

# Prionen als Motor der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien

M. Glatzel, J. Gottwein, A. Aguzzi

Institut für Neuropathologie der Universität Zürich, nationales Referenzzentrum für menschliche Prion-Erkrankungen, Zürich

## Zusammenfassung

Die übertragbaren spongiformen Enzephalopathien (transmissible spongiforme Enzephalopathien, TSE) sind neurodegenerative Erkrankungen, welche auch auf infektiösem Weg auf verschiedene Spezies übertragen werden können. Alle Prionen-Erkrankungen gehen mit einer Strukturänderung des physiologisch vorkommenden zellulären Prionproteins (PrP<sup>C</sup>) einher. Diese Strukturänderung kann spontan auftreten, jedoch auch durch vom Wirtsorganismus aufgenommenes, fehlgefaltetes PrP<sup>Sc</sup> (PrP<sup>Sc</sup> Scrapie) induziert werden. Die Infektion mit Prionen erfolgt in zwei Phasen: Nach Aufnahme über den Magen-Darm-Trakt vermehren sich Prionen zuerst in den lymphatischen Organen, und anschliessend kommt es über die peripheren Nerven zur Neuroinvasion. Aufgrund biochemischer Eigenschaften und anhand eines spezifischen Krankheitsbildes werden verschiedene Prion-Stämme unterschieden. Analysen haben gezeigt, dass es sich bei BSE-Prionen und dem Erreger der Variante der Creutzfeldt-Jakob Erkrankung beim Menschen (vCJD) um den gleichen Prion-Stamm handelt und es somit wahrscheinlich ist, dass vCJD beim Menschen durch BSE Prionen verursacht worden ist.

**Schlüsselwörter:** Transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE) – Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) – bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) – Prion-Neuroinvasion

## The role of prions in transmissible spongiform encephalopathies

Transmissible spongiform encephalopathies are degenerative disorders affecting the central nervous system (CNS) occurring in a variety of species. The causative agent is thought to be composed of an abnormal form of the host encoded prion protein (PrP<sup>C</sup>), termed PrP<sup>Sc</sup>. The conformational change of PrP<sup>C</sup> into PrP<sup>Sc</sup> can occur spontaneously, however, it can also be induced by PrP<sup>Sc</sup>. Prion diseases such as bovine spongiform encephalopathy (BSE), scrapie and variant Creutzfeldt-Jakob-Disease (vCJD) are most likely caused by peripheral uptake of prions. The process by which prions proceed to the CNS following peripheral uptake is referred to as neuroinvasion. Infection with prions is thought to occur in two phases: After ingestion prions first replicate in lymphatic tissue and then gain access to the CNS via peripheral nerves. Studies looking at the biochemical and clinical characteristics of BSE and vCJD demonstrated that BSE is most likely responsible for vCJD in humans.

**Key words:** transmissible spongiform encephalopathies (TSE) – Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) – bovine spongiform encephalopathy (BSE) – prion-neuroinvasion

## Einleitung

Die übertragbaren spongiformen Enzephalopathien (transmissible spongiform encephalopathies TSE) stellen speziesübergreifend eine Gruppe von Erkrankungen dar, die zwar dem neurodegenerativen Formenkreis angehören, jedoch gleichzeitig einen infektiösen Charakter aufweisen (Prusiner, 1998; Aguzzi et al., 2001). In einer Reihe von Ex-

perimenten wurden höchst atypische Eigenschaften des infektiösen Agens nachgewiesen. Zu den wichtigsten darunter zählen die lange Inkubationszeit sowie eine ausserordentliche Widerstandsfähigkeit gegenüber Inaktivierung durch hohe Temperaturen, Behandlung mit alkylierenden Substanzen, Aldehyden sowie UV-Licht. Diese

Tatsachen gaben bereits sehr früh Anlass zu Spekulationen darüber, dass der TSE-Erreger möglicherweise nicht zu den bislang bekannten Klassen infektiöser Mikroorganismen gezählt werden kann. Im Jahre 1982 führte Stanley B. Prusiner (Prusiner, 1982) den Namen «Prion» für dieses ungewöhnliche infektiöse Agens ein. Die «protein-only» Hypothese besagt, dass Prionen frei von Nukleinsäuren sind und ausschliesslich aus einer abnorm gefalteten Form des normalen «zellulären» Prionproteins (PrP<sup>C</sup>; PrP cellular) bestehen. Abnorm gefaltetes PrP<sup>Sc</sup> (PrP Scrapie) und das normale PrP<sup>C</sup> weisen eine identische Aminosäuresequenz auf und unterscheiden sich lediglich in ihrer räumlichen Anordnung (Konformation).

Obwohl Prusiner mit dem Begriff «Prion» ursprünglich einen spezifischen Erreger definierte, welcher ausschliesslich aus Protein bestehen soll, wird «Prion» in dieser Schrift als Bezeichnung des infektiösen Agens verwendet, ohne auf die zugrundeliegende Hypothese Bezug zu nehmen.

## Molekulare Grundlagen von Prionen-Erkrankungen

### Wie vermehren sich Prionen?

Wie soll sich der Erreger in Abwesenheit jeglicher Nukleinsäuren replizieren und bei der Übertragung eine Erkrankung verursachen? Dieses Phänomen widerspricht allen bisherigen Erkenntnissen der molekularen Pathologie infektiöser Erkrankungen. In Säugetieren geht die Vermehrung der Prionen mit der Ablagerung von PrP<sup>Sc</sup>, einer Protease-resistenten Isoform von PrP<sup>C</sup>, einher. PrP<sup>C</sup> besitzt drei  $\alpha$ -helicale Bereiche und zwei kurze  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen, während PrP<sup>Sc</sup> vorwiegend aus  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen besteht (Riek et al., 1997). Diese Strukturänderung des Prionproteins (PrP) liegt allen Prionen-Erkrankungen zugrunde. Prusiner argumentierte, dass das Einbringen von PrP<sup>Sc</sup> in eine Zelle die Konversion

von PrP<sup>C</sup> (oder eines PrP<sup>C</sup>-Vorläufers) in PrP<sup>Sc</sup> katalysieren würde. Die eigentliche biophysikalische Natur dieser hypothetischen Konversion ist allerdings bislang unaufgeklärt geblieben.

Mehrere Modelle wurden vorgeschlagen, den Mechanismus zu erklären, durch den PrP<sup>Sc</sup> in der Lage ist, PrP<sup>C</sup> zu rekrutieren und in weiteres PrP<sup>Sc</sup> umzufalten. In dem von Prusiner vorgeschlagenen Modell bewirkt ein PrP<sup>Sc</sup>-Monomer die Umfaltung eines PrP<sup>C</sup>-Moleküls in die PrP<sup>Sc</sup>-Konformation. Das bedeutet, dass PrP<sup>Sc</sup> nach Eindringen in eine Zelle die Konversion von PrP<sup>C</sup> Molekülen zu PrP<sup>Sc</sup> Molekülen auslösen kann und damit die Replikation der infektiösen Einheit sichergestellt wird (Abb. 1). Ein alternatives Modell schlägt hingegen vor, dass die Bildung von PrP<sup>Sc</sup> durch eine Art «Kristallisationskeim» von aggregiertem PrP<sup>Sc</sup> initiiert wird und schliesslich einen gesteuerten Aggregationsprozess auslöst, bei dem sich weitere PrP<sup>Sc</sup>-Moleküle anlagern und dadurch den ganzen Komplex stabilisieren. Hat der Komplex eine gewisse Grösse erreicht, zerfällt er in mehrere Stücke, von denen jedes einen neuen Kristallisationskern darstellt und auf diese Weise den Aggregationsprozess beschleunigt (Jarrett und Lansbury, 1993). Allerdings bedürfen beide Modelle noch einer experimentellen Bestätigung. Zwar konnte in einem *in vitro* Experiment mit gereinigten Proteinen gezeigt werden, dass PrP<sup>Sc</sup>-Aggregate in der Lage sind, PrP<sup>C</sup> in eine Protease-resistente Form zu konvertieren (Kocisko et al., 1994), die Reaktionsprodukte waren allerdings nicht infektiös. In einer vielversprechenden neueren Studie konnte gezeigt werden, dass eine exponentielle Vermehrung Protease-resistenten Prionproteins mittels einer relativ einfach durchzuführenden zyklischen Amplifikation von minimalen Mengen von PrP<sup>Sc</sup> unter Zugabe von PrP<sup>C</sup> enthaltendem Hirn-Homogenat möglich ist. Diese Methode könnte sowohl für die Entwicklung von sensitiveren diagnostischen Verfahren als auch im Bereich der Grundlagenforschung nützlich sein (Saborio et al., 2001).

Die allermeisten Untersuchungen zur Aufklärung der Mechanismen der Krankheitsentstehung durch Prionen beruhen auf Experimenten in Mäusen und Hamstern. In diesem System können viele wichtige Grundprinzipien der TSE-Pathophysiologie studiert und erklärt werden. Auf Grund der unterschiedlichen Art der Manifestation von TSE in den verschiedenen Spezies ist jedoch grosse Vorsicht angebracht beim direkten Übertragen von Resultaten aus dem Nagersystem auf andere Spezies. Insbesondere Studien an Rindern haben gezeigt, dass sich die im Nagersystem gewonnenen Erkenntnisse nicht direkt auf das Rind übertragen lassen ([Http://Europa.Eu.Int/Comm/Food/Fs/Sc/Ssc/Out241\\_En.Pdf](http://Europa.Eu.Int/Comm/Food/Fs/Sc/Ssc/Out241_En.Pdf)).

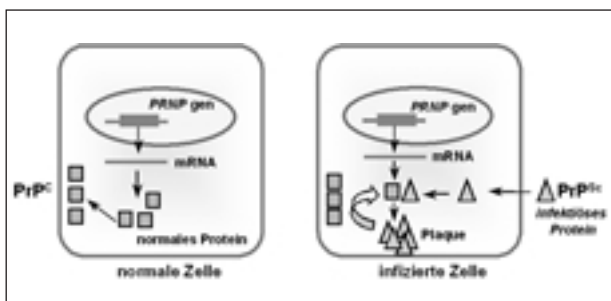


Abbildung 1: Die «protein-only» Hypothese: Ein infektiöses Protein (PrP<sup>Sc</sup> = abnorm gefaltete Form des körpereigenen Prionproteins = PrP<sup>C</sup>) ist in der Lage, andere körpereigene Prionproteine in die pathologische Form (PrP<sup>Sc</sup>) umzuwandeln.

## Wie gelangen Prionen ins Gehirn?

Obwohl die intrazerebrale Verabreichung von Prionen weitaus am effektivsten ist, stellt die orale Aufnahme den epidemiologisch relevanteren Infektionsweg dar. Es ist anzunehmen, dass BSE und die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (vCJD) auf diese Weise übertragen werden (Hill et al., 1997; Heppner et al., 2001). Da sich aber Prionen-Erkrankungen primär als Erkrankungen des ZNS manifestieren, ist die Untersuchung des Weges der Prionen von der oralen Aufnahme bis zu ihrem Auftreten im Gehirn (Neuroinvasion) von entscheidender Bedeutung. In Anbetracht der sehr genau reproduzierbaren Inkubationszeiten im Tierexperiment kann davon ausgegangen werden, dass dieser Ablauf einer genauen Kontrolle unterliegt.

Der Einsatz von transgenen Mausmodellen hat es ermöglicht, dass wir inzwischen eine relativ genaue Vorstellung darüber haben, wie Prionen vom Magen-Darm-Trakt in das Gehirn gelangen. Das von Aguzzi (Aguzzi, 1997) und anderen vorgeschlagene Modell der Neuroinvasion von Prionen geht von einem Mechanismus aus, der aus zwei Phasen besteht (Abb. 2). In der ersten Phase kommt es zu einer Besiedlung lymphatischer Organe durch Prionen und in der zweiten Phase werden die Prionen entlang peripherer Nerven ins zentrale Nervensystem transportiert (Aguzzi, 2001; Glatzel et al., 2001).

### Rolle des lymphatischen Systems

Mehrere Arbeiten weisen auf die Bedeutung des lymphatischen Systems bei der Prion-Replikation hin. Untersuchungen, in denen nach einer intraperitonealen Gabe von Prionen eine Ganzkörperbestrahlung durchgeführt wurde, zeigten, dass die

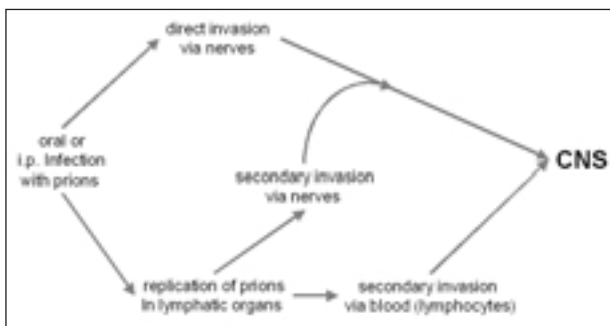


Abbildung 2: Neuroinvasion von Prionen: Periphere Injektion von grossen Mengen an infektiösen Prionen kann zur direkten Neuroinvasion über periphere Nerven führen. Injektion von geringeren Mengen an infektiösen Prionen führt nur dann zu effizienter Neuroinvasion, wenn sich der Erreger in lymphatischen Organen replizieren kann. Hämatogene Neuroinvasion spielt bei experimenteller Infektion im Mausmodell wahrscheinlich keine Rolle, wohingegen bei vCJD eine hämatogene Neuroinvasion von Prionen nicht ausgeschlossen werden kann.

für die Pathogenese entscheidenden Zellen offenbar weitgehend strahlenunempfindlich sind (Fraser und Farquhar, 1987). Andererseits konnte gezeigt werden, dass die Abwesenheit von B-Zellen in transgenen Mäusen mit einer Resistenz gegenüber Prionen-Erkrankungen einhergeht, wenn man Prionen intraperitoneal verabreicht (Klein et al., 1998). Die Abwesenheit von B-Zellen wiederum führt unweigerlich zu Störungen des follikulär-dendritischen Netzwerkes. Diese Informationen sind sehr gut mit einer Schlüsselfunktion von follikulär-dendritischen Zellen (FDC) für die Akkumulation und die Replikation von Prionen im lymphatischen System vereinbar. Tatsächlich akkumuliert PrP<sup>Sc</sup> bei infizierten Mäusen in diesen Zellen. Eine zeitlich limitierte Depletion von FDCs führt dazu, dass die Replikation von Prionen in lymphatischen Organen drastisch vermindert ist. Weiterhin zeigen diese Mäuse eine deutliche Verlängerung der Inkubationszeit bis zur Entwicklung einer terminalen Prionen-Erkrankung nach intraperitonealer Injektion von Prionen (Montrasio et al., 2000).

### Rolle der peripheren Nerven

Obwohl die Akkumulation und die Replikation von Prionen im lymphatischen System bei peripherer Verabreichung von Prionen eine entscheidende Rolle spielt, erfolgt aller Wahrscheinlichkeit nach der tatsächliche Transport von Prionen in das zentrale Nervensystem entlang von peripheren Nerven. Bei intraperitonealer Verabreichung von grossen Mengen infektiöser Prionen erfolgt die Neuroinvasion von Prionen sogar in Abwesenheit eines intakten lymphatischen Systems (Lasmézas et al., 1996; Race et al., 2000). Eine Voraussetzung für den effizienten Transport entlang peripherer Nerven ist die Expression von PrP<sup>C</sup> auf peripheren Nerven. Tatsächlich scheint die Überexpression von PrP<sup>C</sup> auf peripheren Nerven die Neuroinvasion entlang peripherer Nerven zu modulieren (Glatzel und Aguzzi, 2000). Sowohl parasympathische als auch sympathische Nerven sind in der Lage den Transport von Prionen in das zentrale Nervensystem zu vermitteln (Beekes et al., 1998; Glatzel et al., 2001).

## Biologische Eigenschaften von Prionen

### Verschiedene Arten von Prionen?

Prionen können auf Grund unterschiedlicher biologischer Eigenschaften in verschiedene Erregerstämme eingeteilt werden. Diese Erregerstämme unterscheiden sich in verschiedenen Hinsichten: Erstens in ihren biochemisch/molekularen Eigenschaften, und zweitens rufen sie unterschied-

liche Krankheitsbilder hervor, wenn sie im Rahmen von Transmissionsstudien auf Indikatortiere übertragen werden. Je nach Prion Stamm kommt es zu spezifischen Inkubationszeiten, einem charakteristischen klinischen Bild und einem bestimmten neuropathologischen Bild mit charakteristischer Verteilung pathologischer Veränderungen im Gehirn. Die Bedeutung dieser Beobachtungen und der ihr zu Grunde liegende Mechanismus sind jedoch noch weitgehend ungeklärt. So existieren bei Scrapie des Schafes sehr unterschiedliche Erregerstämme, während BSE durch einen einheitlichen Erregerstamm verursacht zu werden scheint. Momentan werden mehrere Methoden zur vergleichenden Untersuchung von Prion-Stämmen angewandt. Eine biochemische Einteilung von Prionen kann in Westernblot-Experimenten auf Grund der unterschiedlichen Glykosylierung von Prionen unterschiedlicher Erregerstämme vorgenommen werden (Collinge et al., 1996). Die wohl aussagekräftigste Methode besteht jedoch in der Übertragung von Prionen enthaltenden Hirnhomogenaten verschiedener Herkunft in genetisch standardisierte Indikatortiere (Mäuse). Anhand des Vergleichs der resultierenden Inkubationszeiten und des histopathologischen Läsionsmusters im Hirngewebe können verschiedene Prion-Stämme klar unterschieden werden (Bruce et al., 1997). Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass in England bei vCJD und BSE das gleiche Prionprotein in den Hirnen der betroffenen Menschen und Rinder vorkommt, bei der klassischen CJD jedoch ein anderes (Hill et al., 1997).

#### Gleiche Prionen bei verschiedenen Spezies?

Unter experimentellen Bedingungen lassen sich Prionen-Erkrankungen innerhalb derselben Spezies sehr einfach und mit einer konstanten, dosisabhängigen Inkubationszeit übertragen. Hingegen ist die Übertragung von Prionen-Erkrankungen zwischen Spezies mit Unterschieden im Bauplan des körpereigenen Prionproteins in vielen Fällen ineffizient, d.h. die Inkubationszeit ist sehr lang, oder es wird nur asymptomatisches Prion-Trägertum ausgelöst (Hill et al., 2000). Werden jedoch in der Folge Prionen aus den Gehirnen von Tieren, die durch eine fremde Spezies angesteckt wurden, auf Tiere ihrer eigenen Spezies übertragen, so verkürzt sich die Inkubationszeit beträchtlich. Bei weiteren Übertragungen innerhalb ihrer Spezies findet keine weitere Verkürzung der Inkubationszeit statt. Dieser Effekt wird als Überwindung der Speziesbarriere beschrieben (Pattison, 1966). Es scheint, dass sowohl die Struktur des körpereigenen Prionproteins des Wirtes, als auch die

Struktur des übertragenen infektiösen Prions für die Effizienz der Prion-Übertragung verantwortlich sind (Collinge et al., 1995; Hill et al., 1997).

Man geht davon aus, dass auch bei der Übertragung von Prionen anderer Spezies auf den Menschen eine solche Speziesbarriere besteht (Hill et al., 1997). Es ist hingegen nicht ausreichend geklärt, wie leicht der Mensch durch Prionen anderer Spezies, wie zum Beispiel BSE-Prionen, infiziert werden kann. Experimentell wurde diese Frage durch Studien an Menschenaffen, deren Prionprotein eine 96%ige Homologie zum menschlichen aufweist, angegangen: Hier konnte gezeigt werden, dass intrazerebrale Inokulation von BSE-Prionen in diesen Affen eine mit vCJD praktisch identische Erkrankung auslöst. Die Speziesbarriere zwischen Rind und Affe (also wahrscheinlich auch Mensch) konnte somit zumindest bei dieser Art der Übertragung leicht überwunden werden (Lametz et al., 1996). Auch wenn man nach dem Ursprung von BSE forscht, stellt sich die Frage nach der Speziesbarriere. Grundsätzlich gibt es zwei verschiedene Theorien zum Ursprung von BSE. Die erste Theorie geht davon aus, dass bei Rindern keine sporadischen Prionen-Erkrankungen auftreten, sondern vielmehr Tiermehl, das Material von Scrapie-infizierten Schafen enthielt, an Rinder verfüttert wurde. So seien dann Scrapie Prionen nach mehreren, eventuell subklinischen Passagen im Rind schliesslich vom Schaf an das Rind angepasst worden (Wilesmith et al., 1988; Wilesmith et al., 1991). Die zweite Theorie geht hingegen davon aus, dass der BSE-Epidemie eine im Rind sporadisch aufgetretene Prionen-Erkrankung zugrunde liegt, die dann durch Tiermehl, das Material von diesem erkrankten Rind enthielt, auf andere Rinder übertragen wurde (Marsh, 1993).

#### Ausblick

Der Wissenstand zum Thema Prionen-Erkrankungen hat sich in den letzten Jahren beträchtlich weiterentwickelt. Die Menge an Veröffentlichungen über die Neuroinvasion und die Replikation von Prionen ist überwältigend. Grosse Wissenslücken bestehen jedoch nach wie vor. Der endgültige Beweis der «protein-only» Hypothese, die Erzeugung von infektiösen PrP<sup>Sc</sup> *in vitro*, ist noch nicht erbracht. Auch ist der molekulare Mechanismus der Entstehung der häufigsten humanen Prionen-Erkrankung, der sporadischen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, unbekannt. Weiterhin besteht ein erheblicher Nachholbedarf im Bereich der *in vivo* Diagnostik von Prionen-Erkrankungen. Die ernstzunehmende Möglichkeit, dass Prionen aus Ge-

weben asymptomatischer Träger im Rahmen von bestimmten ärztlichen Interventionen von Mensch zu Mensch übertragen werden können, macht eine kontinuierliche Überprüfung der Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung auf ihre praktische Um-

setzbarkeit zu einer äusserst wichtigen Aufgabe. Die diesbezüglich wichtigsten Zielbereiche umfassen die Entwicklung möglicher Therapiekonzepte sowie die Ausarbeitung von Technologien zur Prion-Inaktivierung.

## Literatur

- Aguzzi A.*: Neuro-immune connection in spread of prions in the body? *The Lancet* 1997, 349: 742–743.
- Aguzzi A.*: Peripheral prion pursuit. *J. Clin. Invest.* 2001, 108: 661–662.
- Aguzzi A., Montrasio F., Kaeser P.S.*: Prions: health scare and biological challenge. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2001, 2: 118–126.
- Beekes M., McBride P.A., Baldauf E.*: Cerebral targeting indicates vagal spread of infection in hamsters fed with scrapie. *J. Gen. Virol.* 1998, 79: 601–607.
- Bruce M.E., Will R. G., Ironside J.W., McConnell I., Drummond D., Suttie A., McCordle L., Chree A., Hope J., Birkett C., Cousens S., Fraser H., Bostock C.J.*: Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent [see comments]. *Nature* 1997, 389: 498–501.
- Collinge J., Palmer M.S., Sidle K.C., Hill A.F., Gowland I., Meads J., Asante E., Bradley R., Doey L.J., Lantos P.L.*: Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein. *Nature* 1995, 378: 779–783.
- Collinge J., Sidle K.C., Meads J., Ironside J., Hill A.F.*: Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996, 383: 685–690.
- Fraser H., Farquhar C.F.*: Ionising radiation has no influence on scrapie incubation period in mice. *Vet. Microbiol.* 1987, 13: 211–223.
- Glatzel M., Aguzzi A.*: PrP(C) expression in the peripheral nervous system is a determinant of prion neuroinvasion. *J. Gen. Virol.* 2000, 81: 2813–2821.
- Glatzel M., Heppner F.L., Albers K.M., Aguzzi A.*: Sympathetic innervation of lymphoreticular organs is rate limiting for prion neuroinvasion. *Neuron* 2001, 31: 25–34.
- Heppner F.L., Christ A.D., Klein M.A., Prinz M., Fried M., Kraehenbuhl J.P., Aguzzi A.*: Transepithelial prion transport by M cells. *Nat. Med.* 2001, 7: 976–997.
- Hill A.F., Desbruslais M., Joiner S., Sidle K.C., Gowland I., Collinge J., Doey L.J., Lantos P.*: The same prion strain causes vCJD and BSE [letter] [see comments]. *Nature* 1997, 389: 448–450.
- Hill A.F., Joiner S., Linehan J., Desbruslais M., Lantos P.L., Collinge J.*: Species-barrier-independent prion replication in apparently resistant species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000, 29: 10248–10253.
- [Http://Europa.Eu.Int/Comm/Food/Fs/Sc/Ssc/Out241\\_En.Pdf](http://Europa.Eu.Int/Comm/Food/Fs/Sc/Ssc/Out241_En.Pdf), European Commission Opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissue (state of knowledge december 2001).
- Jarrett J.T., Lansbury P.T., Jr.*: Seeding «one-dimensional crystallization» of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 1993, 73: 1055–1058.
- Klein M.A., Frigg R., Raeber A.J., Flechsig E., Hegyi I., Zinkernagel R.M., Weissmann C., Aguzzi A.*: PrP expression in B lymphocytes is not required for prion neuroinvasion. *Nat. Med.* 1998, 4: 1429–1433.
- Kocisko D.A., Come J.H., Priola S.A., Chesebro B., Raymond G.J., Lansbury P.T., Caughey B.*: Cell-free formation of protease-resistant prion protein [see comments]. *Nature* 1994, 370: 471–474.
- Lasmezas C.I., Cesbron J.Y., Deslys J.P., Demaimay R., Adjou K.T., Rioux R., Lemaire C., Loch C., Dormont D.*: Immune system-dependent and -independent replication of the scrapie agent. *J. Virol.* 1996, 70: 1292–1295.
- Lasmezas C.I., Deslys J.P., Demaimay R., Adjou K.T., Lamoury F., Dormont D., Robain O., Ironside J., Hauw J.J.*: Bse Transmission to Macaques. *Nature* 1996, 381: 743–744.
- Marsh R.F.*: Bovine spongiform encephalopathy: a new disease of cattle? *Arch. Virol. Suppl.* 1993, 7: 255–259.
- Montrasio F., Frigg R., Glatzel M., Klein M.A., Mackay F., Aguzzi A., Weissmann C.*: Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells. *Science* 2000, 288: 1257–1259.
- Pattison I.H.*: The relative susceptibility of sheep, goats and mice to two types of the goat scrapie agent. *Res. Vet. Sci.* 1966, 7: 207–212.
- Prusiner S.B.*: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982, 216: 136–144.
- Prusiner S.B.*: Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95: 13363–13383.
- Race R., Oldstone M., Chesebro B.*: Entry versus blockade of brain infection following oral or intraperitoneal scrapie administration: role of prion protein expression in peripheral nerves and spleen. *J. Virol.* 2000, 74: 828–833.
- Riek R., Hornemann S., Wider G., Glockshuber R., Wüthrich K.*: NMR characterization of the full-length recombinant murine prion protein, mPrP(23–231). *FEBS Lett.* 1997, 413: 282–288.
- Saborio G.P., Permanne B., Soto C.*: Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001, 411: 810–813.

*Wilesmith J.W., Ryan J.B., Atkinson M.J.:* Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Vet. Rec.* 1991, 128: 199–203.

*Wilesmith J.W., Wells G.A., Cranwell M.P., Ryan J.B.:* Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet. Rec.* 1988, 123: 638–644.

---

**Korrespondenzadresse**

Prof. A. Aguzzi, Institut für Neuropathologie der Universität Zürich, nationales Referenzzentrum für menschliche Prion-Erkrankungen, Schmelzbergstrasse 12, 8091 Zürich  
Fax: ++41-1-255 44 02, E-Mail: [adriano.aguzzi@pty.usz.ch](mailto:adriano.aguzzi@pty.usz.ch)

*Manuskripteingang: 30. August 2002*

*In vorliegender Form angenommen: 20. September 2002*