

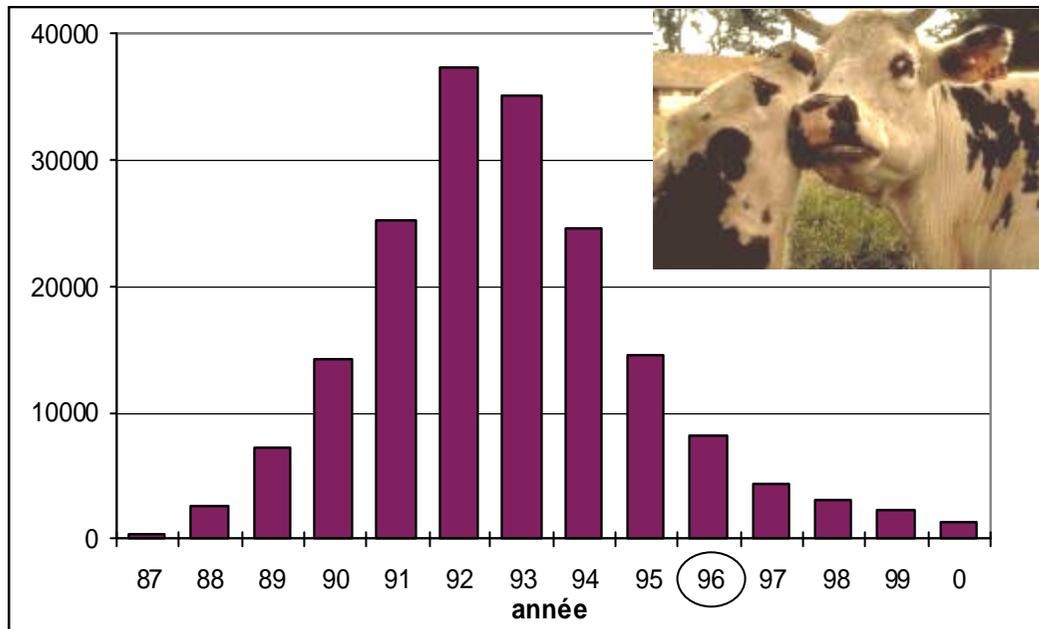
**Regard actuel sur la biologie et la nature des agents responsables des
encéphalopathies spongiformes transmissibles**

Académie Vétérinaire de France
21 juin 2012

EST / Maladies à Prions

Ruminants :

- Tremblante (moutons et chèvres)
- Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)
- Dépérissement chronique des cervidés (*CWD*)



EST / Maladies à Prion

Homme :

Sporadique (90 %)

Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ/CJD)

Infectieuse

- Kuru
- Creutzfeldt-Jakob forme variante (vCJD)
- cas iatrogènes

Génétique (> 30 mutations connues)

- MCJ familiale
- Gerstman-Straussler-Scheinker (GSS)
- Insomnie fatale familiale (IFF)



Tribu fore (N^{elle} Guinée)

Injection d'hormone de croissance extractive (France)

QuickTime™ et un décompresseur TIFF (non compressé) sont requis pour visionner cette image.

Transplantation de greffons de dure-mère (Japon)

PrP^C (normale)

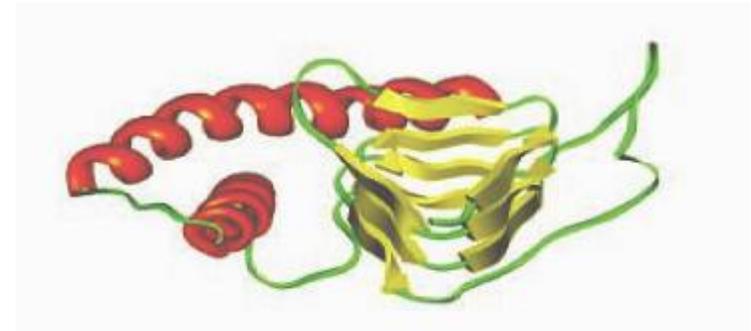


PrP^C (structure 3D)

Changement
conformationnel



PrP^{Sc} (pathologique)

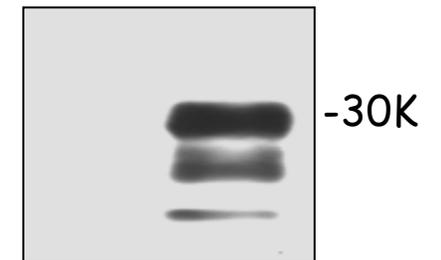


PrP^{Sc} (prédiction)

↗ contenu en feuillets β

tendance à l'agrégation
résistance protéolyse

Digestion Prot. K
Gel dénaturant



Sain EST
(PrPres)

L'hypothèse prion ("protein only")

Griffith (Nature 1967)
Prusiner (science 1982)

Prion: "Proteinaceous infectious particle": un agent infectieux dépourvu de génome, formé de molécules anormalement repliées d'une protéine de l'hôte (PrP)

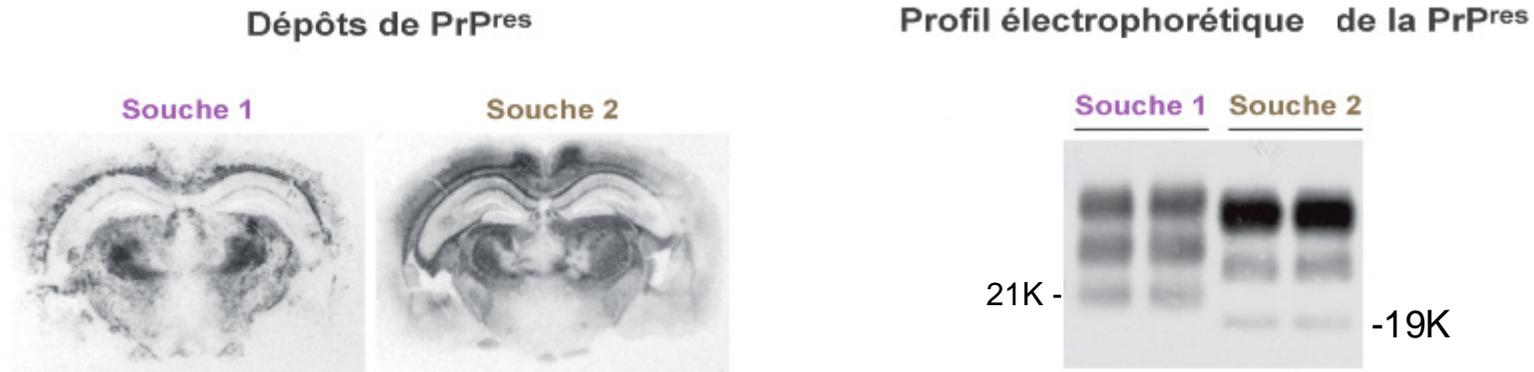
Mode de propagation ?

PrP^{Sc} = polymère de nature amyloïde

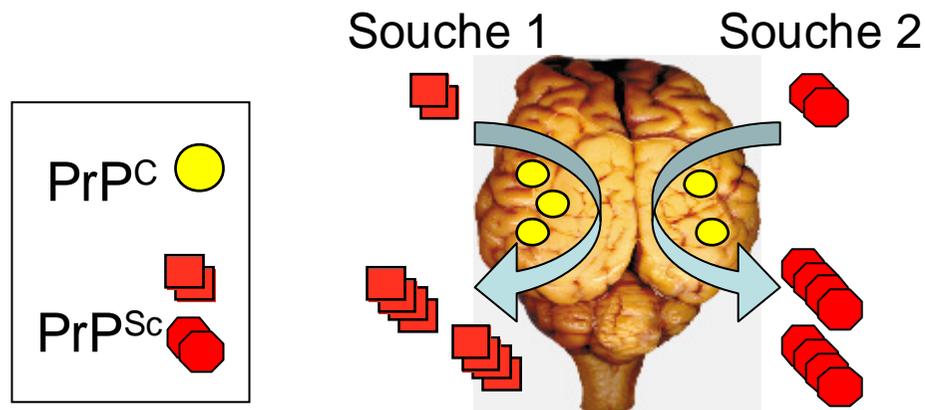
amyloïde= 1) "cross- β structures"
2) "seeding activity"

Diversité des souches de prions

- Chez un même hôte il est possible de propager plusieurs souches de prions phénotypiquement distinctes (propriétés biologiques et physicochimiques)

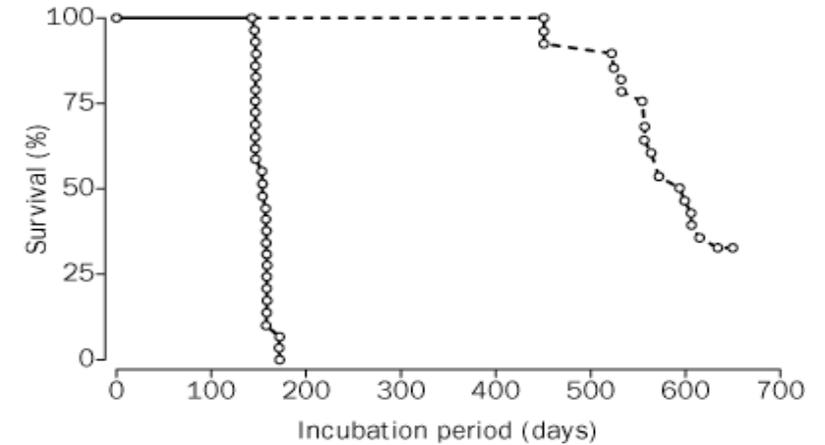
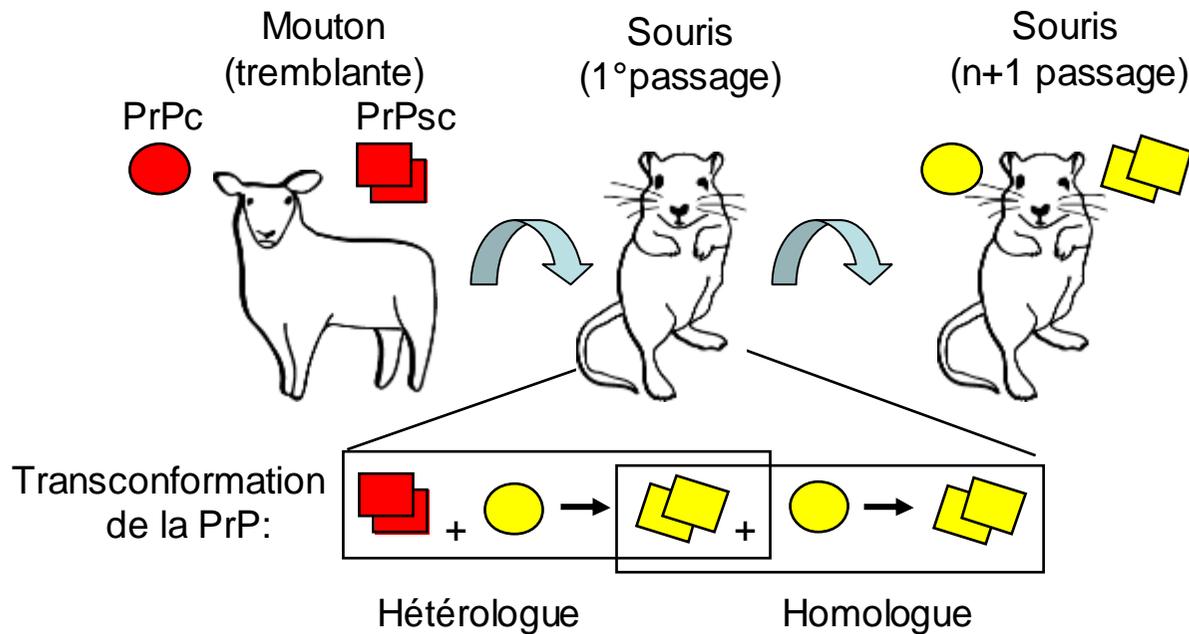


➔ *Des prions partageant la même séquence protéique ne sont pas nécessairement les mêmes ...*

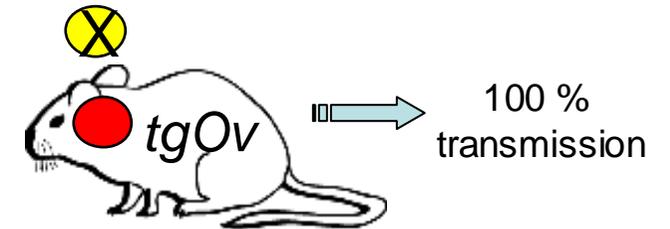


Différents conformères de PrP^{Sc} = différentes souches

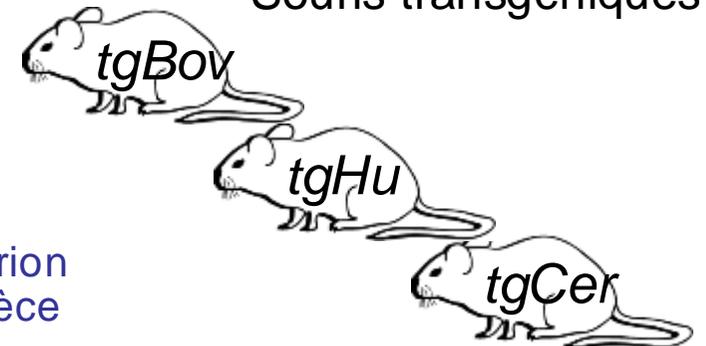
Transmission interspécifique: le phénomène de barrière d'espèce



Inoculation intracérébrale d'un isolat de tremblante à la souris conventionnelle



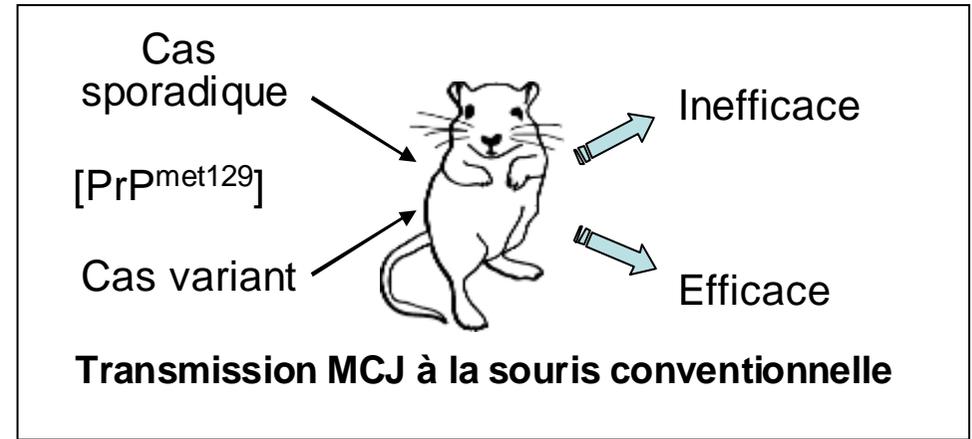
Souris transgéniques



L'expression d'une PrP homologue à celle de l'espèce donneuse de prion estompe la barrière d'espèce

Souche et barrière d'espèce: deux phénomènes indissociables

Le spectre d'hôte est une propriété de souche



La capacité à franchir la barrière d'espèce dépend:

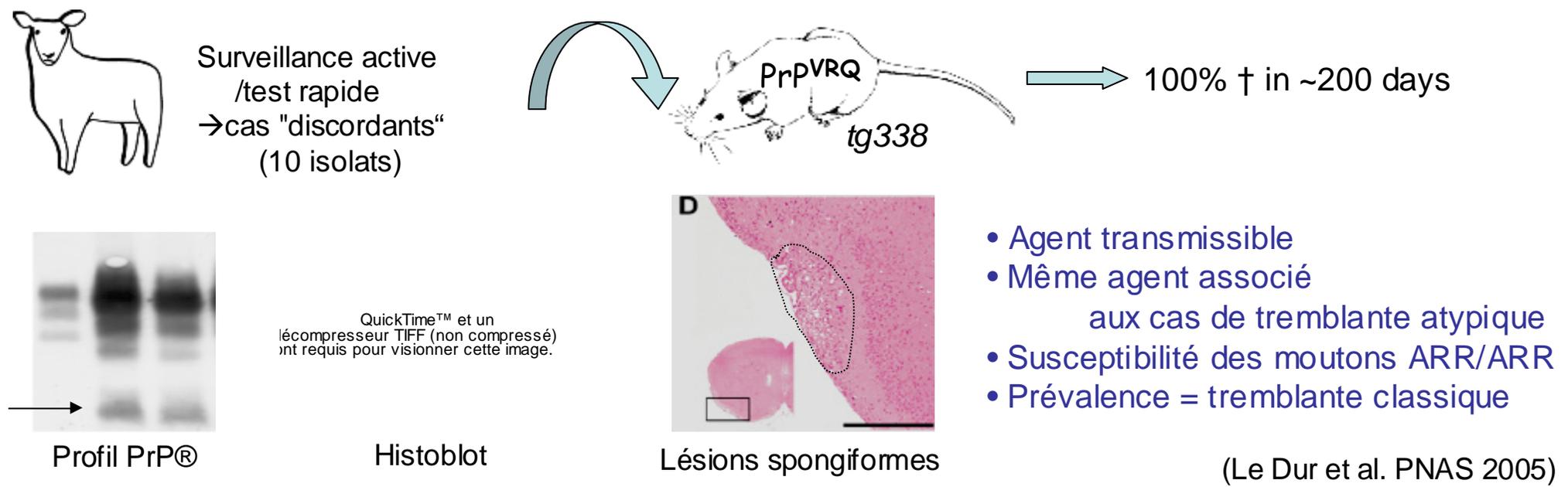
- d'une compatibilité stérique entre souche (PrP^{Sc}) de l'espèce infectante et PrP^C de l'espèce infectée
- plus que du degré d'identité entre les séquences PrP des deux espèces



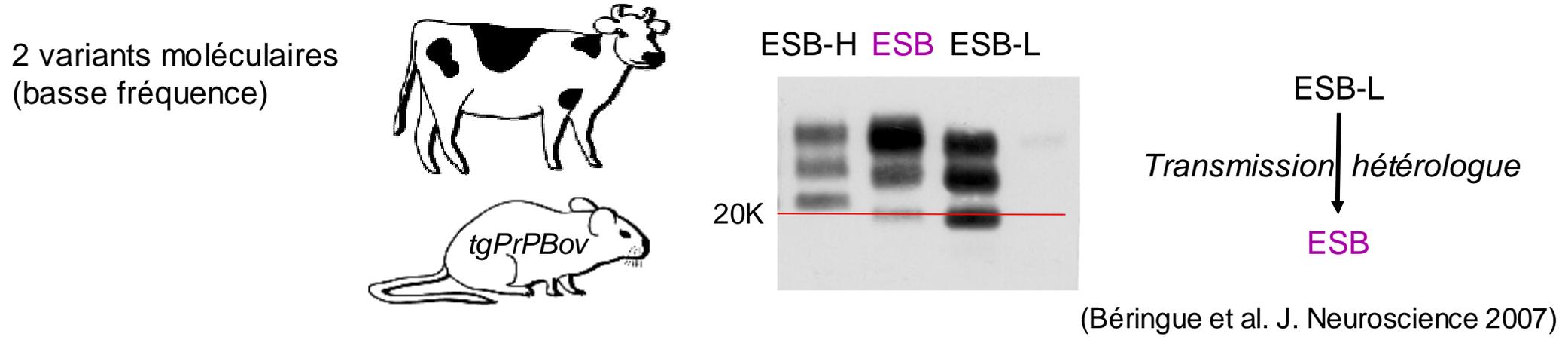
Transmission interspécifique:

- Potentiel de franchissement imprédictible
- Propriétés de souche nouvelles (ou non)

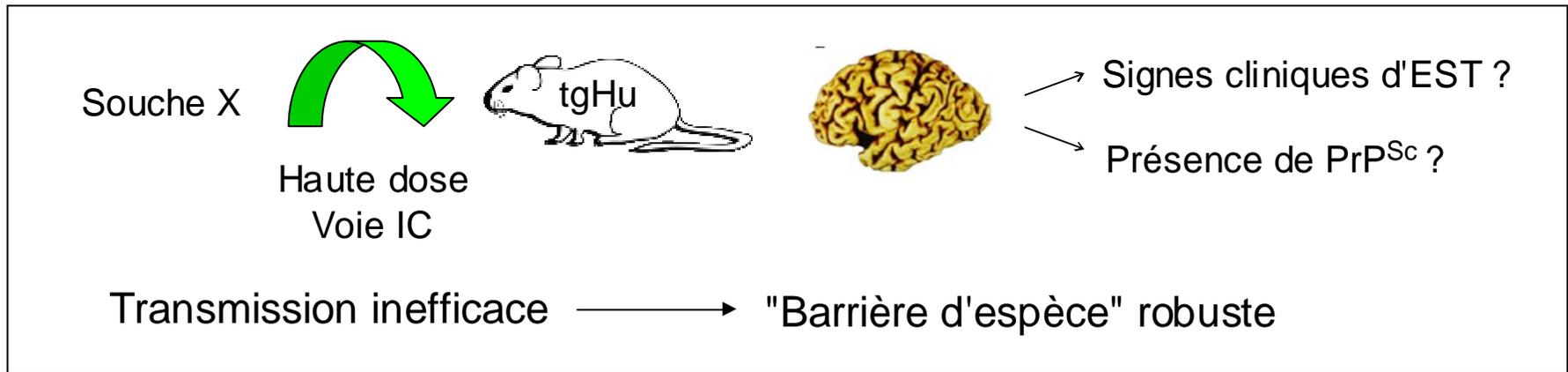
Isolats ovins discordants, souche Nor98 et tremblante atypique



Une souche d'EST sporadique bovine à l'origine de l'ESB ?

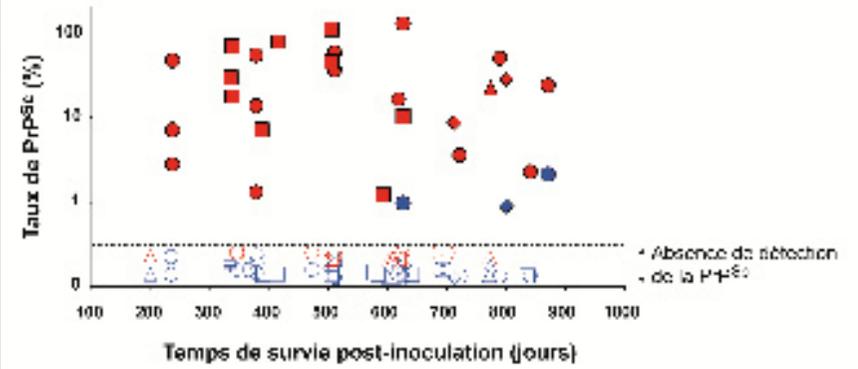
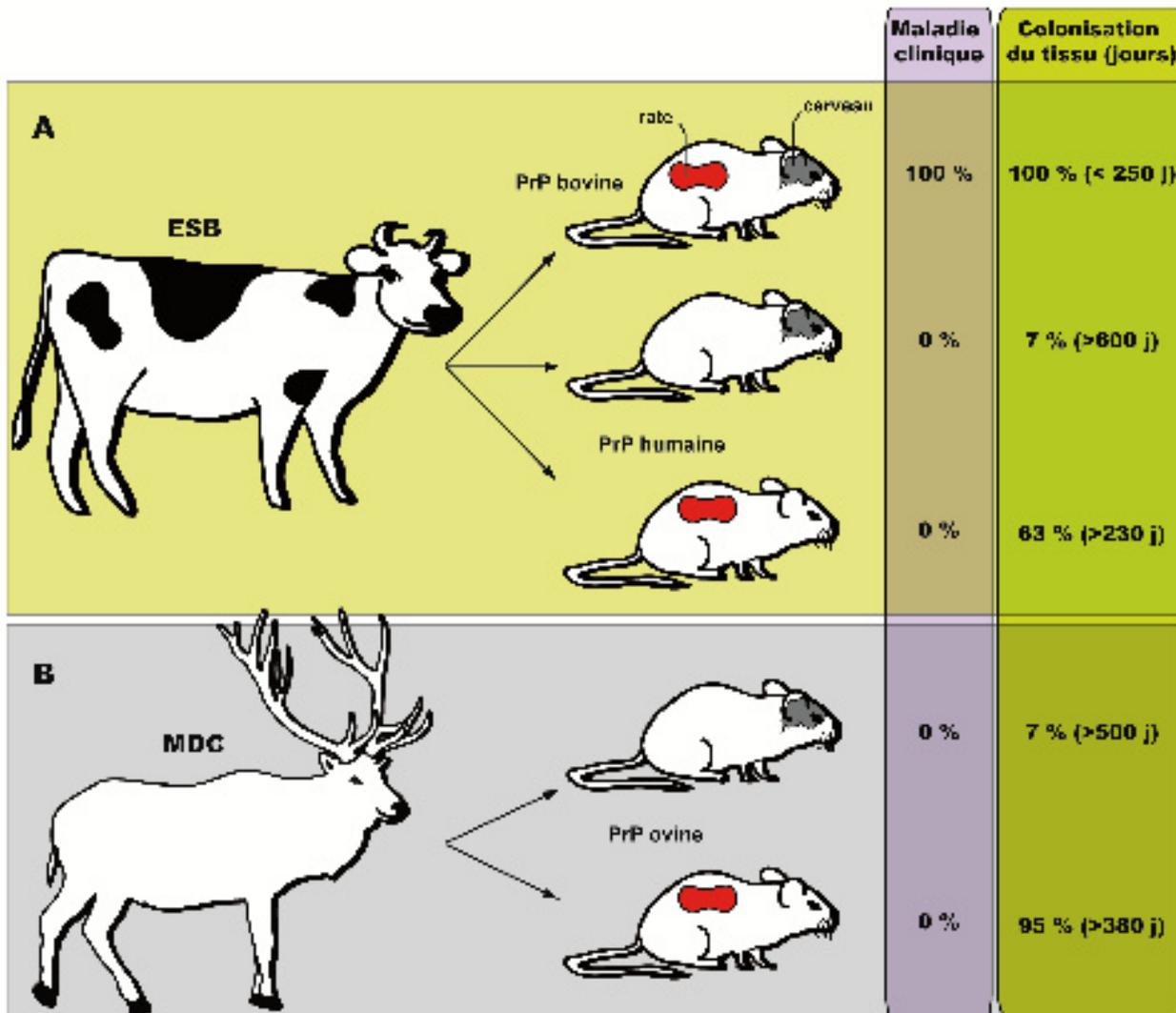


Evaluation du potentiel zoonotique d'un prion

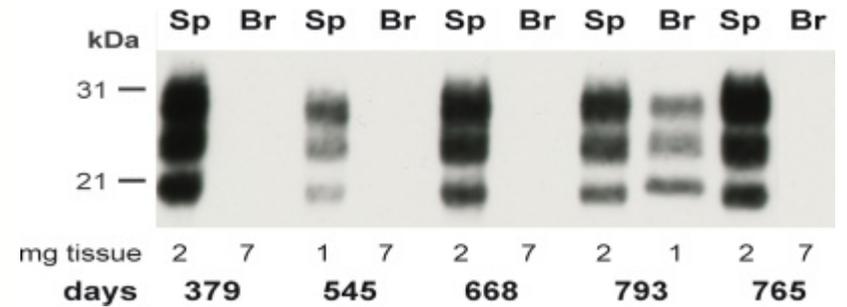


<u>Agent EST</u>	<u>Transmission souris tgHu</u>
Nor98	NON
ESB-H	NON
MDC	NON
ESB-L	OUI (>ESB)

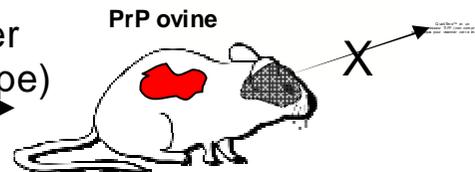
Absence de neuroinvasion : preuve d'une transmission inefficace ?



Inoculation IC



Souche hamster 263K (neurotrophe)



© La barrière de transmission interspécifique est tissu-dépendante

(Béringue et al. Science 2011)

Vers une validation formelle et une extension du concept de prion

Arguments en faveur de l'hypothèse "Protein only":

- Recherche vaine d'un ac. nucléique
- PrP^{Sc} et infectiosité copurifient
- Mutations PrP et EST familiales chez l'homme
- Rôle de la PrP dans la barrière d'espèce
- Souris PrP nullizygotés réfractaires à la maladie

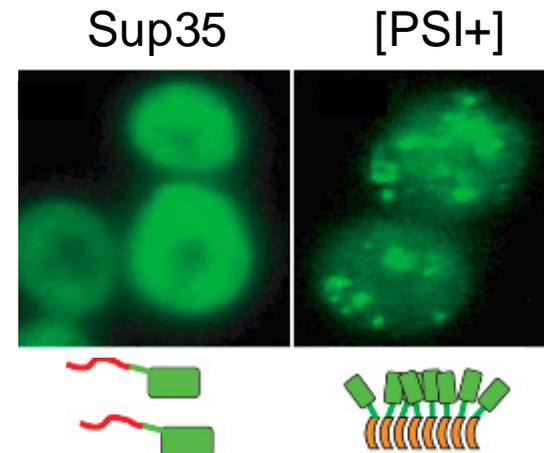
Prions des eucaryotes unicellulaires

Eléments génétiques non-mendéliens

*Protéine sous deux états conformationnels,
dont l'un est dominant et auto-propagé*

Saccharomyces cer.: PSI+, URE3, etc ...

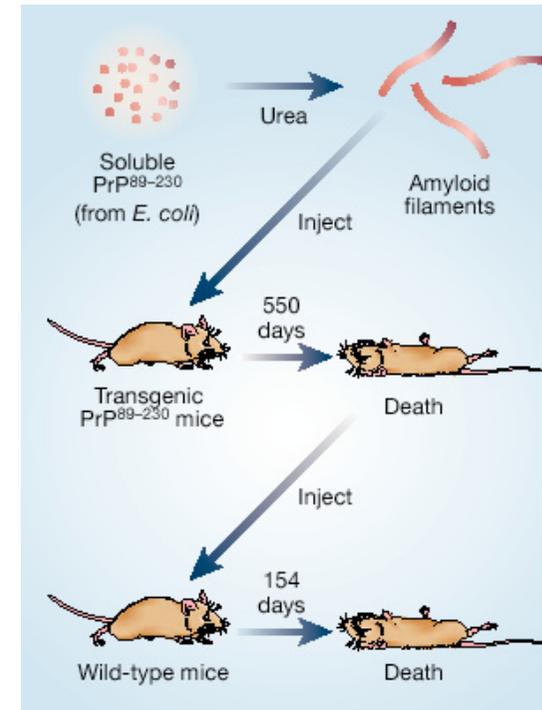
Podospora ans.: HetS



Génération de prions de novo

1) Prions synthétiques

(Prusiner et al, Science 2004)



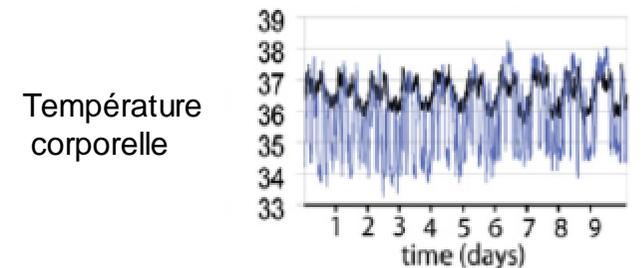
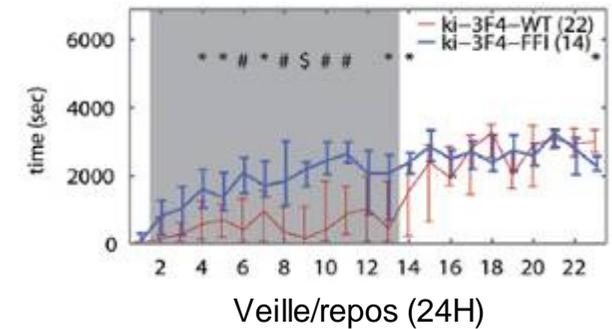
2) Souris transgénique exprimant une PrP mutée



Insomnie Fatale Familiale

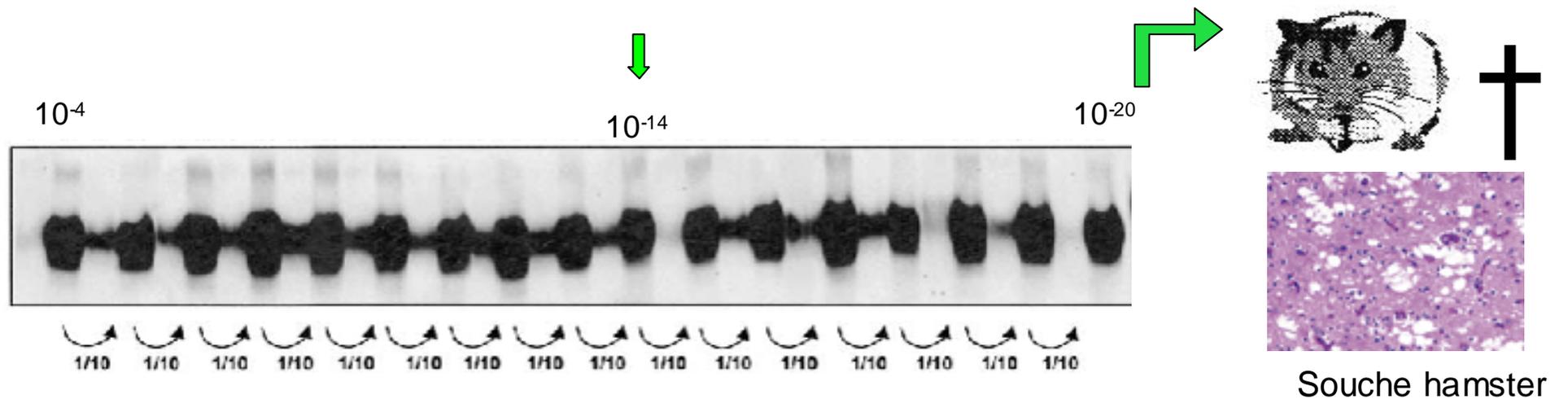
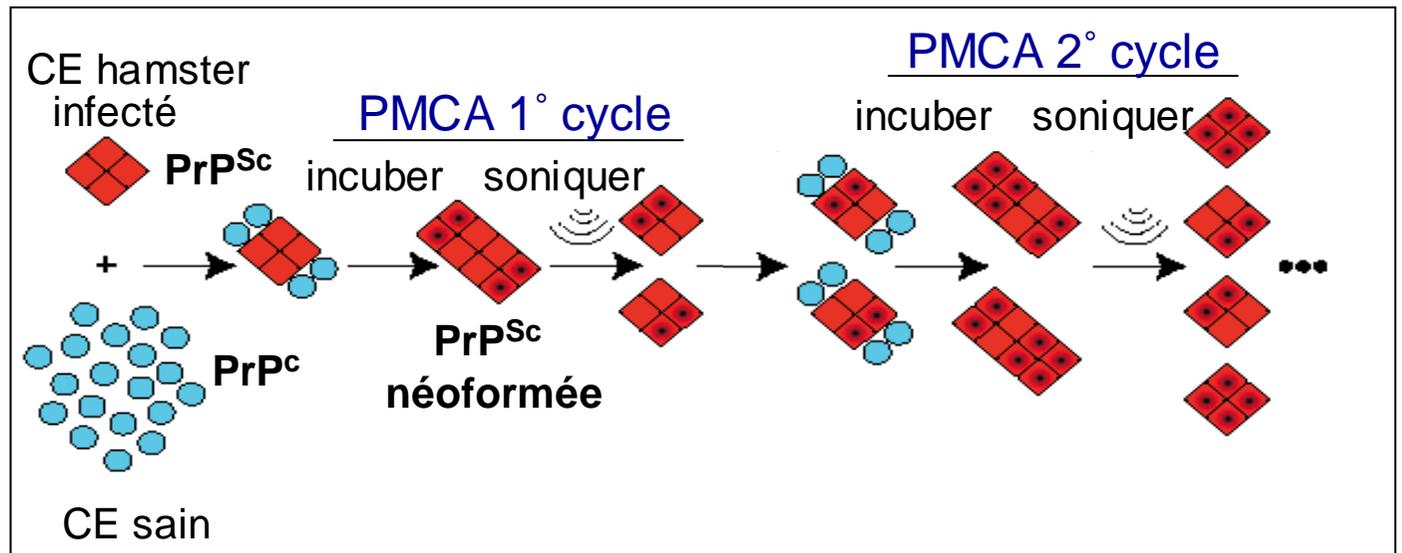
(Lindquist et al Neuron 2009)

- Développement d'une maladie spontanée (400J)
- Symptomatologie évocatrice de la FFI humaine
- Désordres transmissibles à des souris PrP sauvage



Amplification de prions in vitro

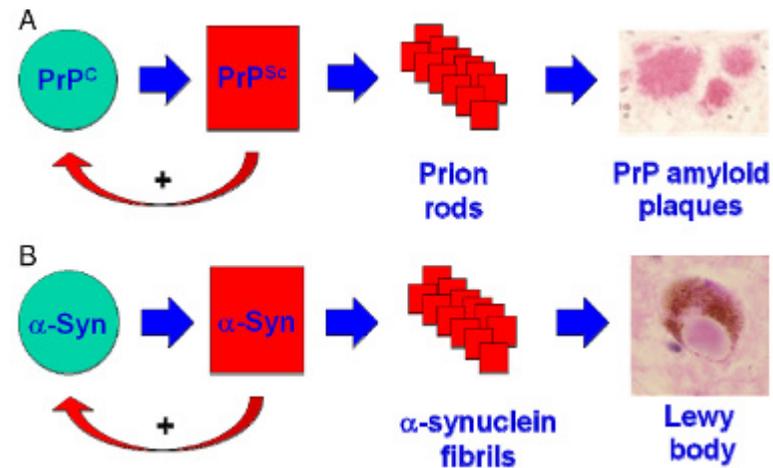
PMCA
Protein
Misfolding
Cyclic
Amplification



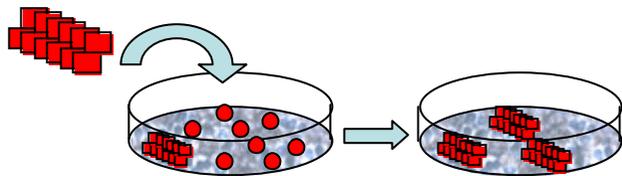
Le concept "prion" applicable à d'autres protéinopathies ?

Maladies neurodégénératives:

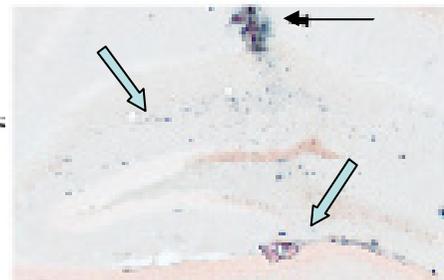
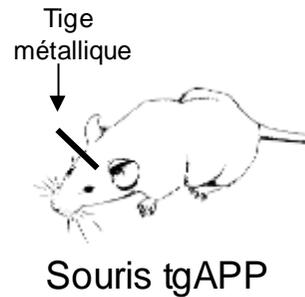
Maladie	Protéine
Alzheimer	APP-->A β
Parkinson	α -Synucléine
Tauopathies	Tau phosphorylée
Huntington	Huntingtine polyQ



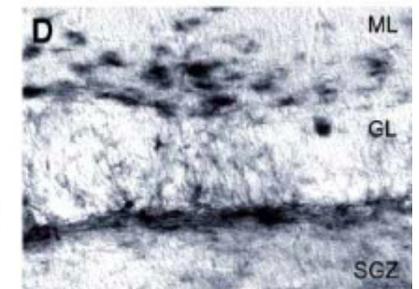
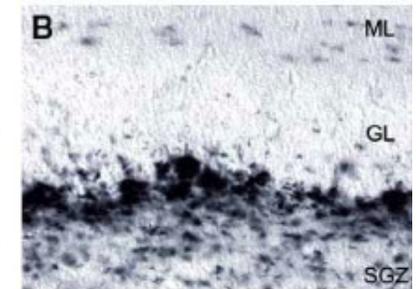
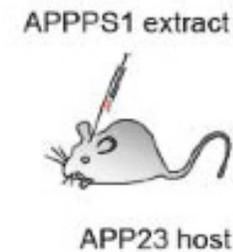
En culture cellulaire:



In vivo: modèle M^e d'Alzheimer



(Jucker et al PNAS 2009)



- Inductible: Oui
- Propagation de ϕ à ϕ : Oui
- Diversité phénotypique: Oui ?
- Cycle infectieux complet: Non

Des "amyloïdes fonctionnels" ?

QuickTime™ et un
décompresseur TIFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.

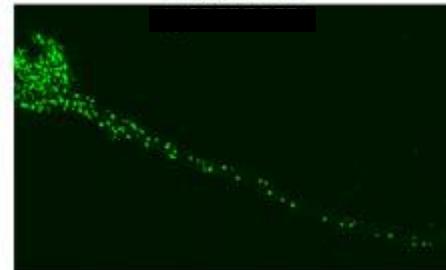
Kandel et al Cell 2010

QuickTime™ et un
décompresseur TIFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.

Chen et al Cell 2011



Aplysia (lièvre de mer)



QuickTime™ et un
décompresseur TIFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.



Jouy-en-Josas

Virologie Immunologie Moléculaires

-Equipe Infections à prions -



Amplification in vitro: toujours plus ...

1) Génération spontanée ?

PrP murine recombinante

+ divers cofacteurs

Pas d'ensemencement

~ 800 cycles de PMCA (17 jours)

*Origine spontanée des cas
d'EST sporadiques ?*

2) Co-facteurs indispensables ?

PrP recombinante purifiée, tampon salin

Ensemencement / prion de hamster

~ 170 cycles (~7 jours)

Hypothèse "protein only"



QuickTime™ et un
décompresseur TFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un
décompresseur TFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.

PrPres

(Ma et al Science 2010)

QuickTime™ et un
décompresseur TFF (non compressé)
sont requis pour visionner cette image.

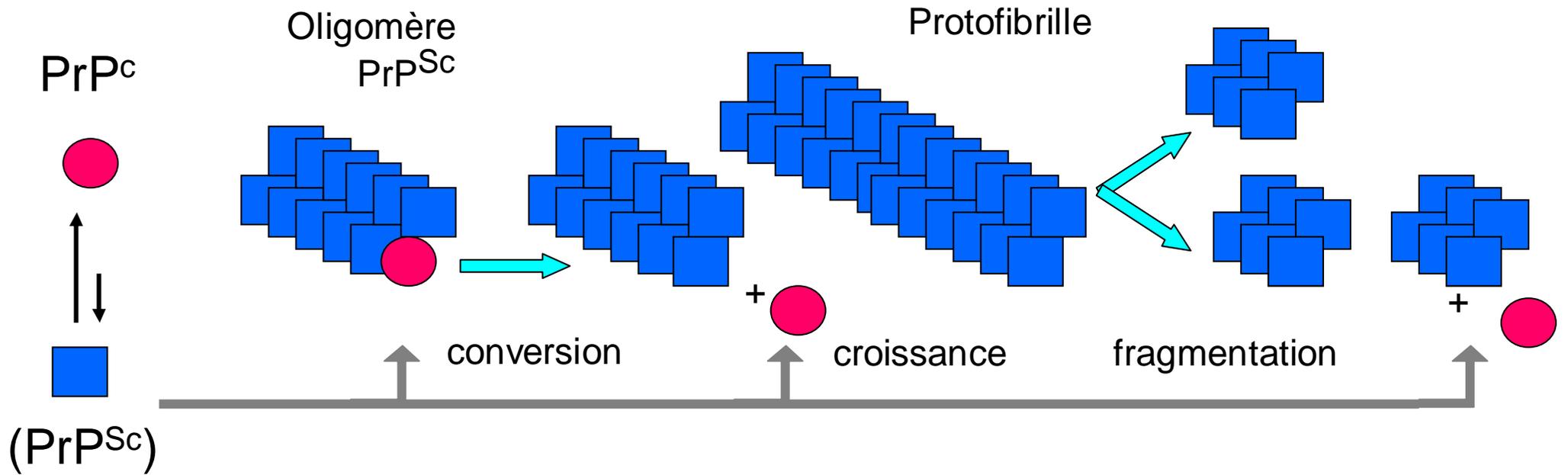
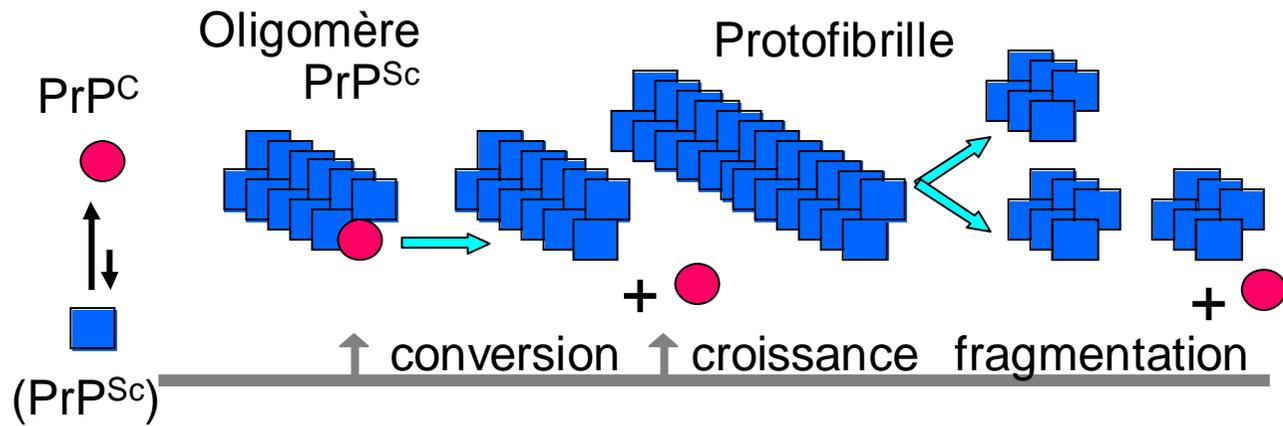
Inoculation
Hamster -->
Faibles quantités
d'infectiosité



EST

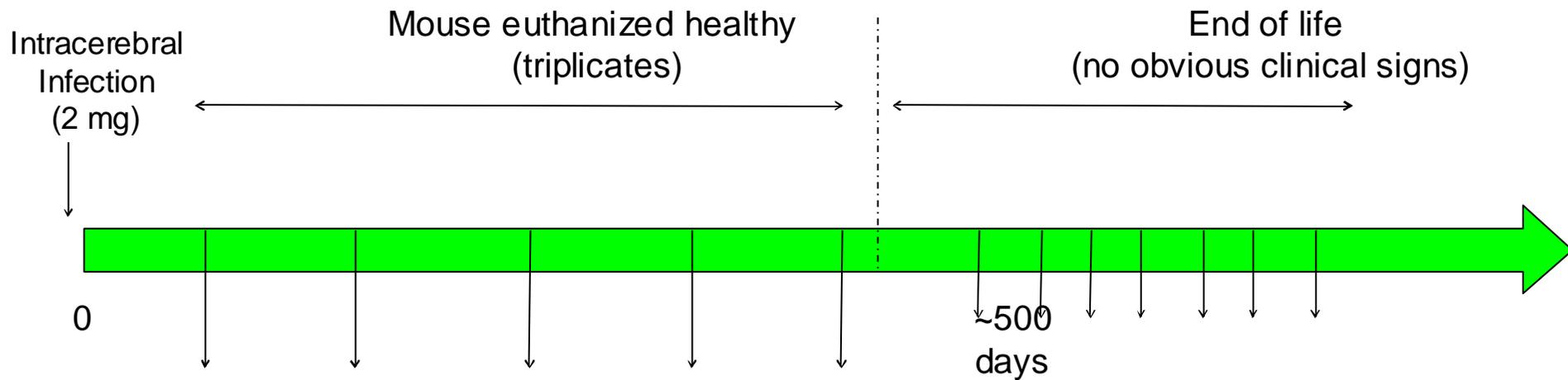


(Surewicz et al J Biol Chem 2010)



Experimental protocol

3 experimental mouse models exhibiting a strong species barrier
(no obvious clinical signs , brain PrP^{res} <<)



Tissue collection: Brain + Spleen



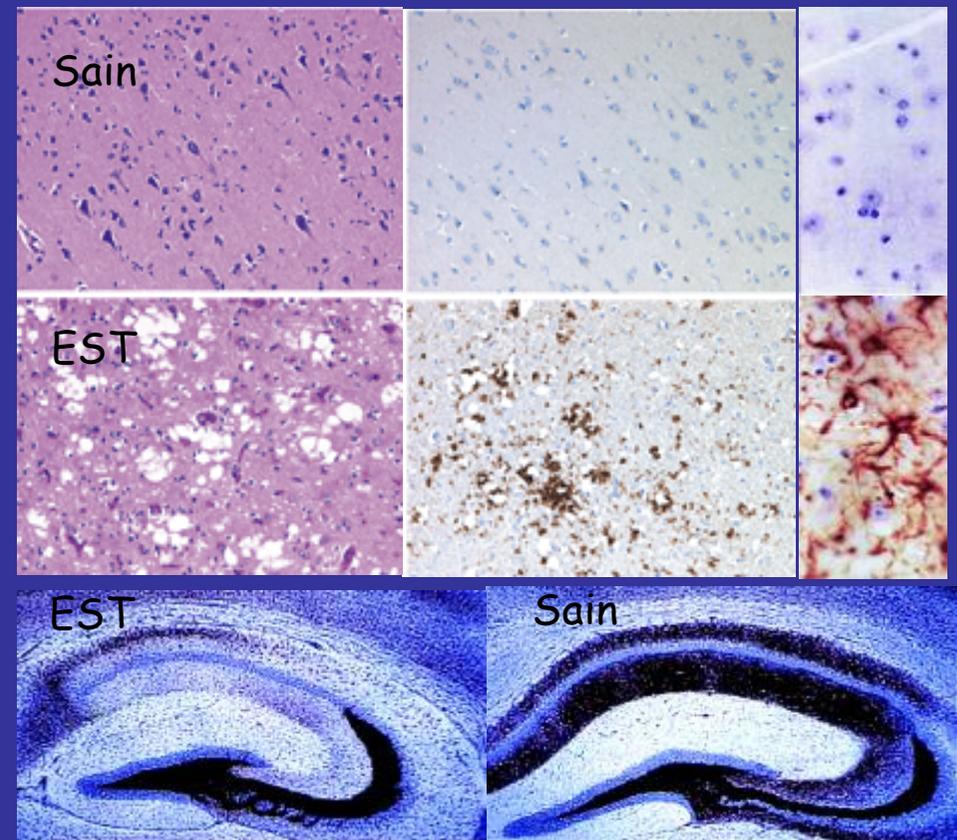
PrP^{res} extraction (PK digestion)



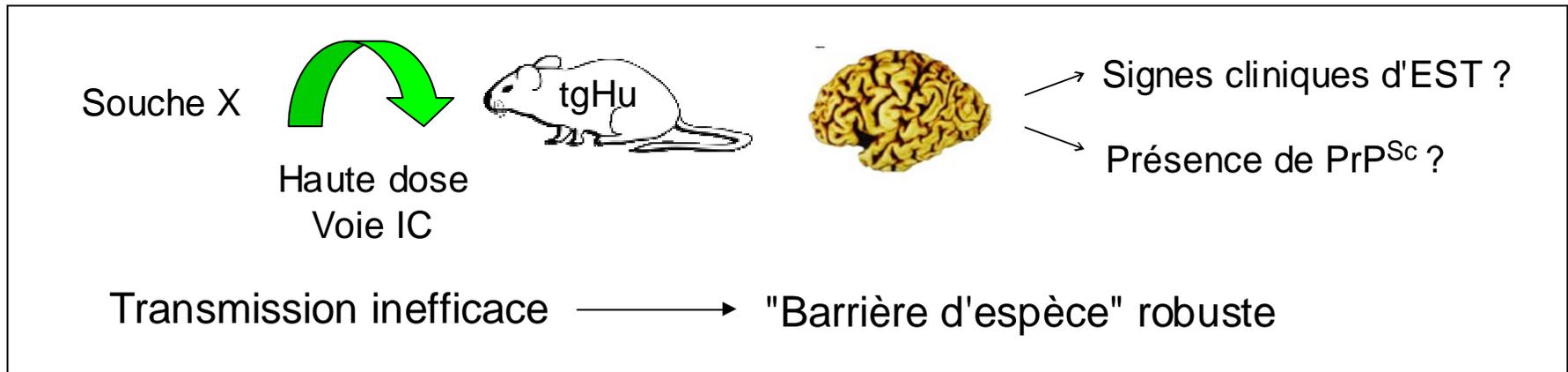
Immunoblot (anti-PrP mAb)

Encéphalopathies Subaiguës Spongiformes Transmissibles (EST) -Maladies à Prions -

- Atteinte dégénérative du SNC
 - désordres locomoteurs, comportementaux, sensoriels
 - perte neuronale, spongiose, gliose
 - *Accumulation de Pr^{Sc}*
- Incubation longue
- Réponse immune absente
- Issue fatale
- *Transmissibilité*



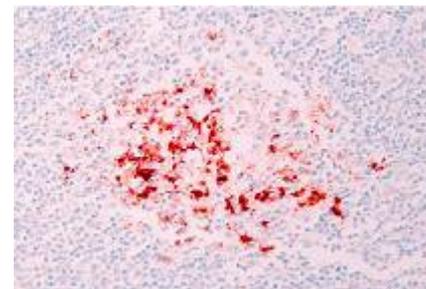
Evaluation du potentiel zoonotique d'un prion



Agent EST	Transmission souris tgHu
Nor98	NON
ESB-H	NON
MDC	NON
ESB-L	OUI (>>ESB)

Quid des tissus extraneuraux lors d'une Transmission interspécifique ?

Nombre de souches sont lymphoinvasives ...



Ganglion lymphoïde/ variant MCJ