

UNTANGLING UNEXPECTED CAUSES OF REMYELINATION FAILURE

par le Dr Shibeshih BELACHEW (U.Lg)

Il est désormais bien établi qu'une ébauche de remyélinisation demeurant incomplète apparaît spontanément dans les lésions démyélinisantes du système nerveux central (SNC) (Ludwin, 1987 ; Prineas *et al.*, 1993 ; Raine, 1997). L'identité des cellules potentiellement remyélinisantes du SNC reste débattue actuellement mais l'hypothèse la plus raisonnable consiste à considérer que ce ne sont pas les oligodendrocytes matures résiduels, mais plutôt les progéniteurs oligodendrocytaires (OPCs), exprimant le protéoglycan membranaire NG2, qui remplissent cette fonction au niveau des sites lésionnels. La réparation spontanée de la myéline dans une affection démyélinisante telle que la sclérose en plaques demeure cependant quantitativement et qualitativement insatisfaisante car dépourvue de bénéfice fonctionnel réel. Aucune thérapeutique n'est actuellement disponible pour agir sur les OPCs dans l'optique de stimuler leur propension à proliférer et à se différencier en oligodendrocytes capables de régénérer la myéline. Il est néanmoins communément admis que l'échec spontané de la remyélinisation est principalement le résultat d'un échec du recrutement des OPCs quiescents qui ne parviennent pas à quitter la phase G0 du cycle cellulaire pour réintégrer une phase de prolifération en réponse à la démyélinisation (Wolswijk, 1997 ; Wolswijk, 1998).

Dans la première partie de notre travail, nous avons développé une souris transgénique exprimant sélectivement la *green fluorescent protein* (EGFP) dans la lignée oligodendrocytaire sous la dépendance du double promoteur oligodendroglial-spécifique (CNP1-2, 3.7 kb) du gène de la 2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase) (Belachew *et al.*, 2001 ; Yuan *et al.*, 2002). Ce modèle transgénique murin constitue la pierre angulaire de cet ouvrage et nous a permis de traquer plus facilement les propriétés phénotypiques des OPCs NG2⁺ *in vivo*.

De manière à expliciter les mécanismes moléculaires régissant les "décisions" intervenant au fil de la progression du cycle cellulaire dans les OPCs, nous avons étudié le rôle de différentes kinases nucléaires cycline-dépendantes cdk2, cdk4 et cdk6. Nous savions en effet que ces enzymes étaient essentielles pour l'intégrité de la transition entre les phases G1 et S du cycle cellulaire au niveau de laquelle convergent la plupart des régulations critiques de la prolifération des OPCs. Par des expériences de gain et de perte de fonction, nous avons démontré dans le présent travail que cdk2 régulait le niveau de prolifération des OPCs NG2⁺ en culture. Nos manipulations de l'expression de cdk2 aboutissant à stimuler ou à bloquer le cycle cellulaire des OPCs, n'eurent aucune conséquence sur la cinétique de différenciation oligodendrogliale. Ceci démontra que le mécanisme inconnu du timing intracellulaire déclenchant la sortie du cycle cellulaire associée à l'initiation de la différenciation oligodendrocytaire, agit vraisemblablement en aval du checkpoint G1/S contrôlé par le couple cyclineE/cdk2 et apparaît indépendant du nombre de cycles accomplis par ces progéniteurs (Belachew *et al.*, 2002).

Nous avons aussi constaté que les niveaux d'expression protéique de la cycline E et de cdk2 ainsi que l'activité enzymatique du couple cycline E/cdk2 étaient nettement plus faibles dans les OPCs de cerveau adulte en comparaison des OPCs de la période néonatale. Au vu du rôle de ce complexe enzymatique dans la progression du cycle cellulaire des OPCs au niveau de la transition G1/S *in vitro*, nous pensons que les faibles capacités de prolifération des OPCs adultes en conditions normale comme pathologique (par exemple dans la sclérose en plaques) pourraient être la conséquence directe d'un déficit fonctionnel d'activité cdk2. Si nous confirmons cette hypothèse par de prochains travaux utilisant des animaux invalidés pour cdk2, cela nous permettra de définir une première cible moléculaire spécifique dans l'optique de concevoir des stratégies de thérapie visant à recruter les OPCs "quiescents" dans les maladies démyélinisantes.

En outre, les OPCs NG2⁺ représentent le plus large groupe de progéniteurs postnataux/adultes proliférant dans le SNC (Dawson *et al.*, 2000 ; Dawson *et al.*, 2003). Ces progéniteurs ont longtemps été considérés comme des progéniteurs exclusivement oligodendrogliaux malgré le paradoxe de leur présence inexplicée dans des régions essentiellement neurogènes du cerveau postnatal. Dans une seconde étape du présent travail, nous avons pu démontrer que les OPCs NG2⁺ issus de la zone sous-ventriculaire (ZSV), sont également capables de générer des interneurons GABAergiques fonctionnels *in vitro* (Belachew *et al.*, 2003). Nous avons ensuite montré que cette différenciation des progéniteurs NG2⁺ de la ZSV en interneurons GABAergiques hippocampiques pouvait également se produire *in vivo* pendant les premières semaines de vie postnatale. Enfin, nous avons observé que ces progéniteurs NG2⁺ de la ZSV possédaient toutes les caractéristiques phénotypiques des progéniteurs multipotents dits *transit-amplifying* (Aguirre *et al.*, 2004), soit les cellules « C » qui sont la descendance directe des cellules souches neurales ou cellules « B » selon la nomenclature en vigueur (Doetsch *et al.*, 1999 ; Doetsch *et al.*, 2002).

Nos travaux montrent qu'une sous-population d'interneurons de l'hippocampe est effectivement issue de progéniteurs NG2⁺, ce qui signifie que ceux-ci ne sont pas exclusivement restreints à un destin oligodendrogliel. Les OPCs NG2⁺ doivent donc désormais être perçus comme un réservoir de progéniteurs bipotentiels du SNC postnatal, particulièrement intéressant de par sa taille et sa capacité à fournir à la fois des cellules oligodendrogliales et des neurones GABAergiques dans un contexte physiologique.

Dans la dernière partie de ce travail, nous avons remis en perspective l'ensemble de nos données objectivant la présence de récepteurs aux neurotransmetteurs à la fois dans les cellules souches neurales, dans les progéniteurs restreints à un destin neuronal et dans les progéniteurs NG2⁺ dont nous savons désormais qu'ils peuvent emprunter deux types de voies de différenciation phénotypique. Nous avons discuté les différentes hypothèses rendant compte de la fonction et de la signification développementale de ces stigmates « d'excitabilité » neurone-like dans ces cellules immatures et plus particulièrement dans les cellules NG2⁺. Le plus grand défi des années à venir sera d'élucider le rôle

instructeur potentiel de ces connexions synaptiques et extra-synaptiques entre des neurones matures et des progéniteurs aux destins multiples.

En conclusion, ce travail jette les bases d'une réflexion plus générale sur l'identité et le rôle fonctionnel d'une population de progéniteurs d'oligodendrocytes dont l'insuffisance de réactivité après démyélinisation pourrait s'expliquer par une déficience intrinsèque de la machinerie moléculaire de prolifération et par l'ambivalence d'un destin phénotypique dont l'hétérogénéité était sans doute sous-évaluée. Ces travaux soulignent l'immensité de notre méconnaissance des propriétés biologiques précises de la plus importante population de progéniteurs du cerveau adulte. L'avenir devra permettre d'en déchiffrer progressivement l'infinie complexité à condition d'accorder une attention prioritaire à l'intégration des multiples paramètres variables que sont notamment les facteurs anatomico-temporels et contextuels qui furent trop souvent négligés par le passé. Ce n'est qu'à ce prix que nous comprendrons un jour pourquoi le SNC adulte ne remyélinise pas. C'est aussi par ce type d'approche que nous appréhenderons un jour toute l'étendue du registre phénotypique, la dynamique et la nature de la signification fonctionnelle de notre production de nouveaux neurones dans l'hippocampe adulte toute la vie durant.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGUIRRE A.A., CHITTAJALLU R., BELACHEW S., GALLO V., *NG2-expressing cells in the subventricular zone are Type C-like cells and contribute to interneuron generation in the postnatal hippocampus*, J. Cell. Biol., 165,575-589 (2004).
2. BELACHEW S., AGUIRRE A.A., WANG H., VAUTIER F., YUAN X., ANDERSON S., KIRBY M. and GALLO V., *Cyclin-dependent kinase-2 controls oligodendrocyte progenitor cell cycle progression and is down-regulated in adult oligodendrocyte progenitors*, J. Neurosci., 22,8553-8562 (2002).
3. BELACHEW S., CHITTAJALLU R., AGUIRRE A.A., YUAN X., KIRBY M., ANDERSON S., GALLO V., *Postnatal NG2 proteoglycan-expressing progenitor cells are intrinsically multipotent and generate functional neurons*, J. Cell. Biol., 161,169-186 (2003).
4. BELACHEW S., YUAN X., GALLO V., *Unraveling oligodendrocyte origin and function by cell-specific transgenesis*, Dev. Neurosci. 23,287-298 (2001).
5. DAWSON M.R., LEVINE J.M., REYNOLDS R. (2000) *NG2-expressing cells in the central nervous system: are they oligodendroglial progenitors?* J. Neurosci Res 61:471-479.
6. DOETSCH F., *The glial identity of neural stem cells*, Nat. Neurosci. 6,1127-1134 (2003).
7. DOETSCH F., CAILLE I., LIM D.A., GARCIA-VERDUGO J.-M., ALVAREZ-BUYLLA A., *Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain*, Cell 97,703-716 (1999).
8. DOETSCH F., PETREANU L., CAILLE I., GARCIA-VERDUGO J.-M., ALVAREZ-BUYLLA A., *EGF converts transit-amplifying neurogenic precursors in the adult brain into multipotent stem cells*, Neuron 36,1021-1034 (2002).
9. LUDWIN S.K., *Regeneration of myelin and oligodendrocytes in the central nervous system*, Prog. Brain Res. 71,469-484 (1987).
10. PRINEAS J.-W., BARNARD R.-O., KWON E.-E., SHARER L.-R., CHO E.-S., *Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions*, Ann. Neurol. 33,137-151(1993).
11. RAINE C.-S., *The Norton Lecture: a review of the oligodendrocyte in the multiple sclerosis lesion*, J. Neuroimmunol. 77,135-152 (1997).

12. WOLSWIJK G., *Oligodendrocyte precursor cells in chronic multiple sclerosis lesions*, Mult Scler., 3,168-169 (1997).
13. WOLSWIJK G., *Chronic stage multiple sclerosis lesions contain a relatively quiescent population of oligodendrocyte precursor cells*, J. Neurosci., 18,601-609 (1998).
14. YUAN X., CHITTAJALLU R., BELACHEW S., ANDERSON S., MCBAIN C.-J., GALLO V., *Expression of the green fluorescent protein in the oligodendrocyte lineage: a transgenic mouse for developmental and physiological studies*, J. Neurosci. Res., 70,529-545 (2002).

(Applaudissements)

*
* *