

PRIONS et ESST

Mise à jour : 30 août 2004

Conception, schémas et réalisation : Georges Dolisi

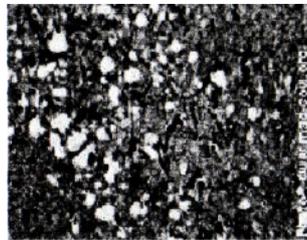
- I. Historique
- II. La protéine est-elle seule en cause ? Hypothèses
- III- Évolution des maladies à prions - Où en est-on aujourd'hui ?
- IV. Cycle normal de la PrP^o et sa transformation en PrP^{res}

I - Historique

En **1920**, Hans-Gerhard Creutzfeldt (1885-1964) décrit un premier cas d'encéphalopathie humaine sans spongiose.

En **1921**, Alfons Jakob (1884-1931) en décrit cinq, dont deux avec spongiose.

UN VIRUS? En **1964**, Björn Sigurdsson vétérinaire islandais introduit le terme de « virus lent » pour parler de l'agent responsable de la tremblante du mouton dénommée scrapie. Très résistant aux traitements inactivants habituels, il se voit attribué l'épithète « non conventionnel » par le pédiatre américain Carleton Gajdusek spécialiste du kuru (ce mot signifie "frisson") et Prix Nobel 1976.



Lorsqu'un mouton est atteint de tremblante, son cerveau devient une véritable éponge.

*Le kuru est une maladie létale du système nerveux dont souffraient certaines tribus de Nouvelle-Guinée. **Carleton Gajdusek** a finalement découvert que le cannibalisme pratiqué par ces populations était à l'origine de la maladie chez des individus génétiquement susceptible.*

Malheureusement, l'hypothèse du virus ne résiste pas aux différentes analyses. En particulier, la résistance des « prions » à la température (parfois à plus de 300°C) est peu compatible avec la présence d'un virus conventionnel.

UN VIRINO? Un virino est une information génétique qui ne code que pour elle-même. Dans un organisme étranger, elle s'entoure de protéines de l'hôte. Cette structure particulière pourrait expliquer plusieurs aspects des encéphalopathies spongiformes transmissibles. L'existence d' acides nucléiques serait la solution au problème même de l'infectiosité et des différentes variantes des maladies et des souches rencontrées dans la nature. En effet, dès que l'on est en présence d' ADN il faut penser à d'éventuelles mutations donc possibilité de plusieurs souches. De plus, certaines protéines sont connues pour modifier leur conformation (structure tridimensionnelle) en présence d'acides nucléiques. Pourquoi pas la PrP ?

Le virino présente donc toutes les qualités pour devenir l'agent responsable des encéphalopathies spongiformes transmissibles. Mais cette théorie se heurte toujours au même problème. A ce jour, aucune équipe de recherche n'a été capable de repérer le moindre acide nucléique, témoin de l'existence d'un génome étranger. Au début des années **1960**, le vétérinaire anglais David Haig réussit à transmettre la maladie à des souris après inoculation de cerveau de mouton atteint, mais il ne parvient pas à isoler l'agent pathogène.

Tikvah Alper applique alors la méthode de l'irradiation pour mesurer la taille de l'agent responsable de la maladie (on déduit la taille de l'agent de la façon dont il est inactivé par les rayonnements ionisants). Les résultats sont surprenants : ce qui était considéré jusqu'à présent comme un virus se révèle comme beaucoup plus petit qu'aucun des virus connus.

En **1972**, **Carteton Gajdusek** publie un article où il met en parallèle le kuru et la maladie de Creutzfeldt-Jakob, maladies qu'il décrit comme des encéphalopathies spongiformes subaiguës d'origine virale (la théorie du virus tient toujours !).

Les études épidémiologiques chez l'homme révèlent trois modes possibles d'apparition de la MCJ maladie de Creutzfeldt-Jakob : les formes apparemment sporadiques, les formes infectieuses ou iatrogènes, c'est-à-dire contractées lors de traitements médicaux, et les formes familiales ou héréditaires. Ces dernières ne représentent que cinq à six pour cent de la totalité des cas recensés. Certaines personnes ont été contaminées lors d'une intervention chirurgicale : le premier cas, rapporté en **1974**, est celui d'une femme de 55 ans qui a reçu une greffe de cornée prélevée sur une personne présentant la maladie et décédée. L'incubation de la maladie a duré 18 mois, et le décès est survenu huit mois après l'apparition des premiers signes cliniques.

LE PRION Dans l'édition du 9 avril **1982** de *Science*, l'Américain **Stanley Prusiner** baptise « Prion » l'agent qu'il pense être à l'origine de la tremblante du mouton, une encéphalopathie spongiforme transmissible (EST). On parle alors d'agent transmissible non conventionnel ou ATNC.

En **1986**, déclaration de l' ESB en Grande Bretagne.

Pour PRUSINER cet agent est une protéine seule, la PrP (pour protéine du prion), qui s'accumule sous une forme anormale et provoque les lésions observées dans le système nerveux central. Sa découverte des prions lui vaudra le Prix Nobel de Médecine en 1997. Mais, en 1982 sa théorie est loin de faire l'unanimité. L'idée qu'une protéine puisse être infectieuse va à rencontre de toutes les règles établies. Sans compter que la protéine en question fait partie intégrante de l'organisme de l'hôte.

C'est la **conformation** de la PrP protéine normale, qui se modifie. Cette nouvelle protéine modifiée est devenue pathogène ; on l'appelle PrP^{sc}. La PrP^{sc} comporte en effet plus de feuillets β que d'hélices α , contrairement à la protéine normale (PrP^c). Partiellement résistante à la dégradation naturelle des protéines (c'est la raison pour laquelle on l'appelle aussi PrP^{res}), elle s'accumule en fibrilles (des polymères) et forme des plaques amvloïdes ; cette accumulation entraîne la mort des neurones environnants. Pour l'Américain, la PrP^{sc} est capable de transmettre ce défaut de structure tridimensionnelle à la PrP normale.

En janvier 2000, des chercheurs du Fonds national suisse ont dévoilé la structure tridimensionnelle de la PrP saine de l'homme. Le domaine, de forme sphérique, contient trois sections en spirales (les hélices alpha en orange) et une structure en forme de dépliant (le feuillet bêta en turquoise). Le fil mobile, non ordonné, de la protéine est marqué de points jaunes. Les nombres indiquent l'ordre des éléments constitutifs de la protéine, les acides aminés.
© 2000, Fonds national suisse, Berne *[figure non disponible]*

Certaines études effectuées sur des modèles animaux ont également contribué au succès de l'hypothèse de Prusiner. Chez la souris, la suppression du gène codant pour la PrP empêche l'infection et, donc, le développement de la maladie. A l'inverse, plus le nombre de copies de ce gène est important, plus la maladie se déclare rapidement.

Les chercheurs travaillant sur la protéine PrP ont pu estimer sa masse à 35 kiloDaltons (kDa). Or, les virus pèsent environ dix fois plus. Encore un point à l'actif des partisans de la protéine unique.

Si la théorie de la protéine unique emporte aujourd'hui beaucoup de suffrages, elle n'en demeure pas moins controversée. Car ce n'est pas parce que les chercheurs n'ont trouvé pour l'instant aucun agent infectieux associé qu'il n'existe pas.

Comment une protéine unique peut-elle entraîner l'apparition de très nombreuses variantes de maladies? Certains avancent que des structures tridimensionnelles particulières pourraient être à l'origine des différentes souches mais, à ce jour, rien ne permet de le démontrer. Donc, l'hypothèse de Stanley Prusiner ne peut pas tout expliquer. Le véritable agent infectieux est peut-être caché par la PrP^{sc}, sa structure le rendant éventuellement hors de portée.

C'est en juillet 1990 qu'un article publié dans la revue médicale *The Lancet* évoque l'éventualité d'une transmission d'un agent infectieux à l'homme. La transmission se ferait bien de l'animal à l'homme. Avant même la parution de cet article, la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes de Bruxelles interroge la Commission interministérielle française pour savoir s'il y a lieu d'interdire la totalité des farines animales destinées à l'alimentation du bétail. En juin 1990, la Commission de Bruxelles préconise l'interdiction de ces farines pour les seuls bovins, mais le comité vétérinaire de la Communauté européenne estime qu'en l'état des connaissances... les animaux atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine ne sont pas dangereux pour la santé humaine.

D'autres cas de Creutzfeldt-Jakob sont apparus chez des patients qui avaient subi l'administration d'hormone de croissance extraite d'hypophyses humaines prélevées sur des cadavres (certaines provenant de personnes mortes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob).

En **1993**, Clarence Gibbs montre que l'hormone de croissance d'origine humaine peut déclencher une maladie de Creutzfeldt-Jakob : il injecte à des singes écureuils de l'hormone qui provient de lots américains datant d'avant 1985 et les rend malades.

Le **20 mars 1996**, annonce d'une possible transmission de l'ESB à l'homme. En effet 10 personnes ont été infectées par la nouvelle forme de MCJ. Cette information, reprise par les médias déclenche la véritable crise de la vache folle.

Le **15 janvier 2001**, une équipe du laboratoire d'enzymologie et biochimie structurales (CNRS - Gif sur Yvette), en collaboration avec un chercheur de l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Installation européenne de rayonnement synchrotron -Grenoble) met en évidence la structure tridimensionnelle du **prion infectieux** à partir d'un modèle de levure. Ce modèle expérimental devrait permettre de mieux comprendre comment la protéine normale devient infectieuse.

Le **24 janvier 2001**, le ministre de la Recherche, Roger Gérard SCHWARTZENBERG met en place le Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) Infection à Prions qui marque une nouvelle étape dans la dynamique que le gouvernement souhaite donner à la recherche sur les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles ou ESST.

Le **21 Juin 2001**, Ruth Gabizon et coll. du département de neurobiologie de l'Hôpital Hadassah à Jérusalem, rapportent qu'ils ont réussi à détecter, dans les urines d'animaux et de personnes atteintes d'encéphalopathies spongiformes, une protéine apparentée à la forme anormale du prion (PrP^{sc}) qui caractérise ces maladies : Creutzfeldt-Jakob, vache folle et forme humaine, tremblante du mouton.

Cette découverte, si elle est confirmée, permettrait de détecter sur des sujets apparemment sains, les formes précoces de la maladie. La protéine trouvée dans l'urine a été baptisée UPrP^{sc}. Elle a été mise en évidence chez des hamsters contaminés expérimentalement par la tremblante, chez des vaches folles et chez 8 patients atteints d'une forme habituelle de Creutzfeldt-Jakob. Actuellement, les tests sont faits post mortem sur le cerveau ou les amygdales.

Pour les scientifiques, les implications de cette recherche sont importantes : il serait possible de mener des études épidémiologiques pour connaître l'ampleur de la forme humaine de la maladie de la vache folle, d'écarter les sujets infectés des dons de sang, d'entreprendre, quand ils seront disponibles, des traitements sans attendre les premières manifestations de la maladie mortelle.

08.09.2001 - Le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (nv MCJ) aurait fait une quatrième victime française. Il s'agit d'un homme de 35 ans, toujours vivant (les 3 premiers cas sont décédés). Ce quatrième cas a été déclaré par l'INVS (Institut National de Veille Sanitaire). Le prion pathogène ne peut être détecté que dans le cerveau ou les amygdales.

2. La protéine est-elle seule en cause ? Hypothèses

Deux séries d'études, qui ont été menées en utilisant des approches expérimentales différentes, démontrent de façon claire que la forme « nouveau variant du Creutzfeldt-Jakob *nvCJD* » (*Creutzfeldt-Jakob disease* - en français nv MCJ) est provoquée par l'agent responsable de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB).

Des chercheurs d'Edinburgh avaient déjà caractérisé plusieurs souches de prions, différentes par leur temps d'incubation de la maladie et les lésions neurologiques qu'ils entraînent dans différentes lignées de souris *inbred*. Ces critères constituent une « signature » caractéristique d'une souche donnée. Ils ont ainsi montré que l'épidémie d'ESB était due à une seule souche de prions et que cette « signature » de l'ESB était maintenue même après passage à d'autres espèces. Ils peuvent maintenant affirmer que c'est le même agent infectieux qui a entraîné les cas de nv CJD chez l'homme et les encéphalopathies du chat et des animaux de zoo en Grande Bretagne. Sa « signature » est parfaitement superposable à celle de l'ESB et différente de celle des autres formes de CJO (sporadique, familiale).

Ils apportent ainsi la première preuve directe d'une dissémination interspécifique (c'est-à-dire entre espèces différentes) accidentelle de l'ESB. Le groupe de **John Collinge** arrive à la même conclusion par une approche tout à fait différente, basée sur la caractérisation biochimique de la PrP résistante aux protéases (PrP^{res}) obtenue après inoculation de diverses souches de prions à des souris transgéniques exprimant la PrP humaine. L'ensemble de ces résultats indique que l'agent infectieux doit interagir avec des facteurs génétiques de l'hôte pour contrôler l'évolution et la neuropathologie de la maladie d'une façon aussi précise.

Différentes souches de prions adaptées à la même lignée de souris inbred, gardent leurs propriétés spécifiques bien qu'elles soient, dans la souris, composées de PrP de même séquence en acides aminés. Inversement, comme dans le cas de l'ESB, une souche de prion peut garder son phénotype après passage à d'autres hôtes, bien qu'elle se couple à des PrP spécifiques dont les séquences en acides aminés sont différentes. La base moléculaire de l'information qui dicte les propriétés spécifiques des différentes souches de prions reste donc à déterminer.

Les résultats de l'équipe de Dominique Dormont soulèvent d'autres questions.

En effet, C. Lasmézas a montré que l'agent de l'ESB, injecté à des souris, entraînait des symptômes neurologiques et la mort neuronale sans que l'on puisse détecter de PrP résistante aux protéases chez 55% des animaux. Cependant, les cerveaux de ces souris, dépourvues de PrP^{res}, sont capables de transmettre la maladie et, au fur et à mesure des passages, le nombre de souris portant la PrP^{res} augmente parallèlement à la diminution du temps d'incubation. Les auteurs en concluent que la PrP^{res} peut être impliquée dans l'adaptation à un nouvel hôte, mais que la maladie peut être transmise par un agent non encore identifié.

Différentes expériences prouvent que la présence de PrP normale est absolument nécessaire à la propagation de la maladie, non seulement dans le cerveau mais également dans des tissus périphériques, pour que les prions atteignent le système nerveux central.

Tout récemment, S. Prusiner a précisé les domaines d'interaction de la PrP avec une protéine cellulaire, appelée protéine X et montré que des mutations dans ces domaines bloquaient la propagation de la forme prion. Un tel mécanisme pourrait expliquer l'effet protecteur de certaines formes (polymorphismes) de la PrP vis à vis du Creutzfeldt-Jakob chez l'homme ou de la scrapie chez le mouton. Ces résultats sont importants, à la fois sur le plan thérapeutique pour la recherche de drogues bloquant le site d'interaction de la protéine X et de la PrP, et sur le plan de la prévention en suscitant la production d'animaux domestiques résistants.

La protéine cellulaire normale PrP, composant majeur des fractions infectieuses, a été purifiée et séquencée. Elle est aujourd'hui parfaitement connue, exprimée à partir d'un gène unique, localisé sur le chromosome 20. L'étude de sa structure ainsi que celle de la protéine pathologique, la PrP^{sc}, permet d'aborder le problème de leurs changements de conformation et de la nature exacte de l'intermédiaire infectieux. De nombreuses données indiquent qu'il existe un lien étroit entre l'infectivité et la présence d'une forme de PrP. La démonstration irréfutable de l'hypothèse de la protéine seule nécessitera probablement l'obtention de particules infectieuses *in vitro* à partir de PrP purifiée .

Il est surprenant de constater que le concept imaginé par Prusiner puisse s'appliquer à des phénomènes extrêmement divers et totalement indépendants les uns des autres. La protéine PrP, exprimée normalement dans le cerveau des mammifères, devient infectieuse quand elle acquiert une nouvelle conformation qui, lorsqu'elle interagit avec des protéines du même type, les force à adopter la même conformation. Cette réaction en chaîne génère un nouveau matériel infectieux qui diffuse dans les cellules voisines et tue les neurones affectés.

3. Évolution des maladies à prions. Où en est-on aujourd'hui ?

Selon l'hypothèse actuellement privilégiée, les maladies à prions résulteraient du changement de conformation irréversible d'une protéine cellulaire normale, la protéine prion PrP^c, en une isoforme à caractère pathogène PrP^{sc}. La protéine normale est renouvelée en permanence tandis que l'isoforme pathogène forme des agrégats insolubles.

Ces PrP^{sc} ne contiennent pas d'acides nucléiques et sont insolubles, contrairement à la protéine normale PrP^c.

Il faut noter l'absence totale de réaction de la part du système immunitaire.

Des souris transgéniques dépourvues de PrP normale, sont viables mais ne peuvent pas être contaminées.

Chez l'homme, la PrP^c (normale) et la PrP^{sc} (infectieuse) ont des séquences d'acides aminés identiques (230 acides aminés) avec un poids moléculaire d'environ 35 kDa. Une question se pose alors : si les séquences d'acides aminés sont identiques, comment la PrP^c et la PrP^{sc} peuvent-elles avoir des structures tridimensionnelles différentes ? La réponse se situerait dans des propriétés physico-chimiques qui diffèrent entre les deux molécules.

La PrP^{sc} n'est que partiellement hydrolysée par les protéases, produisant un fragment PrP 27-30. La PrP^{sc}, donc relativement résistante aux protéases, s'accumule et forme des agrégats amyloïdes dans les tissus nerveux et lymphoïdes provoquant apoptose et spongiose, alors que dans les mêmes conditions

la protéine PrP^c est complètement dégradée.

À la mort de la cellule, les PrP infectieuses sont libérées et pourraient contaminer d'autres neurones en se fixant aux PrP normales insérées dans la membrane.

Une protéine peut prendre une conformation anormale sans que le gène qui code pour elle soit modifié.

Un gène (PRNP) codant pour la PrP a été localisé chez l'homme sur le chromosome 20.

4. Cycle normal de la PrP^c et sa transformation en PrP^{res}

3 protéines capables d'interagir avec la PrP^c ont été identifiées : Bcl2 (une protéine impliquée dans l'apoptose), Hsp60 (protéine de choc thermique) et LRP (ou 37 kDa-LRP précurseur du récepteur à la laminine). À noter que le récepteur à la laminine a une masse de 67 kDa et correspond donc à l'assemblage de 2 molécules LRP, ou à l'association d'une LRP avec une autre protéine.

La LRP (37 kDa-LRP), formée de 295 acides aminés est vraisemblablement transmembranaire.

La protéine LRP, récepteur de la PrP^c normale, interviendrait dans son internalisation. Avec la PrP^{res} anormale, le processus serait accéléré, d'où son accumulation dans la cellule provoquant l'apoptose.

Constat important :

Chez les animaux infectés expérimentalement, les concentrations de LRP étaient augmentées uniquement dans les organes cibles de l'agent infectieux (cerveau, rate, pancréas) et ceci de façon proportionnelle à la quantité de PrP^{res} accumulée. Le rôle de la protéine LRP dans la physiopathologie des ESST semble donc irréfutable.

A - Cycle normal de la PrP^c

- **Étape 1** : Dans le noyau, le gène de la PrP^c est copié et les ARNm sortent vers les ribosomes du cytoplasme pour l'assemblage (traduction). La protéine subit ensuite des modifications post-traductionnelles dans le réticulum endoplasmique (RE) et le Golgi, où elle acquiert une ancre GPI.
- **Étape 2** : Cette protéine PrP^c est ensuite exportée hors de la cellule et s'accroche à la membrane grâce à son ancre GPI.
- **Étape 3** : L'étape suivante est sa réinternalisation (elle retourne dans la cellule) par des vésicules d'endocytose (La protéine LRP, récepteur de la PrP^c normale, interviendrait dans son internalisation) puis sa dégradation par les enzymes des lysosomes (rappelons que la PrP^c normale est dégradée par les protéases).

B - Processus pathologique

- **Étape 1** : Il se produit une association des protéines PrP^c normales et PrP^{res} infectieuses à la surface de la cellule. Cette PrP^{res} rentre par endocytose.
- **Étape 2** : Avec l'intervention probable d'autres molécules « chaperonnes », telle la protéine Hsp60, les PrP^c normales sont transformées en PrP^{res} anormales. Les enzymes (protéases) de la cellule n'étant plus capables de les détruire (comme c'est le cas pour les PrP^c normales), les prions s'accumulent dans la cellule, provoquant la mort des neurones et, parallèlement, l'accumulation de plaques amyloïdes.

Analyse de l'article

« Prions et ESST »

Internet- Mise à jour Août 2004

BCI - travail personnel Toussaint 2004 A RENDRE POUR LE 04/11/04

Remarque : le questionnaire a pour but de vous aider à analyser l'article. Y répondre de façon brève, avec vos propres termes sans chercher à recopier les phrases du texte.

1. En s'aidant de l'article ou d'un dictionnaire, définir les termes ou expressions suivants :
- ESST - PrP - virino - prion - protéine - transgénique - iatrogène
2. Quelles sont les différentes hypothèses qui ont été élaborées au cours du temps pour expliquer la cause des encéphalopathies spongiformes ?
3. Pour chaque hypothèse, quels sont les arguments en faveur, et les arguments contre.
4. Quelles sont les différentes appellations possibles pour la protéine du prion, préciser les formes qui sont pathogènes et celles qui ne le sont pas.
5. A partir des éléments développés en IV, établir un schéma montrant le cycle normal de la PrP^c, et un second schéma montrant le cycle pathologique.