



Transport axonal des neurofilaments et pathologie neurodégénérative

Jean-Pierre Julien

J.P. Julien : Centre de recherche en neurosciences, Université McGill, Hôpital général de Montréal, Montréal, Québec, H3G 1A4, Canada et Institut de recherche de l'hôpital général de Montréal, 1650 Cedar, Montréal, Québec, H3G 1A4, Canada.

► Les neurofilaments constituent l'un des principaux éléments du cytosquelette dans les cellules nerveuses. Les protéines qui les composent sont transportées dans l'axone par un transport lent. Certaines études suggéraient que les neurofilaments étaient transportés sous forme de polymères tandis que d'autres semblaient plutôt indiquer un transport des sous-unités et leur assemblage sur des filaments stationnaires le long de l'axone. Récemment, on a visualisé *in vivo* le mouvement de neurofilaments marqués par un composé fluorescent, qui apparaît comme une suite de mouvements rapides, bidirectionnels, des polymères interrompue par de longues pauses. Des moteurs de la famille des kinésines pourraient être impliqués. Des dérèglements dans l'assemblage et le transport des neurofilaments jouent sans doute un rôle dans des maladies neurodégénératives. ◀

Une extraordinaire asymétrie caractérise les cellules nerveuses. Les dendrites et l'axone sont des structures spécialisées qui permettent à la cellule de capter et de transmettre l'influx nerveux sur de longues distances. Chez l'homme, l'axone de certains neurones peut s'étendre sur plus d'un mètre. Cependant, l'axone ne possède pas la machinerie qui permet la synthèse des protéines. Il faut donc que les protéines nécessaires au développement et au maintien de l'axone soient transportées dans l'axone après leur synthèse dans le corps cellulaire. Les neurofilaments constituent un des principaux éléments du cytosquelette des axones. En plus de leur rôle de structure, les neurofilaments sont un des facteurs importants de contrôle du diamètre axonal. De quelle façon les neurofilaments sont-ils transportés dans l'axone ? C'est là un sujet de débat depuis plusieurs années. Nous discuterons ici des controverses qui portent sur les mécanismes responsables du mouvement des neurofilaments dans l'axone ainsi que des résultats récents qui montrent le mouvement rapide et intermittent des neurofilaments marqués par un tra-

ceur fluorescent. Nous verrons aussi comment des accumulations anormales de neurofilaments peuvent être impliquées dans des maladies neurodégénératives.

Transport axonal des polymères ou transport des sous-unités ?

Les protéines sont en majorité transportées dans l'axone avec le transport rapide (50-400 mm/jour), en association avec des vésicules membranaires ou des organites comme les mitochondries (*Tableau 1*). Les microtubules, qui sont des filaments tubulaires de 25 nm composés de la tubuline, constituent les voies de transport intracellulaire pour ces organites. Ils ont une longueur de 10 à 100 µm dans l'axone et sont orientés avec l'extrémité positive vers la terminaison nerveuse. Les différents organites sont transportés par des moteurs spécifiques associés aux microtubules. En général, les moteurs qui transportent les organites vers le côté positif des microtubules (transport antérograde) sont les kinésines [1]. Formées de deux chaînes lourdes (120 kDa) et deux chaînes légères

Tableau I			
VITESSE DE TRANSPORT ANTÉROGRADE DES ORGANITES DANS L'AXONE			
Type de transport	Classe	Vitesse (mm/jour)	Composition
Rapide	I	200-400	Petites vésicules, neurotransmetteurs, Protéines membranaires et lipides
	II	50-100	Mitochondries
	III	30	Myosine
Lent	IV	2-8	Actine, clathrine, émolase, calmoduline
	V	0,2-1	Neurofilaments, tubuline

(64 kDa), elles utilisent l'adénosine triphosphate (ATP) comme source d'énergie. La dynéine, qui représente un autre type de moteur ATPase associé aux microtubules, est responsable du transport rétrograde des organites [1].

Les protéines du cytosquelette sont transportées dans l'axone à une vitesse de 0,2-8 mm par jour, ce qui correspond à une vitesse environ 100fois plus lente que le mouvement des organites associés au transport rapide. Les neurofilaments sont formés par la co-polymérisation de trois protéines de la famille des filaments intermédiaires (FI) appelées NF-L, NF-M et NF-H respectivement de poids moléculaire 61 000, 90 000 et 115 000 kDa. Aucune de ces sous-unités n'est capable de s'assembler en filaments en l'absence des deux autres [2, 3] et la formation de dimères de NF-L avec NF-M ou avec NF-H est probablement nécessaire à la formation de filaments [4, 5]. Le modèle d'assemblage implique l'alignement de ces dimères de façon antiparallèle et décalée pour former des tétramères (figure 1). Ainsi, huit tétramères s'agrègent pour former un filament cylindrique de 10 nm [6].

Il existe deux écoles de pensée pour expliquer le mouvement des neurofilaments dans l'axone. Pour la première, les protéines du cytosquelette seraient rapidement assemblées en filaments dans le péricaryon et ces filaments seraient ensuite transportés dans l'axone (figure 2A). Ce modèle, fondé sur le concept du mouvement des structures polymérisées dans la cellule, s'appuie depuis longtemps

sur les études de marquage métabolique à la ^{35}S -méthionine qui montrent un déplacement synchronisé des

trois protéines des neurofilaments à une vitesse apparente d'environ 1 mm par jour [7-9]. Par ailleurs, la majorité des protéines des neurofilaments existent dans l'axone sous forme de polymères. Cependant, ce modèle a été contesté par une seconde école; pour cette dernière, le cytosquelette serait essentiellement immobile [10]. Les sous-unités ou de petits oligomères seraient alors transportés puis assemblés dans les filaments dans l'axone (figure 2B). Selon ce modèle, les sous-unités en transit peuvent donc être échangées avec les sous-unités des neurofilaments stationnaires pour permettre un remplacement des protéines dans l'axone. Ce modèle s'est appuyé sur des études de marquage métabolique qui ont montré un étalement graduel de la vague des protéines marquées, ce qui est davantage

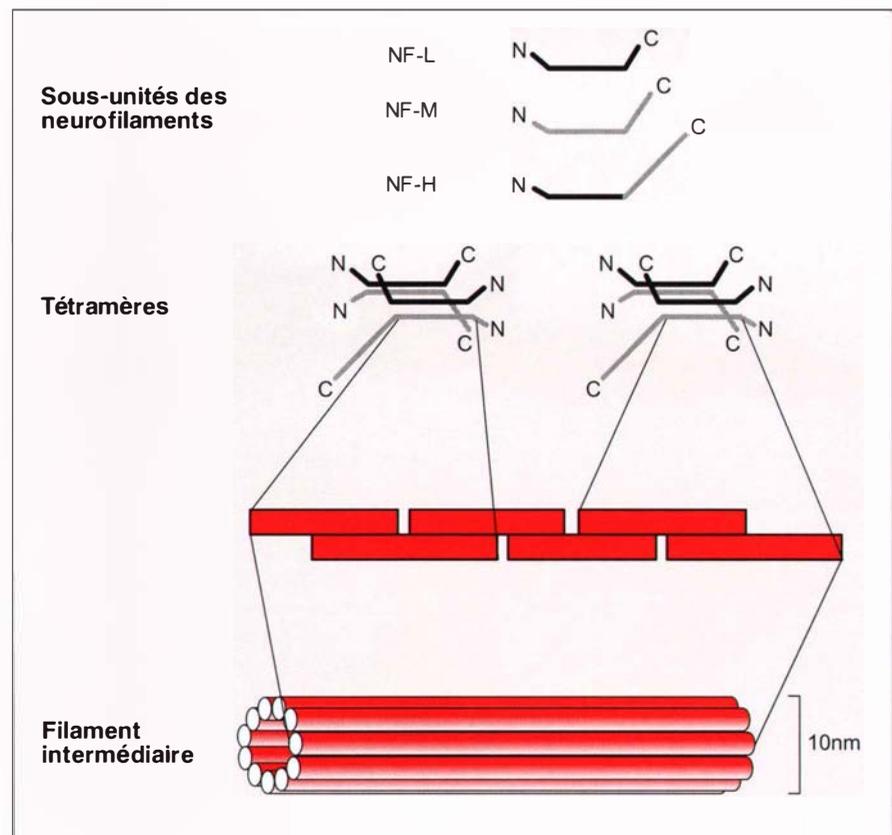


Figure 1. **Assemblage des neurofilaments en filaments de 10 nm.** Les neurofilaments sont formés par la co-polymérisation de trois sous-unités NF-L, NF-M et NF-H. La protéine NF-L peut dimériser avec les protéines NF-M ou NF-H. Ces dimères s'assemblent de façon antiparallèle pour former des tétramères. Environ huit tétramères sont requis pour produire un filament de 10 nm de diamètre.

compatible avec un modèle dynamique impliquant des échanges entre les polymères et les sous-unités transportées [11].

Pour régler cette controverse, il fallait absolument développer des méthodes de visualisation du mouvement intracellulaire des neurofilaments. Des protéines de neurofilaments marquées par un composé fluorescent ont été injectées dans des neurones en culture, puis on a pratiqué un blanchiment photonique de segments d'axone. Ces expériences ont montré que la zone d'axone blanchie demeurait dans un état stationnaire et que la récupération de la fluorescence dans cette zone était graduelle [10, 12], ce qui allait dans le sens du second modèle, dans lequel les neurofilaments sont stationnaires et des sous-unités solubles sont transportées dans l'axone. Terada *et al.* [13] ont montré que, même en absence de neurofilaments dans l'axone, les protéines NF-M produites par un adénovirus recombinant pouvaient être transportées le long des microtubules par le transport lent dans l'axone.

Depuis quelques années, le débat était toutefois dans une impasse et certains résultats paraissaient irréconciliables. Heureusement, une autre approche fondée sur l'expression d'une protéine NF-M fusionnée à la GFP (*green fluorescent protein*) a récemment permis à Wang *et al.* [14] de visualiser le mouvement des neurofilaments dans des neurones du système nerveux sympathique de rat en culture. Une des particularités de ces neurones est qu'ils possèdent naturellement des discontinuités dans la distribution des neurofilaments le long de l'axone, de sorte que certains segments sont exempts de neurofilaments. Ces intervalles dans l'axone ont permis de visualiser le mouvement de neurofilaments fluorescents *in vivo* sans avoir besoin d'un photoblanchiment ou d'une photoactivation. Surprise ! Les images en vidéo-microscopie ont montré que les neurofilaments peuvent se déplacer très rapidement dans l'axone, vers la terminaison nerveuse, à une vitesse parfois supérieure à un micromètre par seconde. Cependant, ce mouvement est interrompu de pauses prolongées, ce qui permet d'expliquer la lenteur apparente du transport des sous-unités. Le mouvement des neu-

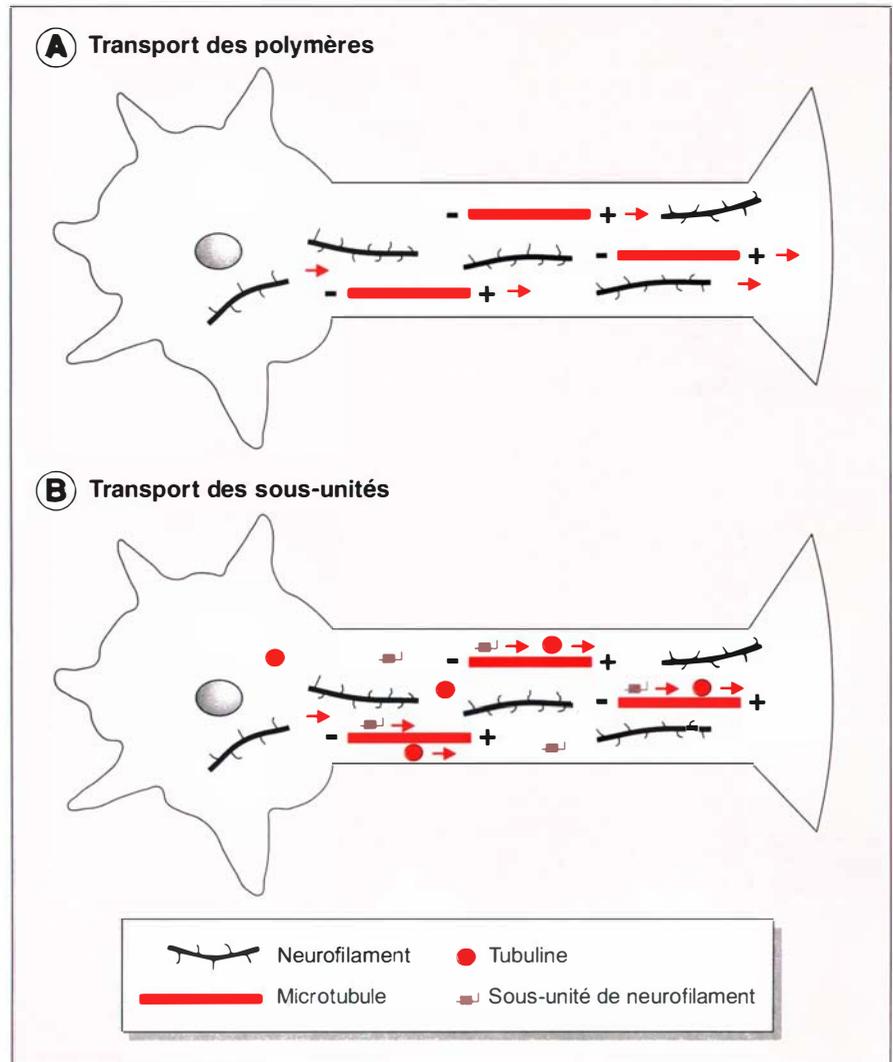


Figure 2. **Modèles de transport axonal des protéines du cytosquelette.** Les deux modèles supposent que les filaments sont des structures dynamiques qui peuvent se raccourcir ou s'allonger. (A) Ce modèle de transport de polymères propose que les filaments sont transportés activement tandis que les sous-unités peuvent simplement diffuser. (B) Dans ce modèle, les polymères demeurent stationnaires alors que les sous-unités sont activement transportées.

rofilaments est bidirectionnel mais la majorité des filaments (83%) migrent de façon antérograde, vers la terminaison nerveuse. Les neurofilaments en migration ont une longueur de 1 à 15 micromètres. Les auteurs ont également noté qu'une petite proportion de la GFP-NFM (5%) était transportée sous forme d'agrégats, ce qui est à rapprocher du mouvement de structures oligomériques de GFP-NFM rapporté dans des neurones sensoriels et des cellules de neuroblastome en culture [15].

Les observations de Wang *et al.* [14] révélèrent aussi que les neurofilaments ne migrent pas dans l'axone de façon synchronisée. Ces mouvements rapides et intermittents des neurofilaments individuels expliquent pourquoi il avait été jusque là si difficile d'observer leur transport. Notamment, les expériences de photoblanchiment et de photoactivation [10] visaient à détecter un mouvement lent et synchronisé des neurofilaments et non pas un mouvement rapide et asynchrone.

Il ressort de ces résultats deux modèles de transport des neurofilaments (figure 3). Dans le premier modèle, les neurofilaments sont transportés sous forme de filaments, *via* les microtubules, par des moteurs des familles des kinésines et des dynéines, d'une façon analogue à ce que l'on observe pour les vésicules membranaires. Ce modèle est compatible avec des expériences récentes qui montrent la co-localisation et la co-immunoprécipitation de la kinésine et des sous-unités de neurofilaments [15, 16]. Dans le second modèle, les neurofilaments seraient transportés sans interaction directe avec les kinésines ou les dynéines (figure 3B), mais seraient entraînés indirectement par le mouvement des microtubules qui, eux, utilisent ces moteurs pour leur transport. Il est bien connu qu'il existe des interactions entre neurofilaments et microtubules et la sous-unité NF-H peut, par exemple, interagir directement avec la tubuline [17]. Notons finalement que ces deux modèles de transport des neurofilaments pourraient co-exister dans la cellule nerveuse.

Il est établi que les neurofilaments ont besoin des microtubules pour leur transport et non pas l'inverse. En l'absence de neurofilaments dans le neurone, après inactivation du gène *NF-L* chez la souris, les microtubules continuent de s'assembler et de migrer dans l'axone [18]. L'absence de neurofilaments n'est toutefois pas sans conséquence puisque cela entraîne une diminution de la croissance radiale des axones et une réduction de la conductivité axonale [19]. A l'inverse, la déstabilisation des microtubules provoque un blocage général du transport axonal incluant le transport des neurofilaments. Un bel exemple de ce phénomène est donné par la dystonie neuronale chez la souris mutante *dt/dt*. Le gène *dt* code pour la dystonine (aussi appelé BPAG1), une protéine de la famille des plectines. Une forme neuronale de la dystonine a pour fonction de stabiliser les microtubules [20]. La perte de la dystonine entraîne une déstabilisation des microtubules, des accumulations de neurofilaments et la dégénérescence des cellules sensorielles. Il faut noter cependant que les accumulations de neurofilaments chez la souris *dt/dt* ne sont pas directement impliquées dans

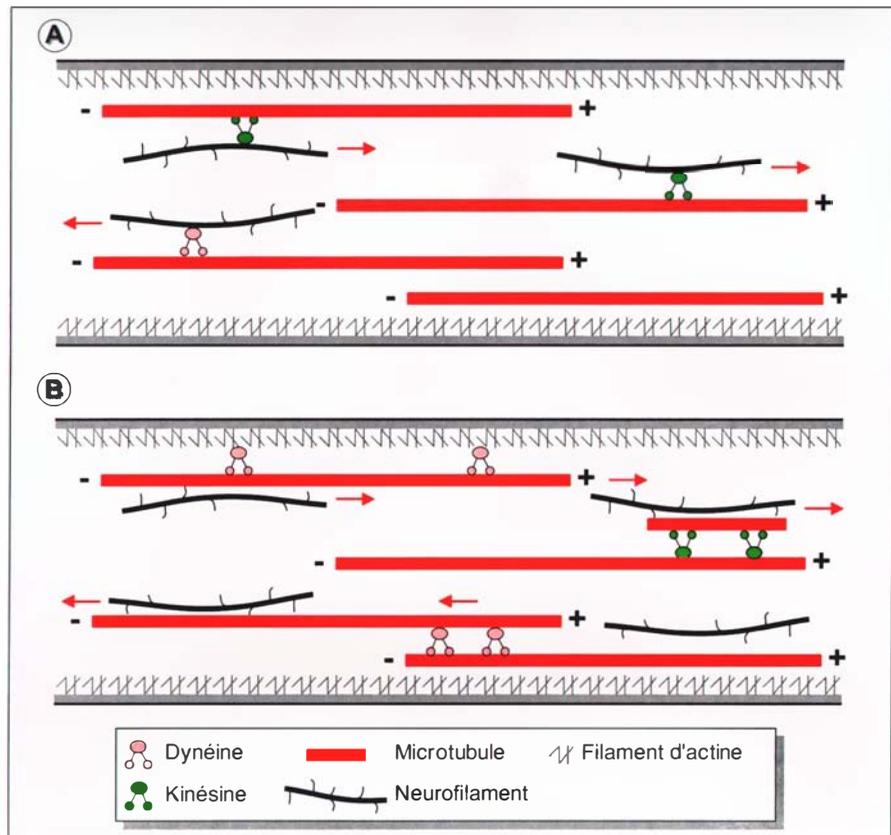


Figure 3. **Deux modèles pour le mouvement des neurofilaments dans l'axone.** (A) Dans ce modèle, les neurofilaments sont transportés directement par des moteurs comme la kinésine ou la dynéine le long des microtubules. (B) Dans ce modèle, les neurofilaments se lient aux microtubules qui sont, eux, transportés par les moteurs le long de l'axone.

le phénomène de la neurodégénérescence [20, 21].

Transport axonal chez les souris knock-out pour les gènes des neurofilaments

Certes, les sous-unités de neurofilaments peuvent être transportées dans l'axone en l'absence d'un réseau de filaments [13] mais pas d'une manière efficace, comme le révèlent les analyses récentes de souris dont les gènes de neurofilaments ont été inactivés. En l'absence de protéines NF-L, les protéines NF-M et NF-H sont incapables de s'assembler en filaments. Chez les souris *NF-L^{-/-}*, de très faibles quantités de NF-M et de NF-H sont détectées dans les axones [18] tandis qu'on observe des accumulations de ces protéines dans le péricaryon des

motoneurones. Le même phénomène a été observé chez les souris ayant les deux gènes *NF-M* et *NF-H* inactivés [5]. L'absence de NF-M et de NF-H entraîne l'accumulation de protéines NF-L non-assemblées dans le péricaryon des motoneurones, ce qui provoque une réduction importante du diamètre axonal. Ces résultats indiquent que, pour être transportées dans l'axone de façon efficace, les sous-unités des neurofilaments nouvellement synthétisées doivent d'abord être assemblées en filaments ou en structures oligomériques.

Accumulation de neurofilaments et maladies neurodégénératives

Une accumulation anormale de neurofilaments est fréquemment observée dans les maladies neurodégénératives.

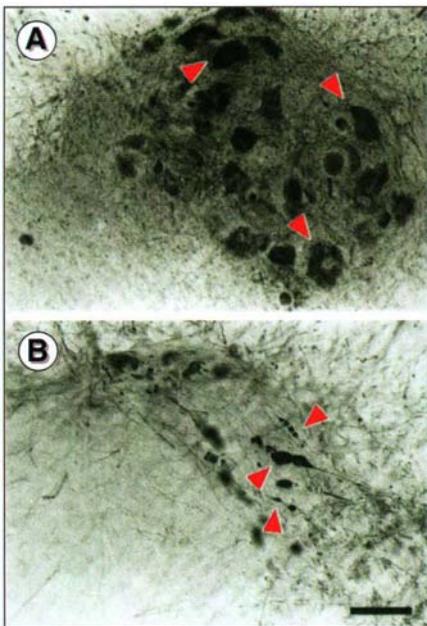


Figure 4. Différents types d'accumulations de filaments dans les motoneurones de souris transgéniques. (A) Accumulations de protéines de filaments dans le périkaryon de motoneurones de la moelle épinière chez des souris NF-L⁺ exprimant un transgène NF-H. Ce type d'accumulations ne provoque pas la mort des cellules. (B) Agrégats de filaments dans les axones et, dans une moindre mesure, dans le périkaryon des motoneurones chez des souris NF-L⁻ exprimant un transgène périphérine. Ces agrégats sont toxiques et provoquent la mort progressive des motoneurones. La barre indique 100µm.

notamment chez les patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (SLA, aussi appelée maladie de Charcot) [22, 23]. Comment ces agrégats de filaments se forment-ils? Sont-ils simplement la conséquence d'un transport axonal défectueux ou peuvent-ils contribuer à la neurodégénérescence?

La découverte récente de mutations dans le gène *NF-H* chez quelques patients atteints de SLA (1% des cas) [24-26] a apporté la preuve que des anomalies dans l'organisation des neurofilaments peuvent parfois contribuer à la pathogenèse. En plus de mutations géniques, plusieurs autres facteurs peuvent induire l'accumulation anormale des neurofi-

laments (Tableau II). Des modifications post-traductionnelles sont capables de provoquer la réorganisation des neurofilaments. Par exemple, la phosphorylation anormale des neurofilaments par une kinase associée au stress peut provoquer une réorganisation des neurofilaments [27]. Chou *et al.* [28] ont détecté la présence de produits de glycation associés aux inclusions de neurofilaments chez des patients atteints de SLA. De plus, un résidu tyrosine de la protéine NF-L est très susceptible à la nitration par le peroxyde d'azote, un phénomène qui pourrait être amplifié dans la pathogenèse de la SLA familiale causée par des mutations dans le gène codant pour la superoxyde dismutase [29]. Cependant, on ignore encore l'impact de ces modifications des neurofilaments sur la pathogenèse.

L'étude de diverses souris transgéniques a démontré que la surproduction des protéines de neurofilaments peut provoquer leur accumulation anormale dans le périkaryon des motoneurones [30-33]. C'est le cas, par exemple, de souris chez lesquelles on induit des taux élevés de la protéine NF-H humaine, ce qui entraîne une sévère atrophie des axones et une atteinte de la motricité [30]. Notons que cette pathologie peut être éliminée simplement par la co-expression de protéines NF-L [34]. Ces résultats soulignent encore une fois l'importance de la proportion relative des sous-unités pour l'assemblage et le transport efficace des protéines des neurofilaments synthétisés dans le périkaryon.

Il est remarquable que les accumulations des neurofilaments dans le périkaryon des cellules nerveuses soient souvent bien tolérées. Par exemple, aucune perte importante de motoneurones n'a été observée chez des souris transgéniques qui produisent en excès des protéines normales des neurofilaments ou chez celles qui portent un transgène *NF-H-β-galactosidase*, alors même que les neurofilaments s'accumulent de façon impressionnante dans les corps cellulaires [35]. Nos études avec des modèles expérimentaux de SLA chez la souris suggèrent même que l'accumulation de neurofilaments dans le périkaryon pourrait jouer un rôle protecteur dans cette maladie. En effet, la surproduction de la NF-H humaine entraîne

une augmentation (65%) de la durée de vie de ces souris porteuses d'un gène codant pour une superoxyde dismutase (SOD) mutée qui provoque une SLA chez l'homme [36]. On ignore encore comment ces accumulations peuvent protéger les motoneurones de la toxicité de SOD mutantes. Nos travaux récents ont montré que les agrégats de filaments qui sont composés en partie de périphérine peuvent être particulièrement toxiques. La périphérine est un type de filament intermédiaire détecté dans la majorité des agrégats de filaments motoneuronaux chez des patients atteints de la SLA [37-39]. La surproduction de périphérine chez la souris provoque la formation d'agrégats de filaments et cause la mort sélective et progressive des motoneurones [40], ce qui est le premier exemple de mort sélective des motoneurones par surproduction d'une protéine normale des filaments intermédiaires. Les effets toxiques des agrégats de périphérine sont encore mal connus. Une hypothèse plausible est celle d'un blocage du transport axonal des autres organites et des protéines nécessaires à la survie de l'axone par l'accumulation de ces filaments intermédiaires, surtout dans la région proximale de l'axone. C'est le modèle de la mort neuronale dite « par strangulation ». Une autre hypothèse est celle d'une rétention d'organites dans ces agrégats, par exemple des mitochondries.

Conclusions

Des études récentes ont finalement apporté la preuve que les neurofilaments sont transportés dans l'axone sous forme de polymères. Le transport axonal des neurofilaments est rapide, non synchronisé et interrompu par de longues pauses, ce qui explique les difficultés que l'on avait rencontrées jusqu'alors à observer le mouvement de ces structures dans les cellules nerveuses. Il reste encore à élucider les interactions moléculaires impliquées dans ce mouvement. Des dérèglements dans les mécanismes d'assemblage et de transport des neurofilaments pourraient contribuer à la formation d'agrégats de filaments, phénomènes fréquemment observés dans des maladies neurodégénératives ■

Tableau II
FACTEURS QUI PEUVENT CAUSER DES ACCUMULATIONS DE NEUROFILAMENTS

Facteur	Évidence	Références
Dérèglement des niveaux d'expression génique	Souris transgéniques produisant des protéines des neurofilaments en excès Souris <i>knock-out</i> pour gènes de neurofilament Souris produisant la périphérine en excès	[30-33] [5]
Mutations dans un gène de neurofilament	Perte de codons dans le gène <i>NF-H</i> chez certains patients SLA Mort des motoneurones induite par un gène <i>NF-L</i> muté	[24-26] [41]
Mutations du gène <i>SOD1</i>	Agrégats de neurofilaments dans des cas familiaux de SLA et dans des souris modèles de la SLA	[39, 42]
Mutations de protéines du cytosquelette	Dégénérescence des neurones sensoriels chez des souris <i>dt/dt</i> dont le gène <i>BPAG1</i> est muté	[20]
Phosphorylation anormale des neurofilaments	Hyperphosphorylation de la protéine <i>NF-H</i> dans le périkyon par une kinase, phosphorylation activée par le stress	[27]
Intoxication par l'aluminium	Accumulations de neurofilaments chez le lapin	[43]
Neurotoxines comme le β,β -iminodipropionitrile (IDPN) hexanedione et l'acrylamide	Accumulations de neurofilaments dans des modèles animaux et dans des cellules en cultures	[44]

SLA: sclérose latérale amyotrophique; BPAG: dystonine.

RÉFÉRENCES

- Hirokawa N. Organelle transport along microtubules: the role of KIFs. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 135-41.
- Lee MK, Xu Z, Wong PC, Cleveland DW. Neurofilaments are obligate heteropolymers *in vivo*. *J Cell Biol* 1993; 122: 1337-50.
- Ching GY, Liem RK. Assembly of type IV neuronal intermediate filaments in nonneuronal cells in the absence of preexisting cytoplasmic intermediate filaments. *J Cell Biol* 1993; 122: 1323-35.
- Athlan ES, Mushynski WE. Heterodimeric associations between neuronal intermediate filament proteins. *J Biol Chem* 1997; 272: 31073-8.
- Jacomy H, Zhu Q, Couillard-Després S, Beaulieu JM, Julien JP. Disruption of type IV intermediate filament network in mice lacking the neurofilament medium and heavy subunits. *J Neurochem* 1999; 73: 972-84.
- Steinert PM, Roop DR. Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu Rev Biochem* 1988; 57: 593-625.
- Hoffman PN, Lasek RJ. The slow component of axonal transport: identification of the major structural polypeptides of the axon and their generality among mammalian neurons. *J Cell Biol* 1975; 66: 351-66.
- Lasek RJ, Garner JA, Brady ST. Axonal transport of the cytoplasmic matrix. *J Cell Biol* 1984; 99: 212-21.
- Baas PW, Brown A. Slow axonal transport: the polymer transport model. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 380-4.
- Hirokawa N, Terada S, Funakoshi T, Takeda S. Slow axonal transport: the subunit transport model. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 384-8.
- Nixon RA, Lewis SE, Mercken M, Sihag RK. [³²P]Orthophosphate and [³⁵S]methionine label separate pools of neurofilaments with markedly different axonal transport kinetics in mouse retinal ganglion cells *in vivo*. *Neurochem Res* 1994; 19: 1325-33.
- Okabe S, Miyasaka H, Hirokawa N. Dynamics of the neuronal intermediate filaments. *J Cell Biol* 1993; 121: 375-86.
- Terada S, Nakata T, Peterson AC, Hirokawa N. Visualization of slow axonal transport *in vivo*. *Science* 1996; 273: 784-8.
- Wang L, Ho CL, Sun D, Liem RKH, Brown A. Rapid movement of axonal neurofilaments interrupted by prolonged pauses. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 137-41.
- Yabe JT, Pimenta A, Shea TB. Kinesin-mediated transport of neurofilament protein oligomers in growing axons. *J Cell Sci* 1999; 112: 3799-814.
- Yabe JT, Chan WKH, Shea TB. Phospho-dependent association of neurofilament proteins with kinesins *in situ*. *Cell Motil Cytoskel* 2000; 45: 249-62.
- Miyasaka H, Okabe S, Ishiguro K, Uchida T, Hirokawa N. Interaction of the tail domain of high molecular weight subunits of neurofilaments with the COOH-terminal region of tubulin and its regulation by tau protein kinase II. *J Biol Chem* 1993; 268: 22695-702.
- Zhu Q, Couillard-Després S, Julien JP. Delayed maturation of regenerating myelinated axons in mice lacking neurofilaments. *Exp Neurol* 1997; 148: 299-316.

RÉFÉRENCES

19. Kriz J, Zhu Q, Julien JP, Padjen AL. Electrophysiological properties of axons in mice knock-out for neurofilament genes: disparity between conduction velocity and axon diameter in absence of NF-H. *Brain Res* 2000 (sous presse).

20. Yang Y, Bauer C, Strasser G, Wollman R, Julien JP, Fuchs E. Integrators of the cytoskeleton that stabilize microtubules. *Cell* 1999; 98: 229-38.

21. Eyer J, Cleveland DW, Wong PC, Peterson AC. Pathogenesis of two axonopathies does not require axonal neurofilaments. *Nature* 1998; 391: 584-7.

22. Carpenter S. Proximal enlargement in motor neuron diseases. *Neurology* 1968; 18: 841-51.

23. Hirano A, Donnenfeld H, Sasaki S, Nakano I. Fine structural observations of neurofilamentous changes in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1984; 43: 461-70.

24. Figlewicz DA, Krizus A, Martinoli MG, et al. Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1757-61.

25. Tomkins J, Usher P, Slade JY, et al. Novel insertion in the KSP region of the neurofilament heavy gene in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *NeuroReport* 1998; 9: 3967-70.

26. Al-Chalabi A, Anderson PM, Nilsson P, et al. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 157-64.

27. Giasson BI, Mushynski WE. Aberrant stress-induced phosphorylation of perikaryal neurofilaments. *J Biol Chem* 1996; 271: 30404-9.

28. Chou SM, Wang HS, Taniguchi A, Bucala R. Advanced glycation endproducts in neurofilament conglomeration of motoneurons in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Med* 1998; 4: 324-32.

29. Crow JP, Ye YZ, Strong M, Kirk M, Barnes S, Beckman JS. Superoxide dismutase catalyzes nitration of tyrosines by peroxynitrite in the rod and head domains of neurofilament-L. *J Neurochem* 1997; 69: 1945-53.

30. Côté F, Collard JF, Julien JP. Progressive neuronopathy in transgenic mice expressing the human neurofilament heavy gene: a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Cell* 1993; 73: 35-46.

31. Xu Z, Cork LC, Griffin JW, Cleveland DW. Increased expression of neurofilament subunit NF-L produces morphological alterations that resemble the pathology of human motor neuron disease. *Cell* 1993; 73: 23-33.

32. Marszalek JR, Williamson TL, Lee MK, et al. Neurofilament subunit NF-H modulates axonal diameter by selectively slowing neurofilament transport. *J Cell Biol* 1996; 135: 711-24.

33. Wong PC, Marszalek J, Crawford TO, Xu Z, Hsieh ST, Griffin JW, Cleveland DW. Increasing neurofilament subunit NF-M expression reduces axonal NF-H, inhibits radial growth, and results in neurofilamentous accumulation in motor neurons. *J Cell Biol* 1995; 130: 1413-22.

34. Meier J, Couillard-Després S, Julien JP. Extra neurofilament NF-L proteins rescue motor neuron disease caused by overexpression of human NF-H in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 1099-110.

35. Eyer J, Peterson A. Neurofilament-deficient axons and perikaryal aggregates in viable transgenic mice expressing a neurofilament-b-galactosidase fusion protein. *Neuron* 1994; 12: 389-405.

36. Couillard-Despres S, Zhu Q, Wong PC, Price DL, Cleveland DW, Julien JP. Protective effect of neurofilament heavy gene overexpression in motor neuron disease induced by mutant superoxide dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9626-30.

37. Corbo M, Hays AP. Peripherin and neurofilament protein coexist in spinal spheroids of motor neuron disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 531-7.

38. Migheli A, Pezzulo T, Attanasio A, Schiffer D. Peripherin immunoreactive structures in amyotrophic lateral sclerosis. *Lab Invest* 1993; 68: 185-91.

39. Tu PH, Raju P, Robinson KA, Gurney ME, Trojanowski JQ, Lee VMY. Transgenic mice carrying a human mutant superoxide dismutase transgene develop neuronal cytoskeletal pathology resembling human amyotrophic lateral sclerosis lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 93: 3155-60.

40. Beaulieu JM, Nguyen MD, Julien JP. Late-onset death of motor neurons in mice overexpressing wild-type peripherin. *J Cell Biol* 1999; 147: 531-44.

41. Lee MK, Marszalek JR, Cleveland DW. A mutant neurofilament subunit causes massive, selective motor neuron death: implications for the pathogenesis of human motor neuron disease. *Neuron* 1994; 13: 975-88.

42. Rouleau GA, Clark AW, Rooke K, et al. SOD1 mutation is associated with accumulation of neurofilaments in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 39: 113-7.

43. Strong MJ. Aluminum toxicity: an experimental approach to the induction of neurofilamentous inclusions. *J Neurol Sci* 1994; 124: 20-6.

44. Griffin JW, Fahnestock KE, Price DL, Cork LC. Cytoskeletal disorganization induced by local application of β,β' -iminodipropionitrile and 2,5-hexanedione. *Ann Neurol* 1983; 14: 55-61.

Summary

Axonal transport of neurofilaments and pathology

Neurofilaments are major cytoskeletal elements of nerve cells. Neurofilament proteins are synthesized in the cell body and move down the axon with the slow axonal transport component. For many years, the axonal transport of neurofilaments was a controversial issue. On one hand, some studies suggested that neurofilaments were transported as polymers whereas other experiments led to a model of subunit transport combined to their dynamic assembly with stationary filaments along the axon. Recently, a new approach led to the *in vivo* visualization of neurofilaments tagged with green fluorescent protein (GFP). The results indicate that the slow transport of neurofilaments result from the rapid movement of polymers interrupted by prolonged pauses. Moreover, the neurofilament transport is asynchronous and bidirectional, which explains the difficulties to observe their movements. Although the molecular mechanisms underlying neurofilament transport remain to be elucidated, there is emerging evidence of a role for motors of the kinesin family. Alterations in assembly and transport of neurofilaments could be involved in neurodegenerative diseases. Transgenic mouse studies showed that the formation of filamentous aggregates, especially in the axon, can sometimes provoke neuronal death.

TIRÉS À PART

J.P. Julien