

Les prions : entre dogmes et réalités

Michel Laurent

En janvier 1997, l'équipe de D. Dormont publiait dans la revue *Science* [1] un article important qui, dans ses conclusions, semblait remettre en question l'hypothèse protéique, jusqu'alors largement privilégiée par la communauté s'intéressant aux prions. Dans le compte-rendu qu'il en donnait à *médecine/sciences* [2], Axel Kahn, conservant toute la prudence nécessaire dans ce domaine complexe, indiquait que « tout se passait comme si » la présence de la forme anormale de la protéine prion n'était pas indispensable à la transmission de la maladie. Cependant, au fil des glissements sémantiques opérés par les revues de moins en moins spécialisées relatant ce travail, il apparaissait établi qu'un agent autre que la protéine prion était requis dans la manifestation de la pathogénicité, ce qui permettait au magazine *la Recherche* (juin 1997) de titrer sur l'*agent secret* des maladies à prions [3], la revue grand public *Sciences et Vie* (août 1997) enfonçant le clou dans un article où l'à-peu-près le disputait aux inexactitudes manifestes.

Il ne saurait s'agir de faire ici le procès des revues de vulgarisation (dont la tâche est particulièrement délicate lorsqu'il s'agit d'aborder un sujet aussi controversé que celui des prions), d'autant moins que la dérive la plus grave se produit bien en amont, au niveau de la relation des faits par les journaux spécialisés eux-mêmes. La question des prions est révélatrice des dysfonctionnements qui président aux modes de commu-

nication de l'information scientifique. Tel journal fait campagne pour telle idée ou telle école, le journal concurrent appuie une autre chape: Prusiner tient les clés (pour ce qui concerne les prions) de la revue *Cell*; ses contradicteurs publient dans *Nature*, revue interdite à Prusiner. Les dés sont pipés et la vérité – si vérité il doit y avoir – n'émerge plus nécessairement de la confrontation des arguments et de la reproduction des données par différentes équipes. Elle donne dans l'apparence, l'exigence de rigueur n'y trouvant pas toujours son compte.

S'il n'existe aujourd'hui aucune démonstration expérimentale de l'existence, dans le processus pathogène des ESST, d'un agent autre que la protéine prion, l'expérience-clé fait toujours défaut pour asseoir l'hypothèse protéique sur des certitudes et lui conférer une qualité autre que celle d'hypothèse privilégiée. Aussi le champ des interprétations reste-t-il très ouvert (ce qui ne veut pas dire pour autant que les différentes possibilités soient d'égales probabilités, en regard de nos connaissances actuelles). La recherche ne peut, dans ces conditions, s'articuler qu'autour de deux axes alternatifs: (1) la caractérisation d'un éventuel cofacteur indispensable (ou simplement intervenant de manière manifeste) dans le processus de pathogénicité; (2) l'identification des conditions et des mécanismes qui pourraient permettre à une seule et même protéine d'engendrer la somme des manifestations aujourd'hui connues concernant les encéphalopathies spongi-

formes. Ces bases seront facilement admises par tous. La difficulté consiste à ce qu'elles ne soient pas perverties par la pratique quotidienne et par sa relation.

La nécessité d'un co-facteur est-elle aujourd'hui démontrée ?

Revenons aux sources (l'article de l'équipe de D. Dormont cité plus haut [1]) et examinons-en la conclusion:

« Puisqu'une ESST peut être transmise sans accumulation décelable dans le cerveau de la forme résistante de la protéine prion dans le cas de la transmission inter-espèces de l'agent de la BSE, l'hypothèse de l'existence d'un co-facteur additionnel à la protéine devient plus vraisemblable. Eu égard à la complexité des propriétés de souche des ESST, cet agent pourrait être un acide nucléique. »

Nulle affirmation d'une quelconque démonstration dans cette proposition. Peut-être la formulation contient-elle malgré tout, en dépit de la prudence manifestée par l'emploi du conditionnel, les ferments de la dérive sémantique (et factuelle) rappelée plus haut. Nous reviendrons plus loin sur la suggestion que l'agent additionnel supposé puisse être un acide nucléique. Les données expérimentales n'apportent aucun élément sur la nature de cet agent éventuel. Elles montrent seulement, sur la base du seul critère disponible (à savoir la susceptibilité relative de la protéine à la protéinase K), que la forme pathogène de la protéine prion peut rester indécélable lors de

l'infection primaire de souris par l'agent de l'ESB (c'est-à-dire lors du premier passage avec un donneur hétérologue), bien que les extraits de cerveaux correspondants demeurent infectieux lors des passages ultérieurs. L'existence d'un éventuel cofacteur relève de l'interprétation et non du fait expérimental.

Peut-on concevoir, dans le cadre de l'hypothèse de la « protéine seule », une alternative à cette interprétation ? Un tel modèle peut être construit sans difficulté et n'apparaît ni plus, ni moins spéculatif que l'explication envisagée originellement.

Les données de l'article de *Science* [1] sont importantes quelle que soit l'hypothèse que l'on entend privilégier. Dans le cadre de l'hypothèse protéique, elles définissent un certain nombre de contraintes auxquelles doivent satisfaire les modèles explicatifs. Elles inciteront d'autre part les tenants de l'interprétation opposée à rechercher et à caractériser le ou les possibles facteurs additionnels. En revanche, ces données n'apportent aucun élément nouveau concernant la validité ou l'insuffisance du modèle protéique.

L'hypothèse du « virino » est-elle a priori la plus solide ?

L'hypothèse protéique s'oppose, d'un point de vue tant historique que sémantique (*prion*, acronyme modifié de *protéine infectieuse*, se compare à *virion*), au schéma d'une infection virale. Celui-ci conserve ses partisans, tous n'accordant pas cependant le même rôle à un hypothétique génome viral. Pour les uns, la protéine prion n'interviendrait, dans ses conformations multiples, que comme récepteur ou facteur d'amplification (de la réplication par exemple) d'un viroïde restant à découvrir. Le principal argument allant à l'encontre d'un tel mécanisme réside dans l'absence de données expérimentales permettant d'en attester le bien-fondé dans le cas des ESST, un certain nombre d'éléments allant au contraire dans le sens d'une propagation non génétique des propriétés de souche [4, 5]. Cependant, l'idée la

plus originale (connue sous le nom d'hypothèse du *virino* [6]) suppose un tout autre rôle à cet acide nucléique virtuel. L'hypothèse du *virino* suggère qu'associé et fortement lié à la protéine prion (de sorte qu'il en soit difficilement séparable), un acide nucléique, soumis à une grande variabilité intra et interespèces, confère au complexe ainsi formé des propriétés stéréospécifiques à même d'interpréter l'existence de souches multiples d'une même maladie mais aussi celle de la barrière interespèces.

Les partisans de cette hypothèse ajoutent avec raison qu'il n'existe, à l'heure actuelle, aucun élément expérimental l'accréditant. Il me semble nécessaire d'aller plus loin. Le concept du *virino* ne recèle aucun pouvoir explicatif supplémentaire par rapport à l'hypothèse protéique. Ce concept a en effet un contenu idéologique fort : l'acide nucléique jouerait un rôle fonctionnel non par l'action du produit pour lequel il code mais par la conformation que lui, acide nucléique, adopterait et qui conditionnerait celle de la protéine prion. En d'autres termes, tout ne serait qu'un jeu de conformations. Quelle nécessité, dans ces conditions, y a-t-il à imaginer la présence d'un acide nucléique ? En quoi est-il plus satisfaisant de penser que la conformation d'une protéine puisse être affectée par son interaction avec un acide nucléique plutôt qu'avec une macromolécule protéique du même type (hypothèse de Prusiner) ? L'hypothèse du *virino* rappelle les querelles soulevées il y a quelques années à propos de la biogénèse du centrosome. Le problème consistait à savoir si cette organite d'une complexité structurale extrême contenait ou non de l'ARN. On sait aujourd'hui qu'un tel composant est marginalement présent. Personne ne lui attribue plus le moindre rôle moteur dans la biogénèse du centrosome, celle-ci constituant l'exemple type, à l'échelle de l'organite, du phénomène d'héritage structural (dans lequel une structure préexistante conditionne la mise en place d'une structure fille, dépassant en cela les simples processus d'auto-assemblage).

Il est illégitime de conférer à l'hypothèse du *virino* des vertus qui surpasseraient celles de l'hypothèse protéique. Cette idée pourrait même relever du paradoxe : alors qu'il est facile (au moins dans le principe) d'imaginer comment la combinatoire d'états d'association multiples de la protéine prion pourrait engendrer le phénomène de souche, il est beaucoup plus difficile d'admettre que quelques mutations portées par un petit acide nucléique interagissant avec une protéine puissent conférer au complexe ainsi formé une trentaine de conformations distinctes ayant chacune ses propres caractéristiques de pathogénicité.

L'hypothèse protéique est-elle iconoclaste ?

Selon un article récent [3], nous ne saurions comment une protéine naturelle peut devenir infectieuse. Il me semble au contraire que nous possédons tous les éléments d'explication, l'interrogation (essentielle) qui demeure étant de savoir si l'ensemble de ces éléments s'applique au cas de la protéine prion. Les exemples où une protéine cellulaire anormale engendre des dysfonctionnements majeurs ne manquent pas. Naturellement, dans les cas les plus connus, la déficience se propage par le gène dans laquelle elle est inscrite. Le problème est de savoir si d'autres mécanismes ne peuvent également exister, en particulier celui imaginé par Prusiner dans lequel la conformation anormale adoptée par la protéine prion se transmettrait aux autres protéines normales du même type. Dans l'hypothèse où le bien-fondé d'un tel mécanisme aurait été démontré pour d'autres protéines, serait-il légitime, au vu de l'ensemble des données accumulées depuis une vingtaine d'années sur les prions, de le considérer en l'espèce comme *a priori* irréaliste ?

Au moins trois cas analogues ont été décrits dans la littérature. Je n'évoquerai ici que pour mémoire (parce que le plus connu) celui des déterminants URE3 et *psi* chez la levure (*m/s* n° 6-7, vol. 10, p. 736) [7-10]. Une observation troublante a par ailleurs

été rapportée à propos de la protéine p53 et de l'un de ses mutants. Lorsque les protéines sauvage et mutante sont co-traduites, la protéine mutante peut induire, de manière coopérative, le changement de conformation de la protéine sauvage vers celle de la forme mutante. Ce processus résulterait d'une interaction entre les chaînes polypeptidiques en cours de biosynthèse et les protéines mûres [11]. Un tel mécanisme est réminiscent de l'hypothèse chaperonne [12] évoquée dans le cas de la protéine prion. Cependant, le cas le plus spectaculaire (car étudié *in vitro*, à partir de protéines purifiées) mais aussi le plus ancien est celui de la flagelline bactérienne. Une mutation ponctuelle confère à cette protéine une structure tertiaire différente (qualifiée de *curly*) de celle de la protéine sauvage. On sait polymériser la flagelline pour reconstituer *in vitro* un flagelle. Lorsque les expériences sont réalisées en présence de protéine *curly*, celle-ci transmet et impose sa conformation particulière à l'ensemble des protéines constitutives du flagelle [13-15]. Un tel processus est-il si différent de celui du modèle de nucléation proposé dans le cas de la protéine prion [16-18] ?

La communauté française s'intéressant aux prions a toujours manifesté un scepticisme marqué vis-à-vis de l'hypothèse protéique. Probablement faut-il y voir le poids de notre héritage culturel. L'hypothèse de Prusiner – une protéine « instruirait » directement une autre protéine à devenir pathogène – a des réminiscences lamarckiennes qui, dans notre inconscient, restent le symbole de la défaite de la pensée scientifique française. C'est Jacques Monod qui, au tournant des années 1950, a rendu à la biologie de notre pays une partie de son prestige et de son lustre passé. Son œuvre a été essentielle dans l'établissement de l'intangible principe selon lequel l'ADN et l'ARN seraient les dépositaires de l'information biologique. L'hypothèse échafaudée par Prusiner écorne sensiblement le dogme, ce qui pourrait expliquer la levée de boucliers de la part des gardiens du temple.

Le mécanisme de Prusiner est-il thermodynamiquement réaliste ?

Il y a un certain paradoxe à constater que ce sont des chercheurs prenant au sérieux l'hypothèse protéique – qui plus est des chercheurs théoriciens – qui ont, jusqu'à présent, donné l'argument le plus fort montrant l'insuffisance du mécanisme simple imaginé par Prusiner [19, 20]. Eigen a ainsi souligné [21] que pour rendre compte des cinétiques d'infection et des durées d'incubation observées, le rapport de vitesses des processus de conversion spontané et de changement de conformation assisté (par la forme pathogène déjà présente) devrait atteindre 10^{15} . Ce rapport dépasse de plusieurs ordres de grandeur ce que l'on connaît des transformations catalysées les plus efficaces, dans l'hypothèse d'une conversion assistée par la forme monomérique de la protéine prion pathogène. Le modèle alternatif de nucléation pose, selon Eigen, des difficultés du même ordre. L'exceptionnelle rareté des cas sporadiques des maladies à prions suppose en effet que la protéine normale franchisse d'elle-même une barrière d'énergie considérable (comme tout catalyseur, la forme anormale déjà présente abaisse fortement cette barrière). Il ne viendrait à l'idée de personne d'imaginer qu'en sautant dans notre jardin, il puisse arriver, même dans un nombre infime de cas, qu'un de ces sauts nous propulse sur le toit de notre maison. C'est pourtant, thermodynamiquement parlant, ce qu'il faudrait admettre dans le schéma élémentaire de Prusiner.

Ces contradictions peuvent être levées en considérant deux éléments absents des modèles originaux. Le premier a trait à l'existence possible d'une double coopérativité dans le mécanisme autocatalytique de la conversion assistée par une forme oligomérique de la protéine pathogène [22]. Le second élément concerne l'émergence possible de propriétés dynamiques de bistabilité dans le métabolisme et la circulation de la protéine prion. Ce point a été souligné simultanément et de manière convergente

par plusieurs théoriciens [21, 23-25]. La notion de seuil, inhérente à l'approche dynamique, est probablement ce qui différencie le plus une infection virale d'un mécanisme de type protéique. L'existence de tels seuils a été soulignée expérimentalement à de multiples reprises, une « particule infectieuse minimum » renfermant un grand nombre d'exemplaires de la forme anormale de la protéine prion (et non un seul, comme le laisserait croire le mécanisme statique).

C'est la faute à Buffon...

Théories et modèles ne démontreront jamais le bien-fondé de l'hypothèse protéique. Si une telle démonstration doit un jour être donnée, elle ne pourra venir que de travaux expérimentaux. Des études de ce type, en définissant les contraintes et les limites de validité d'une telle hypothèse, devraient, en revanche, guider l'expérimentation. Cette vue demeure, en l'état actuel des choses, pour le moins utopique. Les théoriciens font rarement l'effort de publier (ils sont d'ailleurs rarement admis à le faire) dans des journaux expérimentaux et les expérimentateurs sont dans l'incapacité manifeste (à quelques exceptions remarquables près) de comprendre la portée et l'intérêt des modèles. Le rejet par les biologistes français de la formalisation a des racines profondes. Ainsi Buffon écrivait-il déjà [26] : « Certains sujets sont beaucoup trop complexes pour pouvoir être traités utilement par les mathématiques et, parmi eux, ceux qu'envisagent l'histoire naturelle. Observation et comparaison sont les méthodes appropriées. » Il est malgré tout possible de se demander quels seraient, hors de la théorie, les fondements d'une recherche empirique de lois générales, alors que la portée de l'expérience est par essence limitée au cadre protocolaire dans lequel celle-ci aura été menée. Il est à vrai dire relativement facile de cerner les causes du divorce : les résultats expérimentaux d'aujourd'hui sont interprétés dans le langage des théories d'hier qui auraient elles-mêmes paru tout à fait inintelligibles quelques décennies auparavant. Le recours au formalisme mathématique est aussi nécessaire lorsque la logique devient trop com-

plexe pour pouvoir être clairement perçue et exprimée par de simples mots. Ainsi, la proposition : « Pierre, qui avait treize ans lorsque Jean est né, est aujourd'hui deux fois plus âgé que Jean ne l'était lorsque Pierre avait dix ans de plus que l'âge actuel de Jean » risque de paraître assez obscure pour qui veut connaître l'âge de Pierre (sans jeu de mots), en se passant du recours à des équations. Il ne faudrait guère plus de quelques secondes à un mathématicien pour en déduire que Pierre a aujourd'hui 32 ans. Il est hélas vraisemblable que le refus des mathématiques par de nombreux biologistes relève de la seule crainte de la dépossession. Dans le domaine particulier des prions, cette attitude fleure l'obscurantisme, en regard des nombreuses incertitudes qui demeurent et des contradictions que cette approche permet de lever ■

RÉFÉRENCES

- Lasmézas CI, Deslys JP, Robain O, Jaegly A, Beringue V, Peyrin JM, Fournier JG, Hauw JJ, Rossier J, Dormont D. Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein. *Science* 1997; 275: 402-5.
- Kahn A. Quel est le rôle physiopathologique de la protéine prion PrP^{Sc} dans l'encéphalopathie spongiforme bovine? *Med Sci* 1997; 13: 287-8.
- Lasmézas CI, Deslys JP, Dormont D, Robain O. L'agent secret des maladies à prions. *La Recherche* 1997; 299.
- Bessen RA, Kocisko DA, Raymond GJ, Nandan S, Lansbury PT, Caughey B. Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature* 1995; 375: 698-700.
- Telling GC, Parchi M, DeArmond SJ, Cortelli P, Montagna P, Gabizon R, Mastrianni J, Lugaesi E, Gambetti P, Prusiner SB. Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity. *Science* 1996; 274: 2079-82.
- Weissmann C. Molecular biology of prion diseases. *Trends Cell Biol* 1994; 4: 10-4.
- Wickner RB. URE3 as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 1994; 264: 566-9.
- Masison D, Wickner RB. Prion-inducing domain of yeast Ure2p and protease resistance of Ure2p in prion-containing cells. *Science* 1995; 270: 93-5.
- Cox B. Prion-like factors in yeast. *Curr Biol* 1994; 4: 744-8.
- Glover JR, Kowal AS, Schirmer EC, Patino MM, Liu JJ, Lindquist S. Self-seeded fibers formed by Sup35, the protein determinant of PSI+, a heritable prion-like factor of *S cerevisiae*. *Cell* 1997; 89: 811-9.
- Milner J, Medcalf EA. Cotranslation of activated mutant p53 with wild type drives the wild-type p53 protein into the mutant conformation. *Cell* 1991; 65: 765-74.
- Liautard JP. Les prions sont-ils des protéines chaperonnes mal repliées? *Med Sci* 1992; 8: 55-7.
- Asukura S, Eguchi G, Iino T. *Salmonella* flagella: *in vitro* reconstitution and over-all shapes of flagellar filaments. *J Mol Biol* 1966; 16: 302-16.
- Iino T. Assembly of *Salmonella* flagellin *in vitro* and *in vivo*. *J Supramol Struct* 1974; 2: 372-84.
- Mimori-Kiyosue Y, Vonderviszt F, Yamashita I, Fujiyoshi Y, Namba K. Direct interaction of flagellin termini essential for polymorphic ability of flagellar filament. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15108-13.
- Come JH, Fraser PE, Lansbury PT. A kinetic model for amyloid formation in the prion diseases: importance of seeding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5959-63.
- Jarrett JT, Lansbury PT. Seeding « one-dimensional crystallization » of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 1993; 73: 1055-8.
- Kocisko DA, Priola SA, Raymond G, Chesebro B, Lansbury PT, Caughey B. Species specificity in the cell-free conversion of prion protein to protease-resistant forms: a model for the scrapie species barrier. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3923-7.
- Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
- Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991; 252: 1515-52.
- Eigen M. Prionics or the kinetic basis of prion diseases. *Biophys Chem* 1996; 63, A1-8.
- Laurent M. Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases. *FEBS Lett* 1997; 407: 1-6.
- Laurent M. Les maladies à prions: l'hypothèse de la « protéine seule » et ses conséquences dynamiques. *Med Sci* 1996; 12: 774-85.
- Laurent M. Prion diseases and the « protein only » hypothesis: a theoretical dynamic study. *Biochem J* 1996; 318: 35-9.
- Kacser H, Small JR. How many phenotypes from one genotype? The case of prion diseases. *J Theoret Biol* 1996; 182: 209-18.
- Buffon GL. *Œuvres philosophiques*. Paris: Presses Universitaires de France, 1954.

Michel Laurent

Directeur de recherche au Cnrs, Service d'imagerie cellulaire, Bât. 440, Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, France.

TIRÉS À PART

M. Laurent.

5^e NAT (Nantes/Actualités/Transplantation) 11-12 juin 1998 - Nantes (France)
Gene Transfer in Transplantation