* Eur J Immunol., 1997. **27**(12): p. 3095-9.
46. Vales-Gomez M, R.H., Erskine RA, Strominger J., *Differential binding to HLA-C of p50-activating and p58-inhibitory natural killer cell receptors.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(24): p. 14326-31.
47. Saulquin X, G.L., Vivier E., *Crystal structure of the human natural killer cell activating receptor KIR2DS2 (CD158j).* J Exp Med, 2003. **197**(7): p. 933-8.
48. Fan QR, M.L., Winter CC, Wagtmann N, Long EO, Wiley DC., *Structure of the inhibitory receptor for human natural killer cells resembles haematopoietic receptors.* Nature, 1997. **389**(6646): p. 96-100.
49. Boyington JC, M.S., Schuck P, Brooks AG, Sun PD., *Crystal structure of an NK cell immunoglobulin-like receptor in complex with its class I MHC ligand.* Nature, 2000. **405**(6786): p. 537-43.
50. Long EO, B.D., Clark WP, Peruzzi M, Rajagopalan S, Rojo S, Wagtmann N, Winter CC., *Killer cell inhibitory receptors: diversity, specificity, and function.* Immunol Rev., 1997. **155**: p. 135-44.
51. Hansasuta P, D.T., Thananchai H, Weekes M, Willberg C, Aldemir H, Rowland-Jones S, Braud VM., *Recognition of HLA-A3 and HLA-A11 by KIR3DL2 is peptide-specific.* Eur J Immunol., 2004. **34**(6): p. 1673-9.
52. Uhrberg M, P.P., Wernet P., *Definition of gene content for nine common group B haplotypes of the Caucasoid population: KIR haplotypes contain between seven and eleven KIR genes.* Immunogenetics., 2002. **54**(4): p. 221-9.
53. Uhrberg M, V.N., Shum BP, Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Corliss B, Tyan D, Lanier LL, Parham P, *Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes.* Immunity., 1997. **7**(6): p. 753-63.

54. Husain Z, A.C., Yunis EJ, Dubey DP., *Complex expression of natural killer receptor genes in single natural killer cells*. Immunology, 2002. **106**(3): p. 373-80.
55. Valiante NM, U.M., Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Arnett KL, D'Andrea A, Phillips JH, Lanier LL, Parham P., *Functionally and structurally distinct NK cell receptor repertoires in the peripheral blood of two human donors*. Immunity., 1997. **7**(6): p. 739-51.
56. Crum KA, L.S., Curran MD, Middleton D., *Development of a PCR-SSOP approach capable of defining the natural killer cell inhibitory receptor (KIR) gene sequence repertoires*. Tissue Antigens., 2000. **56**(4): p. 313-26.
57. Norman PJ, S.H., Verity DH, Chandanayingyong D, Vaughan RW., *Distribution of natural killer cell immunoglobulin-like receptor sequences in three ethnic groups*. Immunogenetics., 2001. **52**(3-4): p. 195-205.
58. Norman PJ, C.C., Byng M, Maxwell LD, Curran MD, Stephens HA, Chandanayingyong D, Verity DH, Hameed K, Ramdath DD, Vaughan RW., *Natural killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) locus profiles in African and South Asian populations*. Genes Immun., 2002. **3**(2): p. 86-95.
59. Witt CS, D.C., Sayer DC, Uhrberg M, Parham P, Christiansen FT., *Population frequencies and putative haplotypes of the killer cell immunoglobulin-like receptor sequences and evidence for recombination*. Transplantation., 1999. **68**(11): p. 1784-9.
60. Toneva M, L.V., Lafay G, Dulphy N, Busson M, Lester S, Vu-Trien A, Michaylova A, Naumova E, McCluskey J, Charron D., *Genomic diversity of natural killer cell receptor genes in three populations*. Tissue Antigens, 2001. **57**(4): p. 358-62.
61. Hsu KC, L.X., Selvakumar A, Mickelson E, O'Reilly RJ, Dupont B., *Killer Ig-like receptor haplotype analysis by gene content: evidence for genomic diversity with a minimum of six basic framework haplotypes, each with multiple subsets*. J Immunol., 2002. **169**(9): p. 5118-29.
62. Shilling HG, G.L., Cheng NW, Gardiner CM, Rodriguez R, Tyan D, Parham P., *Allelic polymorphism synergizes with variable gene content to individualize human KIR genotype*. J Immunol., 2002. **168**(5): p. 2307-15.
63. Middleton D, C.M., Maxwell L., *Natural killer cells and their receptors*. Transpl Immunol., 2002. **10**: p. 147-64.
64. Niokou D, S.-V.M., Darlamitsou A, Stavropoulos-Giokas C., *Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptors in the Greek population*. Hum Immunol., 2003. **64**(12): p. 1167-76.
65. Mingari MC, S.F., Ponte M, Vitale C, Maggi E, Romagnani S, Demarest J, Pantaleo G, Fauci AS, Moretta L., *Human CD8+ T lymphocyte subsets that express HLA class I-specific inhibitory receptors represent oligoclonally or monoclonally expanded cell populations*. Proc Natl Acad Sci U S A., 1996. **93**(22): p. 12433-8.
66. Shilling HG, Y.N., Guethlein LA, Cheng NW, Gardiner CM, Tyan D, Parham P., *Genetic control of human NK cell repertoire*. J Immunol., 2002. **169**(1): p. 239-47.
67. Vely F, P.M., Couedel C, Morcet J, Halary F, Davodeau F, Romagne F, Scotet E, Saulquin X, Houssaint E, Schleinitz N, Moretta A, Vivier E, Bonneville M., *Regulation of inhibitory and activating killer-cell Ig-like receptor expression occurs in T cells after termination of TCR rearrangements*. J Immunol., 2001. **166**(4): p. 2487-94.

68. Cavalli-Sforza, P.M., A Piazza, *History and Geography of human genes*. Princeton University Press, 1994. **Italian edition Adelphi 1997**.
69. Rajalingam R, K.P., Shilling HG, Stein JB, Balamurugan A, McGinnis MD, Cheng NW, Mehra NK, Parham P., *Distinctive KIR and HLA diversity in a panel of north Indian Hindus*. Immunogenetics., 2002. **53**(12): p. 1009-19.
70. Yawata M, Y.N., McQueen KL, Cheng NW, Guethlein LA, Rajalingam R, Shilling HG, Parham P., *Predominance of group A KIR haplotypes in Japanese associated with diverse NK cell repertoires of KIR expression*. Immunogenetics., 2002. **54**(8): p. 543-50.
71. Cook MA, M.P., Briggs DC., *The distribution of 13 killer-cell immunoglobulin-like receptor loci in UK blood donors from three ethnic groups*. Eur J Immunogenet., 2003. **30**(3): p. 213-21.
72. Kumar V, G.T., Yu YY, Liu J, Bennett M., *Role of murine NK cells and their receptors in hybrid resistance*. Curr Opin Immunol., 1997. **9**(1): p. 52-6.
73. Koh CY, W.L., Murphy WJ., *Adoptive cellular immunotherapy: NK cells and bone marrow transplantation*. Histol Histopathol., 2000. **15**(4): p. 1201-10.
74. Gagne K, B.G., Gueglio B, Milpied N, Herry P, Bonneville F, Cheneau ML, Schleinitz N, Cesbron A, Follea G, Harrousseau JL, Bignon JD., *Relevance of KIR gene polymorphisms in bone marrow transplantation outcome*. Hum Immunol, 2002. **63**(4): p. 271-80.
75. Ruggeri L, C.M., Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, Posati S, Rogaia D, Frassoni F, Aversa F, Martelli MF, Velardi A., *Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants*. Science, 2002. **295**(5562): p. 2097-100.
76. Shilling HG, M.K., Cheng NW, Shizuru JA, Negrin RS, Parham P., *Reconstitution of NK cell receptor repertoire following HLA-matched hematopoietic cell transplantation*. Blood, 2003. **101**(9): p. 3730-40.
77. Davies SM, R.L., DeFor T, Wagner JE, Weisdorf DJ, Miller JS, Velardi A, Blazar BR., *Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatched unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptor*. Blood., 2002. **100**(10): p. 3825-7.
78. Gomez-Lozano N, V.C., *Genotyping of human killer-cell immunoglobulin-like receptor genes by polymerase chain reaction with sequence-specific primers: an update*. Tissue Antigens., 2002. **59**(3): p. 184-93.
79. Velardi A, R.L., Moretta A, Moretta L., *NK cells: a lesson from mismatched hematopoietic transplantation. Response from Velardi et al*. Trends Immunol., 2003. **24**(1): p. 9-10.



# **ANNEXES**

		KIR FRANCE																
Génotype	ADN	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	3DP1v
1	3511	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
2	3916	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+
3	4330	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
4	6739	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
5	6741	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
6	7245	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
7	7068	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
8	7590	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
9	7810	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
10	7283	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
11	8045	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
12	7919	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
13	8028	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
14	8901	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
15	9600	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
16	9427	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
17	4438	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
18	10503	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
19	10650	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
20	10966	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
21	11259	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-

22	12173	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	+
23	12901	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
24	13645	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
25	13787	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
26	14014	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
27	14256	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
28	15696	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	+
29	16598	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+	+	-
30	16736	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
31	11087	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
32	17873	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
33	17585	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	+
34	17710	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+	+	+
35	17396	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
36	17309	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-/-	+	+	+	+	+
37	17406	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
38	17649	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
39	17871	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
40	17995	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	-
41	17233	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
42	18037	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-/+	-	+	+	+	+
43	17970	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
44	17788	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
45	17758	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+/-	-	+	+	+	-
46	16617	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+

47	23195	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
48	23215	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
49	23226	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	-
50	23047	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
51	22505	-	+	-	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	-	-	+
52	23540	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	+
53	22869	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
54	23625	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
55	23689	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	+	+	+	+
56	23134	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-/+	-	+	+	+	-
57	24331	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	+	+	-/-	+	+	+	+	-
58	24578	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	+	+	+	+
59	23727	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
60	10314	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
61	11224	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
62	10326	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
63	18456	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
64	10331	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
65	18379	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
66	11306	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
67	16138	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
68	13990	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	+
69	8940	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
70	18497	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	-	-	-
71	21051	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-

72	21355	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
73	23504	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+	+	-
74	23751	+	+	-	+	+/+	-	+	+	+	+	+	-/-	+	+	+	+	-
75	24043	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-/+	-	+	+	+	-
76	10319	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/-	-	-	+	+	+
77	10325	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	-	+	+	+	-
78	10322	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	-
79	6828	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
80	10123	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	-
81	11253	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
82	12298	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+	+	-
83	10214	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	+
84	21028	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
85	23657	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+
86	23658	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
87	23659	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
88	27237	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	-
89	27216	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+/-	-	-	-	-	+
90	27586	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-/-	+	+	+	+	-
91	147	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
92	46	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
93	65	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	-/+	-	+	+	+	+
94	3751	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
95	27336	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	-

<b>96</b>	26233	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
<b>97</b>	26234	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	-	+	+	+	-
<b>98</b>	90	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
<b>99</b>	52	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+	+	-
<b>100</b>	9944	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	-
<b>101</b>	59	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
<b>102</b>	26365	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
<b>103</b>	27114	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
<b>104</b>	27081	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
<b>105</b>	27127	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	+	+	+	+
<b>106</b>	11211	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	+
<b>107</b>	2322	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
<b>108</b>	8799	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-

**Annexe 1** Tableau des typages des gènes KIR dans la population française

Génotypes	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	nb	(%)
<b>1</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4	4
<b>2</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	7	6
<b>4</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	6	6
<b>39</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	2	2
<b>8</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	8	7
<b>40</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	2	2
<b>41</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	1	1
<b>12</b>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	14	<b>13</b>
<b>20</b>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4	4
<b>26</b>	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	2	2
<b>42</b>	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	1	1
<b>43</b>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	1	1
<b>13</b>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	3	3
<b>14</b>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	9	8
<b>18</b>	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	6	6
<b>19</b>	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	35	<b>32</b>
<b>44</b>	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	1	1
<b>45</b>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	1	1
<b>46</b>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	1	1

Annexe 2 Tableau des génotypes KIR observés dans la population française

KIR FINLANDE																	
Génotype	n°ADN	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1
1	915	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
2	999	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
3	1003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
4	1099	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
5	1159	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
6	1228	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
7	1241	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
8	1273	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	1290	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
10	1347	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
11	1430	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
12	1431	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
13	1485	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
14	1552	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
15	1599	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
16	1818	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
17	1821	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
18	2001	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
19	2033	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
20	2073	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
21	2107	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
22	2224	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
23	2245	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
24	2256	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
25	2286	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
26	2287	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
27	2318	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
28	2565	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
29	2574	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
30	2600	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+



31	2732	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
32	2773	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
33	2786	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
34	2799	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
35	2938	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
36	2951	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
37	2971	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
38	3224	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
39	3297	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
40	3315	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
41	3447	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
42	3948	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
43	3986	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
44	4030	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
45	4039	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
46	4127	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
47	4155	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
48	4158	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
49	4265	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	4287	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
51	4307	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
52	4342	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
53	4426	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54	4528	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
55	4540	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
56	4548	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
57	4597	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
58	4676	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
59	4787	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
60	4856	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
61	4962	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
62	5110	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
63	5173	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+

64	5403	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
65	5415	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
66	5427	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
67	5436	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
68	5486	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
69	5487	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
70	5499	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
71	5631	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
72	5725	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
73	5766	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
74	5774	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75	5829	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
76	5844	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
77	5918	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
78	5950	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
79	6098	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
80	6059	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
81	6099	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
82	6133	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
83	6152	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
84	6171	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
85	6179	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
86	6228	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
87	6229	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
88	6245	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
89	6370	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
90	6435	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
91	6436	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
92	6473	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
93	6486	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
94	6540	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
95	6562	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
96	6582	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+

<b>97</b>	6620	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<b>98</b>	6621	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>99</b>	6622	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
<b>100</b>	6623	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<b>101</b>	6631	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>102</b>	6642	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+

**Annexe 3**      Tableau des typages des gènes KIR dans la population finlandaise

Génotypes	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	%	nb
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4,90	5
20	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,98	1
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	8,82	9
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	5,88	6
47	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	0,98	1
48	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	0,98	1
40	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	0,98	1
49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	1,96	2
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	5,88	6
14	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	18,63	19
42	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	0,98	1
50	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	0,98	1
41	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	0,98	1
16	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	2,94	3
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	9,80	10
17	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	0,98	1
18	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	1,96	2
19	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	31,37	32

Annexe 4 Tableau des génotypes KIR observés dans la population finlandaise

Génotype	KIR GUADELOUPE																
	n°	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1
1	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	-
3	+	+	-	+	-/+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	-	+	+	-
4	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
5	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	+	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	+	-
9	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	+/-	+	+	+	+	-
10	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	-
11	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	-
13	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
14	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
15	+	-	+	+	+/-	-	+	+	+	-	-	-/-	+	+	+	+	-
16	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+/+	-	-	+	+	-
17	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
18	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	-/+	+	-	+	+	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	-
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-/+	-	-	+	+	-
21	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
22	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-

23	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
24	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	-
25	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
26	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	-	+	+	-
27	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	+	+/+	-	+	+	+	+
28	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	+	-/+	-	-	+	+	-
29	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	+
30	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	+	+	-
31	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
32	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	+
33	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	-
34	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	+	+	+	-
35	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+/+	-	-	+	+	-
36	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
37	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
38	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
39	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
40	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
41	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
42	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+/+	-	-	+	+	-
43	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
44	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	-
45	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
46	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+	-	-	+	+	-

48	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	+/-	+	+	+	+	-
49	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	+	-	+	+	+
50	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-/+	-	-	+	+	-
51	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
52	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
53	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+/-	-	+	+	+	-
54	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
55	+	+	+	+	+/-	+	+	+	-	+	-	-/+	+	+	+	+	+
56	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
57	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
58	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
59	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-/+	-	-	+	+	-
60	+	+	-	+	-/+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	-	+	+	-
61	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
62	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
63	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
64	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/-	+	+	+	+	-
65	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
66	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-
67	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
68	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
69	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-
70	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-
71	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
72	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+/+	-	-	+	+	-

73	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
74	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
75	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
76	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
77	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
78	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	-	+	+	-
79	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
80	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
81	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
82	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
83	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	+
84	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
85	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
86	+	+	-	+	+/+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+
87	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
88	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	+	+	+	-
89	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
90	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-

Annexe 5 Tableau des typages des gènes KIR dans la population guadeloupéenne



Génotype	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	nb	%
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	2	2
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	2	2
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	6	7
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	2	2
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	4	4
7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	1	1
8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	12	13
9	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	1	1
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	3	3
11	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	1	1
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	6	7
13	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	1	1
14	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	4	4
15	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	1	1
16	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	1	1
17	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	6	7
18	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	1	1
19	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	21	23
20	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2	2
21	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	1	1
22	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	1	1
23	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	1	1
24	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	1	1
25	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	1	1
26	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	3	3
27	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	1	1
28	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	1	1
29	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	2	2

Annexe 6 Tableau des génotypes KIR observés dans la population guadeloupéenne

Génotype	ADN	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	3DP1v
1	92	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
2	93	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
3	94	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
4	96	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
5	105	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
6	111	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
7	113	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
8	121	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
9	123	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
10	124	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
11	131	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	+/-	+	+	+	+	-
12	137	+	+	-	+	-/+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	-	+	+	-
13	139	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
14	140	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-/+	+	-	+	+	-
15	150	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
16	153	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
17	154	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
18	156	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
19	158	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	-
20	161	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
21	162	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-
22	163	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
23	164	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
24	165	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-

25	168	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	+
26	170	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
27	172	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
28	174	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	-	+	+	-
29	178	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
30	189	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	+
31	191	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
32	192	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	-	+	+	-
33	193	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
34	201	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	+
35	207	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
36	209	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
37	211	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	-	+	+	-
38	215	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
39	218	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
40	239	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
41	272	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
42	273	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
43	281	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-
44	282	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
45	283	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	-
46	284	+	+	+	+	+/+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
47	285	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
48	286	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	-
49	287	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-

50	288	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+	-	-	+	+	-
51	289	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
52	290	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-
53	291	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
54	292	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
55	293	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
56	294	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
57	295	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
58	296	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
59	297	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	+	-
60	298	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
61	299	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	-
62	300	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
63	301	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+/+	-	-	+	+	-
64	302	+	+	-	+	-/+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+
65	304	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	+
66	306	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
67	307	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
68	308	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	-/+	+	-	+	+	-
69	309	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
70	310	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
71	311	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
72	312	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/-	-	-	+	+	-
73	313	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	-
74	314	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-

75	315	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	+
76	316	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	-	+	+	-
77	317	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
78	318	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
79	319	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
80	320	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+/+	+	-	+	+	-
81	323	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
82	325	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
83	327	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-
84	328	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
85	329	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
86	330	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
87	331	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
88	332	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
89	333	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
90	334	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
91	335	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/-	+	-	+	+	-
92	336	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
93	337	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+/-	+	-	+	+	-
94	338	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
95	339	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
96	340	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
97	341	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	+
98	342	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-	-	+	+	+
99	343	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/+	+	-	+	+	-

100	344	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-/+	-	-	+	+	-
101	345	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
102	347	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
103	348	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
104	349	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/+	+	-	+	+	-
105	350	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
106	351	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-/+	-	-	+	+	-
107	352	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-
108	355	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	-/+	-	-	+	+	-
109	356	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
110	357	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	+	-	+	+	-
111	358	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	-
112	359	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	-	+	+	-
113	360	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	+	-	+	+	-
114	361	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-
115	362	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-
116	390	+	+	-	+	-/+	+	+	+	-	+	-	+/+	+	-	+	+	+
117	401	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+/+	-	-	+	+	+
118	403	+	+	+	+	-/+	+	+	+	-	+	+	+/+	-	-	+	+	-

Annexe 7 Tableau des typages des gènes KIR dans la population sénégalaise

Génotype	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	3DL1	3DL2	3DL3	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4/1D	2DS5	3DS1	2DP1	3DP1	nb	%
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	1	1
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	5	4
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	1	1
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	1	1
31	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	1	1
8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	20	17
10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	6	5
32	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	9	8
33	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	1	1
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	3	3
34	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	4	3
14	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	2	2
35	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	1	1
17	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	1	1
19	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	49	42
20	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1
24	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	1	1
36	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	1	1
26	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	4	3
37	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	4	3
29	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	1	1

Annexe 8 Tableau des génotypes KIR observés dans la population sénégalaise

**Nom – Prénoms :** DENIS Laure

**Titre de la Thèse :** Diversité génétique des marqueurs KIR des cellules NK dans les populations françaises, finlandaise et sénégalaise: « Implication en greffe de moelle allogénique ».

---

**Résumé de la Thèse :**

Les récepteurs KIR sont exprimés à la surface des cellules Natural Killer et possèdent un rôle dans l'immunité innée antivirale et antitumorale. Comme leurs ligands HLA de classe I, ces molécules, caractérisées par un polymorphisme génique et allélique important, représentent de bons candidats en tant que marqueurs de génétique humaine.

Par ailleurs, de nombreuses études récentes effectuées chez la souris puis chez l'homme ont montré que les récepteurs KIR jouaient un rôle capital dans la greffe de moelle osseuse, notamment dans la survenue de GvHa post-greffe. De nombreuses équipes sont ainsi actuellement à la recherche du « modèle parfait » d'incompatibilité/compatibilité KIR, le « perfect mismatch » de Klas Karre, entre le donneur et le receveur, qui diminuerait le taux de rejet, de GvH aigue post-greffe et améliorerait le taux de survie.

Dans ce contexte, ce travail consistait à élargir les connaissances sur la diversité génétique des récepteurs KIR dans 4 populations différentes (française, guadeloupéenne, finlandaise et sénégalaise), à travers les fréquences géniques, génotypiques et haplotypiques, et de permettre à terme de sélectionner le donneur de moelle "idéal".

Les résultats ont permis de caractériser chaque population testée à travers leurs profils en récepteurs KIR, soulignant l'extrême diversité génotypique observée dans la population guadeloupéenne et la spécificité génotypique particulièrement marquée dans la population sénégalaise. L'arbre des distances génétiques déterminé à partir de ces données révèle une grande proximité génétique entre la France et la Finlande, et à l'inverse une distance génétique importante entre le Sénégal et la Finlande. Ces données, liées à la diversité génétique KIR, devront être prises en compte dans la sélection des donneurs de CSH si le rôle de ces molécules KIR est confirmé.

---

**MOTS CLES**

POLYMORPHISME – MARQUEUR GENETIQUE – RECEPTEURS KIR – DISTANCE GENETIQUE – GREFFE DE CSH

---

**JURY: PRESIDENT :** M. Alain PINEAU, Professeur de Toxicologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes

**ASSESEURS :** M. JD. Bignon, Docteur en pharmacie, HDR  
EFS Pays de Loire, 34 Bd Jean Monnet, 44011 Nantes cedex 1  
Mme N. GENETET, Professeur Immunologie  
Faculté de pharmacie, 2 av Pr Léon Bernard, 35043 Rennes  
M. JC. MAUPETIT, Docteur en pharmacie  
Pharmacie centrale  
M. JY. MULLER, Professeur Immunologie  
CHU Hotel Dieu, Nantes  
M. G. FOLLEA, Docteur en pharmacie, HDR  
EFS Pays de Loire, Nantes

---

**Adresse de l'auteur :** 17 rue Crébillon , 44000 NANTES