

NOBEL 97

PRIX NOBEL DE MÉDECINE 1997

Stanley B. Prusiner

Un agent infectieux protéique ?

Dominique Dormont

Stanley B. Prusiner est né en 1942 dans l'Iowa aux États-Unis. En 1968, après des études médicales à l'Université de Pennsylvanie, à Philadelphie, il s'établit en Californie et se consacre entièrement au domaine de la neurologie. C'est en 1972, à l'Université de Californie, à San Francisco, où il exerce encore actuellement, qu'il commence sa recherche sur les prions, à la suite du décès d'un de ses patients, atteint de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Nommé *Assistant Professor* en 1974, puis *Professor* en 1984, il enseigne la biochimie, la neurologie et la virologie, à l'Université de Californie de San Francisco et Berkeley. De nombreux prix lui ont été décernés pour ses travaux, dont le très prestigieux prix de la Fondation Albert et Marie Lasker en 1994. Ce prix Nobel couronne un long travail sur les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles ayant conduit l'auteur à proposer une hypothèse révolutionnaire : que l'agent infectieux responsable de ces maladies est uniquement de nature protéique, correspondant avant tout à des conformations anormales d'une protéine cellulaire. Selon cette hypothèse, la diffusion de l'infection serait liée à l'induction par la protéine anormale d'une « transconformation » de la protéine cellulaire normale qui acquerrait ainsi, elle-même, des propriétés pathogènes et infectieuses. Quoique de très nombreuses observations militent en faveur de cette brillante hypothèse, il faut néanmoins observer que sa démonstration définitive n'a pas encore été formellement apportée.

Le prix Nobel de Physiologie et de Médecine vient d'être attribué à Stanley B. Prusiner, Professeur de Neurologie à l'Université de Californie, San Francisco, pour l'ensemble de ses travaux sur les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST), qui sont des maladies neurodégénératives humaines et animales. Il s'agit du second prix Nobel attribué dans ce domaine, C.D. Gajdusek ayant été distingué en 1976 pour ses travaux démontrant la transmissibilité des maladies humaines de ce groupe. Le jury Nobel a, cette année, honoré un scientifique dont la contribution à son domaine de recherche est en tous points remarquable, mais aussi un chercheur qui a su bouleverser les concepts de la transmission d'information en pathologie infectieuse.

Le première maladie du groupe des ESST à avoir été transmise à l'animal a été la tremblante naturelle du mouton, et ce sont deux vétérinaires français, Cuille et Chelles qui ont montré, en 1938, que l'injection d'un ultrafiltrat de broyat cérébral provenant d'un mouton malade à un mouton sain entraînait l'apparition d'une maladie neurologique proche de la maladie naturelle chez le receveur. A la fin des années 1950, les chercheurs britanniques mettaient au point des modèles de ces maladies chez le rongeur (hamster et souris), permettant ainsi le développement rapide des études physiopathologiques et rendant possible l'approche expérimentale de la nature de l'agent étiologique. Dès 1967, J.S. Griffith suggérait que ces agents non conven-

tionnels pouvaient n'être composés que de protéines [1], hypothèse reprise et étayée expérimentalement par Raymond Latarjet au début des années 1970 [2]. C'est dans ce cadre que se situe le début du travail de Stanley Prusiner, qui, dès la fin des années 1970 montre que le constituant majeur associé à l'infectiosité est d'origine protéique. Il purifie partiellement la protéine en cause, la caractérise au plan physico-chimique, et, en raison de sa résistance partielle aux traitements protéolytiques, la baptise PrP pour *protease-resistant protein* [3, 4]. Dès le début des années 1980, il montre que la PrP est le composant quasi-exclusif des fractions infectieuses, et propose la théorie du prion (prion pour *proteinaceous infectious particle*), particule protéique autorépliquante [5-7].

Grâce aux données du séquençage partiel des acides aminés d'une extrémité de la protéine, une sonde moléculaire est synthétisée, et, en collaboration avec le laboratoire de Charles Weissmann à Zürich, la protéine PrP est identifiée comme une protéine du soi [8]. Deux isoformes de la PrP sont donc décrites : la PrP^c, présente chez l'individu non infecté, et la PrP^{sc} présente en quantités proportionnelles au titre infectieux chez l'individu infecté, et qui est le constituant majeur des fractions infectieuses. Entre 1986 et 1990, le travail de Stanley Prusiner porte essentiellement sur la caractérisation de la PrP, sur sa localisation cellulaire, et sur la détermination de ses liens intimes avec l'agent transmissible. Sur le plan théorique, il défend avec opiniâtreté

P R I X N O B E L 1 9 9 7

le concept de prion qui, à cette époque, laisse la majeure partie de la communauté scientifique sceptique quant à sa pertinence en microbiologie: dans cette hypothèse, la propagation de l'infection est liée à une interaction directe entre la PrP^c et la PrP anormale, la dimérisation conduisant à un transfert de la conformation pathologique, sans modification détectable de l'expression du gène et de la synthèse de la protéine normale chez l'individu infecté [9, 10].

La découverte des mutations dans le gène de la PrP humaine dans les formes familiales d'ESST à la fin des années 1980 (*m/s* n° 6, vol. 5, p. 429; n° 1, vol. 6, p. 77; n° 8, vol. 6, p. 813), et la mise en évidence de l'identité probable du gène de la PrP et du gène de susceptibilité aux ESST, le gène *sinc* décrit par les chercheurs britanniques, oriente le travail de S.B. Prusiner vers les techniques de transgénèse. Ainsi, son laboratoire montre que l'insertion du gène de la PrP de hamster dans le patrimoine génétique de la souris rend cette espèce susceptible à l'infection par les prions des hamsters, la souris non génétiquement manipulée étant résistante aux prions de hamster. Par ailleurs, il apporte de nombreuses données expérimentales sur l'implication de la PrP dans la susceptibilité individuelle à l'infection par les prions, en établissant la relation entre le niveau d'expression de la PrP et la période d'incubation dans un système expérimental donné [11-13]. Qui plus est, il réalise des animaux transgéniques porteurs d'un gène de la PrP muté dans une position correspondant à l'une des mutations associée à une forme familiale d'ESST humaine: ces animaux développent spontanément une encéphalopathie subaiguë spongiforme, transmissible dans certaines conditions (*m/s* n° 2, vol. 7, p. 186). Cette «genèse *de novo*» d'un agent transmissible à partir de l'introduction d'une mutation dans un gène normal constitue pour Stanley Prusiner la preuve de la validité de l'hypothèse du prion. La réalisation par Charles Weissmann [14], puis par son laboratoire, de souris dont le gène de la PrP a été invalidé par recombinaison

homologue apporte à Stanley Prusiner un autre argument en faveur de l'hypothèse protéique: ces animaux sans PrP ne déclarent pas de maladie après leur infection par les prions, et leurs organes ne sont le siège d'aucune répllication de l'agent (*m/s* n° 8-9, vol. 9, p. 989) [15]. Enfin, toujours grâce aux méthodes de transgénèse, il détermine les régions du gène de la PrP impliquées dans le phénomène de barrière d'espèce, grâce à la réalisation d'animaux transgéniques exprimant des PrP hybrides, et obtient des animaux transgéniques susceptibles à l'agent de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en introduisant un gène de la PrP hybride homme-souris dans le patrimoine génétique de souris *PrP^{-/-}* [16]. Ce dernier résultat est particulièrement intéressant, car il ouvre la voie à un système relativement rapide de mise en évidence des prions humains [17]. Le début des années 1990 voit la reconnaissance des concepts de Stanley Prusiner par la très grande majorité de la communauté scientifique, et la description de «prions» chez la levure par Reed Wickner, sur la base de travaux de Michel Aigle et de François Lacroute, apporte un rationnel expérimental très fort à la notion de prion [18]. Parallèlement, Stanley Prusiner développe les études structurales sur la PrP^c et la PrP^s. Il démontre ainsi, grâce à des expériences de spectroscopie infra-rouge et de dichroïsme circulaire, que le contenu en hélice alpha est majoritaire pour la protéine normale, alors que la protéine pathologique est constituée majoritairement de feuillets β -plissés. Dès 1994, il propose avec Fred Cohen un modèle de la transconformation pathologique de la protéine PrP dans lequel deux des quatre hélices α de la protéine normale sont remplacées par quatre structures en feuillet β -plissé. Ces données théoriques ont été confirmées partiellement par la publication de la structure de la PrP normale de souris par le groupe suisse de K. Wuthrich en 1996 et 1997, puis par la publication de la structure en RMN de la protéine PrP normale de hamster par le groupe de Stanley Prusiner lui-même. Ce travail de biochimie structurale est indis-

pensable à la validation de l'hypothèse du prion [19, 20].

Par ailleurs, Stanley Prusiner développe des collaborations avec de nombreux laboratoires américains et européens dans des domaines aussi variés que l'électrophysiologie, la recherche de protéines ligands de la PrP, le routage intracellulaire de la PrP, et la recherche d'anticorps spécifiques de chacune des formes de la protéine. Attentif aux problèmes de santé publique, il entreprend un travail expérimental axé sur l'évaluation des risques liés aux prions chez l'homme dans le cadre des actes médicaux et chirurgicaux.

Enfin, depuis 1995, il affine et remodèle l'hypothèse du prion après la constatation de la nécessité d'un facteur cellulaire dans la propagation de la conformation pathologique de la PrP *in vivo* chez l'animal transgénique. Ce «facteur X», dont la nature protéique est hautement suspectée, pourrait être une molécule chaperonne, et est en cours de caractérisation. La notion de prion est donc en cours d'évolution.

De l'ensemble du travail impressionnant produit par Stanley Prusiner depuis plus de 30 ans, se dégage surtout la conception d'une liaison entre l'acquisition de la pathogénicité et la présence d'une conformation anormale de la protéine PrP; cette nouvelle entité capable de se propager sans le secours d'une information génétique propre «classique» pourrait constituer une évolution considérable dans la compréhension des maladies transmissibles, dont les conséquences débordent largement le cadre strict de la microbiologie et intéressent, en particulier, tout le domaine de la pathologie neurodégénérative ■

Dominique Dormont

Service de neurovirologie du département de recherche médicale, CEA, CRSSA, 60-68, avenue du Général-Leclerc, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses, France.

1. Griffith JS. Self-replication and scrapie. *Nature* 1967; 215: 1043-4.
2. Latarget R, Muel B, Haig DA, Clarke MC, Alper T. Inactivation of the scrapie agent by near monochromatic ultraviolet light. *Nature* 1970; 227: 1341-3.
3. Prusiner SB, Hadlow WJ, Garfin DE, Cochran SP, Race REB, Eklund CM. Partial purification and evidence for multiple molecular forms of the scrapie agent. *Biochemistry* 1978; 17: 4993-9.
4. Prusiner SB, Hadlow WJ, Eklund CM, Race RE, Cochran SP. Sedimentation characteristics of the scrapie agent from murine spleen and brain. *Biochemistry* 1978; 17: 4987-92.
5. Prusiner SB, McKinley MP, Groth DF, Bowman KA, Mock NI, Cochran SP, Masiarz FR. Scrapie agent contains a hydrophobic protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6675-9.
6. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
7. Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG. Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 1983; 35: 349-58.
8. Oesch B, Westaway D, Walchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB, Weissmann C. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 1985; 40: 735-46.
9. Prusiner SB, McKinley MP. *Prions-novel infectious pathogens causing scrapie and Creutzfeldt-Jakob disease*. New York: Academic Press, 1987.
10. Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Miranda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA, Hoppe PC, Westaway D, DeArmond SJ. Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. *Cell* 1990; 63: 673-86.
11. Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991; 252: 1515-22.
12. Prusiner SB. Transgenic investigations of prion diseases of humans and animals. *Philos Trans R Soc Lond Biol* 1993; 339: 239-54.
13. Prusiner SB. Transgenetics and cell biology of prion diseases. Investigations of PrPSc synthesis and diversity. *Br Med Bull* 1993; 49: 873-912.
14. Büeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp HP, DeArmond SJ, Prusiner SB, Aguet M, Weissmann C. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell surface PrP protein. *Nature* 1992; 356: 577-82.
15. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, Weissmann C. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993; 73: 1339-47.
16. Lehmann S. Le rôle de la protéine du prion dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines. *Med Sci* 1996; 12: 949-58.
17. Telling GC, Scott M, Mastriani J, Gabizon R, Torchia M, Cohen FE, DeArmond SJ, Prusiner SB. Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell* 1995; 83: 79-90.
18. Aigle M. Les prions et l'hérédité extrachromosomique chez la levure: la rencontre de deux anomalies. *Med Sci* 1994; 10: 736-7.
19. James TL, Liu H, Ulyanov NB, Farr-Jones S, Zhang H, Donnes DG, Kaneko K, Groth D, Mehlhorn I, Prusiner SB, Cohen FE. Solution structure of a 142-residue recombinant prion protein corresponding to the infectious fragment of the scrapie isoform. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10086-91.
20. Cohen FE, Pan KM, Huang Z, Baldwin M, Fletterick RJ, Prusiner SB. Structural clues to prion replication. *Science* 1994; 264: 530-1.

DERNIÈRE HEURE

A l'heure où nous mettons sous presse, nous apprenons que le prix Nobel de chimie 1997 a été attribué à l'Américain Paul D. Boyer et au Britannique John E. Walker pour leurs travaux sur la synthèse de l'ATP et au Danois Jens C. Skou pour ses travaux sur l'ATPase Na⁺-K⁺. Sujets majeurs pour ceux qui s'intéressent à la biologie, ils seront abordés comme il se doit dans notre prochain numéro.

La Rédaction

DISPONIBLE EN VIDÉOCASSETTE – La journée Jean-Claude DREYFUS

RÉCEPTEURS ET MALADIES

Paris le 19 septembre 1997

sur deux vidéocassettes VHS

Nombreux autres congrès, liste sur demande

Pour information, contacter : Professeur Gérard MELKI

Tél. : 02 99 33 69 64 - Fax : 02 99 33 68 78

E-MAIL : gérard.melki@univ-rennes1.fr