

# La Protéine du Prion

par Sylvain Lehmann

*Biologie des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles, Institut de Génétique Humaine, UPR 1142 du CNRS, 141, rue de la Cardonille, 34396 Montpellier Cedex 5, France*

Tel/Fax : 33 (0)4 99 61 99 31

Sylvain.Lehmann@igh.cnrs.fr <http://www.igh.cnrs.fr/equip/Lehmann/>

Reçu le 18 juin 2002

## RÉSUMÉ

La protéine du prion (PrP) est une glycoprotéine ancrée par un glycosyl-phosphatidylinositol à la membrane, exprimée de manière constitutive dans la plupart des tissus et plus particulièrement au niveau neuronal. Sa fonction normale reste incertaine mais pourrait concerner le métabolisme des ions métalliques, la défense contre le stress oxydant ou encore les phénomènes de reconnaissance intercellulaires. La PrP joue un rôle majeur dans le déclenchement et la

transmission des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles, ou maladies à prions. L'hypothèse étiologique actuelle suggère que cette protéine, dans sa forme pathologique, représenterait l'agent infectieux. La PrP est en effet l'objet de modifications conformationnelles très particulières au cours de la maladie. Ces dernières pourraient expliquer le caractère transmissible de ces affections ainsi que les phénomènes de neurodégénérescence observés.

## SUMMARY The prion protein

Transmissible spongiform encephalopathies form a group of fatal neurodegenerative disorders represented principally by Creutzfeldt-Jakob disease in humans, and by scrapie and bovine spongiform encephalopathy in animals. Also called prion diseases, these disorders have the property of being infectious, sporadic or genetic in origin. Although the nature of the responsible agent of these diseases is uncertain, it is clear that a protein called PrP<sup>Sc</sup> has a central role in their pathology. PrP<sup>Sc</sup> is a conformational variant of a normal protein called PrP<sup>C</sup>. PrP<sup>C</sup> is a glycoprotein expressed by most tissues and is attached on the cell membrane by a glycosyl-phosphatidylinositol anchor which would be consistent with roles in cell adhesion, ligand uptake, or transmembrane signa-

ling. NMR studies revealed that the protein has a globular domain and a long amino-terminal tail that contains repeated octapeptide domains which bind metal ions with high affinities. PrP<sup>C</sup> is localized on the cell membrane in detergent resistant microdomains and may be part of functional complexes with other molecules. This is particularly relevant, knowing the possible role of the molecule in signal transduction, resistance to oxidative stress and neuronal survival. In conclusion, it appears that the understanding of the biology of PrP is essential for the understanding of the physiological function of the protein as well as for its pathological conversion considering that trafficking of this molecule governs generation of PrP<sup>Sc</sup>.

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), où maladies à prions, ont été portées au premier plan de l'actualité en 1996, suite à la révélation par le gouvernement britannique d'une transmission de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) à l'Homme. Depuis lors, l'inquiétude dans le domaine de la santé publique représentée par l'augmentation à la fois du nombre de patients atteints en Europe (111 cas au 1<sup>er</sup> jan-

vier 2002), et de la détection de cas d'ESB dans le cheptel de différents pays, a conduit à augmenter considérablement les efforts de recherches sur ces affections. Au-delà du problème spécifique que pose la transmission de l'agent de l'ESB à l'Homme, il est important de se rappeler que les recherches sur les prions touchent des aspects fondamentaux de la biologie en proposant un nouveau modèle de transmission de l'information, indé-

pendant du matériel génétique et que, d'autre part, ces recherches recoupent celles sur la maladie d'Alzheimer dont les mécanismes physiopathologiques sont proches.

Les ESST forment un groupe d'affections neurodégénératives qui comprend, chez l'Homme, la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), le kuru, le syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) et l'insomnie familiale fatale (IFF) (Pocchiari, 1994 ; Prusiner *et al.*, 1998). Ces maladies se caractérisent cliniquement par une démence et divers troubles moteurs et, neuropathologiquement, par une dégénérescence spongiforme du cerveau, associée à une gliose réactionnelle. Dans certains cas, la présence de plaques amyloïdes et de dégénérescence neurofibrillaire est rapportée, comme dans la maladie d'Alzheimer.

Aussi appelées maladies à prions, les ESST sont uniques car leur origine est à la fois infectieuse et génétique. Il est possible de les transmettre expérimentalement par injection aux primates et aux rongeurs. Par ailleurs, environ 10 % des cas de MCJ et la plupart des cas de GSS et de IFF sont de type familial, hérités de façon autosomique dominante. L'origine des ESST reste très controversée. En effet, l'hypothèse étiologique actuelle suggère que l'agent infectieux de ces affections soit de nature protéique. Cette hypothèse, dite des « prions », remet en cause la notion classique voulant que, seuls, les acides nucléiques soient les vecteurs d'une information transmissible.

Afin de caractériser l'agent infectieux responsable des ESST, différentes techniques de purification ont été entreprises à partir d'extraits du cerveau de moutons atteints par la scrapie (l'ESST présente chez cette espèce). La fraction infectieuse isolée présentait comme propriété particulière une très grande résistance aux traitements qui altèrent les acides nucléiques. Prusiner suggéra alors que l'agent des ESST soit de nature protéique,

donnant aux extraits infectieux le nom de « prions », pour « *proteinaceous infectious particles* » (Prusiner, 1982). Cette théorie allait à l'encontre de l'hypothèse prévalente du rôle d'une particule virale encore inconnue dans l'origine de ces affections. En fait, les prions ne semblent pas contenir d'acides nucléiques, mais être constitués principalement, voire uniquement, d'une protéine nommée PrP<sup>Sc</sup>, pour forme Scrapie de la protéine du prion (PrP). Cette protéine, qui représenterait un nouveau type d'agent pathogène, correspond à la forme altérée d'une protéine normale, la PrP<sup>C</sup>, pour forme Cellulaire de la PrP. Cette théorie des prions est de plus en plus en vogue dans la communauté scientifique, grâce notamment à de récentes études *in vitro* des mécanismes pathogéniques des ESST et à la description chez la levure d'éléments similaires aux prions (Wickner *et al.*, 1995).

La PrP est une glycoprotéine exprimée dans presque tous les types cellulaires et plus particulièrement les neurones du système nerveux central. Elle est codée par un gène unique désigné PRNP qui, chez l'Homme, est localisé sur le chromosome 20, et ne présente pas d'intron dans la région codante (Prusiner *et al.*, 1998). La forme mature de la PrP possède deux sites de N-glycosylation, un pont disulfure et une ancre GPI (voir Fig. 1).

La PrP humaine possède un peptide signal (codon 1-22) qui est clivé après l'entrée de la molécule dans le réticulum endoplasmique (RE). Dans la partie amino-terminale de la molécule se situe une répétition de 5 octapeptides (codon 51 à 90) qui lie 4 à 6 atomes de cuivre avec une affinité croissante. La PrP possède deux sites de N-glycosylation (codon 183 et 199) et deux cystéines (codon 179 et 214) qui forment un pont disulfure. Par suite du clivage d'un peptide signal hydrophobe dans la partie carboxy-terminale, une ancre GPI sialylée est attachée au niveau du codon 230. La PrP qui est expri-

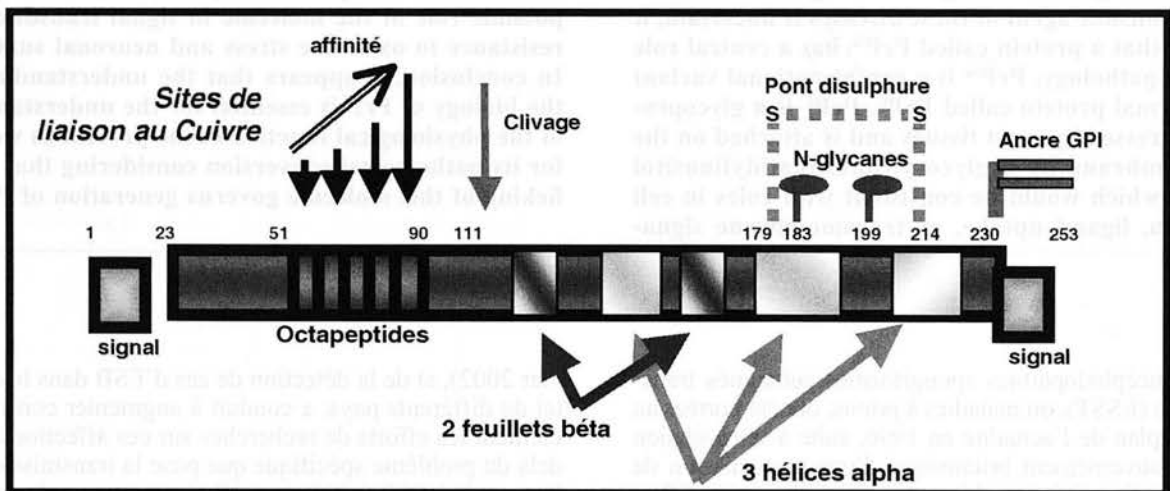


FIG. 1. – Structure simplifiée de la PrP humaine (d'après Mangé et Lehmann, 2002).

mée à la surface cellulaire est impliquée dans un cycle d'endocytose et de recyclage au cours duquel une partie des molécules est clivée dans la partie amino-terminale (Lehmann *et al.*, 1999; Mangé et Lehmann, 2002) à une position proche du codon 111 dans une région très conservée de la molécule. Enfin, il a été décrit deux formes topologiques particulières de la molécule (CtmPrP et NtmPrP) qui possèdent un domaine transmembranaire correspondant une séquence hydrophobe conservée de la molécule entre les positions 108 et 134 (Hegde *et al.*, 1998). L'extrémité C-terminale de la CtmPrP est orientée dans la lumière du RE. En plus du domaine transmembranaire, la CtmPrP est ancrée par une ancre GPI et présente la particularité de conserver son peptide signal N-terminal (Stewart *et al.*, 2001). La forme NtmPrP présente une orientation inversée par rapport à la CtmPrP et n'est donc ni glycosylée, ni ancrée par un GPI. Ces formes ont été initialement observées dans un système de traduction *in vitro*. Par la suite, la CtmPrP a pu être détectée *in vivo* et en culture cellulaire (Hegde *et al.*, 1998) et il a été suggéré que cette forme soit impliquée dans les phénomènes de neurodégénérescence associés aux ESST.

La fonction exacte de la PrP reste incertaine. Certaines souches de souris transgéniques dénuées de PrP (PrP<sup>0/0</sup>) ont, pour phénotype, des troubles de l'inhibition synaptique gabaergique et de la potentialisation à long terme. Compte tenu de son ancre GPI, de son cycle cellulaire et de son transport par le flux axonal rapide à l'extrémité présynaptique des neurones, la PrP pourrait contribuer à la stabilisation ou la transmission synaptique. Des travaux récents ont montré que des peptides correspondant à la partie N-terminale de la PrP étaient capables de lier le cuivre et le zinc. Cette association a également été retrouvée *in vivo* et en culture cellulaire (Brown *et al.*, 1997; Pauly et Harris, 1998). Il est possible que la PrP joue un rôle dans le transport et le métabolisme de ces ions. Ces résultats sont très importants surtout si l'on considère le rôle potentiel du cuivre et des désordres oxydatifs dans les affections neurodégénératives telles que les ESST (Milhavel et Lehmann, 2002).

La PrP<sup>Sc</sup> correspond donc à la forme pathogène de la PrP<sup>C</sup>. Elle est retrouvée principalement dans le cerveau de sujets ou d'animaux atteints d'ESST. Cette isoforme de la PrP est l'élément principal, sinon unique, des prions. Il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence de séquence en acides aminés ou une modification covalente, ou post-traductionnelle, entre la PrP<sup>C</sup> et la PrP<sup>Sc</sup>. De nombreux arguments indiquent en fait que cette modification est de type conformationnel. En effet, plusieurs études biophysiques ont démontré que la PrP<sup>Sc</sup> possède plus de feuillets  $\beta$ -plissés que la PrP<sup>C</sup> ( $\approx 40\%$  contre moins de  $10\%$ ). La conversion des molécules de PrP d'une conformation en  $\alpha$ -hélice à celle en feuillets  $\beta$ -plissés est considérée comme l'événement essentiel responsable de la propagation et de l'effet pathogène des prions (Prusiner *et al.*, 1998). La structure RMN d'une molécule de PrP recombinante a pu être obtenue (Riek *et al.*, 1998). On y retrouve principalement 3 hélices  $\alpha$  (positions 144-154, 179-193 et 200-217) ainsi que deux

petits feuillets  $\beta$ -plissés (position 128-131 et 161-164) (fig. 1). Il est possible de mettre en évidence la PrP<sup>Sc</sup> grâce à ses propriétés biochimiques particulières, conséquences probables de la modification de la conformation de la molécule. Contrairement à la PrP<sup>C</sup>, la PrP<sup>Sc</sup> est insoluble dans les détergents et présente une plus grande résistance à la digestion par la protéinase K (PK) (Prusiner *et al.*, 1998).

Différents systèmes expérimentaux ont été mis au point afin d'étudier les mécanismes pathogéniques des ESST. Ainsi, des cultures cellulaires infectées par les prions ont pu être obtenues (pour revue voir, (Béranger *et al.*, 2001). Par ailleurs, la transmission de ces maladies par inoculation à des animaux de laboratoire et à des souris transgéniques a permis de démontrer la présence de plusieurs « souches » de prions caractérisées chacune par une durée d'incubation propre et par un profil histopathologique particulier. Il a pu être également démontré l'importance de l'expression par l'hôte d'une PrP compatible avec la PrP de l'inoculum. En effet, si l'hôte n'exprime pas de PrP, il n'y a pas de transmission ou de propagation des prions (Bueler *et al.*, 1993). Par ailleurs, si la PrP de l'inoculum est d'un type différent de celle de l'hôte, la transmission sera dépendante du degré de différence des séquences en acides aminés des deux PrP (Prusiner *et al.*, 1998). Ceci constitue la base moléculaire de la barrière d'espèce à laquelle on est confronté lorsque l'on tente de transmettre ces affections d'une espèce à une autre. D'actualité en Europe, la transmission de l'agent de l'ESB à l'Homme qui est responsable de l'apparition du nouveau variant de MCJ en Angleterre et en France, est un exemple concret de l'importance de la barrière d'espèce.

En conclusion, la protéine du prion joue un rôle majeur dans le déclenchement et la transmission des ESST. Au cours de la maladie, cette protéine adopte une conformation différente lui conférant des propriétés biochimiques nouvelles. En dépit d'avancées significatives, il existe encore de nombreuses incertitudes concernant la fonction normale de la protéine du prion et les mécanismes impliqués dans la neurodégénérescence liée à la maladie.

## BIBLIOGRAPHIE

- Béranger F., Mangé A., Solassol, J. & Lehmann S. Cell culture models of Prion Diseases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 289, 311-316.
- Brown D. R., Qin K., Herms J. W., Madlung A., Manson J., Strome R., Fraser P. E., Kruck, T., von Bohlen A., Schulz-Schaeffer W., Giese A., Westaway D. & Kretzschmar H. The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature*, 1997a, 390, 684-687.
- Bueler H., Aguzzi A., Sailer A., Greiner R. A., Autenried P., Aguet M. & Weissmann C., Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell*, 1993, 73, 1339-1347.
- Hegde R. S., Mastrianni J. A., Scott M. R., DeFea K. A., Tremblay P., Torchia M., Dearmond S. J., Prusiner S. B. & Lingappa V. R. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. *Science*, 1998, 279, 827-834.



- Lehmann S., Milhavel O. & Mange A. Trafficking of the cellular isoform of the prion protein. *Biomed. Pharmacother.*, 1999, 53, 39-46.
- Mangé A. & Lehmann S. Les nouveau aspects de la biologie de la protéine du prion. *Médecine/Sciences*, 2002, Sous presse.
- Milhavel O. & Lehmann S. Oxidative stress and the prion protein in transmissible spongiform encephalopathies. *Brain Research Reviews*, 2002, 38, 328-39.
- Pauly P. C. & Harris D. A. Copper stimulates endocytosis of the prion protein. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 33107-33110.
- Pocchiari M. Prions and related neurological diseases. *Mol. Aspects Med.*, 1994, 15, 195-291.
- Prusiner S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 1982, 216, 136-144.
- Prusiner S. B., Scott M. R., Dearmond S. J. & Cohen F. E. Prion protein biology. *Cell*, 1998, 93, 337-348.
- Riek R., Wider G., Billeter M., Hornemann S., Glockshuber R. & Wuthrich K. Prion protein NMR structure and familial human spongiform encephalopathies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 11667-11672.
- Stewart R. S., Drisaldi B. & Harris D. A. A Transmembrane Form of the Prion Protein Contains an Uncleaved Signal Peptide and Is Retained in the Endoplasmic Reticulum. *Mol. Biol. Cell*, 2001, 12, 881-889.
- Wickner R. B., Masison D. C. & Edskes H. K. [PSI] and [URE3] as yeast prions. *Yeast*, 1995, 11, 1671-1685.