Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 87 (1996)

Heft: 1

Artikel: Molekulare Grundlagen der Prionerkrankungen = Molecular basis of

prion diseases

Autor: Oesch, Bruno

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982065

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Molekulare Grundlagen der Prionerkrankungen*

Molecular Basis of Prion Diseases

Key words: Prion, Neurodegenerative disease, PrP, Spongiform encephalopathy

Bruno Oesch Institut für Hirnforschung, Universität Zürich

Einleitung

Prionen verursachen bei Mensch und Tier degenerative Krankheiten des Nervensystemes, welche auch spongiforme Enzephalopathien oder Prionerkrankungen genannt werden. Die menschlichen spongiformen Enzephalopathien (Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom, Kuru) wurden in der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts beschrieben (für eine ausführliche Darstellung der Geschichte der spongiformen Enzephalopathien siehe den Artikel von B. Hörnlimann in diesem Heft). Die Traberkrankheit (engl. scrapie) wurde schon Mitte des letzten Jahrhunderts erkannt und als eine Nervenkrankheit beschrieben. Relativ neu (ca. 1985) ist die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE; Rinderwahnsinn) bei Kühen (1). Lange Zeit war umstritten, ob die Ursache der spongiformen Enzephalopathien ein genetischer Defekt oder ein infektiöser Erreger ist. Es konnten Schafarten gezüchtet werden, bei denen die Traberkrankheit nie oder nur selten auftrat. Somit suchte man die Ursachen in den Erbanlagen der Schafe. Andererseits konnte die Krankheit durch Einspritzen von Geweben kranker Tiere übertragen werden, wobei allerdings eine ungewöhnlich lange Zeit von der Infektion bis zum Ausbruch der Krankheit (Inkubationszeit) verstrich. Bei menschlichen SE wurden Inkubationszeiten bis zu 20 Jahren gefunden. Diese ungewöhnlich lange Zeit von der Ansteckung bis zum Ausbruch der Krankheit ist ein typisches Merkmal von spongiformen Enzephalopathien.

All diese Prionerkrankungen sind charakterisiert durch das Absterben von Nervenzellen sowie der Hypertrophie von Gliazellen (2). Auf der mikroskopischen Ebene sind schwammartige Veränderungen sichtbar, daher die Bezeichnung

^{*} Vortrag gehalten an der 28. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Zürich, 23. November 1995

«spongiform». Während die Nervenzellen durch programmierten Zelltod sterben, nimmt die Zahl der reaktiven Astrozyten, die GFAP (glial fibrillary acidic protein) produzieren, stark zu. Es ist zurzeit umstritten, ob die Aktivierung von Astrozyten eine primäre Folge der Infektion mit Prionen oder eine Reaktion auf den Nervenzelltod ist. In verschiedenen Krankheitsbildern, wie z. B. einer Hypoxie (Unterversorgung des Gehirnes mit Sauerstoff) oder einer direkten Verletzung des Gehirnes, werden Astrozyten als Reaktion auf Nervenzelltod aktivert. Bei Prionerkrankungen tritt jedoch die Aktivierung von Astrozyten vor dem Nervenzelltod auf, was zur Hypothese geführt hat, dass die Infektion von Gliazellen zu deren Aktivierung führt, welche dann die Ursache für den beobachteten Nervenzelltod sein könnte. Aufgrund der langen Inkubationszeit ist es sehr schwierig, Ursache und Folgen zu unterscheiden.

Reinigung und Charakterisierung des infektiösen Partikels

Die Behandlung von infektiösen Hirnextrakten mit verschiedenen Methoden wurde dazu verwendet, die Eigenschaften des Erregers zu erforschen. Ionisierende Strahlung inaktivierte den Erreger, jedoch war die benötigte Dosis ausserordentlich hoch. Daher wurde die Grösse des Erregers auf ca. 60 kDa geschätzt (3). Dies ist mindestens 10fach kleiner als jedes andere infektiöse Partikel, wie z. B. Bakterien, Viren oder Viroide. Zusätzlich war die Inaktivierung durch ultraviolette Strahlung charakteristisch für einen Lipid-Eiweiss-Komplex ohne Hinweise auf die Beteiligung von Nukleinsäuren. Die ungewöhnlich kleine Grösse und die scheinbare Abwesenheit von Nukleinsäuren als Träger von Erbinformation unterscheiden diese infektiösen Partikel von anderen bekannten Krankheitserregern. Die biochemische Reinigung des infektiösen Partikels ergab dann als einzige Komponente ein Protein genannt Prionprotein (PrP; (4)). Das Molekulargewicht von PrP war ca. 27–30 kDa, also etwa halb so gross wie die geschätzte Grösse des Erregers. Dieses Protein wurde nur in infizierten Tierhirnen gefunden.

Dies führte zur scheinbar paradoxen Situation, dass ein erregerspezifisches Eiweiss nicht im Erreger kodiert ist. Die Klonierung des PrP-Genes zeigte dann, dass das Gen im Genom von normalen Tieren vorhanden ist und dass das Prionprotein in verschiedenen Geweben des normalen Tieres wie Hirn, Lunge oder Milz auch produziert wird (4–7). Der Unterschied zwischen dem normalen zellulären Prionprotein (PrP^C) und dem krankheitsassoziierten PrP (PrP^{Sc}) bestand in der Resistenz des letzteren gegen Proteasen. Weiter zeigte PrP^{Sc} eine erhöhte Sedimentation in Dichtegradienten. Beide Eiweisse hatten scheinbar die gleiche Aminosäurenzusammensetzung (8). Spektroskopische Untersuchungen bewiesen dann, dass die dreidimensionale Anordnung der Peptidketten unterschiedlich ist: PrP^C besteht vornehmlich aus α-helikalen Anordnungen der Peptidkette (42%), während PrP^{Sc} zu ca. 43% aus β-Faltblattstruktur besteht (9). Aufgrund von Experimenten in Zellkulturen wurde nachgewiesen, dass PrP^{Sc} posttranslationell aus PrP^C hervor-

geht (10). Das gegenwärtige Modell besagt deshalb, dass PrP^C durch eine konformationelle Änderung zu PrP^{Sc} wird.

Die Zusammensetzung des infektiösen Partikels

Wie oben beschrieben wurde PrPSc nur im Zusammenhang mit Infektiosität gefunden. Es stellte sich deshalb die Frage, ob dieses proteaseresistente Prionprotein nur ein Teil oder vielleicht sogar das gesamte infektiöse Partikel darstellt. Aus den Inaktivierungsexperimenten ergibt sich der Schluss, dass der Erreger vor allem aus Eiweiss bestehen muss. Es wurden deshalb auch verschiedenste Strukturen vorgeschlagen, wie z. B. ein sich vermehrendes Membranstück oder ein membrangebundenes Eiweiss (11). Letztere Idee wurde von Prusiner aufgenommen. Er prägte den Ausdruck «Prion», der für «proteinaceous infectious particle» steht (12). Als Gegenhypothese wurde ein Partikel vorgeschlagen, das PrPSc als Hülle für eine erregerspezifische Nukleinsäure benutzt (virino; (13)). Der Grund für letztere Hypothese liegt in bestimmten Eigenschaften, die man als genetische Information interpretieren kann. Verschiedene Stämme von Erregern bewirken die unterschiedliche Schädigung von Hirnregionen oder eine unterschiedliche Inkubationszeit, obwohl der gleiche Mausstamm als Wirt verwendet wurde (14, 15). Dies kann man als Erbinformation betrachten, die im Erreger kodiert sein muss und die nach Stand der heutigen Forschung in Nukleinsäure festgeschrieben sein sollte. Diese Hypothese steht jedoch in Widerspruch zu den Inaktivierungsexperimenten (3) wie auch den vergeblichen Versuchen spezifische Nukleinsäuren im Erreger nachzuweisen (16–18). Dazu gibt es zwei Lösungen: (1) die genetische Information könnte in einer Nukleinsäure gespeichert werden, die sehr klein ist und deshalb noch nicht entdeckt wurde. Sedimentationsstudien von infektiösen Partikeln scheinen dies zu belegen (19). Es fehlt jedoch der schlüssige Beweis in der Form einer definierten Nukleotidsequenz. Zusätzlich braucht eine erregerassoziierte Nukleinsäure nicht notwendigerweise das Gen für die Infektiosität zu enthalten, sondern könnte nur Eigenschaften wie die Inkubationszeit bestimmen (20). Die Zerstörung der Nukleinsäure würde deshalb nur bestimmte Eigenschaften verändern, jedoch nicht zu einer Reduktion der Infektiosität selbst führen (21). Als Alternative (2) würde der Erreger keine Nukleinsäure enthalten, die genetische Information würde jedoch in einem anderen Molekül gespeichert. Das einzige bis heute mit dem Erreger assoziierte Molekül ist das krankheitsspezifische Prionprotein PrPSc. Gereinigte infektiöse Partikel können auch mit Antikörpern gegen das Prionprotein neutralisiert werden. Wenn ein Hirnextrakt mit Proteasen behandelt wird, bleibt PrPSc und die Infektiosität aus dem infizierten Tier erhalten, während das Prionprotein aus dem normalen Tier vollständig zerstört wird (6). Diese Veränderung des normalen PrP zum proteaseresistenten PrP^{Sc} wäre der Grund für die Infektiosität. Eine solche Art der genetischen Informationsweitergabe wurde in der Hefe S. cerevisiae gefunden. Zwei Mutanten (URE3 und PSI) werden durch nichtmendelische Vererbung an nachfolgende Generationen weitergegeben (22, 23). Nach Identifizierung der beteiligten Eiweissmoleküle wurde klar, dass die genetische Information für diese Proteine im Hefegenome gespeichert ist. Die ungewöhnliche Art der Propagation der Mutation scheint darin zu liegen, dass ein mutiertes Eiweiss eine andere Konformation der Eiweisskette hat und diese auch dem normalen Eiweiss aufzwingen kann. Somit wird genetische Information mittels einer Änderung der 3dimensionalen Anordnungen der Proteinkette weitergegeben. Für die genetische Information von Prionen müsste deshalb postuliert werden, dass das PrPSc in verschiedenen Konformationen vorliegen kann und dass diese konformationelle Information dann weitergegeben würde. Da heute bis zu 20 verschiedene Stämme von Scrapie in Mäusen bekannt sind, scheint es unwahrscheinlich, dass diese Informa-

tion in verschiedenen Konformationen gespeichert werden kann.

Als Alternative könnten andere Moleküle die Träger der Erbinformation sein. Die kovalent gebundenen Zuckerketten des PrPSc sind zwar nicht notwendig für die Infektiosität, könnten jedoch solche Zusatzinformationen enthalten. Da die Struktur der Zuckerketten sehr komplex ist, wäre es möglich, dass die Zelle, die das spezifische PrPSc produziert hat, in der Anordnung der verschiedenen Zuckerbausteine spezifiziert, dass dieses PrPSc in einem anderen Tier wieder den gleichen Zelltyp infiziert. Durch den Befall unterschiedlicher Nervenzelltypen und/oder Hirnregionen könnten die unterschiedlichen Eigenschaften von Erregerstämmen erklärt werden. Es gibt Hinweise, dass bestimmte Erregerstämme reproduzierbar zuerst bestimmte Hirnregionen befallen (24). Als letzte Möglichkeit zur Erbinformationsspeicherung kommen auch Moleküle in Betracht, die mit PrPSc assoziiert sind. So wurden in Ablagerungen von PrPSc im infizierten Hirn Proteoglykane gefunden (25, 26). Diese hochmolekularen Substanzen bestehen aus einem Proteinrückgrat, an das Zuckerreste gebunden sind. Prioninfizierte Zellen konnten durch Behandlung mit Glykansulfaten daran gehindert werden, PrPSc zu machen (27). Glykansulfate entsprechen dem Zuckerteil bestimmter Proteoglykane. Es ist jedoch nicht bekannt, ob auch die Infektiosität reduziert wurde. Weitere Kandidaten als Träger von Erbinformationen sind Lipide und Proteinfragmente, die in gereinigten Präparaten von Prionen identifiziert wurden (8, 28). Für alle diese Zusatzmoleküle ist es jedoch nicht klar, ob sie für die Infektiosität benötigt werden und wie sie Erbinformation speichern könnten.

Genetische Aspekte von Prionerkrankungen

Das Gen für das Prionprotein wurde in verschiedensten Säugetieren (Mensch, Affe, Ratte, Maus, Kuh, Schwein, Nerz, Antilopen, Katze, Kaninchen) wie auch Vögeln (Huhn) und Beuteltieren identifiziert. Die PrP-Gene von Säugern sind sowohl auf Nuklein- wie Proteinebene sehr ähnlich, während das Hühner-PrP bis auf eine Region in der Mitte des Proteines stark vom Säuger-PrP abweicht. Die homologe Region des Hühner-PrP ist jedoch in 24/24 Aminosäuren identisch mit dem Maus-PrP (ILn/J Allel). Die Erhaltung des PrP-Genes in verschiedenen Spezies würde auf eine wichtige Rolle von PrP hindeuten. Es gibt jedoch heute

einen Mausstamm (mit der Zusatzbezeichnung «PrP null»), der aufgrund genetischer Manipulation kein Gen für PrP mehr enthält und sich trotzdem nur wenig von einer normalen Maus unterscheidet (29, 30). Dies bedeutet, dass PrP entweder unwichtig ist oder dass andere Proteine seine Funktion übernehmen können. In einer wichtigen Eigenschaft unterscheiden sich jedoch PrP-null-Mäuse von normalen Mäusen: Sie können nicht mehr durch Prionen infiziert werden (31). Auch nach Infektion mit einer für normale Mäuse tödlichen Dosis an Erregern produzieren diese Mäuse weder den Erreger noch werden sie krank. Die Produktion des Prionproteines ist deshalb absolut notwendig für die Infektion und/oder Vermehrung des Erregers.

Die wichtige Rolle des Prionproteins wird durch die genetische Analyse familiärer spongiformer Enzephalopathien weiter belegt. Das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) tritt familiär gehäuft auf. Nach Untersuchung des PrP-Genes in verschiedenen Familien ist heute klar, dass eine Mutation im PrP-Gen an GSS gekoppelt ist (32). Durch eine Mutation wurde die Aminosäure Prolin an der Position 102 durch ein Leucin ersetzt. Alle Nachkommen, die ein PrP-Gen mit einem Leucin hatten, hatten in der Folge auch die Krankheit. In der Zwischenzeit gibt es eine ganze Reihe von Mutationen im PrP-Gen, die mit verschiedenen familiären Prionerkrankungen gekoppelt sind (Tabelle 1). Mutationen im Bereich

Tabelle 1. Mutationen im PrP-Gen, die an das Vorkommen von Prionerkrankungen gekoppelt sind. Das normale PrP-Gen hat 5 Wiederholungen einer 8 Aminosäuren langen Sequenz. Wird die Anzahl dieser Oktorepeats durch ungleiche Rekombination erhöht, tritt familiäre CJD auf. Die Mutation an Kodon 178 ist je nach Aminosäure an Position 129 an CJD oder FFI gekoppelt. Für weitere Erklärungen siehe Text

Position in PrP	Mutation	Krankheit
zwischen Aminosäuren 51 und 91	Zusätzliche Wiederholungen normal: 5 Octarepeats krankheitsassoz.: 7–14 Octarepeats	familiäre CJD ^a
102 105 117 145 217	Pro -> Leu Pro -> Leu Ala -> Val Tyr -> Stop Gln -> Arg	ataxic GSS GSS telencephalic GSS GSS GSS
178; <i>129</i> 178; <i>129</i> 198 200	Asp -> Asn; Val Asp -> Asn; Met Phe -> Ser Glu -> Lys	CJD FFI fCJD mit NFT ^b fCJD

^a Abkürzungen: CJD = Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung;

GSS = Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Erkrankung; FFI = familial fatal insomnia NFT = neurofibrillary tangles; normalerweise ein Merkmal der Alzheimerschen Erkrankung.

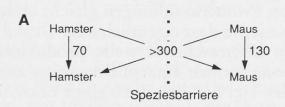
der Aminosäuren 100-150 resultieren vorwiegend in Symptomen charakteristisch für das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom, während Mutationen in anderen Bereichen des PrP-Genes vor allem zu familiären Creutzfeldt-Jakob-Erkrankungen (fCJD) führen. Eine Gruppe von Mutationen um Position 200 scheint mit Merkmalen der Alzheimerschen Krankheit wie «neurofibrillary tangles» gekoppelt zu sein. Ein interessanter Fall ist auch die Mutation an Position 178. Bei einigen Familien mit dieser Mutation tritt familiäre CJD mit typischen Symptomen, wie z. B. Gedächtnisverlust auf, während die gleiche Mutation in anderen Familien zu «fatal familial insomnia» (FFI) führt. FFI ist charakterisiert durch progressive Schlaflosigkeit und endet mit dem Tode. Die gleiche Mutation scheint deshalb zu verschiedenen Krankheiten zu führen. Die Ursache für die unterschiedlichen Symptome bei der Kodon 178 Mutation sind an einen Polymorphismus an Position 117 des PrP-Genes gekoppelt. Dieser Polymorphismus ist selbst nicht mit einer Krankheit assoziiert. Zusammen mit der Mutation an Kodon 178 spezifiziert ein Met 117 jedoch FFI, Val 117 dagegen fCJD (33). Es scheint somit, dass Polymorphismen in der Proteinsequenz des PrP den Phänotyp der Erkrankung bestimmen. Bemerkenswert ist auch, dass diese familiären Krankheiten erst sehr spät im Leben auftreten, obwohl das veränderte PrP-Gen ja von Anfang an im Organismus

vorhanden ist und auch exprimiert wird.

Die familiäre Form von Prionerkrankungen gleicht anderen Erbkrankheiten, wie z. B. der Sichelzellanämie, so dass eigentlich kein Grund besteht, einen infektiösen Erreger zu suchen. Überraschenderweise produzieren Patienten mit der genetischen Form der spongiformen Enzephalopathien auch Prionen, die nach Einspritzen in ein normales Tier bei diesem zu einer Erkrankung führen (34–36). Das Rätsel für die Wissenschaft besteht nun darin, wieso bei einer scheinbar genetischen Krankheit ein übertragbarer Erreger produziert werden kann. Eine mögliche Erklärung lautet, dass das Prionprotein nur bestimmt, wie empfindlich das spezielle Tier für den richtigen, bis heute unbekannten Erreger der spongiformen Enzephalopathien ist. Da Personen mit einem veränderten PrP-Gen fast ausnahmslos krank werden, müsste der Erreger universell vorhanden sein. Als Alternative muss man postulieren, dass die Mutation in der Aminosäuresequenz dafür verantwortlich ist, dass ein krankheitsmachendes Eiweiss produziert wird. Da die Creutzfeldt-Jakobsche Krankheit auch spontan auftritt, scheint die Umwandlung des normalen PrP in PrPSc mit einer gewissen, wenn auch geringen Wahrscheinlichkeit spontan möglich zu sein. Dabei würde eine Veränderung in der Aminosäuresequenz die Wahrscheinlichkeit erhöhen, dass ein infektiöses Eiweiss entsteht (37). Ist PrPSc einmal entstanden, könnte es auf das normale Prionprotein Einfluss nehmen und in die krankmachende Form umwandeln. Dies würde auch erklären, wieso dann die Krankheit übertragen werden kann. In einer Kettenreaktion würde dies zu einer massiven Vermehrung des infektiösen Partikels führen.

Wenn die letztere Hypothese zutrifft, würde man erwarten, dass bei der Ubertragung von einer Spezies auf eine andere die spezifischen Eigenheiten des arteigenen PrP-Genes eine Rolle spielen würden. In der Tat wurde eine solche Abhängigkeit (genannt die Speziesbarriere) gefunden (Abb. 1A). Bei der Übertragung von hamsteradaptierten Erregern auf die Maus wurde eine wesentliche Verlängerung

der Inkubationszeit von ca. 70 auf über 300 Tage festgestellt. Das gleiche gilt auch in der umgekehrten Richtung. Wurde aber eine transgene Maus, die sowohl Hamster- wie auch Maus-PrP produziert, mit hamsteradaptierten Erregern infiziert, war die Inkubationszeit ähnlich wie nach einer Infektion von einem Hamster (60-100 Tage; Abb. 1B; (38)). Die Inkubationszeit für die Infektion der transgenen Mäuse mit mausadaptierten Prionen war ungefähr gleich. Bei der Analyse des Erregers, der in diesen transgenen Mäusen produziert wurde, kam es zu einer Überraschung: Transgene Mäuse, die mit Hamsterprionen infiziert worden waren, produzierten vor allem wieder Hamsterprionen, während das Umgekehrte bei der Infektion mit Mausprionen der Fall war (Abb. 1B). Der infizierende Erreger sucht sich demzufolge das artengleiche Prionprotein aus, um daraus neue Erreger zu produzieren. Die Aminosäuresequenz des Hamster- und Maus-PrP-Genes unterscheiden sich an 16 von 253 Stellen. Durch den Austausch von verschiedenen Stücken dieser zwei Gene wurde dann bestimmt, dass die für die Speziesbarriere wichtige Region im Bereich der Aminosäuren 120–170 liegen muss (39). Je ähnlicher die PrP-Moleküle zweier Spezies in dieser Region sind, desto leichter können Prionen die Spezierbarriere überqueren. Leider fehlt aber ein genaues Modell, um den Einfluss einzelner unterschiedlicher Aminosäuren voraussagen zu können.



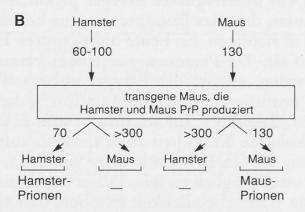


Abb. 1. Darstellung der Speziesbarriere. (A) Während die Übertragung innerhalb derselben Spezies relativ effizient ist, führt die Infektion über die Speziesgrenze hinweg zu wesentlich längeren Inkubationszeiten. (B) Die Inokulation einer transgenen Maus, die sowohl Hamster- wie Maus-PrP produziert, scheint ähnlich effizient zu sein wie die Übertragung innerhalb der gleichen Spezies. Die Expression von Hamster-PrP in der Maus hat die Speziesbarriere für Hamsterprionen aufgehoben. Werden die Prionen aus der transgenen Maus wieder in Mäuse oder Hamster iniziert, wird klar, dass die transgene Maus die Speziesspezifizität erhalten hat, d. h. nach Infizierung der transgenen Maus mit Hamsterprionen werden vor allem Hamsterprionen produziert.

Wichtige Faktoren bei der Übertragung von Prionen

Wie wir oben gesehen haben, bestimmt die Aminosäuresequenz des artspezifischen PrP-Genes, wie effizient eine Infektion mit einem Erreger aus einer anderen Art ist. Obwohl wir die Sequenzen verschiedener PrP-Gene heute kennen, ist es jedoch nicht möglich, eine Prognose abzugeben, ob die Übertragung von z. B. Rinderwahnsinn auf den Menschen einfach oder schwierig ist. Es wurden deshalb transgene Mäuse gemacht, die das menschliche Prionprotein exprimieren. Solche Mäuse können in der Tat leichter mit menschlichen Prionen infiziert werden (40). Solche transgenen Mäuse werden jetzt mit Rinderprionen infiziert, um abzuschätzen, wie stark die Speziesbarriere ist. Trotzdem werden wir uns nicht völlig auf die Resultate dieser Experimente verlassen können, da inzwischen klar ist, dass wirtseigene Gene eine Rolle spielen (40).

Ein zweiter wesentlicher Faktor ist die Dosis, mit der infiziert wird. Die Inkubationszeit ist umgekehrt proportional zur Dosis (Abb. 2). Je höher die Dosis, desto kürzer die Inkubationszeit. Es gibt jedoch eine minimale Inkubationszeit, die nicht unterschritten werden kann. Diese minimale Inkubationszeit hängt von der Spezies wie auch vom Infektionsweg ab. Bei intrazerebraler Injektion beträgt sie

beim Hamster ca. 65 Tage, bei der Maus 130 Tage.

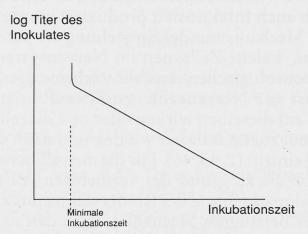


Abb. 2. Inkubationszeittest. Der Titer des Inokulates ist umgekehrt proportional zur resultierenden Inkubationszeit. In einem Standardassay kann deshalb aus der Inkubationszeit auf die Menge von Prionen zurückgeschlossen werden. Es gilt jedoch zu beachten, dass eine minimale Inkubationszeit (MI) nicht unterschritten werden kann. Diese MI ist von der Spezies wie auch vom Inokulationsweg abhängig (für Details siehe Text).

Als dritter Faktor ist der Infektionsweg wichtig. Die kürzesten Inkubationszeiten werden nach intrazerebraler (i.c.) Injektion beobachtet, während intravenöse (i.v.), intraperitoneale (i.p.) oder subkutane (s.c.) Infektionen wesentlich längere Inkubationszeiten bewirken. Bei der Maus beträgt die relative Effizenz 1 (i.c.), 0,11 (i.v.), 0,0023 (i.p.) und 0,4 x 10⁻⁶ (s.c.) (41). Weitere Faktoren für die Inkubationszeit werden vom Wirt spezifiziert: Das q-Allel der D-Region des Histokompatibilitätskomplexes der Maus ist genetisch mit kürzeren Inkubationszeiten verknüpft (42).

Bei einer neueren familiären menschlichen Prionerkrankung (progressive subcortical gliosis) wurden zwar PrP^{Sc}-Ablagerungen gefunden, die Krankheit war genetisch jedoch nicht mit dem PrP-Gen verknüpft, sondern mit einem Komplex (DDPAC) auf Chromosom 17 (43). Es ist somit klar, dass noch nicht alle Faktoren, die den Phänotyp der Prionerkrankungen bestimmen, molekular bekannt sind. Voraussagen bezüglich der Übertragung innerhalb der gleichen oder zwischen verschiedenen Spezies sind deshalb immer mit einer grossen Unsicherheit behaftet.

Zukunftsperspektiven

Verschiedene wesentliche Fragen zu den Prionerkrankungen sind noch offen. Die wichtigste Frage ist wohl, wie das minimale infektiöse Partikel zusammengesetzt sei. Sollte es sich wirklich nur um ein verändertes Wirtsprotein handeln, müsste man Infektiosität im Reagenzglas herstellen können, indem man die Konformation des normalen Prionproteines ändert. Ein erster Schritt dazu wurde gemacht, indem man PrP^C in proteaseresistentes PrP umwandeln konnte (44), es ist jedoch nicht klar, ob auch Infektiosität produziert wurde. Eine weitere wesentliche Frage betrifft den Mechanismus der Entstehung der pathogenen Veränderung. Insbesondere ist unklar, welche Zelltypen im Nervensystem eine kritische Rolle spielen. Während die neurologischen Ausfallserscheinungen am Ende der Krankheit klar auf den Verlust von Nervenzellen zurückzuführen sind, bleibt offen, ob Prionen direkt toxisch auf dieselben wirken oder ob Gliazellen, wie z. B. Astrozyten oder Mikrogliazellen, zuerst infiziert werden und dann durch deren Fehlfunktion der Nervenzelltod eintritt (2, 45, 46). Für die menschlichen Prionerkrankungen stellt sich die Frage, ob sie aufgrund des vermehrten Auftretens von tierischen spongiformen Enzephalopathien wie des Rinderwahnsinns zunehmen werden. Die weitere Aufklärung der beteiligten Mechanismen in den nächsten Jahren werden uns hoffentlich auch Ansatzpunkte zur Bekämpfung oder Linderung der klinischen Symptome liefern.

Zusammenfassung

Spongiforme Enzephalopathien (SE) wie die Creutzfeldt-Jakobsche Erkrankung beim Mensch oder die bovine spongiforme Enzephalopathie beim Rind bewirken die Zerstörung des Nervensystemes. Als Ursache wurde ein übertragbarer Erreger identifiziert. In dieser Arbeit wird die molekulare Charakterisierung des infektiösen Partikels (auch Prion genannt) und die sich daraus ergebenden Modelle unter Berücksichtigung der genetischen Formen von SE diskutiert. Zusätzlich werden die Faktoren beschrieben, die bei der Übertragung von Prionen eine Rolle spielen, d. h. wie sich die Dosis, die Infektionsroute und die Erbinformation des Wirtes auf die Inkubationszeit auswirken.

Résumé

Les encéphalopathies spongiformes comme le maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme ou l'encéphalopathie spongiforme chez les bovins entraînent la dégénérescence du système nerveux. Ces maladies sont causées par des particules infectieuses transmissibles. Dans cet article, nous discutons la nature moléculaire des particules infectieuses (aussi appelées prions) et les modèles proposés pour rendre compte de l'induction de la maladie. Les facteurs importants dans la transmission sont discutés, en particulier la dose necessaire pour une infection, les voies d'infection et la constitution génétique de l'hôte.

Summary

Spongiform encephalopathies like Creutzfeldt-Jakob disease in humans or bovine spongiform encephalopathy in cattle lead to the degeneration of the nervous system. These diseases are caused by a transmissible infectious particle. In this article the molecular characterization of the infectious particle (also denominated prion) and the models for its generation are discussed. The factors important in the transmission of prions such as the dose, route of infection and genetic makeup of the host are outlined.

Literatur

- 1. Hope, J., Ritchie, L., Farquhar, C., Somerville, R. and Hunter, N.: Bovine spongiform encephalopathy: a scrapie-like disease of British cattle. Prog. Clin. Biol. Res. 317, 659–667 (1989).
- 2. Prusiner, S.B. and DeArmond, S.J.: Prion diseases and neurodegeneration. Annu. Rev. Neurosci. 17, 311–339 (1994).
- 3. Alper, T., Haig, D.A. and Clarke, M.C.: The exceptionally small size of the scrapie agent. Biochem. Biophys. Res. Commun. 22, 278–284 (1966).
- 4. Bolton, D.C., McKinley, M.P. and Prusiner, S.B.: Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. Science 218, 1309–1311 (1982).
- 5. Basler, K., Oesch, B., Scott, M., Westaway, D., Walchli, M., Groth, D.F., McKinley, M.P., Prusiner, S.B. and Weissmann, C.: Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. Cell 46, 417–428 (1986).
- 6. Oesch, B., Westaway, D., Walchli, M., McKinley, M.P., Kent, S.B., Aebersold, R., Barry, R.A., Tempst, P., Teplow, D.B. and Hood, L.E.: A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. Cell 40, 735-746 (1985).
- 7. Bendheim, P.E., Brown, H.R., Rudelli, R.D., Scala, L.J., Goller, N.L., Wen, G.Y., Kascsak, R.J., Cashman, N.R. and Bolton, D.C.: Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. Neurology 42, 149–156 (1992).
- 8. Stahl, N., Baldwin, M.A., Teplow, D.B., Hood, L., Gibson, B.W., Burlingame, A.L. and Prusiner, S.B.: Structural studies of the scrapie prion protein using mass spectrometry and amino acid sequencing. Biochemistry 32, 1991–2002 (1993).
- 9. Pan, K.M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., Mehlhorn, I., Huang, Z., Fletterick, R.J. and Cohen, F.E.: Conversion of alpha-helices into beta-sheets

features in 10962-1096

of the scrapie prion proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90,

10. Borchelt, D prion prote Biol. 110, 7 Taraboulos, A., Stahl, N. and Prusiner, S.B.: Scrapie and cellular heir kinetics of synthesis and topology in cultured cells. J. Cell

11. Gibbons, 1 (1967).

ter, G.D.: Nature of the scrapie agent. Nature 215, 1041-1043

12. Prusiner, S (1982).

teinaceous infectious particles cause scrapie. Science 216, 136-144

13. Kimberlin 14. Bruce, M.

e agent: prions or virinos? (news). Nature **297,** 107–108 (1982). *ison, A.G.:* Biological evidence that scrapie agent has an inde... Virol. **68,** 79–89 (1987).

pendent g 15. Fraser, H.

Fraser, H.

1, A.G.: Scrapie in mice. Agent-strain differences in the distribution and intensity of graph with the distribution and intensity of graph with the distribution of the distribution of the distribution and intensity of graph with the distribution of the distribution and intensity of graph with the distribution and the graph with the distribution and the graph with the distribution and the graph with the graph wi

16. Oesch, B., Groth, D.F., Prusiner, S.B. and Weissmann, C.: Search for a scrapie-specific nucleic acid: a progress report. Ciba. Found. Symp. 135, 209–223 (1988).

17. Kellings, K., Meyer, N., Mirenda, C., Prusiner, S.B. and Riesner, D.: Analysis of nucleic acids in purified scrapie prion preparations. Arch. Virol. Suppl. 7, 215–225 (1993).

- 18. Riesner, D., Kellings, K., Wiese, U., Wulfert, M., Mirenda, C. and Prusiner, S.B.: Prions and nucleic acids: search for «residual» nucleic acids and screening for mutations in the PrP-gene. Dev. Biol. Stand. 80, 173–181 (1993).
- 19. Akowitz, A., Sklaviadis, T. and Manuelidis, L.: Endogenous viral complexes with long RNA cosediment with the agent of Creutzfeldt-Jakob disease. Nucleic. Acids. Res. 22, 1101–1107 (1994).
- 20. Weissmann, C.: A «unified theory» of prion propagation. Nature 352, 679-683 (1991).
- 21. Gabizon, R., McKinley, M.P., Groth, D. and Prusiner, S.B.: Immunoaffinity purification and neutralization of scrapie prion infectivity (published erratum appears in Proc Natl Acad Sci U S A 1989 Feb; 86(4):1223). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 6617–6621 (1988).

22. Wickner, R.B.: (URE3) as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in Saccharomyces cerevisiae (see comments). Science 264, 566-569 (1994).

- 23. Chernoff, Y.O., Lindquist, S.L., Ono, B., Inge-Vechtomov, S.G. and Liebman, S.W.: Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of the yeast prion-like factor [psi+]. Science 268, 880–884 (1995).
- 24. Hecker, R., Taraboulos, A., Scott, M., Pan, K.M., Yang, S.L., Torchia, M., Jendroska, K., DeArmond, S.J. and Prusiner, S.B.: Replication of distinct scrapie prion isolates is region specific in brains of transgenic mice and hamsters. Genes Dev. 6, 1213–1228 (1992).
- 25. Snow, A.D., Kisilevsky, R., Willmer, J., Prusiner, S.B. and DeArmond, S.J.: Sulfated glycosaminoglycans in amyloid plaques of prion diseases. Acta Neuropathol. (Berl). 77, 337–342 (1989).
- 26. Snow, A.D., Wight, T.N., Nochlin, D., Koike, Y., Kimata, K., DeArmond, S.J. and Prusiner, S.B.: Immunolocalization of heparan sulfate proteoglycans to the prion protein amyloid plaques of Gerstmann-Straussler syndrome, Creutzfeldt-Jakob disease and scrapie. Lab. Invest. 63, 601–611 (1990).
- 27. Caughey, B.: Scrapie associated PrP accumulation and its prevention: insights from cell culture. Br. Med. Bull. 49, 860–872 (1993).
- 28. Stahl, N., Borchelt, D.R., Hsiao, K. and Prusiner, S.B.: Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. Cell 51, 229–240 (1987).

- 29. Bueler, H., Fischer, M., Lang, Y., Bluethmann, H., Lipp, I S.B., Aguet, M. and Weissmann, C.: Normal development the neuronal cell-surface PrP protein (see comments). Na
- 30. Brenner, H.R., Herczeg, A. and Oesch, B.: Normal develor in mice lacking the prion protein gene. Proc. R. Soc. Lor
- 31. Bueler, H., Aguzzi, A., Sailer, A., Greiner, R.A., Autenrie C.: Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. Cell 73, 1
- 32. Hsiao, K., Baker, H.F., Crow, T.J., Poulter, M., Owen, F., Ott, I. and Prusiner, S.B.: Linkage of a prion protein 1 Straussler syndrome. Nature 338, 342-345 (1989).
- 33. Petersen, R.B., Goldfarb, L.G., Tabaton, M., Brown, P., na, P., Autilio Gambetti, L., Gajdusek, D.C. and Lugi phenotypic heterogeneity demonstrated by the effect of mutation in the PRNP (prion protein gene). Mol. Neur
- 34. Gibbs, C.J., Jr., Amyx, H.L., Bacote, A., Masters, C.L. mission of kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie to nonnuman primates. J. Infect. Dis. 142, 205–208 (1980).
- 35. Tateishi, J. and Kitamoto, T.: Inherited prion diseases and transmission to rodents. Brain Pathol. 5, 53–59 (1995).
- 36. Collinge, J., Palmer, M.S., Sidle, K.C., Gowland, I., Medori, R., Ironside, J. and Lantos, P.: Transmission of fatal familial insomnia to laboratory animals (letter). Lancet 346, 569-570 (1995).
- 37. Weissmann, C.: Spongiform encephalopathies. The prion's progress (news). Nature 349, 569-571 (1991).
- 38. Prusiner, S.B., Scott, M., Foster, D., Pan, K.M., Groth, D., Mirenda, C., Torchia, M., Yang, S.L., Serban, D. and Carlson, G.A.: Transgenetic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. Cell 63, 673–686 (1990).
- 39. Scott, M., Groth, D., Foster, D., Torchia, M., Yang, S.L., DeArmond, S.J. and Prusiner, S.B.: Propagation of prions with artificial properties in transgenic mice expressing chimeric PrP genes. Cell 73, 979–988 (1993).
- 40. Telling, G.C., Scott, M., Hsiao, K.K., Foster, D., Yang, S.L., Torchia, M., Sidle, K.C., Collinge, J., DeArmond, S.J. and Prusiner, S.B.: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 9936-9940 (1994).
- 41. Kimberlin, R. H. and Walker, C. A.: Pathogenesis of experimental scrapie. In: Novel infectious agents and the central nervous system, Bock, G. and Marsh, J., (eds.), pp. 37-62. John Wiley & Sons, Chichester 1988.
- 42. Kingsbury, D.T., Kasper, K.C., Stites, D.P., Watson, J.D., Hogan, R.N. and Prusiner, S.B.: Genetic control of scrapie and Creutzfeldt-Jakob disease in mice. J. Immunol. 131, 491–496 (1983).
- 43. Revesz, T., Daniel, S.E., Lees, A.J. and Will, R.G.: A case of progressive subcortical gliosis associated with deposition of abnormal prion protein (PrP) (letter). J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 58, 759–760 (1995).
- 44. Kocisko, D.A., Come, J.H., Priola, S.A., Chesebro, B., Raymond, G.J., Lansbury, P.T. and Caughey, B.: Cell-free formation of protease-resistant prion protein. Nature 370, 471–474 (1994).

nd, S.J., Prusiner, ir of mice lacking -582 (1992).

:-muscle synapses 5 (1992).

I. and Weissmann, 13).

D., Westaway, D., nt to Gerstmann-

ortelli, P., Montagvel mechanism of sm on a pathogenic)3 (1994).

, D.C.: Oral trans-

- 45. Clinton, J., Forsyth, C., Royston, M.C. and Roberts, G.W.: Synaptic degeneration is the primary neuropathological feature in prion disease: a preliminary study. Neuroreport 4, 65–68 (1993).
- 46. Moser, M., Colello, R.J., Pott, U. and Oesch, B.: Developmental expression of the prion protein gene in glial cells. Neuron 14, 509–514 (1995).

Dr. Bruno Oesch Oberassistent Institut für Hirnforschung der Universität Zürich August-Forel-Strasse 1 CH-8029 Zürich