

# Perspectives immunoprophylactiques et immunothérapeutiques contre les maladies à prions

## *Immunoprophylactic and immunotherapeutic prospects in prion diseases*

Par Claude CARNAUD<sup>(1)</sup> et Véronique BACHY<sup>(2)</sup>  
(mémoire présenté le 8 décembre 2005)

### RÉSUMÉ

Les maladies à prions ou encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) sont des affections neurodégénératives fatales, contre lesquelles il n'existe à ce jour aucun traitement ou prophylaxie connu. Des résultats encourageants obtenus dans la maladie d'Alzheimer, laissent toutefois espérer que des approches immunoprophylactiques ou immunothérapeutiques puissent un jour être mises en œuvre chez des sujets atteints d'ESST ou chez des sujets à risque. Ce mémoire vise à faire le point dans ce domaine. Dans une première partie, nous décrivons les voies connues de la lymphoinvasion dans les formes acquises de maladie, voies à travers lesquelles les prions progressent au sein même du système lymphoïde, depuis la périphérie jusqu'au système nerveux central. Dans une deuxième partie, nous mettons l'accent sur les agents de l'immunité innée mobilisés dans le système nerveux central et sur leur rôle ambivalent dans la pathogénie des ESST. Enfin, la dernière partie est consacrée aux approches vaccinales destinées à stimuler l'immunité adaptative et à construire, en collaboration avec le système immunitaire inné, une barrière défensive contre l'agent pathogène.

**Mots-clés :** maladies à prions, ESST, PrP, immunité innée, cellules gliales, cellules dendritiques, immunité adaptative, lymphocytes T auxiliaires, cytokines.

### SUMMARY

*Prion diseases or transmissible subacute spongiform encephalopathies (TSSE) are fatal neurodegenerative conditions, for which there is so far no known treatment or prevention. Promising results achieved in the field of Alzheimer disease give however some reasons to hope that individuals with the disease or individuals at risk might benefit from similar immunoprophylactic or immunotherapeutic approaches. This article reviews current knowledge on the immunology of prion diseases. In the first section we describe the known routes of prion lymphoinvasion from the periphery to the sites of neuroinvasion. The second section focuses on the mediators of innate immunity mobilized within the central nervous system and on their ambivalent role in the pathogenesis of the disease. The final section describes the vaccine approaches aimed at stimulating adaptive immunity and at creating, in association with the mediators of the innate immune system, a defence barrier against prions.*

**Key words:** prion diseases, TSSE, PrP, innate immunity, glial cells, dendritic cells, adaptive immunity, helper T lymphocytes, cytokines.

(1) Docteur Vétérinaire, Docteur en Sciences, Directeur de recherche à l'INSERM, INSERM U712 « Maladies à prions et système immunitaire », Hôpital St-Antoine, 184 rue du Faubourg St-Antoine, 75571 PARIS.  
(2) Docteur Vétérinaire, Docteur en Sciences, INSERM U712 « Maladies à prions et système immunitaire ».

## • QUELQUES GÉNÉRALITÉS SUR LES MALADIES À PRIONS

La maladie de Creutzfeldt Jakob (MCJ) chez l'homme, la tremblante des ovins et des caprins, l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou la maladie du dépérissement chronique des ruminants sauvages nord américains appartiennent au même ensemble nosologique des maladies à prions ou encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST). Ce sont des affections neurodégénératives mortelles qui évoluent lentement, qui se manifestent par des atteintes neurologiques sévères circonscrites au système nerveux central (CNS) et qui sont transmissibles. Ce dernier caractère les distingue nettement des autres affections neurodégénératives du type maladie d'Alzheimer ou maladie de Parkinson et plus généralement de l'ensemble des amyloïdoses provoquées par des dépôts pathologiques de protéines fibrillaires agrégées. L'agent protéique en cause dans le cas des ESST est la « protéine prion scrapie » ou PrP<sup>Sc</sup>, une protéine mal conformée, riche en feuillettes  $\beta$  plissées, provenant de la transconformation d'une protéine de membrane, présente chez tous les individus, la protéine prion cellulaire ou PrP<sup>C</sup>, dont le rôle biologique normal n'est toujours pas élucidé. La présence du conformère PrP<sup>Sc</sup> dans les tissus des sujets atteints signe de façon pathognomonique le diagnostic d'ESST (PRUSINER *et al.*, 1998; WISNIEWSKI *et al.*, 1998). Même si une relative incertitude persiste quant à la composition précise de l'agent des maladies à prions, et notamment quant à l'existence d'un élément nucléotidique supposé coder pour les propriétés de souche des prions, il est clair que la PrP<sup>Sc</sup> est l'élément constitutif essentiel et peut-être même unique, responsable à la fois des atteintes neurologiques, de la transconformation autocatalytique de la PrP<sup>C</sup> en PrP<sup>Sc</sup> et de la transmissibilité de ces maladies. La PrP<sup>Sc</sup> se comporte comme un véritable « agent infectieux », capable à la suite de son introduction par voie digestive ou transcutanée dans un organisme sain, de pervertir de proche en proche la PrP<sup>C</sup> de l'hôte. C'est vraisemblablement ainsi que la tremblante ou la maladie du dépérissement chronique se propagent naturellement au sein des troupeaux de ruminants, et c'est ainsi que les ESST peuvent franchir dans des conditions qui demeurent encore mal comprises, la fameuse barrière d'espèce (PRUSINER, 1998).

Contrairement à une idée qui a longtemps prévalu, le système immunitaire n'est pas neutre face à ce processus morbide. Certes, les prions n'induisent pas la production spontanée d'anticorps ou la différenciation de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> auxiliaires ou CD8<sup>+</sup> cytotoxiques chez les sujets atteints. La raison en est que la PrP<sup>Sc</sup> est tolérée par le système immunitaire comme une protéine du soi, au même titre que la PrP<sup>C</sup> dont elle est directement issue. Injectée dans une espèce hétérologue ou dans des souris invalidées n'exprimant pas la PrP<sup>C</sup> (souris PrP<sup>-/-</sup>), la protéine prion est tout à fait capable d'engendrer une réponse immunitaire adaptative à la fois cellulaire (lymphocytes T) et humorale (lymphocytes B) (GREGOIRE *et al.*, 2004 ; KASCSAK *et al.*, 1987). Des données expérimentales et cliniques convergentes suggèrent toutefois que le système immunitaire et notamment certains éléments du système inné, participent à la pathogénie des ESST, de façon

souvent subtile et ambiguë, mais qu'on peut espérer au bout du compte manipuler au bénéfice de l'hôte. Nous tenterons de montrer, dans la suite de ce mémoire, quelles sont plus précisément ces interactions et comment les détourner à notre avantage. Au passage, nous décrirons les travaux menés au laboratoire, travaux qui portent plus spécifiquement sur le rôle des cellules dendritiques (DC) dans la propagation des prions au sein d'un organisme et sur celui des lymphocytes T dans la mise en jeu de réponses immunes adaptatives, potentiellement protectrices.

## • LE SYSTÈME IMMUNITAIRE COMME "PASSEUR" DE PRIONS

Dans les formes infectieuses d'ESST, par opposition aux formes sporadiques et aux formes familiales qui débute d'emblée dans le SNC, l'agent pathogène doit se frayer un chemin depuis la porte d'entrée, souvent digestive, jusqu'aux sites de neuroinvasion situés entre autres, au niveau des terminaisons nerveuses viscérales, mais aussi peut-être au niveau de la barrière hémato-méningée. Comment s'opère ce cheminement extra-neural, quelles sont les cellules et les tissus qui y contribuent, le muscle, le sang ou le lait sont-ils sur les voies de dissémination des prions et peut-on chercher à intervenir préventivement à ce stade pré-neurologique de la maladie, sont autant de questions dont on mesure bien évidemment l'importance.

### Chronologie de l'infectivité dans les tissus

Des expériences anciennes, datant des années 1970, avaient montré que le temps d'incubation de la tremblante chez des souris infectées par voie périphérique (par opposition à la voie intra-cérébrale) variait de façon significative selon le statut immunitaire du receveur. Paradoxalement, les animaux relativement incompetents (souriceaux nouveaux-nés, souris splénectomisées ou traitées par des corticoïdes) résistaient mieux à l'infection que les témoins pleinement compétents (FRASER et DICKINSON, 1978 ; OUTRAM *et al.*, 1973; OUTRAM *et al.*, 1974), suggérant du même coup que le système immunitaire pouvait activement contribuer à la progression de l'agent. Partant de là, plusieurs équipes, dont celle de Kimberlin se sont attachées à suivre le cheminement de l'agent dans les organes et tissus lymphoïdes, en utilisant comme marqueur de la présence des prions et de leur multiplication, le titre infectieux des différents tissus à travers lesquels ces derniers étaient supposés transiter. Ces travaux ont montré sans ambiguïté l'importance du système lymphoïde comme voie de passage. L'infectivité est chronologiquement détectée, d'abord dans les formations lymphoïdes locales – plaques de Peyer et ganglions mésentériques par exemple pour une infection per os – puis dans la rate et les ganglions distaux, avant d'atteindre la moelle épinière et le cerveau (KILBERLIN et WALKER, 1979). Dans tous les cas de figure, l'infectivité des tissus lymphoïdes périphériques précède de plusieurs semaines celle des tissus nerveux.

### Importance des cellules folliculaires dendritiques

Les études immunohistochimiques rendues possibles

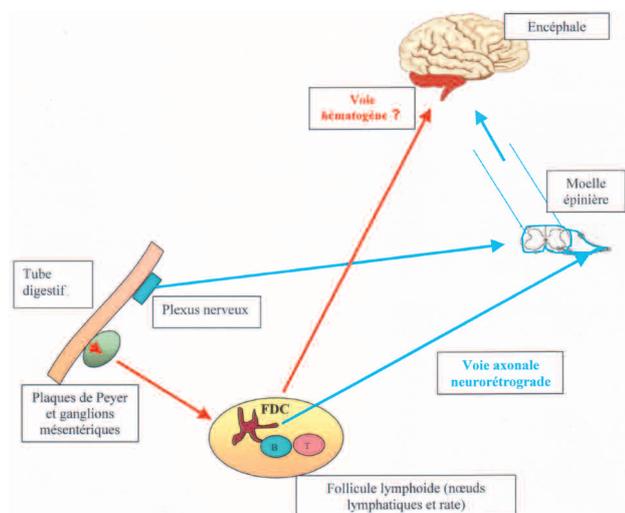
grâce aux anticorps monoclonaux anti-PrP et aux méthodes de traitement enzymatique ménagé des coupes permettant de ne marquer uniquement que la PrPSc, ont confirmé le transit lymphoïde des prions et apporté des précisions quant à la nature des cellules impliquées.

L'équipe de Moira Bruce a montré, la première, le rôle clé d'une toute petite sous-population, qui n'est pas à proprement parler lymphoïde, mais dont le destin est intimement lié à celui des structures lymphoïdes, les cellules folliculaires dendritiques ou FDC (BROWN *et al.*, 1999). Ces cellules qui présentent de longs prolongements cytoplasmiques à la manière des dendrites neuronales, résident au cœur des follicules lymphoïdes secondaires, à proximité des lymphocytes B, et interviennent dans la capture des antigènes, dans le maintien du pool des cellules mémoires B et dans la maturation d'affinité des anticorps. Les FDC fixent les antigènes et les complexes antigènes anticorps par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques de la partie constante des immunoglobulines et de récepteurs des facteurs du complément comme C1q et C3. Ce sont vraisemblablement les récepteurs du complément, ainsi que les molécules de PrPC également exprimées en abondance sur les dendrites, qui expliquent la remarquable capacité des FDC à capturer la PrPSc.

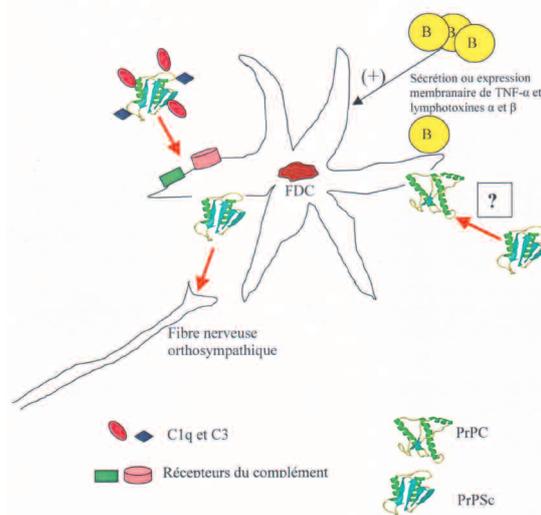
Le déficit en C3 ou en récepteurs du complément CD21/CD35 ralentit de fait l'accumulation de la PrPSc dans la rate et retarde l'apparition des symptômes neurologiques (KLEIN *et al.*, 2001; MABBOTT *et al.*, 2001). L'opsonisation de la PrPSc par le complément est donc probablement un facteur déterminant de sa capture par les FDC (MABBOTT, 2004).

Les données obtenues *in vivo*, chez des souris génétiquement manipulées, ont largement confirmé le rôle central du système lymphoïde et des FDC dans la progression des prions. Ainsi, des souris porteuses de la mutation SCID (O'ROURKE *et al.*, 1994) ou invalidées pour l'enzyme de recombinaison RAG (KLEIN *et al.*, 1997), et donc totale-

ment dépourvues de système immunitaire, sont remarquablement résistantes à une infection périphérique par l'agent de la tremblante, alors qu'elles sont aussi permissives que leurs congénères immunocompétents témoins, lorsque l'agent est directement inoculé dans le cerveau. Une définition plus précise des sous-populations lymphoïdes impliquées dans la lympho-invasion a montré que l'absence des lymphocytes T CD4+ ou CD8+ ainsi que celle des T  $\gamma/\delta$  était sans conséquence sur la vitesse de progression de la maladie, preuve que les cellules T dans leur ensemble ne sont pas essentielles au cheminement des prions. En revanche, les premières expériences d'infection réalisées chez des souris dépourvues de lymphocytes B indiquaient un net ralentissement de l'infection (KLEIN *et al.*, 1997). Des études ultérieures devaient toutefois montrer que ce résultat n'était pas la conséquence directe de l'absence des lymphocytes B, mais venait de ce que les lymphocytes B produisent des cytokines comme le « tumor necrosis factor » (TNF)- $\alpha$  et les lymphotoxines (LT)- $\alpha$  et - $\beta$  qui sont indispensables à la différenciation et au maintien des FDC au sein des centres germinatifs (KLEIN *et al.*, 1997). L'inhibition de ces cytokines ou de leurs récepteurs, soit par invalidation génique, soit par des procédés pharmacologique tels que l'injection d'une forme soluble du récepteur à LT- $\beta$ , retarde de façon très significative la progression des prions (MONTRASIO *et al.*, 2000) (MABBOTT *et al.*, 2003). Il faut cependant ajouter que l'absence ou l'inhibition de ces cytokines n'affecte pas uniquement le développement des FDC, elle retentit plus largement sur la micro-architecture des follicules lymphoïdes, l'organisation des zones centrales et marginales riches en lymphocytes B, ainsi que sur la présence des sous-populations de monocytes, de macrophages et de cellules dendritiques présentes dans ces structures. De façon générale, tous les facteurs susceptibles de perturber la bonne architecture des follicules lymphoïdes comme l'injection répétée de doses massives d'ADN contenant des motifs bactériens déméthylés de type oligo-CpG (HEIKENWALDER *et al.*, 2004) ou l'ablation génétique du récepteur aux chimiokines CXCR5 (PRINZ *et al.*, 2003a), retentissent sur le cours de l'affec-



**Figure 1 :** Schéma général des circuits de la lymphoinvasion à partir d'une infection par voie entérique. Les flèches rouges et bleues illustrent respectivement les voies lymphatiques/hématogènes et neurorétrogrades, certaines avérées, d'autres présomptives, du cheminement de la PrPSc.



**Figure 2 :** Détail de la capture de la PrPSc par les FDC dans un centre germinatif et son passage présumé des FDC jusqu'aux terminaisons nerveuses orthosympathiques.

tion.

Le système immunitaire jouant un rôle décisif dans la lympho-invasion, il semblait concevable que des pathologies inflammatoires favorisent l'accumulation de PrPSc dans les organes atteints. Ce point a été étudié récemment par l'équipe d'Adriano Aguzzi qui a montré que, chez des modèles murins spontanés ou transgéniques d'inflammation chronique (néphrite, insulite pancréatique ou hépatite), la PrPSc s'accumulait préférentiellement dans les foyers inflammatoires structurés en pseudo-follicules lymphoïdes. Cette accumulation de PrPSc n'est en revanche pas observée dans les foyers inflammatoires de souris  $LT\alpha^{-/-}$  et  $LT\beta R^{-/-}$ , ce qui semble suggérer à nouveau que la micro-architecture de ces foyers et la présence de FDC sont essentielles à l'accumulation de la protéine pathogène (HEIKENWALDER *et al.*, 2005). Cette accumulation anormale de PrPSc dans les foyers inflammatoires pathologiques a pour conséquence le fait qu'on détecte, par exemple, de la PrPSc dans l'urine de souris, atteintes concomitamment d'une néphrite lymphofolliculaire (SEEGER *et al.*, 2005) ou sur les macrophages du lait de brebis atteintes à la fois de la tremblante et d'une mammite due au virus Visna-Maedi (LIGIOS *et al.*, 2005).

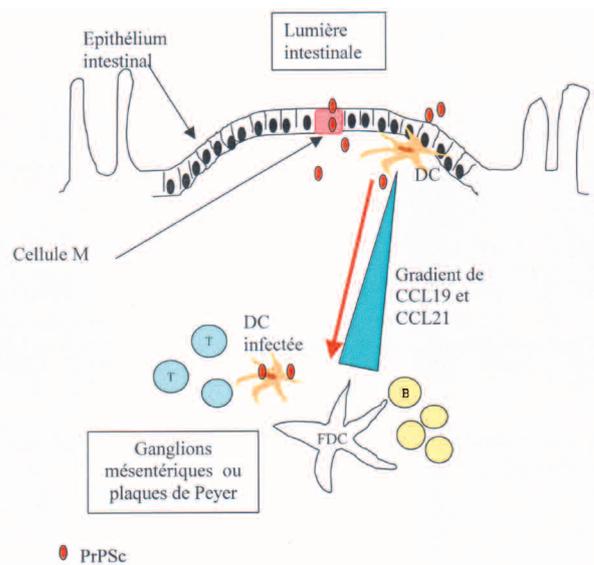
**Voie de passage alternative par les cellules dendritiques**

Pour important que soit leur rôle dans la pathogénie des ESST, les FDC ne peuvent cependant pas rendre compte de l'ensemble du processus de dissémination des prions à travers le système lymphoïde. Tout d'abord, il est difficile d'imaginer comment ces cellules, qui sont rigoureusement sédentaires, pourraient y parvenir sans le concours de cellules mobiles. Par ailleurs, plusieurs études montrent que dans certaines conditions expérimentales comme l'infection par des doses élevées de prions ou avec la souche particulière dite Fukuoka issue à l'origine d'une forme familiale humaine d'ESST (SHLOMCHIK *et al.*, 2001), la maladie peut se développer en l'absence avérée de FDC (PRINZ *et al.* 2002). Il existe donc des voies alternatives de propagation des prions qui passent par d'autres types cellulaires. Les cellules dendritiques (DC) qu'il ne faut pas confondre avec les FDC, sont un candidat de choix. Contrairement aux FDC, les DC ont une authentique origine hématopoïétique. Elles sont issues de la lignée monocytaire et jouent un rôle clé dans le système immunitaire, consistant à capter les antigènes dans les tissus périphériques, à les endocyter, puis à migrer vers les ganglions lymphatiques régionaux où elles présentent les antigènes aux lymphocytes T. C'est à partir de cette rencontre entre DC et cellule T, qui se matérialise par la formation de contacts membranaires étroits appelés « synapses immunologiques », qu'une réponse immune adaptative peut se développer. L'une des expériences princeps ayant mis en lumière le rôle des DC dans la propagation périphérique des prions a été réalisée par P. Aucouturier (AUCOUTURIER *et al.*, 2001). Elle a consisté à injecter à des souris RAG<sup>-/-</sup> totalement dépourvues de follicules lymphoïdes et de FDC, des DC provenant de souris infectées par les prions, puis à montrer que le processus morbide pouvait néanmoins se propa-

ger jusqu'au cerveau des souris hôtes, en dépit de l'absence de toute structure lymphoïde. D'autres expériences réalisées depuis ont confirmé l'implication des DC en montrant notamment que ces dernières captaient la PrPSc à partir des cellules épithéliales intestinales entre lesquelles leurs prolongements dendritiques peuvent s'insinuer (RESCIGNO *et al.*, 2001) et qu'elles la transportaient jusqu'aux ganglions mésentériques, sans dégradation protéolytique significative (HUANG *et al.*, 2002).

De même, des expériences récentes réalisées dans notre laboratoire montrent que, *in vitro*, les DC non seulement ne dégradent que très modérément la PrPSc, mais qu'après un certain laps de temps, elles l'amplifient (P. Aucouturier, résultats non publiés). Enfin quelques études ont mis en évidence par immunohistomarquage la présence de PrPSc dans des cellules qui n'ont pas été explicitement identifiées comme étant des DC, mais qui en ont les caractéristiques phénotypiques principales. On peut citer notamment les cellules CD68<sup>+</sup> riches en PrPSc dans la région du dôme des plaques de Peyer, chez des moutons atteints de tremblante (ANDREOLETTI *et al.*, 2000), ou les macrophages de la zone marginale des centres germinatifs de souris infectées, dépourvues de FDC (PRINZ *et al.*, 2002).

Notre laboratoire poursuit l'exploration du rôle des DC dans l'infection périphérique par les prions en recherchant notamment l'effet de certaines chimiokines importantes pour la migration des DC. Deux couples chimiokines/récepteurs sont actuellement à l'étude, le premier – CCL19, CCL21/CCR7 – est plus spécifiquement impliqué dans la migration des DC vers les zones lymphocytaires T des ganglions lymphatiques, alors que le second –

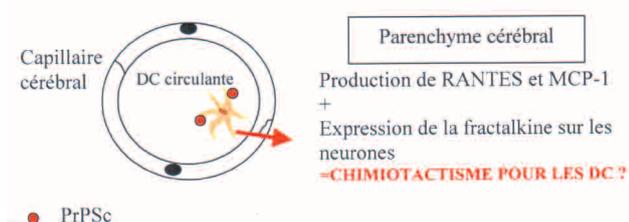


**Figure 3 :** Détail du passage de la barrière intestinale par la PrPSc et son transport par les cellules dendritiques (DC) jusqu'aux formations lymphoïdes associées : plaques de Peyer et ganglions lymphatiques mésentériques. La PrPSc franchit la barrière intestinale via les cellules M de l'épithélium intestinal mais peut aussi être capturée par les dendrites des DC qui s'insinuent à travers les jonctions épithéliales. Les DC migrent sous l'influence d'un gradient de chimiokines telles que CCL19 et CCL21.

fractalkine/CX3CR1— pourrait jouer un rôle au niveau du passage de la barrière hémato-méningée et des interactions entre DC et neurones.

Ces derniers expriment en effet des niveaux élevés de fractalkine. Curieusement, les premiers résultats d'infection de souris mutantes pour CCL19, CCL21 (souris *plt*) montrent peu ou pas de différence avec les souris témoins, à l'étape de la lympho-invasion. En revanche, c'est au stade clinique que les différences apparaissent ; les souris *plt* développent une forme plus lente de maladie, suggérant une participation de ces chimiokines et de leurs récepteurs au stade de la neuroinvasion (E. LEVAVASSEUR et P. AUCOUTURIER, résultats non publiés).

### Interventions à visée thérapeutique sur les voies de



**Figure 4 :** Schéma présumptif du franchissement de la barrière hémato-méningée par des DC circulantes porteuses de PrPSc. La production des chimiokines RANTES et MCP-1 observée dans les cerveaux de souris malades et l'expression de la fractalkine (ligand d'un récepteur, CX3CR1, exprimé par les DC) par les neurones, pourraient favoriser l'afflux de DC sanguines vers le SNC.

### passage de la lympho-invasion

Partant de cet ensemble de données, peut-on concevoir des approches prophylactiques ou thérapeutiques susceptibles d'interrompre, à un stade encore précoce de la pathogénie, la propagation des prions jusqu'aux sites de neuroinvasion ? Deux stratégies sont *a priori* concevables : soit couper l'axe lymphocytes B -> TNF/LT -> FDC, soit intervenir sur les chimiokines impliquées dans la migration des DC et les interactions de celles-ci avec les neurones (figure 1). La première stratégie a été testée avec quelques succès chez la souris à travers l'administration d'une forme compétitrice soluble du récepteur LTβ-R (MONTRASIO *et al.*, 2000 ; MABBOTT *et al.* 2003). Les effets sont cependant limités dans le temps et nécessitent une mise en œuvre pratiquement concomitante à l'infection. La seconde stratégie vise *a priori* plus spécifiquement la voie de propagation des DC *via* les chimiokines et leurs récepteurs. Le champ d'investigation est très large étant donné le nombre important de chimiokines en jeu et leur probable redondance. De plus, la mise hors-jeu des DC, sur une longue période de temps, sera sans doute difficile à réaliser et lourdes de conséquences sur les défenses immunitaires du sujet traité.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue l'hétérogénéité de la physiopathogénie des maladies à prions. Nous avons mentionné par exemple que la souche Fukuoka était moins dépendante des FDC que les souches classiques de tremblante comme RML ou ME7 (SHLOMCHIK, 2001). De même, l'importance et la durée de l'étape lymphoïde peuvent varier considérablement d'une forme à une autre d'ESST. Ainsi dans l'ESB, on ne

détecte quasiment pas de PrPSc dans les tissus lymphoïdes périphériques, ce qui du même coup restreint considérablement l'intérêt de stratégies dirigées contre la lympho-invasion (SOMERVILLE *et al.*, 1997). S'agissant des formes infectieuses humaines d'ESST, nous manquons de données physiopathogéniques précises sur l'importance de la phase de lympho-invasion. Le cas récemment rapporté de la présence du nouveau variant de la MCJ chez un patient transfusé laisse penser que dans certaines formes infectieuses humaines d'ESST, les prions transitent par le système lymphoïde (PEDEN *et al.*, 2004). Des travaux en cours chez des souris « humanisées », hébergeant des populations lymphoïdes fonctionnelles humaines, devraient apporter des réponses cruciales concernant l'intérêt potentiel d'interventions préventives aux étapes précoces de la lympho-invasion, chez l'homme.

### • L'IMMUNITÉ INNÉE AU COURS DES ESST : UNE ARME À DOUBLE TRANCHANT

Outre une accumulation de PrPSc, une perte neuronale et une vacuolisation du parenchyme cérébral (spongiose), on observe une intense activation microgliale et astrocytaire dans le SNC de sujets atteints. Même si cette activation ne s'accompagne pas de manifestations inflammatoires classiques, notamment d'infiltrations périvasculaires de leucocytes et de polynucléaires, elle n'en signe pas moins une réponse du système immunitaire inné en réaction au processus neurodégénératif et probablement à la PrPSc elle-même. En plus de cette gliose, la présence en nombre limité de DC et même de lymphocytes T a été rapportée (ROSICARELLI *et al.*, 2005; LEWICKI *et al.*, 2003). Tout cet ensemble cellulaire réactionnel sécrète des cytokines et des chimiokines qui, directement ou indirectement, retentissent sur la pathogénie neurodégénérative. Nous allons examiner ces différents acteurs en tentant, d'évaluer pour chacun d'eux, son impact dans la physiopathogénie.

### Les cellules microgliales

Le SNC est un organe immunoprivilégié, séparé du reste de l'organisme par la barrière hémato-méningée qui limite la diffusion de facteurs sanguins tels que le complément, les immunoglobulines ou les cytokines, ainsi que la pénétration de cellules circulantes du système immunitaire. Le SNC possède de fait son propre réseau de cellules immunitaires qui assurent une surveillance constante, en particulier au niveau des portes d'entrée de l'organe. Des macrophages et des DC ont ainsi été observés dans les méninges et les plexus choroïdes. Des macrophages périvasculaires patrouillent également autour des vaisseaux sanguins. Enfin dans le parenchyme, la population résidente des cellules microgliales, d'origine hématopoïétique, et apparentée aux macrophages, joue un rôle fondamental de réparation, d'homéostasie et de surveillance immunologique (KREUTZBERG, 1996). Les cellules microgliales colonisent le SNC à un stade précoce du développement embryonnaire. À l'état de repos, elles présentent de longues ramifications qui jouent probablement un rôle dans la surveillance et l'analyse du milieu cérébral. Dans des conditions inflammatoires, elles s'activent, changent de morphologie en même temps qu'elles

sur-expriment des molécules d'adhésion telles que ICAM-1, le ligand de surface d'intégrines comme CD11b ou LFA-1, des molécules du CMH et des molécules de costimulation comme CD86 et CD40. Elles acquièrent un phénotype fonctionnel proche des DC et, comme ces dernières, peuvent présenter les antigènes et activer des lymphocytes T. En même temps, elles migrent en réponse aux chimiokines, vers la zone du parenchyme cérébral atteint, et contribuent à sa réparation (STREIT, 2000).

Dans le cas des ESST, et plus généralement des amyloïdoses dégénératives, l'activation des cellules microgliales précède la mort neuronale (MANUELIDIS *et al.*, 1997; MEDA *et al.*, 2001; RIEMER *et al.*, 2000; WILLIAMS *et al.*, 1997a). Les études réalisées à partir du peptide p106-126 de la PrP, qui présente la même structure fibrillaire que la protéine totale, semblent confirmer ce schéma pathogénique (SELVAGGINI *et al.*, 1993). Ainsi, le peptide p106-126 est toxique pour des neurones en culture, à condition que la microglie soit présente (BROWN *et al.*, 1996; GIESE *et al.*, 1998), et son action est spécifique en ce sens que seuls des neurones exprimant la PrPC sont affectés (BROWN *et al.*, 1996). Sur le plan des voies de la signalisation, le peptide p106-126 active la microglie et les monocytes, en induisant des flux calciques (SILEI *et al.*, 1999), la phosphorylation de tyrosines kinases (COMBS *et al.*, 1999) et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1, et l'IL-6 (PEYRIN *et al.*, 1999). Le récepteur du peptide p106-126 pourrait être le « G protein-coupled receptor formyl peptide receptor-like 1 » (FPRL1) qui, de façon intéressante, peut aussi lier le peptide  $\beta$ -amyloïde impliqué dans la maladie d'Alzheimer (LE *et al.*, 2001). Enfin, le peptide p106-126, tout comme la protéine entière, inhibe l'activité phagocytaire des cellules microgliales, d'où la possibilité que les capacités de « nettoyage » de la microglie soient rapidement dépassées dans un cerveau infecté par les prions (CIESELSKI-TRESKA *et al.*, 2004). Ceci amène naturellement à se demander quel est le sens de la réaction microgliale, si elle est bénéfique ou délétère vis-à-vis du processus neurodégénératif induit par les agents des ESST. La réponse n'est pas univoque.

D'un côté en effet, les cellules de la microglie produisent des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 $\beta$  et l'IL-6, sur lesquelles nous reviendrons plus loin. De plus, comme en témoigne la présence de dérivés nitrotyrosines (GUENTCHEV *et al.*, 2000) et de marqueurs de la peroxydation des lipides (WONG *et al.*, 2001) dans les cerveaux de souris atteintes de tremblante, il est très probable que les cellules de la microglie relarguent des radicaux libres oxygénés auxquels les neurones sont particulièrement sensibles. Mais la microglie possède en même temps des propriétés régénératrices sur les neurones qui sont notamment bien mises en évidence dans les expériences d'axotomie. Ainsi voit-on les cellules microgliales migrer rapidement vers le site de la lésion pour former des gaines autour des neurones sectionnés (STREIT, 2005). Puis, elles participent à la réparation en produisant *in situ* des facteurs de croissance neuronaux tels que le TGF- $\beta$  et le Nerve

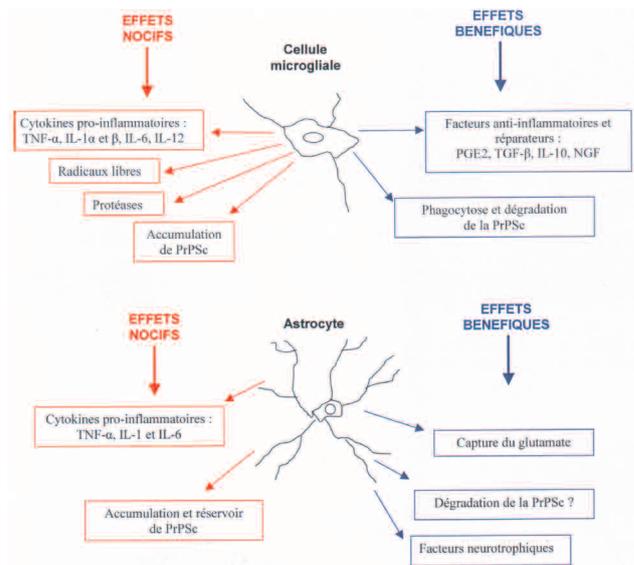


Figure 5 : Effets contrastés des cellules de la glie durant la phase neurologique des ESST.

Growth Factor (NGF) et en suscitant une synthèse neuronale de thrombospondine et de laminine (STREIT, 2000). Indépendamment de ces propriétés régénératrices, les cellules microgliales activées acquièrent des capacités phagocytaires qui pourraient contribuer à l'élimination des neurones apoptotiques et surtout des dépôts amyloïdes extracellulaires de PrPSc. De la même façon que les macrophages de la périphérie sont capables d'abaisser significativement le titre infectieux d'un inoculum contenant de la PrPSc, grâce à leurs propriétés phagocytaires (BERINGUE *et al.*, 2000 ; CARP et CALLAHAN, 1981, 1982), il est tout à fait concevable que la microglie agisse de façon similaire, à la phase neurologique de la maladie. La stimulation de la phagocytose par les cellules microgliales s'est révélée très prometteuse dans la maladie d'Alzheimer et ses modèles animaux. Ainsi, chez des souris transgéniques APP qui développent spontanément des plaques  $\beta$ -amyloïdes dans leur cerveau et manifestent des signes neurologiques, l'activation de la microglie par du LPS ou des anticorps, se traduit par une nette diminution de la taille des plaques et une amélioration des symptômes neurologiques (BARD *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 2005). Nous reviendrons plus loin sur l'intérêt de coupler l'action des anticorps à celle de la microglie, dans le cadre d'une réflexion plus générale sur les interactions positives entre immunité innée et immunité adaptative dans les maladies à prions.

### Les astrocytes

Les astrocytes, l'autre sous-population gliale impliquée dans les ESST, sont d'origine neuroectodermique et représentent un tiers des cellules du SNC. Il existe des astrocytes de type fibrillaire en étoile possédant de longues ramifications qui peuvent être mises en évidence par le marquage immunohistochimique d'une protéine de leur cytosquelette, la GFAP (glial fibrillary acidic protein), et des astrocytes de la substance grise, de type protoplasmique et GFAP-négatifs. Les astrocytes sont en contact étroit avec les neurones et sont

capable de modifier la transmission synaptique de ces derniers (PASTI *et al.*, 1997). Ils capturent aussi les neurotransmetteurs et protègent ainsi par exemple les neurones de la toxicité au glutamate (ROTHSTEIN *et al.*, 1996). Ils produisent des facteurs de croissance neuronaux et favorisent la réparation des fibres de myéline endommagées (ROBINSON *et al.*, 1998). Enfin, ils participent à la maintenance de la barrière hémato-méningée en contrôlant l'entrée des leucocytes dans le SNC. En revanche, contrairement aux cellules microgliales, les astrocytes ne semblent pas dotés de fonctions de présentation d'antigène et d'activation des lymphocytes T.

Une astroglie importante et précoce est observée dans les maladies à prions (DeARMOND *et al.*, 1987 ; DIEDRICH *et al.*, 1991). Elle semble précéder la mort neuronale et survenir concomitamment à l'accumulation de PrPSc dans le SNC (JENDROSKA, 1991 ; DeARMOND, 1992 ; GIESE, 1998). Les astrocytes peuvent eux-mêmes répliquer la PrPSc (DIEDRICH *et al.*, 1991 ; YE *et al.*, 1998) et, tout comme les neurones, attirer les cellules microgliales à travers la sécrétion de chimiokines comme MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  et RANTES qui toutes se lient à CCR5 (MARELLA et CHABRY, 2004). Le rôle des astrocytes dans la pathogénie des maladies à prions est probablement crucial, comme en témoigne le fait qu'il suffit que la PrPC soit exprimée par transgénèse ciblée, uniquement sur les astrocytes, pour que des souris PrP<sup>0</sup>, normalement résistantes à la tremblante, tombent malades (RAEBER *et al.*, 1997). Le processus exact par lequel les astrocytes infectés provoquent l'apoptose de neurones dépourvus de PrPC n'est toujours pas connu. Il est fort probable que ces interactions délétères passent par la mise en jeu de médiateurs humoraux. Les astrocytes sont en effet une source très importante de cytokines et de chimiokines telles que l'IL-1, l'IL-6, l'IL-10, le TGF- $\beta$ , le TNF- $\alpha$ , RANTES et MCP-1 (VAN WAGONER et BENVENISTE, 1999). Mais d'autres explications peuvent être également avancées comme par exemple la perte de la fonction éliminatrice du glutamate chez des astrocytes infectés par la PrPSc. Quels que soient les mécanismes mis en jeu, l'astrocytose semble être plutôt un facteur délétère favorisant la neurodégénérescence. Mais là encore, comme pour la microglie, le phénomène n'est pas univoque. Une étude menée dans le modèle murin de la maladie d'Alzheimer démontre en effet que les astrocytes sont attirés par les plaques de peptide  $\beta$ -amyloïde et sont capables de les dégrader, sans activation préalable (WYSS-CORAY *et al.*, 2003).

### Les cytokines

Parallèlement à l'activation des populations gliales au cours de la neuroinvasion par les agents des ESST, de nombreuses études ont décrit une intense production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$ , l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  (WILLIAMS *et al.*, 1994 ; KIM *et al.*, 1999) produites à la fois par ces cellules et vraisemblablement par d'autres éléments cellulaires comme les macrophages ou les DC attirés dans le SNC de sujets atteints. Le TNF- $\alpha$  favorise l'entrée de leucocytes (FEUERSTEIN *et al.*, 1994) et peut aussi induire directement l'apoptose des neurones (CACCI *et al.*, 2005). Cette cytokine est généralement considérée

comme neurotoxique dans les affections neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (BLASKO et GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2003 ; DZIEWULSKA et MOS-SAKOWSKI, 2003 ; ZHAO *et al.*, 2003). Elle n'est toutefois pas indispensable dans la pathogénie des ESST comme le montre le fait que des souris invalidées TNF- $\alpha$ <sup>-/-</sup> ou IL-6<sup>-/-</sup> inoculées par voie intra-cérébrale avec de la PrPSc, développent une symptomatologie neurologique tout à fait parallèle à celle des témoins de type sauvage (MABBOTT *et al.*, 2000). Ces résultats s'opposent à première vue à ceux de Thackray et collègues, qui montrent que la maladie est considérablement accélérée chez des souris IL-10<sup>-/-</sup> inoculées dans les mêmes conditions et que cette accélération est nettement corrélée à une augmentation de l'expression intracérébrale de TNF- $\alpha$  (THACKRAY *et al.*, 2004). Le déficit en TNF- $\alpha$  pourrait donc être compensé par les effets délétères d'autres cytokines pro-inflammatoires alors que l'effet protecteur de l'IL-10 ne serait compensé par aucune autre cytokine anti-inflammatoire.

L'IL-1 $\beta$  est une autre cytokine pro-inflammatoire fortement soupçonnée d'être impliquée dans les processus neurodégénératifs associés à la maladie d'Alzheimer, aux traumatismes crâniens, aux accidents vasculaires cérébraux, à l'épilepsie ou à la maladie de Parkinson (ALLAN *et al.*, 2005). Des injections intracérébrales d'IL-1 dans le cerveau d'animaux ayant subi un stimulus traumatique, ischémique ou excitotoxique, exacerbent les lésions neuronales (YAMASKI *et al.*, 1992), alors qu'inversement, l'injection d'un antagoniste du récepteur à l'IL-1 (IL-1 RA) se révèle neuroprotectrice (RELTON et ROTHWELL, 1992). En ce qui concerne plus précisément l'implication de l'IL-1 dans les ESST, l'inoculation de la souche 139A par voie intra-cérébrale à des souris IL-1R<sup>-/-</sup> se traduit par un retard de survenue des symptômes neurologiques de 22-25 jours, par rapport à des souris témoins de type sauvage. L'examen histologique des cerveaux des souris IL-1R<sup>-/-</sup> révèle une astrocytose diminuée, une légère augmentation de l'activation microgliale et une accumulation retardée de PrPSc (SCHULTZ *et al.*, 2004). Sachant que les astrocytes sont l'un des sites majeurs d'accumulation et sans doute de réplification de la PrPSc dans le SNC, la diminution de cette population pourrait expliquer ces résultats (SCHULTZ *et al.*, 2004). Le récepteur à l'IL-1 transduit des signaux intracellulaires *via* la molécule adaptatrice MyD88. Or, de façon surprenante, les souris MyD88<sup>-/-</sup> présentent la même susceptibilité que les témoins à la progression de la tremblante après injection intra-cérébrale (PRINZ *et al.*, 2003b). Cette différence de sensibilité aux prions entre des souris IL-1R<sup>-/-</sup> et MyD88<sup>-/-</sup> pourrait s'expliquer par le fait que MyD88 est impliqué dans de nombreuses voies de signalisation autres que celle du récepteur à l'IL-1, en particulier dans celles des Toll Like Receptors, et que du même coup, l'abrogation de certaines de ces voies pourrait compenser les effets pro-neuroinvasifs de la voie de l'IL-1R.

### Les chimiokines

L'inflammation du SNC s'accompagne d'une façon générale d'une sécrétion importante de chimiokines produites par la microglie, les astrocytes, les cellules endothéliales et

les leucocytes infiltrés (HESSELGESSER et HORUK, 1999). Les ESST ne font pas exception à cette règle. Des molécules comme RANTES ou MCP-1 sont fortement augmentées au cours de la neuroinvasion par les prions (FELTON *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2005) et pourraient, indépendamment de la fractalkine présente sur les neurones, attirer des DC vecteurs de PrP<sup>Sc</sup>. De fait, ces cellules sont observées dans les zones périvasculaires de souris infectées par la souche Fukuoka (ROSICARELLI *et al.*, 2005). Des ligands de CXCR3 comme les chimiokines CCL19/CCL21 produites entre autres par les astrocytes, et dont la présence a été rapportée dans les cerveaux de souris atteintes d'EAE (AMBROSINI *et al.*, 2003; COLUMBA-CABEZAS *et al.*, 2003), pourraient être des acteurs importants de la neurodégénérescence, comme le suggèrent les résultats évoqués plus haut de notre laboratoire, à propos des souris mutantes *plt*. Ces mêmes chimiokines pourraient aussi être à l'origine de la migration des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> observés dans le cerveau de souris développant une tremblante (BETMOUNI *et al.*, 1996; LEWICKI *et al.*, 2003). Le rôle pathogénique exact de ces lymphocytes est encore obscur dans la mesure où ni leur spécificité antigénique, ni leur profil de sécrétion de cytokines n'ont été clairement identifiés (LEWICKI *et al.*, 2003). Ajoutons enfin, pour conclure sur les chimiokines, que CXCL10 possède une activité neurotoxique directe (SUI *et al.*, 2004).

## Un bilan

On serait tenté de conclure, à l'issue de ce chapitre sur la participation de l'immunité innée dans les ESST, qu'elle est plutôt globalement négative dans la mesure où elle tend à amplifier le processus de neurodégénérescence induit par les prions. Une étude attentive des données de la littérature montre cependant que le bilan doit être nuancé. Comme nous l'avons évoqué plus haut, les cellules gliales, celles de la microglie notamment, peuvent produire des cytokines et des molécules anti-inflammatoires au cours de la neuroinvasion. Ainsi, du TGF- $\beta$  à concentration élevée est régulièrement retrouvé chez des souris C57Bl6 infectées par ME7 (PERRY *et al.*, 2002) et à un degré moindre, dans d'autres formes d'ESST murines (BAKER *et al.*, 1999). De même, la prostaglandine PGE<sub>2</sub>, une molécule qui, tout comme le TGF- $\beta$ , diminue l'activation des cellules microgliales et des cellules dendritiques, est également retrouvée dans les cerveaux de souris malades (PERRY *et al.*, 2002; WILLIAMS *et al.*, 1997b). Thackray *et al.* ont montré que l'infection par les souches RML et ME7 se traduit par une élévation des ARNm du TNF- $\alpha$  et de l'IL-1 $\beta$ , mais aussi de l'IL-10, de l'IL-13 et du TGF- $\beta$  (THACKRAY *et al.*, 2004). Tout se passe donc comme si la réponse immune innée se développant dans le SNC essayait tant bien que mal de limiter la spirale neuro-inflammatoire dont elle est aussi en grande partie responsable. Comment favoriser ce versant bénéfique au détriment de l'autre ? L'immunité adaptative pourrait peut-être se révéler un levier précieux pour y parvenir.

### • IMPLIQUER L'IMMUNITÉ ADAPTATIVE DANS LES ESST

Contrairement à l'immunité innée, l'immunité adaptative

n'est pas spontanément mobilisée au cours des maladies à prions. Les raisons en ont été données dans l'introduction de ce mémoire. Il n'empêche que plusieurs études récentes, directement inspirées de travaux similaires réalisés dans le domaine de la maladie d'Alzheimer (SCHENK *et al.*, 1999), ont montré que l'immunisation intentionnelle active ou passive contre la PrP<sup>C</sup> avait un effet bénéfique sur le cours des ESST chez la souris (HEPPNER *et al.*, 2001; WHITE *et al.*, 2003; SIGURDSSON *et al.*, 2003). L'une de ces études a consisté à injecter des anticorps monoclonaux anti-PrP à des souris qui étaient, de façon quasi concomitante, infectées par voie intrapéritonéale. Les anticorps ont ralenti et même bloqué définitivement chez certains animaux le processus morbide. Ces mêmes anticorps étaient en revanche sans effet s'ils étaient administrés à trop grande distance du moment de l'inoculation, autrement dit à un stade déjà avancé de la neuroinvasion. Une autre étude, tout aussi convaincante, s'est fondée sur des souris transgéniques exprimant de façon constitutive la chaîne lourde d'un anticorps anti-PrP<sup>C</sup> (le clone 6H4) qui s'associe à des chaînes d'immunoglobulines légères librement réarrangées (HEPPNER *et al.*, 2001). Ces souris ont un répertoire anticorps relativement diversifié, en raison de la variabilité de la chaîne légère, mais contenant néanmoins une forte proportion d'anticorps à spécificité anti-PrP en raison de la contrainte imposée par la chaîne lourde. Infectées par voie périphérique, ces souris se sont montrées significativement plus résistantes que leurs congénères de type sauvage, tout en ne développant pas de manifestations autoimmunes pathologiques contre les tissus exprimant la PrP<sup>C</sup>. Là encore, les anticorps étaient présents à l'instant même de l'inoculation. Pour encourageants qu'ils soient, ces résultats illustrent les limites sur lesquelles buttent actuellement les stratégies vaccinales contre les maladies à prions et plus généralement contre les affections neurodégénératives. Ces difficultés tiennent d'abord à l'antigène cible, la PrP, qui est un autoantigène fortement toléré par le système immunitaire. Dans les expériences évoquées ci-dessus, les anticorps étaient administrés passivement ou produits constitutivement par transgénèse. Les quelques tentatives expérimentales d'immunisation active contre la PrP se sont soldées par des effets protecteurs bien plus modestes (SIGURDSSON *et al.*, 2002). Une autre difficulté tient à la nature de l'organe cible, le cerveau, immunologiquement séquestré, peu perméable à la diffusion des agents de l'immunité adaptative et en même temps extrêmement sensible aux atteintes inflammatoires autoimmunes qui peuvent se développer au cours de la réponse contre la PrP<sup>C</sup>. Pour toutes ces raisons, nous avons décidé de reprendre le problème à la base et, plutôt que d'opter d'emblée pour une stratégie vaccinale tournée vers les anticorps, nous avons posé la question plus fondamentale du rôle respectif de l'immunité humorale et cellulaire dans la protection contre les ESST. Nos recherches se sont pour cette raison focalisées sur l'étude de la réponse anti-PrP des lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup>.

### La réponse T CD4<sup>+</sup>-anti-PrP

Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> occupent une place straté-

gique dans les réponses de l'immunité adaptative aussi bien cellulaire que humorale. Ils sont, en premier lieu, à l'origine des réponses cellulaires de type pro-inflammatoire mises en jeu contre certains pathogènes tels que les mycobactéries ou les agents parasitaires, mais aussi au cours de l'hypersensibilité de type retardé et des maladies autoimmunes telles que le diabète de type 1 ou la sclérose en plaque. Ils sont par ailleurs les partenaires incontournables des lymphocytes B dans les réponses anticorps de type IgG de haute affinité. Enfin, ils contribuent efficacement à la différenciation des lymphocytes T CD8+ en cellules effectrices tueuses, impliquées dans la lutte contre les virus et les tumeurs. Le choix entre ces différentes formes de réponses est déterminé par le profil des cytokines produites par les lymphocytes T CD4+ eux-mêmes et par les DC avec lesquelles ils interagissent au moment de leur activation. Des cytokines dites Th1 (pour T helper 1) comme l'interféron- $\gamma$ , l'IL-12 et le TNF- $\alpha$  vont produire des réponses de type cellulaire ou cytotoxique, alors que des cytokines dites Th2 comme l'IL-4 ou l'IL-10 vont favoriser les coopérations T-B et les réponses humorales. Il est possible, sous certaines conditions expérimentales, d'influencer le type de réponse en augmentant la concentration de telles cytokines et en réduisant l'influence des cytokines opposées. Produire des lymphocytes T CD4+ anti-PrP nous est donc apparu comme le point de départ indispensable à une évaluation précise des mécanismes potentiellement protecteurs au cours des ESST.

Notre premier objectif a été d'identifier les motifs antigéniques de la PrP reconnus prioritairement par les lymphocytes T dans le contexte des molécules du CMH de type II. Pour ce faire, nous avons immunisé, avec un ADN vaccinal codant la PrP murine, des souris PrP<sup>0</sup> qui n'étaient donc pas tolérantes à la protéine. Nous avons ensuite analysé, *in vitro*, par un test de prolifération, la spécificité de la réponse T en criblant une banque de peptides 30-mères se chevauchant partiellement et couvrant la totalité de la séquence primaire de la PrP. Trois peptides ont ainsi été identifiés. Le premier se situe entre les positions 97 et 128 (p97-128) et présente un pouvoir stimulateur relativement modeste. Les deux autres, p143-172 et p158-187, se chevauchent en partie et recouvrent un même motif antigénique. L'immunisation directe de souris PrP<sup>0</sup> par p97-128 induit une réponse cellulaire relativement faible, mais une bonne réponse anticorps, en particulier contre la PrP native ; inversement, p143-172 et p158-187 donnent une réponse cellulaire de bonne qualité et une réponse anticorps relativement modeste. Injectés à des souris PrP<sup>+</sup>, donc tolérantes, ces mêmes peptides se révèlent modérément immunogéniques, à condition d'être accompagnés d'adjuvants puissants comme des motifs nucléotidiques bactériens du type oligo-CpG (ROSSET *et al.*, 2004). La comparaison entre souris tolérantes PrP<sup>+</sup> et non-tolérantes PrP<sup>0</sup> montre de façon inattendue que le répertoire des lymphocytes B est plus profondément tolérisé que celui des T et qu'il est donc plus difficile d'obtenir une réponse anticorps significative contre la PrP, notamment la PrP native, qu'une réponse cellulaire T (GREGOIRE *et al.*, 2005 ; POLYMERIDOU *et al.*, 2004).

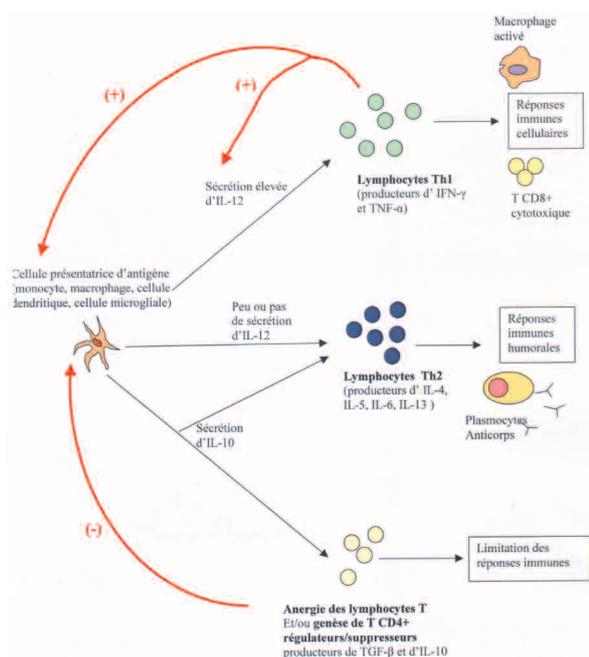
Nous avons ensuite montré que des lymphocytes T CD4+ anti-PrP, obtenus par immunisation contre un des peptides 30-mères identifiés, en l'occurrence p158-187, pouvait conférer une protection contre la tremblante de la souris. Des lymphocytes T issus de souris PrP<sup>0</sup> immunisées contre p158-187 ont ainsi été transférés à des souris receveuses PrP<sup>+</sup> inoculées avec la souche de prions 139A. Les résultats montrent sans ambiguïté que les souris qui ont reçu des lymphocytes T sensibilisés par p158-187, sont effectivement protégées ; elles tombent malades avec un retard extrêmement significatif de plusieurs semaines par rapport à des souris qui ont reçu des lymphocytes T naïfs ou des lymphocytes T immuns, mais non restimulés dans l'hôte adoptif. La maladie progresse également plus lentement chez les souris protégées, suggérant la possibilité que les cellules T ralentissent la progression de l'agent non seulement à l'étape de lympho-invasion, mais aussi à celle de la neuroinvasion (tableau 1).

### Perspectives vaccinales

Il nous faut désormais explorer plus avant les mécanismes par lesquels ces lymphocytes T immuns protègent des souris infectées par les prions. Plusieurs scénarios sont concevables. Selon l'un d'eux, les lymphocytes T anti-PrP coopéreraient avec les lymphocytes B des souris hôtes et contribueraient de la sorte à la mise en jeu d'une réponse anticorps de bonne qualité. Cette interprétation irait bien avec les expériences de transferts passifs d'anticorps mentionnées au début de ce chapitre. Les anticorps pourraient agir à leur tour de deux façons : d'abord en s'interposant entre la PrPC et la PrPSc, bloquant ainsi la transconformation infectieuse de la protéine prion selon un schéma qui a été démontré *in vitro* sur des lignées de neuroblastomes infectées (PERETZ *et al.*, 2001), ensuite en opsonisant les dépôts de PrPSc et en activant les cellules phagocytaires : les macrophages en périphérie, les cellules gliales dans le SNC. Ce scénario impliquant le recrutement des lymphocytes B nous paraît cependant le moins probable au vu de la tolérance profonde du répertoire B vis-à-vis de la PrPC. De fait, on ne détecte pratiquement pas d'anticorps contre la PrPC native dans les souris hôtes qui ont reçu des lymphocytes T immuns.

Selon un scénario alternatif, sensiblement plus iconoclaste, les lymphocytes T immuns engendreraient une réponse de type cellulaire avec production de cytokines capables de recruter des acteurs de l'immunité innée : à nouveau les macrophages en périphérie et les éléments de la glie dans le SNC. La question qui se pose dans cette perspective est de déterminer quel profil de cytokine est le plus pertinent.

Faut-il favoriser un profil Th1 pro-inflammatoire, qui va certes mobiliser l'ensemble des effecteurs de l'immunité innée, mais qui risque d'induire des complications inflammatoires délétères telles que celles observées au cours du premier essai clinique d'immunothérapie dans la maladie d'Alzheimer (NICOLL *et al.*, 2003) ? Faut-il, au contraire, favoriser un profil Th2 qui pourrait déboucher sur une production locale de TGF- $\beta$  et des phénomènes de réparation neuronale, mais avec le risque inverse de mettre hors circuit des agents de l'immunité innée ? Comme on le voit, tout se



génératives.

**Figure 6 :** Schéma général de la spécialisation fonctionnelle des lymphocytes T auxiliaires et du type de réponse engendré, en fonction de l'influence des cytokines. Les flèches rouges représentent des boucles de feed-back. Ainsi, les cytokines TNF-α et IFN-γ sécrétées par les T CD4+ Th1 et les T CD8+ cytotoxiques activent la DC et favorisent la sécrétion d'IL-12.

joue au niveau de l'interface entre immunité adaptative et immunité innée. Il est possible que la solution se trouve dans un compromis, entre une réponse cellulaire suffisamment agressive pour ralentir la neurodégénérescence, mais non délétère et génératrice de complications autoimmunes, et une réponse réparatrice qui ne démobilise pas les acteurs de l'inflammation. L'avenir de la vaccination dans les maladies à prions, mais aussi dans la maladie d'Alzheimer, dépendra des réponses précises que nous pourrions apporter à ces questions. Mythe ou réalité, il est encore trop tôt pour se prononcer sur l'avenir de l'immunothérapie dans les affections neurodég-

	Nature du transfert adoptif <sup>a</sup>		
	T naïfs	T immuns	T immuns <sup>b</sup> + rappels
Durée d'incubation (médiane en jours)	191	192	235 <sup>c</sup>
Durée de la phase clinique (médiane en jours)	36	42	50 <sup>d</sup>

**Tableau 1 :** Protection induite par le transfert adoptif de lymphocytes T immuns restimulés itérativement.

<sup>a</sup> 1x10<sup>7</sup> lymphocytes T immuns anti-p158-187 ou naïfs provenant de souris PrP<sup>-/-</sup> inoculés i.v. à des receveuses PrP<sup>+</sup> infectées 3 jours plus tard i.p. avec 1x10<sup>3</sup> doses infectieuses de la souche de tremblante 139A. 5 à 10 souris par groupe.

<sup>b</sup> 4 rappels itératifs tous les 30 jours de 50 µg de peptide en émulsion dans de l'adjuvant incomplet de Freund inoculé par voie sous-cutanée à la base de la queue.

<sup>c</sup> Médiane significativement différente de celles des groupes ayant reçu des cellules T immunes sans rappel (p=0,038) ou des T naïfs (p=0,001) par le Log Rank Test.

<sup>d</sup> Médiane significativement différente de celle du groupe ayant reçu des T naïfs (p=0,014) mais pas des T immuns sans rappel (p≥0,05)





## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Pierre Aucouturier et Etienne Levavasseur de nous avoir communiqué leurs résultats non encore publiés. Nous remercions également tous les membres de l'unité INSERM U712 pour leur enthousiasme et leur soutien.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALLAN SM, TYRRELL PJ, ROTHWELL NJ (2005) Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat. Rev. Immunol.*, **5**, 629-640.
- AMBROSINI E, COLUMBA-CABEZAS S, SERAFINI B, MUSCELLA A, ALOISI F (2003) Astrocytes are the major intracerebral source of macrophage inflammatory protein-3 $\alpha$ /CCL20 in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis and in vitro. *Glia*, **41**, 290-300.
- ANDROLETTI O, BERTHON P, MARC D, SARRADIN P, GROS-CLAUDE J, VAN KEULEN L, SCHELCHER F, ELSÉN JM, LAN-TIER F (2000) Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J. Gen. Virol.*, **81**, 3115-3126.
- AUCOUTURIER P, GEISSMANN F, DAMOTTE D, SABORIO GP, MEEKER HC, KASCSAK R, CARP RI, WISNIEWSKI T (2001) Infected splenic dendritic cells are sufficient for prion transmission to the CNS in mouse scrapie. *J. Clin. Invest.*, **108**, 703-708.
- BAKER CA, LU ZY, ZAITSEV I, MANUELIDIS L (1999) Microglial activation varies in different models of Creutzfeldt-Jakob disease. *J. Virol.*, **73**, 5089-5097.
- BARD F, CANNON C, BARBOUR R, BURKE RL, GAMES D, GRAJEDA H, GUIDO T, HU K, HUANG J, JOHNSON-WOOD K, KHAN K, KHOLODENKO D, LEE M, LIEBERBURG I, MOTTER R, NGUYEN M, SORIANO F, VASQUEZ N, WEISS K, WELCH B, SEUBERT P, SCHENK D, YEDNOCK T (2000) Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat. Med.*, **6**, 916-919.
- BERINGUE V, DEMOY M, LASMEZAS CI, GOURITIN B, WEINGARTEN C, DESLYS JP, ANDREUX JP, COUVREUR P, DORMONT D (2000) Role of spleen macrophages in the clearance of scrapie agent early in pathogenesis. *J. Pathol.*, **190**, 495-502.
- BETMOUNI S, PERRY VH, GORDON JL (1996) Evidence for an early inflammatory response in the central nervous system of mice with scrapie. *Neuroscience*, **74**, 1-5.
- BLASKO I, GRUBECK-LOEBENSTEIN B (2003) Role of the immune system in the pathogenesis, prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Drugs Aging*, **20**, 101-113.
- BROWN DR, SCHMIDT B, KRETZSCHMAR HA (1996) Role of microglia and host prion protein in neurotoxicity of a prion protein fragment. *Nature*, **380**, 345-347.
- BROWN KL, STEWART K, RITCHIE DL, MABBOTT NA, WILLIAMS A, FRASER H, MORRISON WI, BRUCE ME (1999) Scrapie replication in lymphoid tissues depends on prion protein-expressing follicular dendritic cells. *Nat. Med.*, **5**, 1308-1312.
- CACCI E, CLAASEN JH, KOKAIA Z (2005) Microglia-derived tumor necrosis factor- $\alpha$  exaggerates death of newborn hippocampal progenitor cells in vitro. *J. Neurosci. Res.*, **80**, 789-797.
- CARP RI, CALLAHAN SM (1981) In vitro interaction of scrapie agent and mouse peritoneal macrophages. *Intervirology*, **16**, 8-13.
- CARP RI, CALLAHAN SM (1982) Effect of mouse peritoneal macrophages on scrapie infectivity during extended in vitro incubation. *Intervirology*, **17**, 201-207.
- CIESIELSKI-TRESKAJ, GRANT NJ, ULRICH G, CORROTTE M, BAILLY Y, HAEBERLE AM, CHASSEROT-GOLAZ S, BADER MF (2004) Fibrillar prion peptide (106-126) and scrapie prion protein hamper phagocytosis in microglia. *Glia*, **46**, 101-115.
- COLUMBA-CABEZAS S, SERAFINI B, AMBROSINI E, ALOISI F (2003) Lymphoid chemokines CCL19 and CCL21 are expressed in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the maintenance of chronic neuroinflammation. *Brain Pathol.*, **13**, 38-51.
- COMBS CK, JOHNSON DE, CANNADY SB, LEHMAN TM, LANDRETH GE (1999) Identification of microglial signal transduction pathways mediating a neurotoxic response to amyloidogenic fragments of beta-amyloid and prion proteins. *J. Neurosci.*, **19**, 928-939.
- DeARMOND SJ, MOBLEY WC, DEMOTT DL, BARRY RA, BECKSTEAD JH, PRUSINER SB (1987) Changes in the localization of brain prion proteins during scrapie infection. *Neurology*, **37**, 1271-1280.
- DIEDRICH JF, BENDHEIM PE, KIM YS, CARP RI, HAASE AT (1991) Scrapie-associated prion protein accumulates in astrocytes during scrapie infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **88**, 375-379.
- DZIEWULSKA D, MOSSAKOWSKI MJ (2003) Cellular expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  and its receptors in human ischemic stroke. *Clin. Neuropathol.*, **22**, 35-40.
- FELTON LM, CUNNINGHAM

- C, RANKINE EL, WATERS S, BOCHE D, PERRY VH (2005) MCP-1 and murine prion disease: separation of early behavioural dysfunction from overt clinical disease. *Neurobiol. Dis.*, **20**, 283-295.
- FEUERSTEIN GZ, LIU T, BARONE FC (1994) Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor-alpha. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, **6**, 341-360.
  - FRASER H, DICKINSON AG (1978) Studies of the lymphoreticular system in the pathogenesis of scrapie: the role of spleen and thymus. *J. Comp. Pathol.*, **88**, 563-573.
  - GIESE A, BROWN DR, GRO-SCHUP MH, FELDMANN C., HAIST I, KRETZSCHMAR HA (1998) Role of microglia in neuronal cell death in prion disease. *Brain Pathol.*, **8**, 449-457.
  - GREGOIRE S, BERGOT AS, FERAUDET C, CARNAUD C, AUCOUTURIER P, ROSSET MB (2005) The Murine B Cell Repertoire Is Severely Selected against Endogenous Cellular Prion Protein. *J. Immunol.*, **175**, 6443-6449.
  - GREGOIRE S, LOGRE C, METHAROM P, LOING E, CHOMILIER J, ROSSET MB, AUCOUTURIER P, CARNAUD C (2004) Identification of two immunogenic domains of the prion protein--PrP--which activate class II-restricted T cells and elicit antibody responses against the native molecule. *J. Leukoc. Biol.*, **76**, 125-134.
  - GUENTCHEV M, VOIGTLANDER T, HABERLER C, GRO-SCHUP MH, BUDKA H (2000) Evidence for oxidative stress in experimental prion disease. *Neurobiol. Dis.*, **7**, 270-273.
  - HEIKENWALDER M, POLY-MENIDOU M, JUNT T, SIGURDSON C, WAGNER H, AKIRA S, ZINKERNAGEL R, AGUZZI A (2004) Lymphoid follicle destruction and immunosuppression after repeated CpG oligodeoxynucleotide administration. *Nat. Med.*, **10**, 187-192.
  - HEIKENWALDER M, ZELLER N, SEEGER H, PRINZ M, KLOHN PC, SCHWARZ P, RUDDLE NH, WEISSMANN C, AGUZZI A (2005). Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science*, **307**, 1107-1110.
  - HEPPNER FL, MUSAHL C, ARRIGHI I, KLEIN MA, RULICKE T, OESCH B, ZINKERNAGEL RM, KALINKE U, AGUZZI A (2001) Prevention of scrapie pathogenesis by transgenic expression of anti-prion protein antibodies. *Science*, **294**, 178-182.
  - HESSELGESSER J, HORUK R (1999) Chemokine and chemokine receptor expression in the central nervous system. *J. Neurovirol.*, **5**, 13-26.
  - HUANG FP, FARQUHAR CF, MABBOTT NA, BRUCE ME, MAC-PHERSON GG (2002) Migrating intestinal dendritic cells transport PrP(Sc) from the gut. *J. Gen. Virol.*, **83**, 267-271.
  - KASCSAK RJ, RUBENSTEIN R, MERZ PA, TONNA-DEMASI M, FERSKO R, CARPRI, WISNIEWSKI HM, DIRINGER H (1987) Mouse polyclonal and monoclonal antibody to scrapie-associated fibril proteins. *J. Virol.*, **61**, 3688-3693.
  - KIM J, JU WK, CHOI JH, CHOI E, CARPRI, WISNIEWSKI HM, KIM YS (1999) Expression of cytokine genes and increased nuclear factor-kappa B activity in the brains of scrapie-infected mice. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **73**, 17-27.
  - KIMBERLIN RH, WALKER CA (1979) Pathogenesis of mouse scrapie: dynamics of agent replication in spleen, spinal cord and brain after infection by different routes. *J. Comp. Pathol.*, **89**, 551-562.
  - KLEIN MA, FRIGG R, FLECHSIG E, RAEBER AJ, KALINKE U, BLUETHMANN H, BOOTZ F, SUTER M, ZINKERNAGEL RM, AGUZZI A (1997). A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature*, **390**, 687-690.
  - KLEIN MA, KAESER PS, SCHWARZ P, WEYD H, XENARIOS I, ZINKERNAGEL RM, CARROLL MC, VERBEEK JS, BOTTO M, WALPORT MJ, MOLINA H, KALINKE U, ACHA-ORBEA H, AGUZZI A (2001). Complement facilitates early prion pathogenesis. *Nat. Med.*, **7**, 488-492.
  - KREUTZBERG GW (1996) Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci.*, **19**, 312-318.
  - LE, Y, YAZAWA H, GONG W, YU Z, FERRANS VJ, MURPHY P.M, WANG JM (2001) The neurotoxic prion peptide fragment PrP(106-126) is a chemotactic agonist for the G protein-coupled receptor formyl peptide receptor-like 1. *J. Immunol.*, **166**, 1448-1451.
  - LEE HP, JUN YC, CHOI JK, KIM JI, CARPRI, KIM YS (2005). The expression of RANTES and chemokine receptors in the brains of scrapie-infected mice. *J. Neuroimmunol.*, **158**, 26-33.
  - LEWICKI H, TISHON A, HOMANN D, MAZARGUIL H, LAVAL F, ASENSIO VC, CAMPBELL IL, DEARMOND S, COON B, TENG C, GAIRIN JE, OLDSTONE MB (2003) T cells infiltrate the brain in murine and human transmissible spongiform encephalopathies. *J. Virol.*, **77**, 3799-3808.
  - LIGIOS C, SIGURDSON CJ, SANTUCCIU C, CARCASSOLA G, MANCO G., BASAGNI M, MAESTRALE C, CANCEDDA MG, MADAU L, AGUZZI A. (2005) PrP(Sc) in mammary glands of sheep affected by scrapie and mastitis. *Nat. Med.*, **11**, 1137-1138.
  - LIU Y, WALTER S, STAGI M, CHERNY D, LETIEMBRE M, SCHULZ-SCHAEFFER W, HEINE H, PENKE B, NEUMANN H, FASSBENDER K (2005) LPS receptor (CD14): a receptor for phagocytosis of Alzheimer's amyloid peptide. *Brain*, **128**, 1778-1789.

- MABBOTT NA (2004) The complement system in prion diseases. *Curr. Opin. Immunol.*, **16**, 587-593.
- MABBOTT NA, BRUCE ME, BOTTO M, WALPORT MJ, PEPYS MB (2001) Temporary depletion of complement component C3 or genetic deficiency of C1q significantly delays onset of scrapie. *Nat. Med.*, **7**, 485-487.
- MABBOTT NA, WILLIAMS A, FARQUHAR CF, PASPARAKIS M, KOLLIAS G, BRUCE ME (2000) Tumor necrosis factor alpha-deficient, but not interleukin-6-deficient, mice resist peripheral infection with scrapie. *J. Virol.*, **74**, 3338-3344.
- MABBOTT NA, YOUNG J, MCCONNELL I, BRUCE ME (2003) Follicular dendritic cell dedifferentiation by treatment with an inhibitor of the lymphotoxin pathway dramatically reduces scrapie susceptibility. *J. Virol.*, **77**, 6845-6854.
- MANUELIDIS L, FRITCH W, XI YG (1997) Evolution of a strain of CJD that induces BSE-like plaques. *Science*, **277**, 94-98.
- MARELLA M, CHABRY J (2004) Neurons and astrocytes respond to prion infection by inducing microglia recruitment. *J. Neurosci.*, **24**, 620-627.
- MEDA L, BARON P, SCARLATO G (2001) Glial activation in Alzheimer's disease: the role of A $\beta$  and its associated proteins. *Neurobiol. Aging*, **22**, 885-893.
- MONTRASIO F, FRIGG R, GLATZEL M, KLEIN MA, MACKAY F, AGUZZI A, WEISSMANN C (2000) Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells. *Science*, **288**, 1257-1259.
- NICOLL JA, WILKINSON D, HOLMES C, STEART P, MARKHAM H, WELLER RO (2003) Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide: a case report. *Nat. Med.*, **9**, 448-452.
- O'ROURKE KI, HUFF TP, LEATHERS CW, ROBINSON MM, GORHAM JR (1994) SCID mouse spleen does not support scrapie agent replication. *J. Gen. Virol.*, **75** ( Pt 6), 1511-1514.
- OUTRAM GW, DICKINSON AG, FRASER H (1973) Developmental maturation of susceptibility to scrapie in mice. *Nature*, **241**, 536-537.
- OUTRAM GW, DICKINSON AG, FRASER H (1974) Reduced susceptibility to scrapie in mice after steroid administration. *Nature*, **249**, 855-856.
- PASTI L, VOLTERRA A, POZZAN T, CARMIGNOTO G (1997) Intracellular calcium oscillations in astrocytes: a highly plastic, bidirectional form of communication between neurons and astrocytes in situ. *J. Neurosci.*, **17**, 7817-7830.
- PEDEN AH, HEAD MW, RITCHIE DL, BELL, JE, IRONSIDE JW (2004). Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet*, **364**, 527-529.
- PERETZ D, WILLIAMSON RA, KANEKO K, VERGARA J, LECLERC E, SCHMITT-ULMS G, MEHLHORN IR, LEGNAME G, WORMALD MR, RUDD PM, DWEK RA, BURTON DR, PRUSINER SB (2001). Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature*, **412**, 739-743.
- PERRY VH, CUNNINGHAM C, BOCHE D (2002) Atypical inflammation in the central nervous system in prion disease. *Curr. Opin. Neurol.*, **15**, 349-354.
- PEYRIN JM, LASMEZAS CI, HAIK S, TAGLIAVINI F, SALMONA M, WILLIAMS A, RICHIE D, DESLYS JP, DORMONT D (1999) Microglial cells respond to amyloidogenic PrP peptide by the production of inflammatory cytokines. *Neuroreport*, **10**, 723-729.
- POLYMENIDOU M, HEPPNER FL, PELLICCIOLI E.C, URICH E, MIELE G, BRAUN N, WOPFNER F, SCHATZL HM, BECHER B, AGUZZI A (2004) Humoral immune response to native eukaryotic prion protein correlates with anti-prion protection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **101** Suppl 2, 14670-14676.
- PRINZ M, HEIKENWALDER M, JUNGT T, SCHWARZ P, GLATZEL M, HEPPNER FL, FU YX, LIPP M, & AGUZZI A (2003a) Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion. *Nature*, **425**, 957-962.
- PRINZ M, HEIKENWALDER M, SCHWARZ P, TAKEDA K, AKIRA S, AGUZZI A (2003b) Prion pathogenesis in the absence of Toll-like receptor signalling. *EMBO Rep.*, **4**, 195-199.
- PRINZ M, MONTRASIO F, KLEIN MA, SCHWARZ P, PRILLER J, ODERMATT B, PFEFFER K, AGUZZI A. (2002) Lymph nodal prion replication and neuroinvasion in mice devoid of follicular dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **99**, 919-924.
- PRUSINER SB (1998). Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **95**, 13363-13383.
- PRUSINER SB, SCOTT MR, DEARMOND SJ, COHEN FE (1998) Prion protein biology. *Cell*, **93**, 337-348.
- RAEBER AJ, RACE RE, BRANDNER S, PRIOLA SA, SAILER A, BESSEN RA, MUCKE L, MANSON J, AGUZZI A, OLDSTONE MB, WEISSMANN C, CHESEBRO B (1997) Astrocyte-specific expression of hamster prion protein (PrP) renders PrP knockout mice susceptible to hamster scrapie. *EMBO J.* **16**, 6057-6065.
- RELTON JK, ROTHWELL NJ (1992) Interleukin-1 receptor antagonist inhibits ischaemic and excitotoxic neuronal damage in the rat. *Brain Res. Bull.*, **29**, 243-246.

- RESCIGNO M, URBANO M, VALZASINA B, FRANCOLINI M, ROTTA G, BONASIO R, GRANUCCI F, KRAEHENBUHL JP, RICCIARDI-CASTAGNOLI P (2001) Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat. Immunol.*, **2**, 361-367.
- RIEMER C, QUECK I, SIMON D, KURTH R, BAIER M (2000) Identification of upregulated genes in scrapie-infected brain tissue. *J. Virol.*, **74**, 10245-10248.
- ROBINSON S, TANI M, STRIETER RM, RANSOHOFF RM, MILLER RH (1998) The chemokine growth-regulated oncogene-alpha promotes spinal cord oligodendrocyte precursor proliferation. *J. Neurosci.*, **18**, 10457-10463.
- ROSICARELLI B, SERAFINI B, SBRICCOLI M, LU M, CARDONE F, POCCHIARI M, ALOISI F (2005) Migration of dendritic cells into the brain in a mouse model of prion disease. *J. Neuroimmunol.*, **165**, 114-120.
- ROSSET MB, BALLERINI C, GREGOIRE S, METHAROM P, CARNAUD C, AUCOUTURIER P (2004) Breaking immune tolerance to the prion protein using prion protein peptides plus oligodeoxynucleotide-CpG in mice. *J. Immunol.*, **172**, 5168-5174.
- ROTHSTEIN JD, DYKES-HOBERG M, PARDO CA, BRISTOL LA, JIN L, KUNCL RW, KANAI Y, HEDIGER MA, WANG Y, SCHIELKE JP, WELTY DF (1996) Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron*, **16**, 675-686.
- SCHENK D, BARBOUR R, DUNN W, GORDON G, GRAJEDA H, GUIDO T, HU K, HUANG J, JOHNSON-WOOD K, KHAN K, KHOLODENKO D, LEE M, LIAO Z, LIEBERBURG I, MOTTER R, MUTTER L, SORIANO F, SHOPP G, VASQUEZ N, VANDEVERT C, WALKER S, WOGULIS M, YEDNOCK T, GAMES D, SEUBERT P (1999) Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, **400**, 173-177.
- SCHULTZ J, SCHWARZ A, NEIDHOLD S, BURWINKEL M, RIEMER C, SIMON D, KOPF M, OTTO M, BAIER M (2004) Role of interleukin-1 in prion disease-associated astrocyte activation. *Am. J. Pathol.*, **165**, 671-678.
- SEEGER H, HEIKENWALDER M, ZELLER N, KRANICH J, SCHWARZ P, GASPER A, SEIFERT B, MIELE G, AGUZZI A (2005) Coincident scrapie infection and nephritis lead to urinary prion excretion. *Science*, **310**, 324-326.
- SELVAGGINI C, DE GIOIA L, CANTU L, GHIBAUDI E, DIOMEDE L, PASSERINI F, FORLONI G, BUGIANI O, TAGLIAVINI F, SALMONA M (1993) Molecular characteristics of a protease-resistant, amyloidogenic and neurotoxic peptide homologous to residues 106-126 of the prion protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **194**, 1380-1386.
- SHLOMCHIK MJ, RADEBOLD K, DUCLOS N, MANUELIDIS L (2001) Neuroinvasion by a Creutzfeldt-Jakob disease agent in the absence of B cells and follicular dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **98**, 9289-9294.
- SIGURDSSON EM, BROWN DR, DANIELS M, KASCSAK RJ, KASCSAK R, CARP R, MEEKER HC, FRANGIONE B, WISNIEWSKI T (2002) Immunization delays the onset of prion disease in mice. *Am. J. Pathol.*, **161**, 13-17.
- SIGURDSSON EM, SY MS, LI R, SCHOLTZOVA H, KASCSAK RJ, KASCSAK R, CARP R, MEEKER HC, FRANGIONE B, WISNIEWSKI T (2003) Anti-prion antibodies for prophylaxis following prion exposure in mice. *Neurosci. Lett.*, **336**, 185-187.
- SILEI V, FABRIZI C, VENTURINI G, SALMONA M, BUGIANI O, TAGLIAVINI F, LAURO GM (1999) Activation of microglial cells by PrP and beta-amyloid fragments raises intracellular calcium through L-type voltage sensitive calcium channels. *Brain Res.*, **818**, 168-170.
- SOMERVILLE RA, BIRKETT CR, FARQUHAR CF, HUNTER N, GOLDMANN W, DORNAN J, GROVER D, HENNION RM, PERCY C, FOSTER J, JEFFREY M (1997) Immunodetection of PrPSc in spleens of some scrapie-infected sheep but not BSE-infected cows. *J. Gen. Virol.*, **78** (Pt 9), 2389-2396.
- STREIT WJ (2000) Microglial response to brain injury: a brief synopsis. *Toxicol. Pathol.*, **28**, 28-30.
- STREIT WJ (2005) Microglia and neuroprotection: implications for Alzheimer's disease. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, **48**, 234-239.
- SUI Y, POTULAR, DHILLON N, PINSON D, LI S, NATH A, ANDERSON C., TURCHAN J, KOLSON D, NARAYAN O, BUCH S (2004) Neuronal apoptosis is mediated by CXCL10 overexpression in simian human immunodeficiency virus encephalitis. *Am. J. Pathol.*, **164**, 1557-1566.
- THACKRAY AM, MCKENZIE AN, KLEIN MA, LAUDER A, BUJDOSO R (2004) Accelerated prion disease in the absence of interleukin-10. *J. Virol.*, **78**, 13697-13707.
- VAN WAGONER NJ, BENVENISTE EN (1999) Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. *J. Neuroimmunol.*, **100**, 124-139.
- WHITE AR, ENEVER P, TAYEBI M, MUSHENS R, LINEHAN J, BRANDNER S, ANSTEE D, COLLINGE J, HAWKE S (2003) Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature*, **422**, 80-83.

- WILLIAMS A, LUCASSEN PJ, RITCHIE D, BRUCE M (1997a) PrP deposition, microglial activation, and neuronal apoptosis in murine scrapie. *Exp. Neurol.*, **144**, 433-438.
- WILLIAMS A, VAN DAM AM, RITCHIE D, EIKELENBOOM P, FRASER H (1997b) Immunocytochemical appearance of cytokines, prostaglandin E2 and lipocortin-1 in the CNS during the incubation period of murine scrapie correlates with progressive PrP accumulations. *Brain Res.*, **754**, 171-180.
- WILLIAMS AE, VAN DAM AM, MAN AHW, BERKENBOSCH F, EIKELENBOOM P, RASER H (1994) Cytokines, prostaglandins and lipocortin-1 are present in the brains of scrapie-infected mice. *Brain Res.*, **654**, 200-206.
- WISNIEWSKI T, AUCOUTURIER P, SOTO C, FRANGIONE B (1998) The prionoses and other conformational disorders. *Amyloid*, **5**, 212-224.
- WONG BS, BROWN DR, PAN T, WHITEMAN M, LIU T, BU X, LI R, GAMBETTI P, OLESIK J, RUBENSTEIN R, SY MS (2001) Oxidative impairment in scrapie-infected mice is associated with brain metals perturbations and altered antioxidant activities. *J. Neurochem.*, **79**, 689-698.
- WYSS-CORAY T, LOIKE JD, BRIONNE TC, LU E, ANANKOV R, YAN F, SILVERSTEIN SC, HUSEMANN J (2003) Adult mouse astrocytes degrade amyloid-beta in vitro and in situ. *Nat. Med.*, **9**, 453-457.
- YAMASAKI Y, SUZUKI T, YAMAYA H, MATSUURA N, ONODERA H, KOGURE K (1992) Possible involvement of interleukin-1 in ischemic brain edema formation. *Neurosci. Lett.*, **142**, 45-47.
- YE X, SCALLET AC, KASSAK RJ, CARP RI (1998) Astrocytosis and amyloid deposition in scrapie-infected hamsters. *Brain Res.*, **809**, 277-287.
- ZHAO M, CRIBBS DH, ANDERSON AJ, CUMMINGS BJ, SU JH, WASSERMAN AJ, COTMAN CW (2003) The induction of the TNFalpha death domain signaling pathway in Alzheimer's disease brain. *Neurochem. Res.*, **28**, 307-318.







