

L'énigme des prions

MANFRED EIGEN

Pour améliorer la fiabilité des tests de dépistage de la maladie de la vache folle, on devra encore préciser les mécanismes d'action et de multiplication des agents responsables de cette maladie.

L'encéphalopathie spongiforme bovine, encore nommée maladie de la vache folle, est transmissible à l'homme et provoque, après une courte période d'incubation, la forme humaine de la maladie, nommée le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, qui aboutit inéluctablement à la mort. La maladie de Creutzfeldt-Jakob est connue depuis longtemps et suit la même évolution, mais elle ne touche pas des personnes si jeunes et sa probabilité d'apparition est très faible.

Si les mesures prises pour éviter de nouvelles contaminations ont été drastiques, de nombreuses questions restent ouvertes : quel est le degré de sécurité des tests ? Quelle est la durée d'incubation chez les bovins ? Chez l'homme ? Les réponses à ces questions ne sont pas précises, car nous ignorons comment l'agent responsable de la maladie de la vache folle se reproduit dans l'organisme et finit par déclencher les symptômes. Pour comprendre l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine et ses effets, nous devons d'abord élucider à quelle vitesse s'effectuent les mécanismes moléculaires sous-jacents, c'est-à-dire en déterminer la cinétique. Ce n'est qu'à cette condition que l'on pourra trouver des mesures efficaces pour enrayer l'épidémie.

La recherche sur les mécanismes d'action du prion, l'agent « infectieux » de la maladie animale et humaine progresse, de sorte que l'on a mis au point des tests de détection des prions infectieux plus fiables, capables de déceler l'agent responsable à une concentration dix à cent fois inférieure à celle des méthodes utilisées jusqu'à présent. Ces tests devraient également permettre le diagnostic de la maladie de la vache folle à un stade plus précoce. Il faudrait cependant des tests encore plus sensibles de plusieurs ordres de grandeur pour que l'on puisse déterminer si un morceau de viande de bœuf est vraiment sans risque, donc pour pouvoir garantir qu'il ne contient pas de prions pathogènes. Les nouvelles connaissances acquises en matière de cinétique de la multiplication des prions ouvrent la voie à de telles méthodes de dépistage.

Stanley Prusiner, de l'Université de San Francisco, a obtenu le prix Nobel de chimie en 1997 pour avoir découvert que les agents infectieux de l'encéphalopathie spongiforme bovine et des maladies apparentées sont des protéines. Il a montré qu'une protéine normale est synthétisée naturellement par l'organisme sain, mais on en ignore encore la fonction. La protéine normale est nommée PrP, et sa forme cellulaire PrP^c. En revanche, la forme anormale ou « infectieuse » est la protéine PrP^{sc}. La désignation *sc* rappelle que l'on connaît depuis longtemps une forme ancienne de la maladie animale, la scrapie ou

tremblante du mouton. La protéine pathogène se distingue de la forme normale uniquement par sa structure spatiale, c'est-à-dire par le repliement de la chaîne d'acides aminés qui constitue les protéines.

Une unique molécule de la protéine pathogène n'est pas infectieuse. La quantité minimale de protéines pathogènes capables de déclencher une infection est plutôt de l'ordre de 100 000 molécules. Cette évaluation résulte d'expériences où, après avoir inoculé à différents groupes d'animaux de laboratoire diverses quantités de la protéine pathogène, on a observé combien d'animaux contractaient la maladie, dans chaque groupe.

L'étrangeté du prion

Charles Weissmann et ses collègues de l'Université de Zurich ont montré que des souris dont le gène de la protéine normale avait été inactivé ne deviennent jamais malades, quelle que soit la quantité de protéines pathogènes administrée : pour qu'un animal devienne malade, il doit synthétiser la protéine PrP normale. De surcroît, Detlev Riesner, de l'Université de Düsseldorf, a montré que même avec des mesures physico-chimiques extrêmement sensibles, on ne détecte aucun ADN ni aucun ARN dans l'« agent » responsable des maladies de type encéphalopathie spongiforme bovine. On peut exclure que les unités infectantes de protéines pathogènes contiennent autre chose qu'une molécule d'une centaine de nucléotides.

Pourtant, les maladies à prions sont « infectieuses » dans la mesure où l'agent pathogène se multiplie de façon exponentielle. Jusqu'à présent, toutes les maladies infectieuses avaient été attribuées à un agent « reproductible », fondé sur la duplication de son matériel génétique (de l'ADN ou de l'ARN), ce qui n'est manifestement pas le cas des prions. Bien sûr, cette constatation ne remet pas en cause nos connaissances en virologie et en bactériologie « classiques ». Elle montre simplement qu'il existe des systèmes constitués uniquement de protéines qui simulent le comportement répliatif des acides nucléiques.

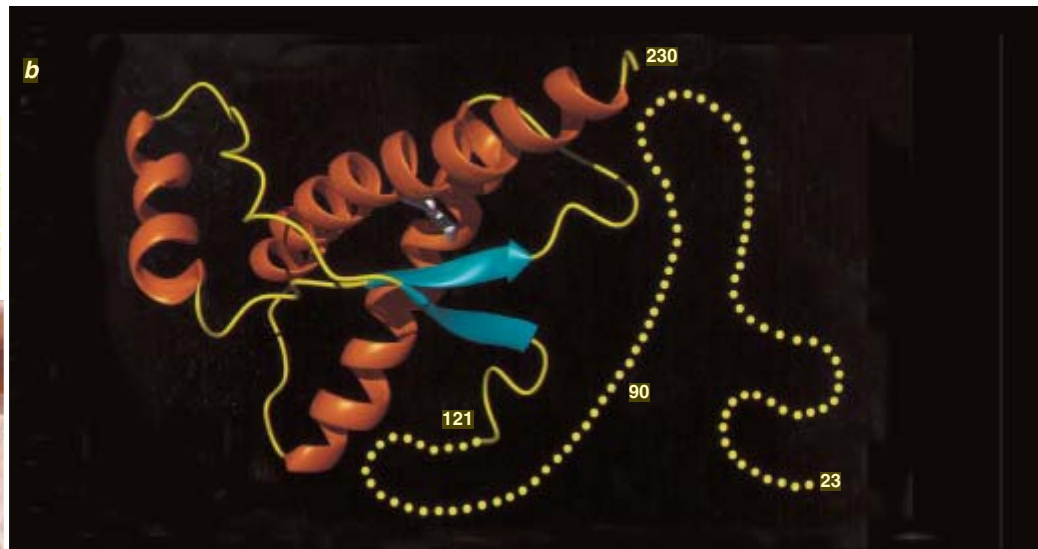
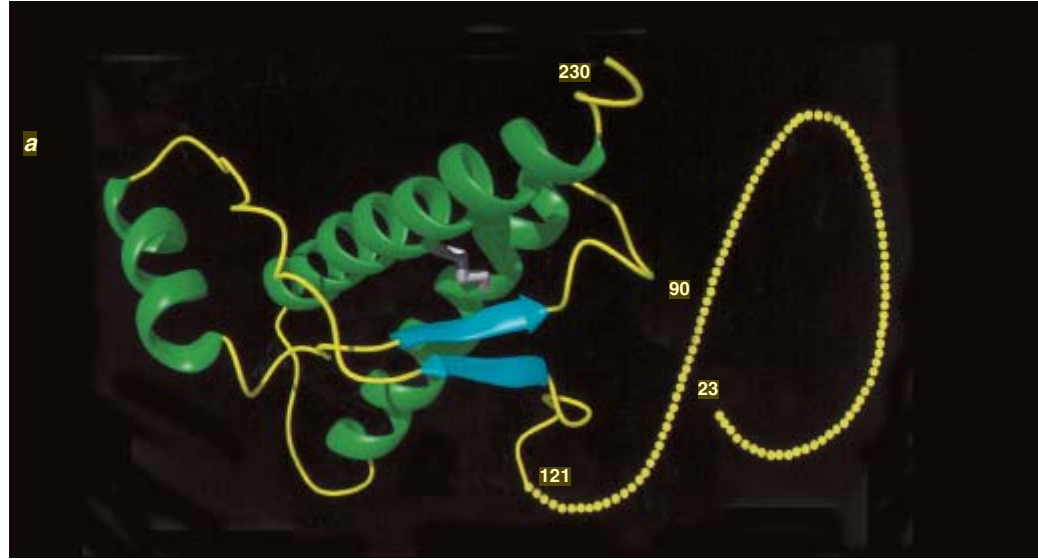
C'est à Kurt Wüthrich, de l'École supérieure de technique, à Zurich, que l'on doit une nouvelle découverte dans ce domaine. À l'aide de mesures par résonance magnétique nucléaire, il a déterminé la structure des protéines PrP naturelles (voir la figure 1). Elles présentent un domaine « globulaire » au sein duquel les chaînes d'acides aminés forment trois structures enroulées en hélice. Ce domaine globulaire peut être « digéré » par une enzyme dite protéolytique ; au contraire, le domaine globulaire des prions pathogènes

résiste à toutes les enzymes. Sans doute, la forme pathogène contient-elle moins d'hélices et davantage de ce que l'on nomme des feuillets bêta, où la chaîne d'acides aminés a une structure de «tôle ondulée». Les enzymes ne peuvent alors couper qu'une partie de l'extrémité libre de la chaîne.

Le test actuellement utilisé pour le dépistage de l'encéphalopathie spongiforme bovine repose sur cette plus ou moins grande résistance aux enzymes. De plus, K. Wüthrich a calculé le degré de divergence entre les prions de différentes espèces animales d'après la structure de leur domaine globulaire. Il a montré que les prions bovin et humain ont une structure spatiale très proche, ce qui permettrait leur transmission d'une espèce à l'autre.

S. Prusiner fut aussi le premier à proposer un mécanisme de transformation de la protéine PrP normale en prion pathogène : quand une molécule

A. Zahn, P. Güntert, K. Wüthrich



1. LA PROTÉINE PrP BOVINE naturelle (a) est constituée d'une séquence (entre les acides aminés 121 à 230) dont la structure est complexe, alors que le reste de la molécule (des acides aminés 23 à 121) forme une terminaison (en pointillés jaunes) dépourvue de structure fixe et libre de se déplacer. Le domaine replié comprend trois hélices alpha (en vert) et un court feuillet bêta (en bleu). Quand on compare cette protéine bovine à la protéine PrP normale de l'homme (b), on constate que

le «corps» de la protéine humaine est, comme la protéine normale bovine, constituée de trois domaines enroulés en hélices (en rouge) et d'une structure en feuillet bêta (en bleu). Lors de la transformation des protéines PrP normales en prions pathogènes, la géométrie de cette zone centrale change. Les chiffres indiquent la position des acides aminés dans la séquence. Les acides 1 à 22 servent d'étiquette d'adressage, et cette séquence est éliminée dès que la destination est atteinte.

● PROTÉINE PrP NORMALE
 □ PRION PATHOGÈNE
 ■ EXTRÉMITÉ INFECTIEUSE

NOMBRE
D'EXTRÉMITÉS
INFECTIEUSES

2

4

8

16

M. Egan

2. LES PRIONS pathogènes se multiplient en deux grandes étapes : une phase de croissance et une phase de division. Quand des protéines PrP normales se fixent aux extrémités d'un prion pathogène, elles adoptent la conformation anormale des prions infectieux. Progressivement, par addition de molécules saines à la chaîne infectieuse, cette dernière s'allonge. Au cours de la seconde phase, les chaînes en croissance se scindent en deux (de sorte que leur longueur moyenne reste constante au cours du temps). Alors que l'allongement des chaînes n'augmente pas le nombre de prions infectieux, leur rupture aboutit à une multiplication exponentielle. En réalité, le mécanisme de multiplication est moins régulier que sur le schéma.

pathogène se fixe sur une protéine PrP normale, elle contraint cette dernière à changer de forme et à adopter la forme pathogène. L'agent infectieux catalyserait la conversion de la forme inoffensive en forme nocive et, de proche en proche, assurerait sa propre multiplication.

Selon Peter Lansbury, à Boston, le prion pathogène se multiplierait par un mécanisme proche d'une polymérisation. Dans ce type de réaction, on synthétise un polymère, tel le polyéthylène, par « collage » linéaire d'un grand nombre de sous-unités identiques : ici, une chaîne linéaire de prion pathogène serait obtenue en raboutant des protéines PrP normales qui, une fois assemblées, deviendraient pathogènes. De surcroît, une chaîne ne deviendrait dangereuse, qu'après avoir atteint une taille critique (la chaîne forme alors ce que l'on nomme un germe), au-delà de laquelle, l'addition de nouvelles unités est plus rapide que l'élimination, par des enzymes, de sous-unités déjà fixées. Ces hypothèses semblaient cohérentes avec les observations que l'on fait sur les personnes décédées de la maladie de Creutzfeldt-Jakob : en général, le prion pathogène est présent dans le cerveau des victimes, sous forme de bâtonnets, et « l'unité infectieuse » comporte un

grand nombre de sous-unités de la protéine PrP normale.

En 1996, j'ai étudié la cinétique des réactions chimiques en cause dans cette maladie. J'ai montré que pour que les résultats soient cohérents avec les faits, plusieurs sous-unités doivent interagir. Plusieurs enzymes « allostériques » contrôlent leur activité en adoptant leur forme active seulement après intervention d'une molécule dite effectrice. Grâce à cet effet coopératif, qui impose le changement de structure, on détermine un nombre minimal de prions nécessaires à l'apparition de la maladie.

En fait, le mécanisme de formation de germes de P. Lansbury comprend, lui aussi, une sorte d'interaction coopérative entre les éléments constitutifs de la chaîne du prion pathogène. Un seul composant de cette chaîne est incapable de déclencher les modifications de structure qui rendent le prion pathogène ; pour que la transformation ait lieu, un nombre de sous-unités au moins égal à celui que comporte le germe critique doit coopérer. C'est seulement alors que la vitesse de synthèse de la chaîne devient supérieure à celle de sa dégradation.

Toutefois, bien que la chaîne puisse croître par autocatalyse après avoir atteint la taille du germe critique, on ne constate pas l'accélération expo-

nentielle caractéristique des réactions autocatalytiques. Cela suppose qu'après la transformation, le catalyseur initial, tout comme le produit de la réaction, restent disponibles pour de nouveaux cycles d'autocatalyse, de sorte que le nombre d'éléments autocatalytiques double à chaque cycle de réaction. Pourtant, ce n'est pas ce qui se produit au cours d'une polymérisation, où seule l'extrémité des chaînes présente une activité catalytique constante.

À nouveau, cette difficulté a trouvé une solution : le mécanisme de polymérisation produit lui aussi une croissance exponentielle lorsque les chaînes en cours de construction sont dégradées en continu, libérant en permanence de nouveaux catalyseurs. Martin Nowak, à l'Université de Princeton, a élaboré un modèle, que Joanna Masel, de l'Université d'Oxford, a appliqué à l'évolution des maladies à prions.

Un modèle de la multiplication des prions

Dans ce modèle, M. Nowak a tout d'abord posé les équations du bilan de la croissance, de la rupture des protéines et de leur dégradation. La croissance correspond à une expression de l'allongement de la chaîne. L'action conjointe de l'allongement et de la rupture des chaînes aboutit à l'augmentation exponentielle du nombre d'extrémités de chaînes douées de pouvoir catalytique. La dégradation à laquelle sont soumis les polymères limite la durée de vie des germes infectieux.

La vitesse d'allongement dépend de trois mécanismes : la fixation d'une protéine normale à l'une des extrémités du prion pathogène (limitée par la fréquence de rencontre des partenaires de la réaction) ; le détachement d'une unité saine dont la structure n'a pas encore été transformée ; la conversion de la protéine saine en une protéine pathogène par transformation de sa structure (elle est alors intégrée dans la protéine et assure l'elongation de la chaîne).

Les vitesses de ces trois mécanismes peuvent être regroupées en une seule équation mathématique. Au lieu de poser une équation pour le bilan de chacun des prions pathogènes pris séparément, M. Nowak a utilisé deux termes dont l'un com-