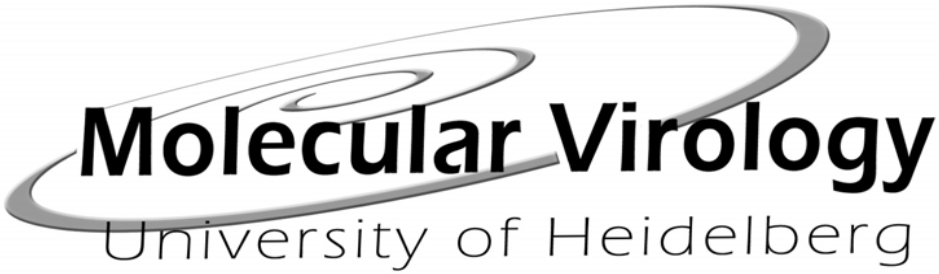
Molekulare Mechanismen der Pathogenese bei Infektionskrankheiten

---

Prionen



Ralf Bartenschlager
Abteilung Molekulare Virologie, Hygiene Institut
INF345, 1. OG
http://molecular-virology.uni-hd.de

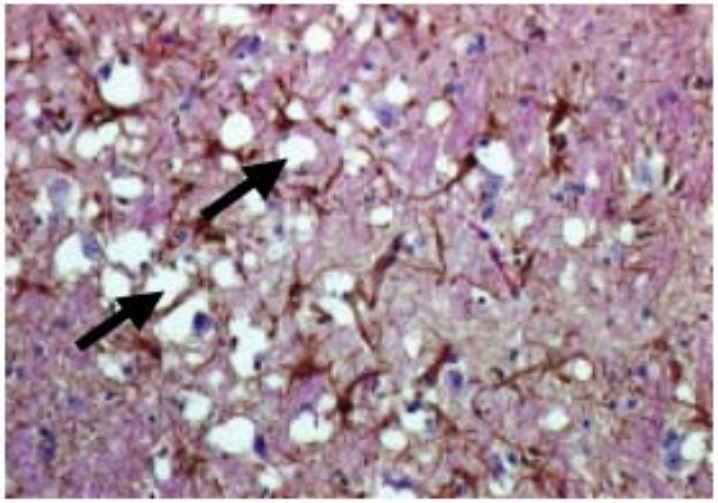
Was sind Prionen?

- **Prionen = Erreger der übertragbarer spongiformer Encephalopathien (TSE)**

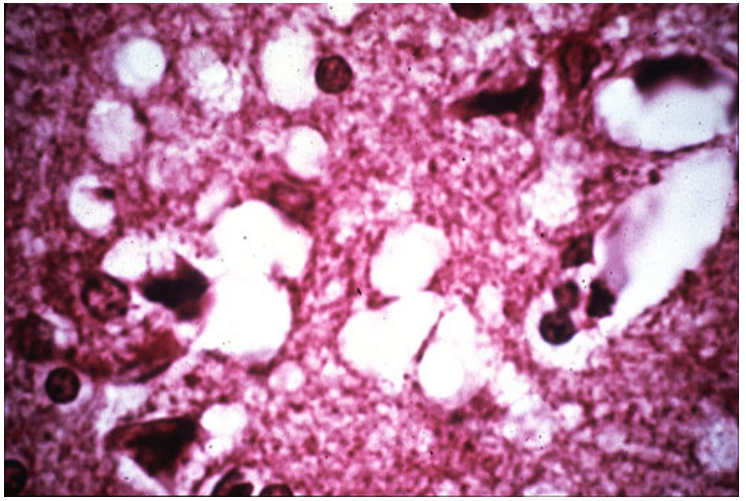
  Seltene, zumeist tödliche, neurodegenerative Erkrankung

- **Gekennzeichnet durch:**
  - → **Sehr lange Inkubationszeit**
  - → **Depressionen, Myoklonus, Koordinationsstörungen, EEG-Änderungen, Demenz**
  - → **Vakuolisierende Degeneration der Neuronen (schwammartiges Aussehen)**
  - → **Ablagerung protease-resistenter Proteinkomplexe (amyloide Plaques)**
  - → **Hauptkomponente der Ablagerungen ist das Prionprotein**
  - → **Keine Entzündungsreaktion**

Spongiforme Vakuolisierung bei Scrapie und Kuru



Scrapie



Kuru

Figures kindly provided by Dr. Sy

TSE beim Mensch: Kuru

- **Papua-Neuguinea eine grosse Insel im Pazifik, die bis ca. 1930 völlig isoliert war mit ca. 15.000 Einwohnern**
- **1950 von Dr. V. Zigas ‘lachender Tod’ beschrieben (Kuru = schütteln)**

Kuru (2)

- Erkrankung zumeist bei Frauen und Kindern
- Verlauf:
  - → zunächst Muskelschwäche, Kopfschmerzen, unspez. Symptome
  - → fortschreitende Koordinationsstörung und Myoklonie
  - → starke emotionale Veränderungen (lachender Tod)
  - → innerhalb 3-24 Monaten Demenz, Paralyse
- W. Hadlow und K. Gajdusek: Kuru ist mit Scrapie beim Schaf verwandt
- R. Hornabrook erkannte Zusammenhang mit Kannibalismus; Verbot des Kannibalismus
- 1976: Gibbs und Gajdusek übertragen Kuru auf Schimpansen (Nobelpreis)
- 1998: Letztes Kuru-Opfer

Prionenerkrankungen bei Mensch und Tier

Erkrankung	Übertragungsweg	Ursache
Kuru	Infektion	Ritueller Kannibalismus
Creutzfeldt-Jacob Erkrankung	Sporadisch (80%) Vererbt (15%) Iatrogen (5%)	? Mutationen im PrP-Gen HGH, Gonadotropin, Transplantation von Dura Mater, Cornea; med. Instrumente
Variante Creutzfeldt-Jacob Erkrankung	Infektion	Kontaminiertes Fleisch, Transfusion
Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrom	Vererbt	Mutationen im PrP-Gen
Fatale familiäre Schlaflosigkeit	Vererbt	Mutationen im PrP-Gen
Scrapie	Spontan? Infektion?	? Plazenta?
BSE (Rinderwahn)	Infektion	Kontaminierte Futterzusätze (Fleisch- und Knochenmehl)

Desweiteren FSE bei Katzen, chronic wasting disease bei Hirsch und Elch, TSE bei zahlreichen Zootieren

Das infektiöse Agens

Ursprüngliche Hypothese: Ein langsam replizierendes Virus

- **Nukleinsäure nicht nachweisbar**
- **Resistent gegen UV, ionisierende Strahlung, hohe Temp., Nukleinsäure-schädigende Chemikalien**
- **Sensitiv gegenüber Agentien, die Proteine zerstören**
- **Infektiosität lässt sich mit der Proteinablagerung anreichern**

→ **Griffith (1967):** **Erreger ist ein sich selbst-vermehrendes Protein**

→ **Prusiner:** **Prion = Proteinaceous infectious particle**

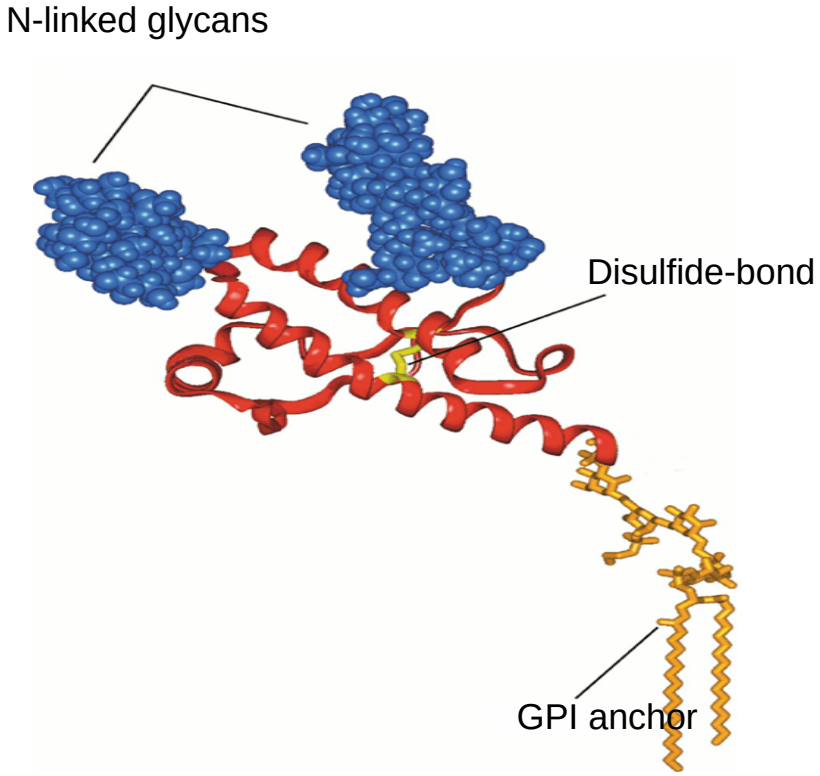
Das infektiöse Agens

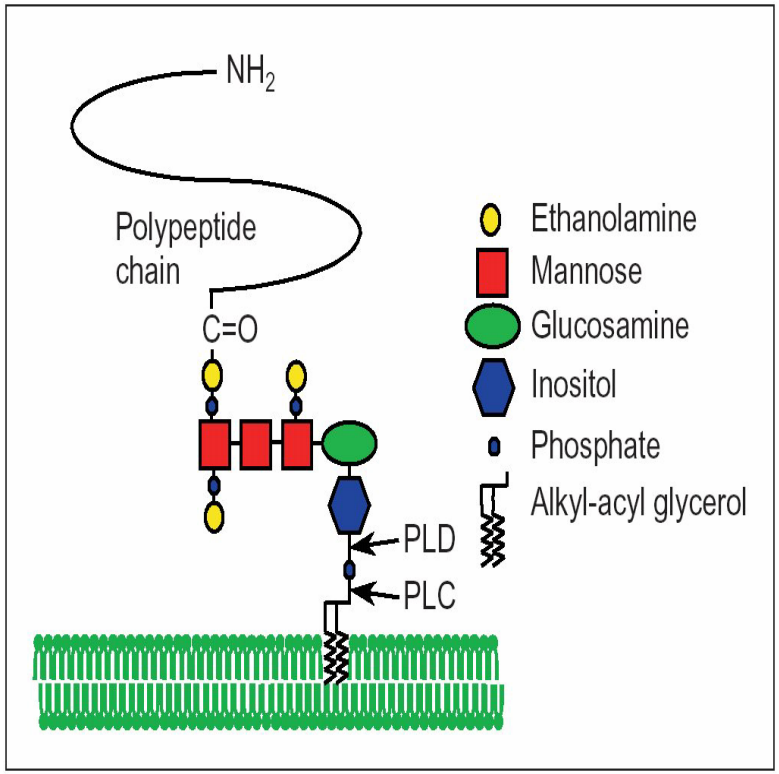
Aminosäuresequenz des Prionproteins ist identisch mit einem zellulären Protein

- **Hoch-konserviert**
- **Ca. 208 Aminosäuren (33-35 kDa)**
- **zwei Signalsequenzen (N- und C-Terminus)**
- **GPI-Modifikation für Membranverankerung**
- **zwei Glykosylierungsstellen**
- **Oberflächenprotein**
- **ubiquitär exprimiert, insbes. in Neuronen und Immunsystem**
- **nicht essentiell**
- **hoch-affine Bindung von Kupfer (Rolle bei Kupfer-Metabolismus oder –Transport?)**

Figure kindly provided by Dr. Sy

Strukturmodell von PrP^C





Figures kindly provided by Dr. Sy

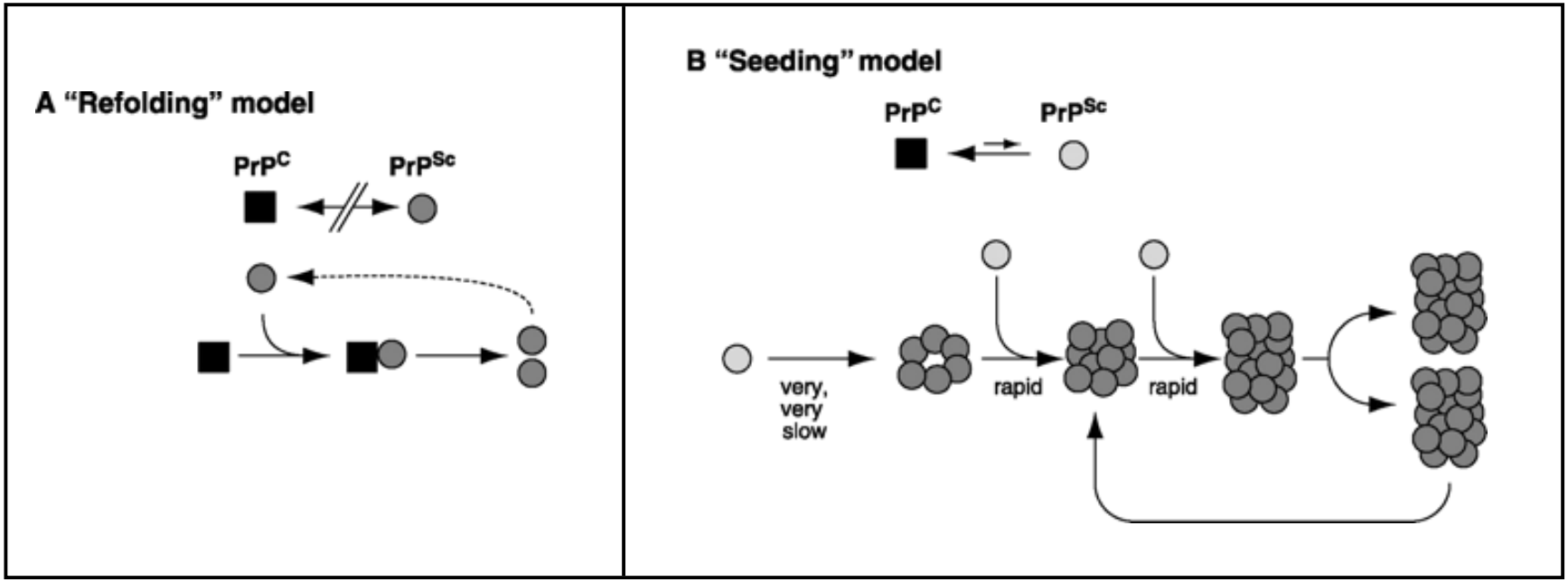
Nur-Protein Hypothese

Zentrales Ereignis der Pathogenese ist eine Proteinumlagerung

PrP^{C} = normale Form (auch PrP-SEN)

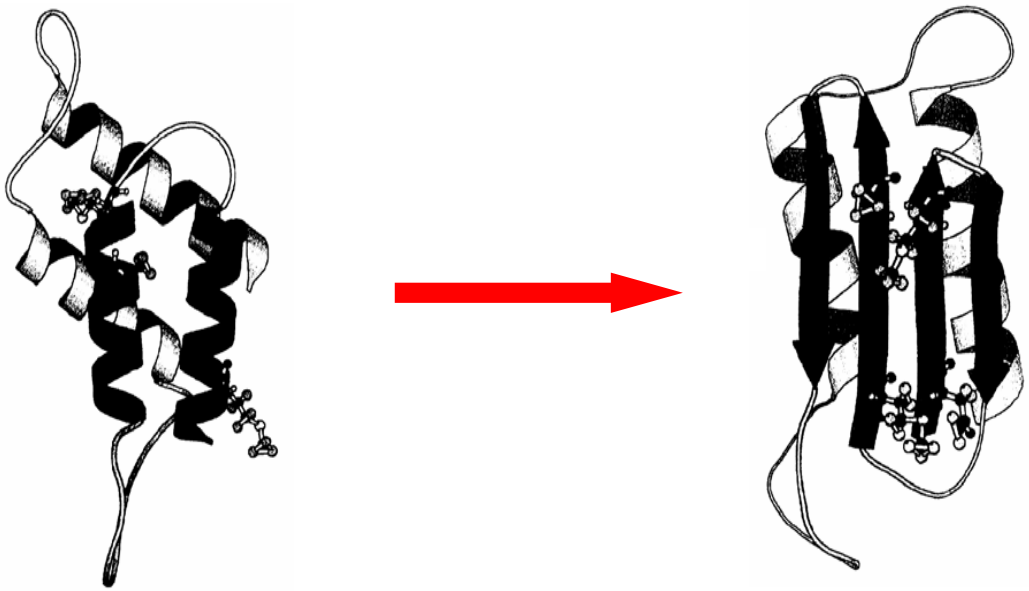
PrP^{*} = intermediäre Isoform

PrP^{Sc} = pathologische Isoform (auch PrP-RES)



Weissmann et al., PNAS, 2002

Konversion von PrP^{C} zu PrP^{Sc}



PrP^{C}

Monomer

Hoher Anteil an α-Helices

Löslich in Detergentien

Protease-sensitiv

Nicht-infektiös

PrP^{Sc}

Oligomer oder Polymer

Hoher Anteil an β-Faltblatt

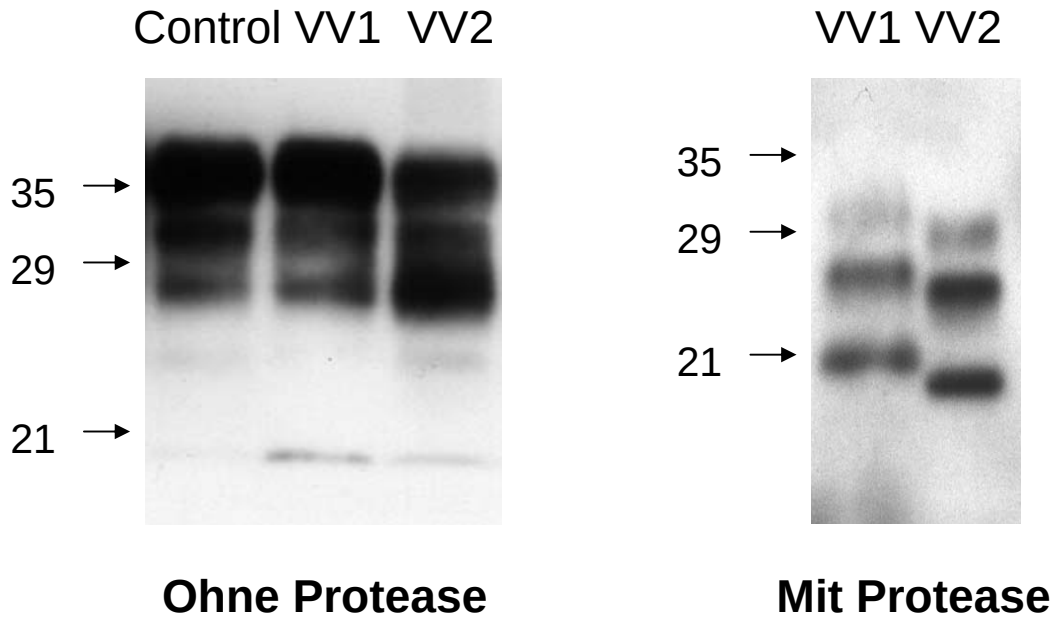
Schwer-/unlöslich in Detergentien

Relativ Protease-resistent

Infektiös

Figures kindly provided by Dr. Sy

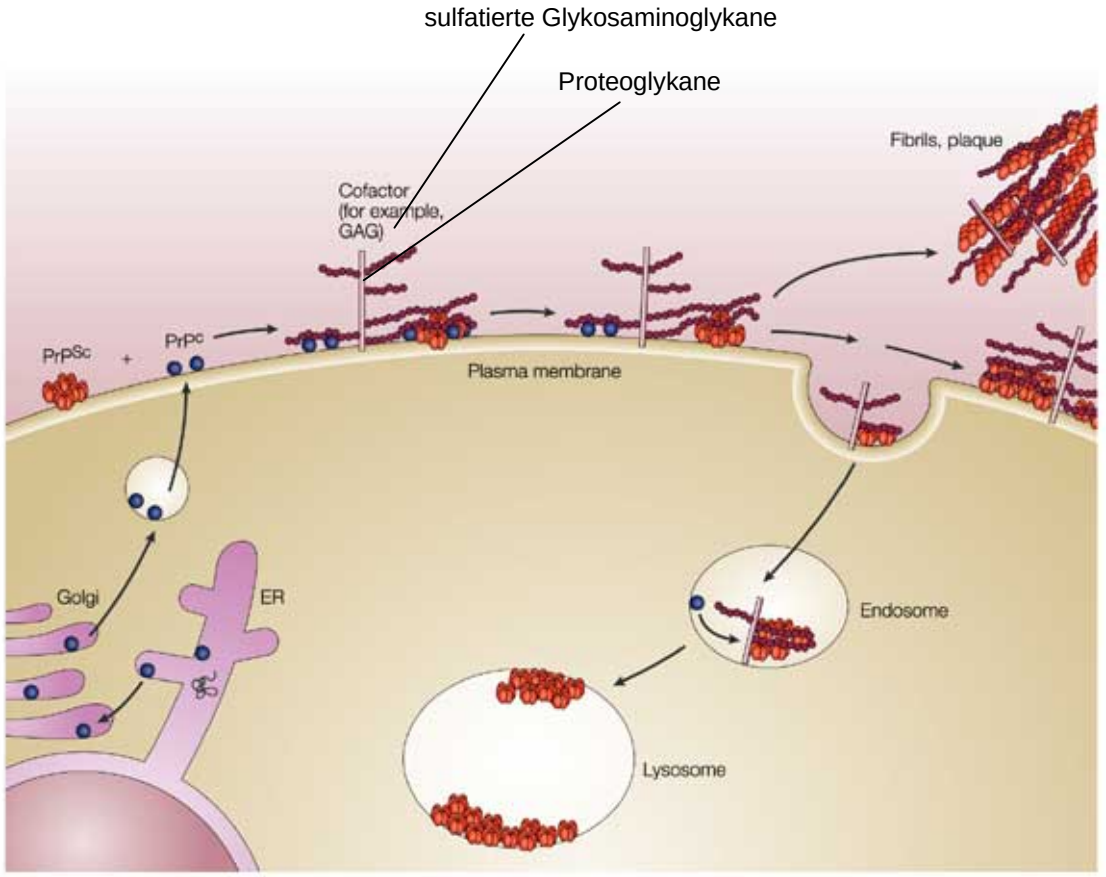
Proteaseresistenz von PrP^{Sc}



Proteaseresistenz und Glykoproteinprofil dienen zur Klassifizierung von Prionstämmen
Aber: nicht jeder Prp^{SC} Stamm ist Protease resistent!!

Figures kindly provided by Dr. Sy

PrP^{Sc}-Bildung in Scrapie-infizierten Zellen



Cashman and Caughey, NRDD, 2004

Versuche mit transgenen Mäusen unterstützen Nur-Protein Hypothese

PrP (Inokulum)	PrP-Transgen	Erkrankung
Maus	kein	Ja
Hamster	kein	Nein
Maus	Hamster (und endogenes Mausgen)	Ja
Hamster	Hamster (und endogenes Mausgen)	Ja
Kein	Maus P102L	Ja (kurze IZ)
Maus	Kein (Mausgen knock-out)	nein
CJD	Kein	nein
CJD	Mensch	ja

Es gibt eine Speziesbarriere

Pro und Con der Nur-Protein Hypothese

Pro Nur-Protein Hypothese:

- **Ergebnisse mit transgenen Mäusen**
- **In vitro Umfaltung möglich, allerdings mit geringer Effizienz**
- **Rekombinantes Prp^{Sc} assembliert zu Fibrillen verursacht nach ic-Inokulation von tg Mäusen eine Erkrankung (allerdings sehr lange IZ; evtl. spontane TSE?)**

Kontra Nur-Protein Hypothese:

Wie kann ein Protein so viele unterschiedliche Phänotypen verursachen?

Versch. Konformationen verantwortlich für versch. Prionenstämme

- → **untersch. Inkubationszeit**
- → **untersch. Symptome**
- → **untersch. Plaquemorphologie**
- → **untersch. Glykoproteinprofil**

Drei grundlegende pathogenetische Mechanismen

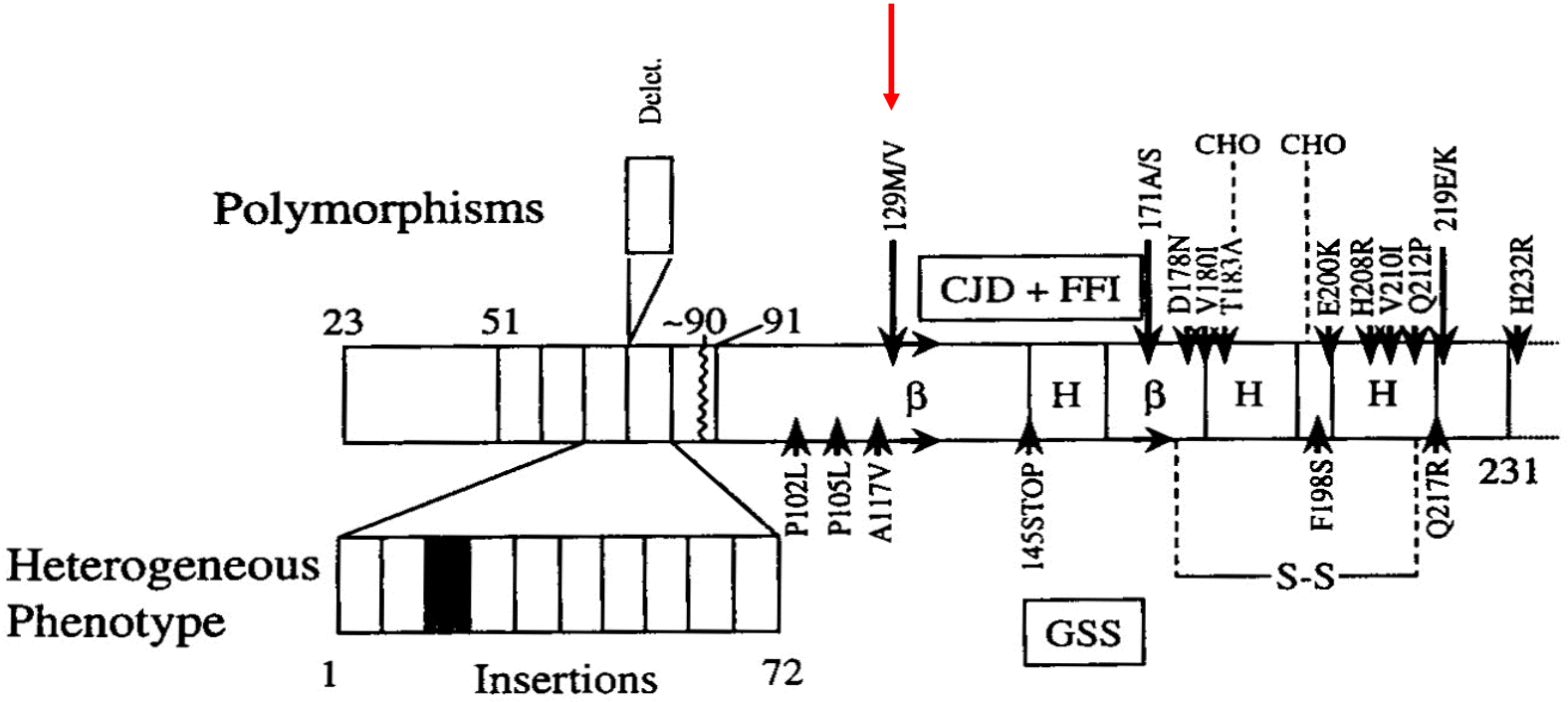
1. Vererbt

Mutationen in *PRNP*, die Umlagerung begünstigen

2. Sporadisch

3. Infektion

Polymorphismen und pathogenetisch relevante Mutationen in *PRNP*



Drei grundlegende pathogenetische Mechanismen

1. Vererbt

Mutationen in *PRNP*, die Umlagerung begünstigen

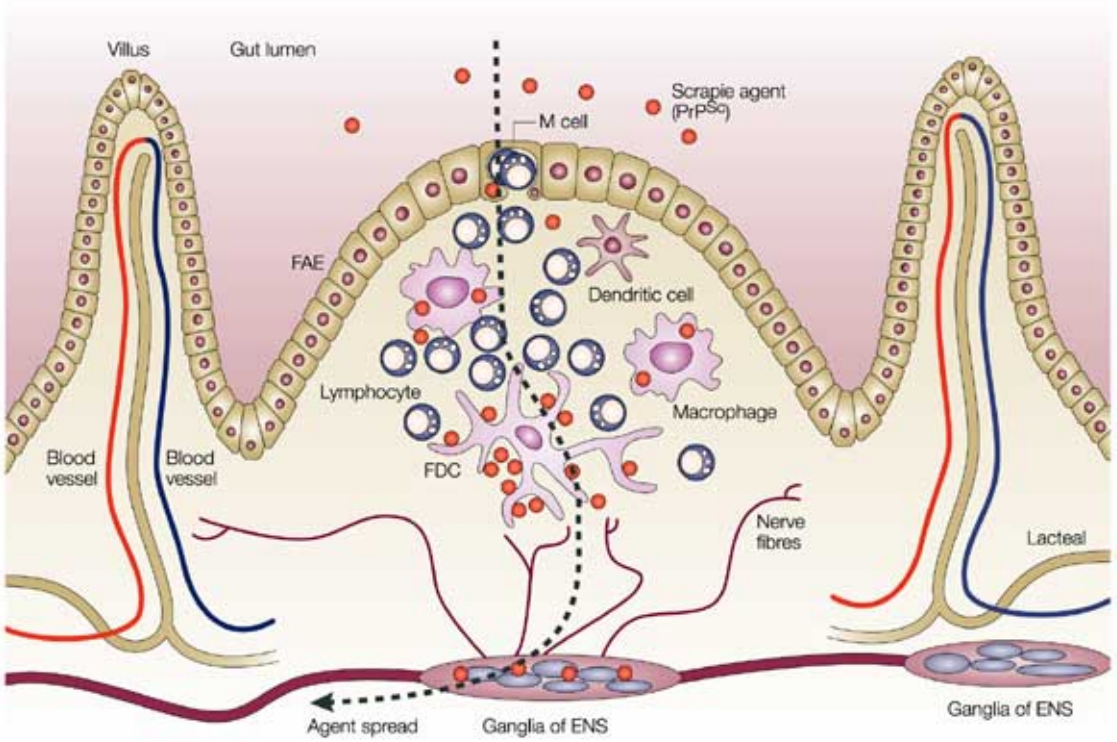
2. Sporadisch

vermutlich durch spontane Umlagerung

3. Infektion

PrP^{Sc} wird direkt eingebracht
(Transplantation, parenteral, oral)

Möglicher Ausbreitungsweg von PrP^{Sc} bei oraler Übertragung



Peyers Plaque

FDC = follikuläre dendritische Zelle

ENS = enterales Nervensystem

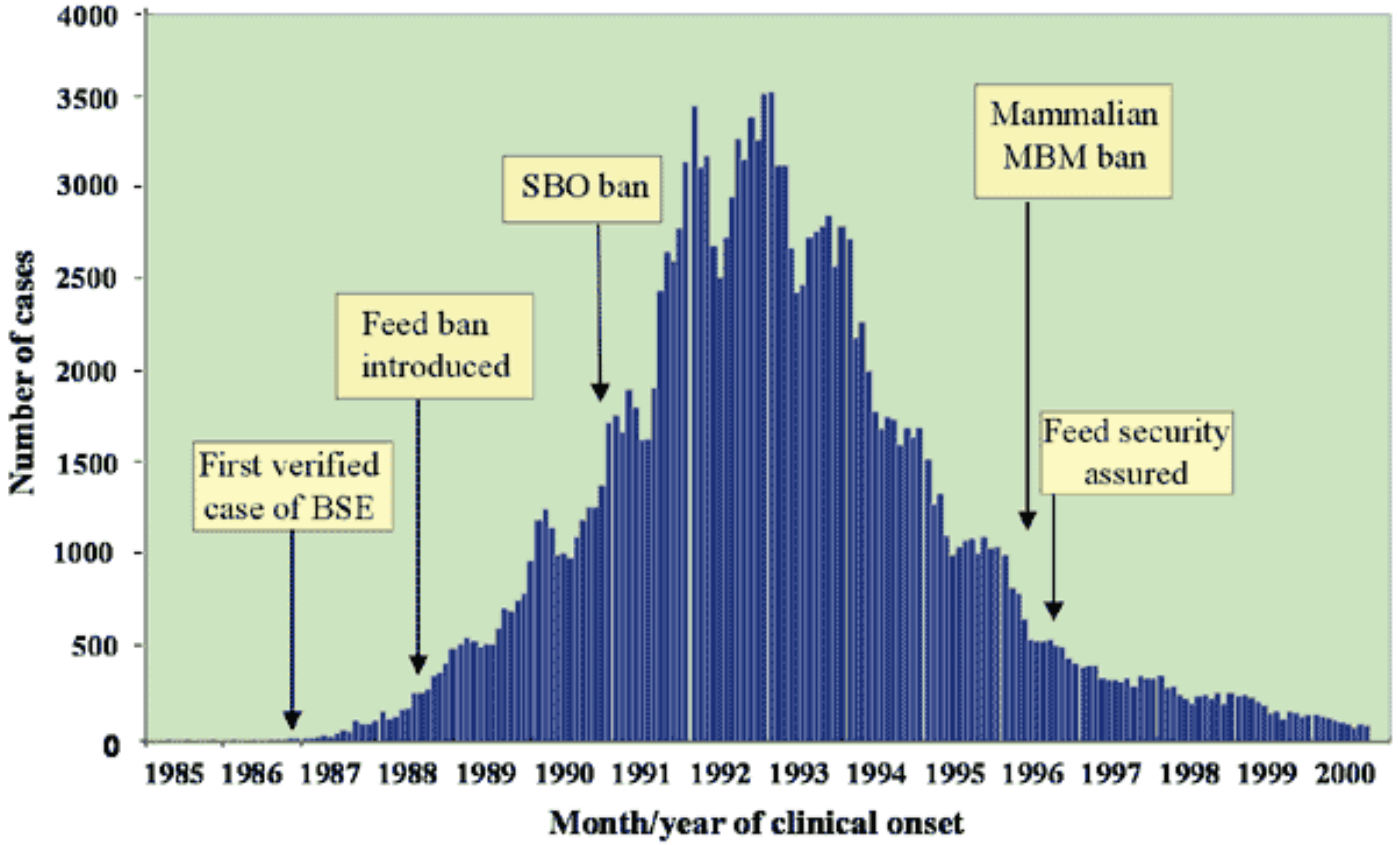
FAE = follikel-assoziiertes Epithel

Cashman and Caughey, NRDD, 2004

Die BSE Epidemie

- April 1985 in Kent, Südengland, eine Kuh mit Tollwut-ähnlichen Symptomen:
  - → Unruhe, Hyperaktivität, Koordinationsstörungen, rasche Lethargie
  - → Tod innerhalb weniger Tage
  - → im Gehirn Vakuolen und Proteinablagerung
- Beginn der BSE-Epidemie
- Vermutlich bedingt durch spontane BSE (sporadisch)
  - → Prionen durch Futtermittelzusätze übertragen (ungenügende Inaktivierung)
- 1988 und 1989: Verbot von Fleisch- und Knochenmehl als Futterzusatz (immer noch Export)
- März 1996: Verbot des Exports

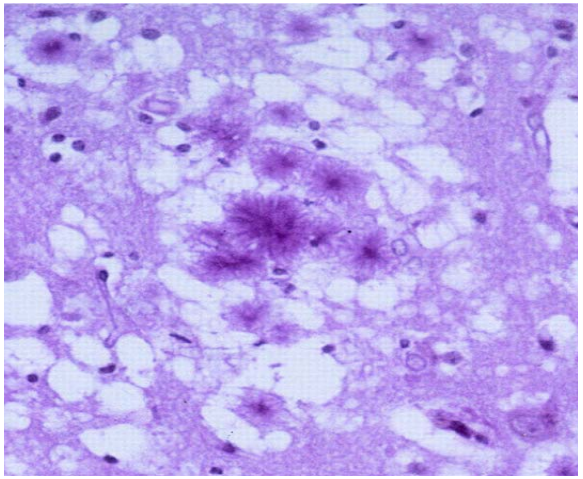
Die BSE Epidemie

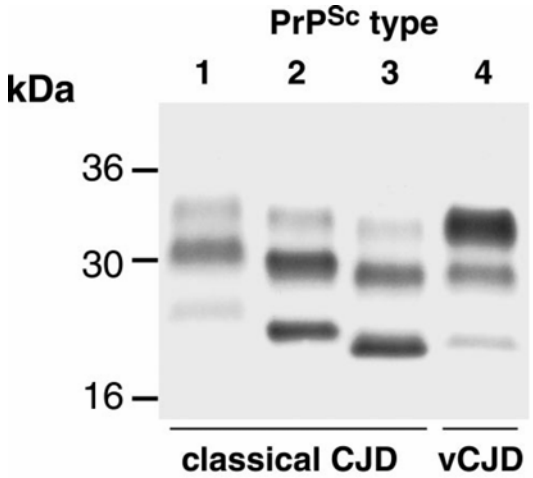


Eine variante Form der CJD und der Zusammenhang mit BSE

Besonderheiten:

- Junge Patienten (mittleres Alter 27,5 Jahre)
- klinischer Verlauf ungleich der CJD (dominant Verhaltensstörungen)
- massive Ablagerung von PrP-Amyloid (floride Plaques) bevorzugt im Cerebellum
- PrPSc auch ausserhalb des ZNS (Tonsillen, Appendix)
- einheitliches Glykoproteinprofil der Prionproteine
- EEG Veränderungen der CJD fehlen
- alle homozygot MM129



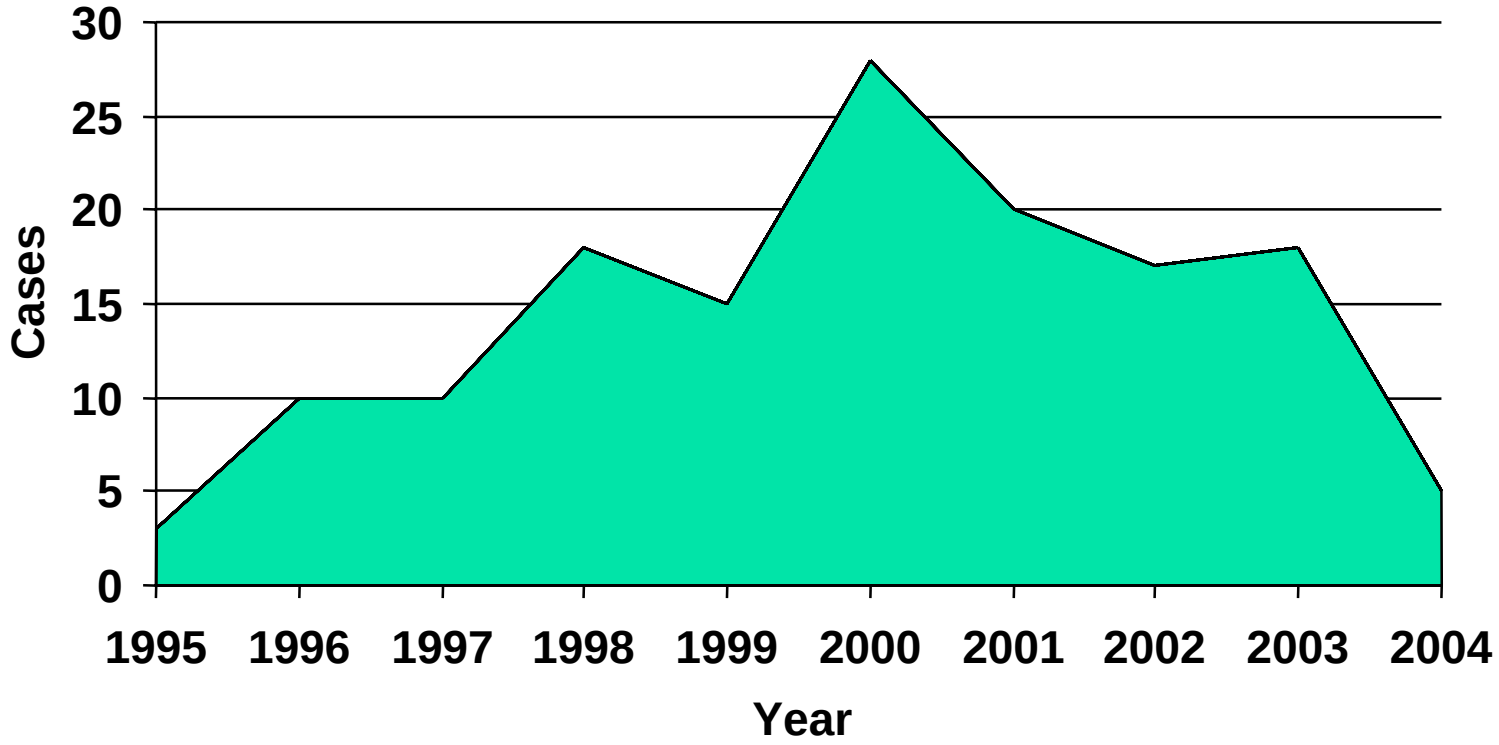


Evidenz für den Zusammenhang vCJD und BSE

vCJD eine Folge einer Übertragung von BSE auf Mensch?

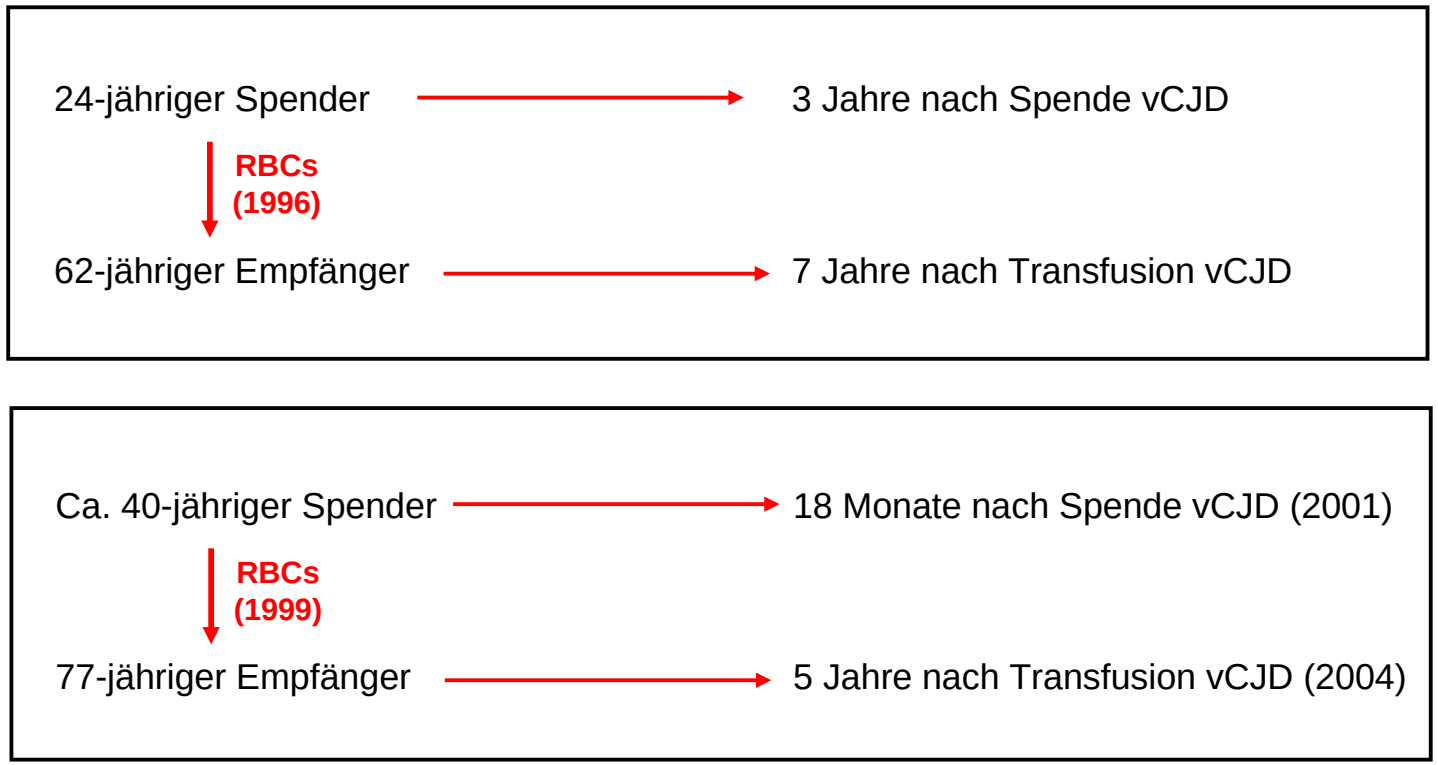
- **Prionen sind grundsätzlich oral übertragbar**
- **Zeitliche und lokale Korrelation**
- **Experimentelle Inokulation von Altweltaffen mit BSE-haltigem Rinderhirnhomogenat**
  - → **floride Plaques**
  - → **Symptome und Glykoformprofil ähnlich vCJD**
- **Übertragung von vCJD, BSE, FSE auf transgene Mäuse**
  - → **vergleichbare Inkubationszeiten**
  - → **vergleichbare Histopathologie**
  - → **vergleichbare Glykoformprofile**
- **Gleicher Prionenstamm verantwortlich für BSE, FSE, vCJD**

vCJD-Fälle in England: Stand 10/1/04



(The National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit, Edinburgh U.K.)

2 vCJD-Fälle Übertragung durch Bluttransfusion



Keine sonstigen Risikofaktoren

Anmerkungen zur Vorlesung

- Sitzscheine ab nächster Woche im Sekretariat Molekulare Virologie INF345, 1. OG, R.169
- Rückmeldungen jeder Art sind willkommen
- Lehrangebote im Fachbereich Virologie