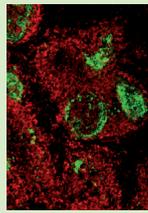


Transmission interespèces des prions Le tissu lymphoïde s'en mêle

Vincent Béringue¹, Jean-Luc Vilotte², Hubert Laude¹



¹ UR892 INRA (Institut national de la recherche agronomique), virologie et immunologie moléculaires, 78350 Jouy-en-Josas, France ;
² UMR1313 INRA, génétique animale et biologie intégrative, 78350 Jouy-en-Josas, France.
vincent.beringue@jouy.inra.fr

Un agent infectieux de nature protéique

Le prion est le pathogène responsable, chez les mammifères, de désordres neurodégénératifs d'issue fatale dénommés encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ou maladies à prion. Les EST affectent à la fois l'homme (maladie de Creutzfeldt-Jakob [MCJ]) et les animaux de rente ou sauvages (tremblante du mouton, encéphalopathie spongiforme bovine [ESB], maladie du dépérissement chronique des cervidés [MDC]).

Les prions sont essentiellement composés d'agrégats d'une forme anormalement repliée (PrP^{Sc}) d'une protéine de l'hôte, la protéine prion cellulaire (PrP^C). La PrP^C est une protéine membranaire glycosylée, exprimée de façon quasi ubiquiste dans l'organisme. Sa séquence en acides aminés est très conservée entre les espèces. Bien que son rôle physiologique ne soit pas formellement établi, sa présence apparaît importante au cours du développement embryonnaire [1, 2]. L'inactivation expérimentale de PrP^C rend les animaux résistants aux prions. Lors des étapes initiales de l'infection, l'interaction physique entre les oligomères de PrP^{Sc} du prion infectant et la PrP^C de l'hôte induirait son changement de conformation, notamment un enrichissement en feuillets β , enclenchant ainsi un cycle autoentretenu de multiplication des prions au cours duquel la PrP^C produite par les cellules serait convertie par les molécules de PrP^{Sc}

précédemment néosynthétisées [3]. Dans le cerveau, cela conduit à l'accumulation de PrP^{Sc} sous forme de dépôts de type amyloïde, contribuant ainsi aux désordres neurodégénératifs caractéristiques des EST. Bien que ce mode de propagation s'apparente à celui décrit dans d'autres protéinopathies telles que la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson, il produit dans le cas des EST un agent authentiquement infectieux pour la même espèce ou d'autres espèces de mammifères.

Compatibilité conformationnelle et barrière d'espèce

Comme les pathogènes conventionnels, les prions arborent une diversité de souches au sein d'une même espèce-hôte. Ces souches se différencient par leurs propriétés biologiques (temps d'incubation chez l'hôte infecté, neuropathologie) et physicochimiques (profil électrophorétique, résistance de la PrP^{Sc} à des agents dénaturants). En l'absence d'acides nucléiques spécifiques, la diversité des souches tiendrait à la capacité de la PrP^{Sc} d'exister sous plusieurs conformations stables, capables de transmettre fidèlement une information biologique spécifique [4]. Le support structural de cette information biologique reste à déterminer. Il pourrait impliquer la structure tertiaire et/ou quaternaire de la protéine [5].

Les prions peuvent également se transmettre d'une espèce à une autre et présenter un risque zoonotique : le variant de la MCJ apparu en 1996 chez l'homme lors de la crise dite de la « vache folle »

provient de l'ingestion d'aliments contaminés par les prions ESB. La capacité des prions à se propager entre espèces différentes est limitée par une barrière, communément appelée barrière d'espèce. La recherche de signes neurologiques typiques de la présence des EST et de PrP^{Sc} dans le cerveau est le moyen classiquement utilisé pour apprécier la porosité de cette barrière, l'absence concomitante de ces marqueurs traduisant la faible réceptivité apparente des animaux inoculés. Au plan moléculaire, la transmission interespèces reposerait sur le degré de compatibilité spatiale entre les conformations de la PrP^C de l'hôte et de la PrP^{Sc} du prion infectant (la souche). Intrinsèquement, la PrP^C de l'hôte pourrait n'adopter qu'un nombre fini de conformations dans sa forme PrP^{Sc} pathologique. La barrière d'espèce sera faible si la PrP^{Sc} infectante appartient à ce panel de conformations possibles. Sinon, la barrière sera forte et ne sera éventuellement franchie que *via* l'émergence d'un « mutant » compatible susceptible de présenter de nouvelles propriétés biologiques [4, 6]. À l'inverse, l'expression chez une souris transgénique du gène *Prnp* (codant pour PrP^C) de l'espèce hétérologue donneuse de prion permet d'estomper la barrière de transmission entre cette espèce et la souris (Figure 1).

Tissu extraneural et transmission interespèces

À partir de ce modèle de compatibilité conformationnelle s'est posée la question de l'influence du tissu d'un même

Photo : prions (en vert) visualisés par immunofluorescence dans une rate de souris (en rouge les lymphocytes B de la rate) (© INRA/VIM/V. Béringue).

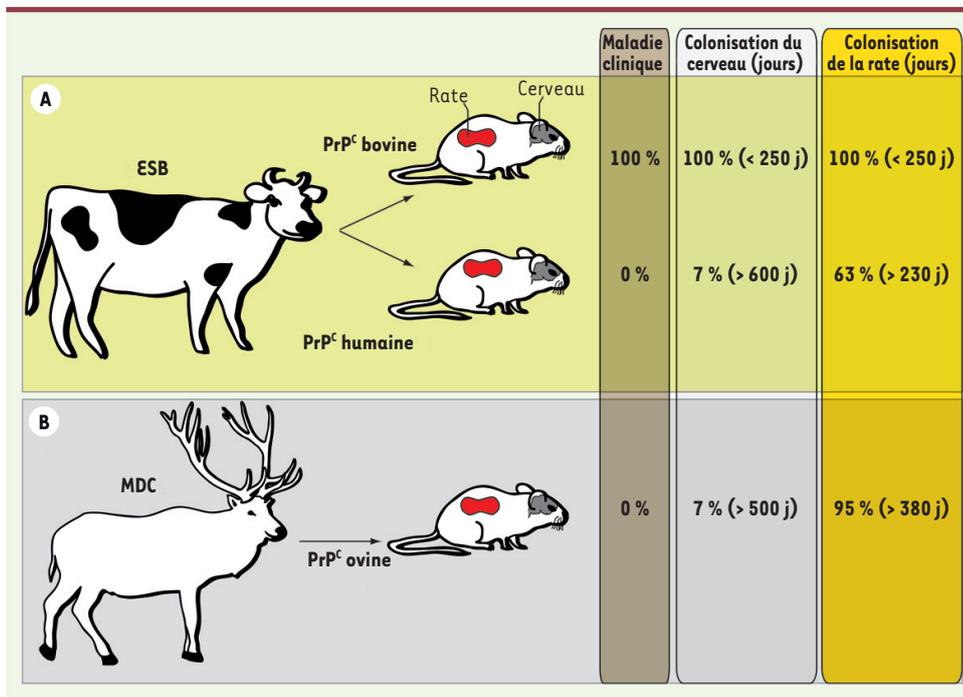


Figure 1. Efficacité de la transmission interspèces des prions en fonction du tissu. Les souris transgéniques exprimant la PrP^C bovine sont parfaitement susceptibles à l'agent responsable de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) (A). En revanche, les souris transgéniques exprimant la PrP^C humaine ne développent pas de symptômes cliniques après inoculation du même agent (A). Il en va de même pour les souris transgéniques exprimant la PrP^C ovine inoculées par l'agent responsable de la maladie du dépérissement chronique des cervidés (MDC) (B). Signe supplémentaire d'une forte barrière d'espèce apparente, un nombre très limité de souris transgéniques pour la PrP^C ovine et humaine, toutes en fin de vie, accumulent de la protéine prion pathologique dans le cerveau (AB). Néanmoins, une grande majorité de souris analysées présente des taux détectables de protéine prion pathologique dans la rate, et ce dès une année postinfection (AB).

hôte sur l'efficacité de transmission interspécifique des prions, du fait par exemple de variations moléculaires de la protéine PrP^C ou d'un environnement cellulaire différent. Le tissu lymphoïde était déjà connu pour être un lieu de transit, quelle que soit la voie d'entrée du prion dans l'organisme [12], et être permissif à un certain nombre de souches lors de transmissions intra-espèces. Nous nous sommes donc focalisés sur ce tissu et avons étudié sa permissivité relative par rapport au tissu nerveux lors de transmissions interspèces en apparence infructueuses, destinées à modéliser une transmission bovin-homme ou cervidé-ovin [7]. Lorsque les prions responsables de la MDC ou de l'ESB ont été injectés dans le cerveau de souris transgéniques pour

la PrP^C ovine et humaine et non plus murine, les prions se sont quasiment exclusivement multipliés dans le tissu lymphoïde, en l'occurrence la rate, et ce relativement précocement au regard de la durée de vie de l'animal (Figures 1 et 2). Quantitativement, la barrière d'espèce s'est avérée être environ dix fois moins étanche dans la rate que dans le cerveau (Figures 1 et 2). De plus, l'inoculation à la souris transgénique pour la PrP^C ovine de prions de hamster (souche Sc237) a dévoilé que cette facilitation de la réplication splénique était indépendante du lymphotropisme intrinsèque de l'agent inoculé. L'adaptation sériée de cet agent Sc237 sur la séquence ovine a aussi permis de montrer que, lorsque la barrière d'espèce a finalement été

franchie par l'émergence d'un prion « mutant » dans le cerveau des animaux inoculés, un agent différent se propageait dans la rate, se distinguant notamment par sa capacité unique à réinfecter l'hôte de départ (souris transgéniques pour la PrP^C du hamster) (Figure 3).

Pourquoi la rate apparaît-elle plus permissive que le cerveau à un prion étranger ? Par analogie avec le concept de quasi-espèce en virologie¹, les prions pourraient héberger un continuum de conformations de PrP^{Sc} [4]. Certaines pourraient-elles être plus ou moins compatibles avec les différents tissus ? Des facteurs spécifiques des tissus de l'hôte pourraient aussi réguler la dynamique de réplication du prion. Ainsi, la PrP^C, du fait de variations de conformations, ou d'autres créant un environnement favorable, permettraient par exemple

une persistance accrue et propice à l'initiation de la conversion hétérospécifique. Quel que soit le mécanisme mis en jeu, notre étude révèle une capacité d'adaptation insoupçonnée de ce pathogène neurotrope lors d'une pression sélective, lui permettant au final d'étendre son spectre d'hôte.

Perspectives pour la santé publique

La barrière d'espèce prions ESB-homme apparaît ainsi moins robuste qu'initialement anticipé avec des modèles expérimentaux humanisés

¹ Les virus à ARN expriment un taux élevé de mutations - dues aux erreurs de réplication - ce qui entraîne une grande hétérogénéité dans les populations, mais ces variants continuent d'évoluer comme s'ils ne formaient « quasiment qu'une seule et même espèce » (espèce au sens d'espèce chimique ou moléculaire, et non au sens d'espèce biologique).

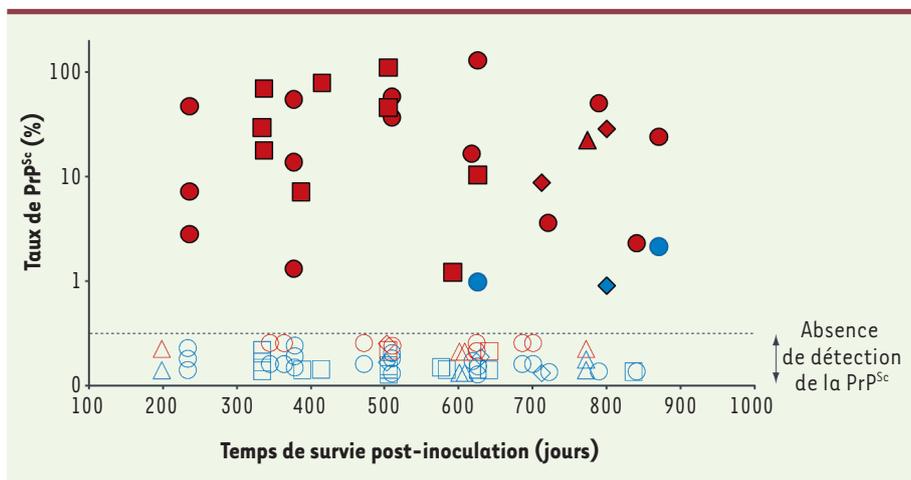


Figure 2. Accumulation de la protéine prion pathologique (PrP^{Sc}) dans le tissu splénique et cérébral de souris transgéniques exprimant la PrP humaine et inoculées par l'agent responsable de l'ESB. Cinétique d'accumulation de la PrP^{Sc} dans la rate (rouge) et le cerveau (bleu) de souris transgéniques pour la PrP^C humaine inoculées par quatre isolats d'ESB (symboles). Les souris sans symptômes cliniques ont été euthanasiées au cours de l'infection (trois souris par point) ou en fin de vie (> 550 jours). La protéine est détectée par immunoblot. Les symboles vides signalent l'absence de PrP^{Sc} détectable dans le tissu étudié.

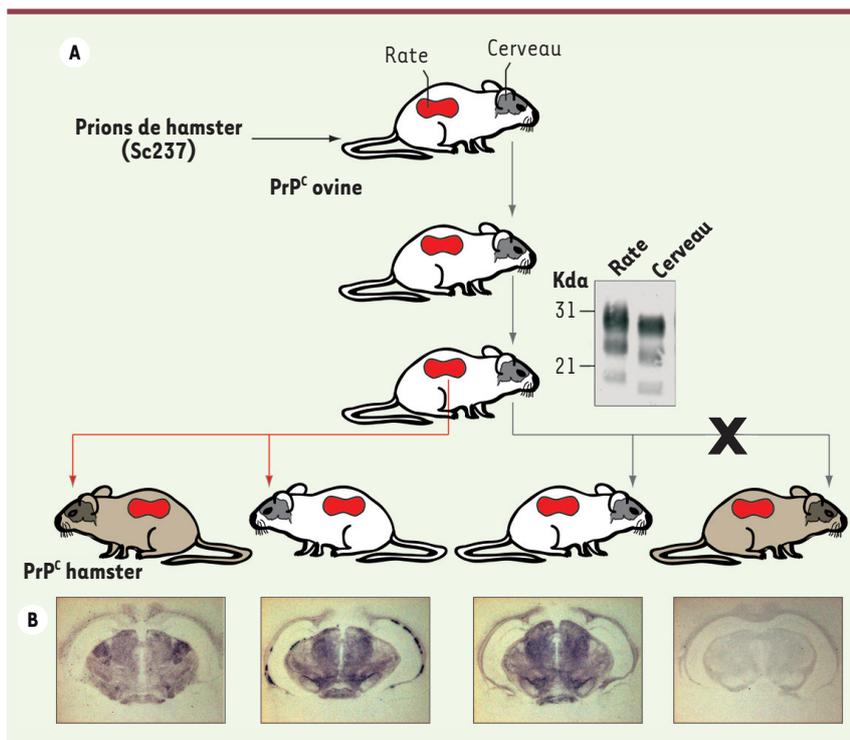


Figure 3. Sélection préférentielle des prions en fonction du tissu lors de transmissions intéressées. Le passage sériel de prions de hamster Sc237 aux souris transgéniques pour la PrP^C ovine conduit à l'individualisation de deux agents prion distincts dans la rate et le cerveau, comme attesté par les différences de profil électrophorétique (A) ou de distribution cérébrale (B) de la protéine PrP^{Sc}. Seul l'agent qui s'est préférentiellement propagé dans la rate est capable de réinfecter des souris transgéniques pour la PrP^C de hamster (animaux marrons).

focalisés sur la contamination du système nerveux central [8, 9]. Cela implique que les tissus extraneuronaux devraient être étudiés de manière systématique lors de l'évaluation expérimentale du potentiel zoonotique des prions animaux.

Nos données apportent également un éclairage nouveau quant aux divergences observées entre le nombre de cas de variant MCJ cliniques au Royaume-Uni (environ 175 à ce jour) et la prévalence estimée (> 15 000) à partir de la présence de prions dans des tissus lymphoïdes (amygdale, appendice) prélevés lors d'actes chirurgicaux routiniers [10, 11]. L'exposition humaine aux prions ESB pourrait conduire à une colonisation du tissu lymphoïde nettement plus large que celle du cerveau.

Afin d'assurer au mieux le suivi de cette épidémie, la recherche à long terme de porteurs asymptomatiques apparaît d'autant plus importante que notre étude suggère que les prions peuvent se propager silencieusement pendant plus du tiers de la durée de vie de l'individu (Figure 2) avant d'être détectable en périphérie par les méthodes conventionnelles de diagnostic. D'où la nécessité de développer un test sanguin capable de révéler une infection silencieuse et d'éviter des transmissions secondaires par le sang ou les actes médicaux. ♦

Tissue-specific cross-species transmission of prions

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

REMERCIEMENTS

Le travail résumé dans cet article a bénéficié en partie du soutien d'INRA-transfert et de la Fondation Alliance Biosecure. Merci à Claire Laude pour l'iconographie.

RÉFÉRENCES

1. Khalife M, Young R, Passet B, et al. Transcriptomic analysis brings new insight into the biological role of the prion protein during mouse embryogenesis. *PLoS One* 2011 ; 6 : e23253.
2. Malaga-Trillo E, Solis GP, Schrock Y, et al. Regulation of embryonic cell adhesion by the prion protein. *PLoS Biol* 2009 ; 7 : e55.
3. Caughey B, Baron GS, Chesebro B, Jeffrey M. Getting a grip on prions: oligomers, amyloids, and pathological membrane interactions. *Annu Rev Biochem* 2009 ; 78 : 177-204.
4. Collinge J, Clarke AR. A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science* 2007 ; 318 : 930-6.
5. Tixador P, Herzog L, Reine F, et al. The physical relationship between infectivity and prion protein aggregates is strain-dependent. *PLoS Pathog* 2010 ; 6 : e1000859.
6. Beringue V, Vilotte JL, Laude H. Prion agent diversity and species barrier. *Vet Res* 2008 ; 39 : 47.
7. Beringue V, Herzog L, Jaumain E, et al. Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science* 2012 ; 335 : 472-5.
8. Asante EA, Linehan JM, Desbruslais M, et al. BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein. *EMBO J* 2002 ; 21 : 6358-66.
9. Bishop MT, Hart P, Aitchison L, et al. Predicting susceptibility and incubation time of human-to-human transmission of vCJD. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 393-8.
10. Health Protection Agency, UK. <http://www.hpa.org.uk/hpr/archives/2011/news3611.htm>.
11. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, et al. Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 2004 ; 203 : 733-9.
12. Bachy V, Aucouturier P. Maladies à prions. Quel rôle pour les cellules dendritiques dans la pathogenèse des formes transmises ? *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 615-20.

NOUVELLE

Un transporteur du magnésium

Nouvel intermédiaire dans les voies de signalisation du TCR

Gilles Besin^{1,2}

¹In-Cell-Art ; ²Institut du thorax, UMR 1087 Inserm/UMR 6291 CNRS/IRT-UN, 8, quai Moncoussu, 44007 Nantes Cedex 1, France.

Gilles.Besin@univ-nantes.fr

> Les ions magnésium (Mg^{2+}) sont les cations les plus abondants dans les cellules de mammifères et constituent un cofacteur essentiel pour l'ATP, les acides nucléiques, et de nombreuses enzymes chez les animaux et les plantes [1, 2]. Toutefois, contrairement aux ions calcium (Ca^{2+}) pour lesquels les concentrations intracellulaires d'ions libres ($[Ca^{2+}]_{int}$ environ 0,1 mM) et les concentrations extracellulaires ($[Ca^{2+}]_{ex}$ environ 1 mM) permettent des mouvements et flux ioniques, aucune étude n'a démontré clairement le rôle des ions Mg^{2+} en tant que messagers secondaires dans la signalisation intracellulaire. Les ions magnésium intracellulaires ($[Mg^{2+}]_{int}$ environ 20 mM) sont surtout complexés avec l'ATP, l'ADN, des enzymes ou d'autres molécules, et seulement 1 à 5 % de ces ions magnésium cellulaires (0,2-1 mM) sont sous une forme libre dans le cytosol. Fait intéressant, dans diverses études, l'utilisation de sondes sensibles aux flux d'ions magnésium a permis de démontrer des changements dans la concentration intracellulaire de ces ions dans certaines cellules du système immunitaire comme les

lymphocytes (après stimulation par des lectines) [3-5].

Le système immunitaire représente la principale défense contre les infections virales, bactériennes ou les cancers, et tout défaut du système immunitaire entraîne une sensibilité à ces agressions pouvant avoir de graves conséquences. Le décryptage moléculaire de multiples déficits immunitaires primaires révèle souvent de nouveaux acteurs intervenant dans l'activation lymphocytaire. Ainsi, en étudiant trois patients immunodéficients, l'équipe de M. Lenardo (National Institutes of Health [NIH], Bethesda, États-Unis) a identifié récemment le *Magnesium transporter protein 1* (MAGT1) comme un nouveau maillon de la voie d'activation des lymphocytes T [6].

L'activation des lymphocytes T est déclenchée par l'interaction entre le récepteur des lymphocytes T (TCR) et une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) chargée d'un peptide antigénique, exprimée à la surface d'une cellule présentatrice d'antigènes (APC). Cet engagement du TCR entraîne l'activation des enzymes

kinases Lck, ZAP-70 (*zeta-chain-associated protein kinase of 70 kDa*) et Itk (*IL-2 inducible T-cell kinase*) qui phosphorylent la protéine PLC γ 1 (phospholipase γ) ainsi que d'autres protéines. La phosphorylation de la PLC γ entraîne l'augmentation de la concentration intracellulaire en ions calcium ($[Ca^{2+}]_{int}$) et l'activation de plusieurs facteurs de transcription : NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*), NF- κ B (*nuclear factor kappa B*), etc. Des mutations de ces molécules clés de l'activation de la voie du TCR (Lck, ZAP-70, Itk, LAT [*linker of activation of T cell*], PLC γ 1) ont été identifiées chez plusieurs patients immunodéficients [7].

Un nouveau déficit immunitaire lié à l'X

Le groupe de M. Lenardo a étudié trois patients issus de deux familles différentes. Le déficit immunitaire de ces patients était classé comme lymphopénie CD4 idiopathique (ICL)¹ et

¹ Défini par un taux de $CD4^+ < 300/mm^3$ ou $< 20\%$ du total de lymphocytes en l'absence d'infection par le VIH ou d'autres causes évidentes de lymphopénie.