

# Épitaphe pour un neurone condamné

**Fekrije Selimi  
Jean Mariani**

F. Selimi, J. Mariani : Laboratoire Développement et Vieillesse du Système Nerveux, Institut des neurosciences, UMR 7624, Cnrs et Université Pierre-et-Marie-Curie, 9, quai Saint-Bernard 75005 Paris, France.

► Le maintien de l'intégrité du système nerveux central requiert le contrôle de la durée de vie des neurones. Si le nombre de neurones produits au cours de la vie embryonnaire est normalement réduit pour conduire à la formation du cerveau adulte fonctionnel, ce chiffre peut encore varier soit dans des situations pathologiques induisant la mort neuronale, soit au cours du vieillissement dit « normal ». Cette revue fait le point sur les facteurs génétiques dont dépend la survie neuronale. En particulier, l'expression des protéines de la famille Bcl-2, impliquées dans le processus d'apoptose, influe directement sur le cours du développement neuronal et de diverses maladies neurodégénératives. ◀

TIRÉS À PART

J. Mariani.

**L**e contrôle de la survie neuronale est l'un des paramètres essentiels de la mise en place et du maintien du fonctionnement cérébral. Pratiquement tous les neurones sont produits au cours de la période embryonnaire ou durant les premières semaines de vie postnatale. Au cours de cette étape initiale du développement du cerveau, la prolifération de cellules progénitrices permet la production d'un grand nombre de neurones. Ce nombre est donc directement contrôlé par le taux de prolifération et de différenciation de ces cellules progénitrices. Cependant, la disparition d'un grand nombre de neurones au cours du développement est aussi nécessaire à la mise en place d'un cerveau « fonctionnel » dans lequel les neurones ont formé un réseau précis et adapté [1]. Le nombre de neurones présents dans un cerveau adulte dépend également de la durée de vie d'un neurone postmitotique. Si, chez le sujet adulte, la mort inappropriée de neurones peut survenir à la suite de diverses maladies (ischémie, maladies neurodégénératives...) et altérer

le fonctionnement cérébral, certaines études ont également suggéré qu'une perte de neurones a lieu au cours du vieillissement dit « normal » (voir revue dans [2]). La durée de vie du neurone postmitotique est donc très variable: certains meurent très rapidement après leur genèse, alors que d'autres survivent jusqu'à la mort de l'organisme. La possibilité de contrôler la durée de vie des neurones faciliterait l'étude du développement du système nerveux, mais aussi les approches visant à pallier les déficits engendrés par une perte neuronale, que celle-ci soit liée à la maladie ou au vieillissement normal (*m/s* 1998, n° 3, p. 368). Le contrôle de la survie neuronale semble être sous l'influence de différents gènes. En particulier, la mort cellulaire active, ou apoptose, consiste en une suite d'événements moléculaires qui peuvent être réglés en modulant l'activité de certains gènes. De plus, certains facteurs génétiques pourraient influencer la propension d'un neurone à mourir au cours des maladies dégénératives ou du vieillissement normal, sans être directement liés aux mécanismes d'apoptose.

## La famille Bcl-2 dans le contrôle de la survie des neurones postmitotiques

L'apoptose est un mécanisme de suicide cellulaire puisque la cellule participe de manière active à sa propre destruction. Celle-ci est exécutée entre autres par des protéases à cystéine, les caspases, dont l'activation est déclenchée par la libération de facteurs mitochondriaux, tels que le cytochrome c [3]. Ce programme de destruction est déclenché par des signaux provenant de l'environnement cellulaire, et peut être contrôlé à plusieurs niveaux. La libération de facteurs mitochondriaux est réglée par les protéines de la famille Bcl-2, qui peuvent être pro- ou anti-apoptotiques. Ainsi, Bcl-2 ou Bcl-xL favorisent la survie cellulaire, alors que Bax ou Bad induisent l'apoptose par un mécanisme qui n'est pas encore totalement éclairci. Il semble que l'équilibre entre la quantité de protéines pro- ou anti-apoptotiques présentes dans la cellule soit un déterminant essentiel du devenir cellulaire [4]. L'utilisation de souris transgéniques a permis de montrer que la modulation de l'expression des protéines de la famille Bcl-2 influence la durée de vie des neurones au cours du développement. Ainsi, la surexpression de

Bcl-2 induit l'augmentation du nombre de neurones dans plusieurs structures cérébrales [5, 6]. Lorsque cette surexpression intervient à partir du jour embryonnaire E13, le nombre de cellules de Purkinje présentes dans le cervelet des souris adultes augmente de 45 % [7]. Ces neurones apparaissent entre E11/E13 et se développent jusqu'à l'âge de trois semaines. Si le nombre de cellules de Purkinje ne se modifie plus au-delà, l'âge auquel cette population neuronale subit une mort programmée n'est pas clairement défini. Chez ces mêmes souris, 28 % des neurones de l'olive inférieure\* échappent également à la mort programmée, intervenant normalement entre les jours 5 et 10 postnataux [8]. Un autre exemple est celui des souris chez lesquelles le gène Bax a été inactivé. Cette délétion conduit à une augmentation du nombre de motoneurons faciaux de 51 % et allonge leur durée de vie d'au moins un mois [9]. En revanche, l'inactivation du gène Bcl-x accélère de manière drastique la mort des neurones en cours de différenciation [10]. Quels sont donc les signaux extracellulaires qui règlent ces mécanismes? Selon des résultats récents, le NGF serait capable d'induire la production de Bcl-2 dans des neurones portant son récepteur, et de favoriser

ainsi leur survie [11]. Ces résultats établissent donc un lien entre la signalisation induite par les facteurs trophiques et la famille de Bcl-2. La dérégulation positive ou négative des protéines de la famille Bcl-2 pourrait également intervenir dans de nombreux cas de mort neuronale pathologique. Ainsi la surexpression de Bcl-2 permet de retarder d'une semaine la mort neuronale induite par axotomie, et ce délai peut atteindre un mois dans le cas de l'inactivation de Bax [9, 12]. La surexpression de Bcl-2 permet également d'inhiber la mort de certains neurones après ischémie [5], et de retarder de quelques semaines la mort par excitotoxicité de certaines cellules de Purkinje chez les souris portant la mutation *Lurcher* [13]. Enfin, la surexpression de Bcl-2 dans un modèle murin de sclérose en plaques permet de retarder d'un mois la mort des motoneurons ainsi que l'apparition des signes cliniques [14]. L'impact de la mort neuronale, survenant au cours du développement, sur le fonctionnement du cerveau adulte peut également être appréhendé en modifiant le nombre de neurones dans des modèles animaux viables. Ainsi, toujours chez les souris surexprimant Bcl-2, la présence de neurones surnuméraires induit une diminution de l'anxiété [15] et diminue nettement les capacités d'apprentissage sensorimoteurs chez l'adulte [16]. Dans les cas pathologiques, la mort neuronale n'est parfois que retardée par la modulation de l'expression des protéines de la famille Bcl-2. Néanmoins, comme le montre le modèle murin de la sclérose en plaques, l'augmentation de la survie des neurones permet de retarder de manière significative l'apparition des signes cliniques de la maladie. Dans tous les cas, lorsque des neurones échappent à l'apoptose dans de telles circonstances, le problème de la fonctionnalité de ces neurones reste posé et plus encore celui des réseaux auxquels ils participent. La modulation de l'expression de protéines de la famille Bcl-2 dans des modèles de vieillissement « nor-

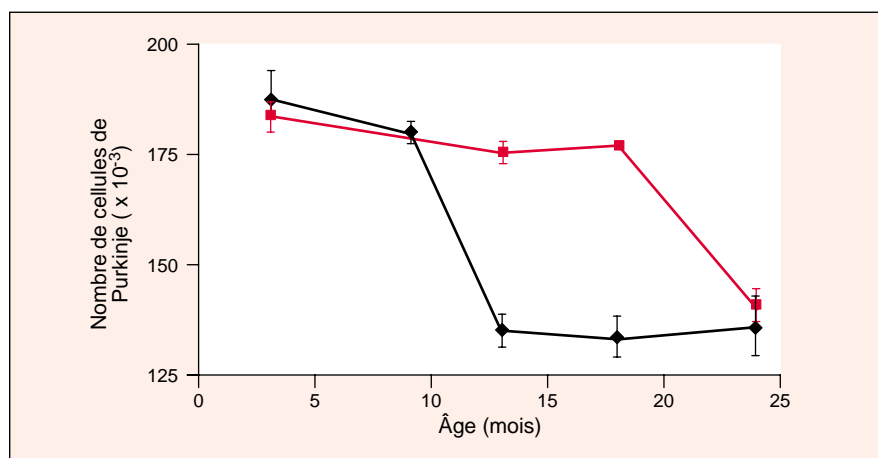
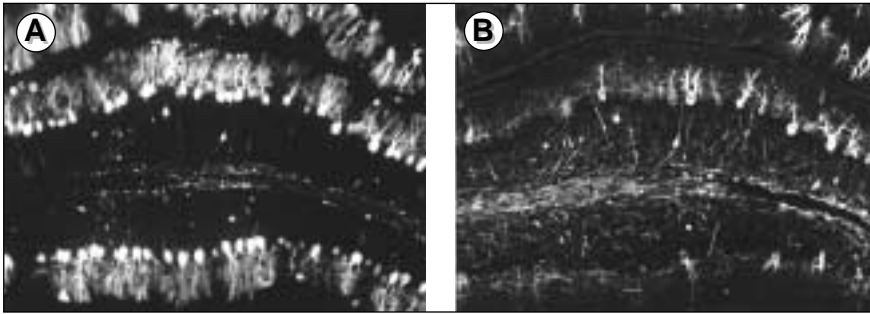


Figure 1. **L'hétérozygote staggerer : un modèle de vieillissement normal accéléré.** Le nombre de cellules de Purkinje reste constant chez les souris sauvages femelles jusqu'à l'âge de 18 mois, puis une perte de 25 % se produit entre 18 et 24 mois (en rouge). Chez les souris hétérozygotes staggerer femelles (en noir), le nombre initial de cellules de Purkinje est identique à celui des souris sauvages. Une perte de 25 % de ces cellules se produit également, mais cette perte a lieu entre 9 et 12 mois, indiquant que la présence à l'état hétérozygote de l'allèle *staggerer* induit une mort prématurée des cellules de Purkinje qui dégèrent au cours du vieillissement normal.

\* L'olive inférieure est un noyau du tronc cérébral dont les neurones projettent vers le cervelet où leurs axones contractent massivement les dendrites des cellules de Purkinje.



**Figure 2. Hétérogénéité des cellules de Purkinje chez les souris hétérozygotes Lurcher.** La dégénérescence des cellules de Purkinje chez le mutant Lurcher est asynchrone et s'étend sur une période d'au moins trois semaines. Une expérience de double marquage utilisant un anticorps anti-calbindine (qui révèle toutes les cellules de Purkinje) (A), et un anticorps anti-pro-caspase-3 (qui révèle le précurseur d'une protéase impliquée dans l'apoptose) (B), montre que seules 25% des cellules de Purkinje restantes surexpriment la pro-caspase-3 à un temps *t* de cette période. Cette différence de vulnérabilité pourrait s'expliquer par une hétérogénéité dans l'expression de certains gènes au sein même de la population des cellules de Purkinje.

mal » permettrait de confirmer l'existence d'une perte neuronale au cours de ce processus et d'analyser les conséquences de son inhibition.

### **Facteurs génétiques de vulnérabilité**

Parallèlement au rôle des gènes directement impliqués dans les mécanismes d'apoptose, il semble que certains facteurs génétiques puissent favoriser la mort prématurée des neurones. Ceci est particulièrement vrai dans les modèles de vieillissement dit « normal ». Un modèle intéressant est apparu avec l'étude de la souris hétérozygote pour la mutation *staggerer*. A l'état homozygote, cette mutation induit la perte de 75% des cellules de Purkinje, ainsi qu'une perte secondaire importante de leurs afférences, constituées des grains et des neurones olivaires. Cette neurodégénérescence massive localisée dans le cervelet a pour conséquence une ataxie. Cependant, à l'état hétérozygote, aucune perte neuronale massive n'est *a priori* détectée et les souris ne présentent pas de déficit comportemental évident. L'étude plus détaillée du cervelet de ces souris révèle néanmoins une perte neuronale progressive liée au vieillissement. A l'âge de deux mois, le nombre des neurones cérébelleux (dont les cellules de Purkinje) est identique chez les souris sauvages et chez les souris hétérozygotes *staggerer*. En revanche, le nombre de cellules de

Purkinje diminue ensuite progressivement chez les hétérozygotes, le déficit atteignant 25% à l'âge de 12 mois pour rester stable jusqu'à l'âge de 24 mois. Cette perte correspond à celle observée chez des souris sauvages entre 18 et 24 mois, indiquant que la mutation *staggerer* à l'état hétérozygote peut être considérée comme un modèle de vieillissement normal « accéléré » [17]. La dégénérescence des cellules de Purkinje est accompagnée d'une perte de 40% des neurones olivaires et de 35% des grains chez les souris hétérozygotes âgées d'un an. Ces résultats suggèrent que la durée de vie des neurones peut être influencée par des allèles présents à l'état hétérozygote dans le génome. Un allèle particulier est donc susceptible d'augmenter la vulnérabilité de certaines populations neuronales pendant le processus de vieillissement. Au sein d'une population donnée de neurones, le processus de mort est décalé dans le temps, soulignant bien l'hétérogénéité des cellules en présence. Ainsi, la disparition d'un quart des cellules de Purkinje chez l'hétérozygote *staggerer* mâle s'étend entre le deuxième et le 12<sup>e</sup> mois, correspondant à la disparition journalière d'un très faible nombre de cellules. De même chez les souris portant la mutation *Lurcher*, l'expression de l'allèle muté induit une dépolarisation permanente des cellules de Purkinje et leur dégénérescence quasi totale à partir du dixième jour post-

natal. Cependant, cette mort neuronale s'étend sur une période d'au moins trois semaines. Ces deux exemples illustrent le fait qu'au sein d'une même population neuronale toutes les cellules n'ont pas la même vulnérabilité. Ce phénomène pourrait être de nature stochastique, indiquant simplement que les neurones n'atteignent pas tous un même seuil induisant la dégénérescence au même moment. Une deuxième hypothèse pourrait être l'existence d'une hétérogénéité dans l'expression de certains gènes au sein même de la population des cellules de Purkinje. Cette hétérogénéité a déjà été mise en évidence concernant l'expression de plusieurs protéines telles que la zébrine, et pourrait influencer la vulnérabilité des neurones face à un stimulus de mort.

La durée de vie d'un neurone est donc réglée par de nombreux facteurs. L'étude de cette régulation devrait permettre de trouver des cibles thérapeutiques, mais également d'apporter de nouveaux modèles d'étude du développement et du vieillissement du système nerveux. Ces études soulignent également l'importance du temps à plusieurs niveaux. A l'échelle cellulaire, le temps écoulé entre la mort d'un neurone et le stimulus initial peut varier en fonction de multiples paramètres, tels que la nature du stimulus, la catégorie neuronale, etc. On peut très schématiquement considérer que cet intervalle de temps comprend une période de latence ou de « souffrance neuronale » qui précède le déclenchement du programme de mort proprement dit. A l'échelle d'une population neuronale, la durée du processus thanatogène varie également. La disparition d'une population neuronale dépend ainsi de l'hétérogénéité des neurones présents au sein de cette population, et peut varier de quelques jours dans le cas d'une atteinte aiguë, à plusieurs années dans le cas de maladies neurodégénératives chroniques ou lors du vieillissement normal. Dans plusieurs maladies neurologiques, les signes cliniques n'apparaissent que lorsqu'un nombre suffisant de neurones a déjà disparu : cette date d'apparition, parfois tardive, est donc conditionnée par les multiples facteurs modulant le temps de vie de chaque neurone ■

## RÉFÉRENCES

1. Haydar TF, Kuan C, Flavell R, Rakic P. The role of cell death in regulating the size and shape of the mammalian forebrain. *Cereb Cortex* 1999; 9: 621-6.
2. Zanjani HS, Mariani J, Delhaye-Bouchaud N, Herrup K. Neuronal cell loss in heterozygous *staggerer* mutant mice: a model for genetic contributions to the aging process. *Dev Brain Res* 1992; 67: 153-60.
3. Green D, Kroemer G. The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria? *Trends in Cell Biol* 1998; 8: 267-71.
4. Reed JC. Bcl-2 family proteins. *Oncogene* 1998; 17: 3225-36.
5. Martinou JC, Dubois-Dauphin M, Staple JK, et al. Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia. *Neuron* 1994; 13: 1017-30.
6. Martinou JC. La mort cellulaire programmée dans le système nerveux. *Med Sci* 1995; 11: 367-373.
7. Zanjani HS, Vogel MW, Delhaye-Bouchaud N, Martinou JC, Mariani J. Increased cerebellar Purkinje cell numbers in mice overexpressing a human *Bcl-2* Transgene. *J Comp Neurol* 1996; 374: 332-41.
8. Zanjani HS, Vogel MW, Delhaye-Bouchaud N, Martinou JC, Mariani J. Increased inferior olivary neuron and cerebellar granule cell numbers in transgenic mice overexpressing the human *Bcl-2* gene. *J Neurobiol* 1997; 32: 502-16.
9. Deckwerth TL, Elliott JL, Knudson CM, Johnson EM, Snider WD, Korsmeyer SJ. Bax is required for neuronal death after trophic deprivation and during development. *Neuron* 1996; 17: 401-11.
10. Motoyama N, Wang F, Roth KA, et al. Massive cell death of immature hematopoietic cells and neurons in Bcl-x-deficient mice. *Science* 1995; 267: 1506-10.
11. Riccio A, Ahn S, Davenport CM, Blendy JA, Ginty DD. Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons. *Science* 1999; 286: 2358-61.
12. Dubois-Dauphin M, Frankowski H, Tsujimoto Y, Huarte Y, Martinou JC. Neonatal motoneurons overexpressing the *bcl-2* proto-oncogene in transgenic mice are protected from axotomy-induced cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3309-13.
13. Zanjani, H, Rondi-Reig L, Vogel M, Martinou JC, Delhaye-Bouchaud N, Mariani J. Overexpression of a *Hu-bcl-2* transgene in *Lurcher* mutant mice delays Purkinje cell death. *C R Acad Sci (Paris)* 1998; 321: 633-40.
14. Kostic V, Jackson-Lewis V, De Bilbao F, Dubois-Dauphin M, Przedborski S. Bcl-2: Prolonging life in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 1997; 277: 559-62.
15. Rondi-Reig L, Lemaigre-Dubreuil Y, Martinou JC, Delhaye-Bouchaud N, Caston J, Mariani J. Fear decrease in transgenic mice overexpressing *bcl-2* in neurons. *Neuroreport* 1997; 8: 2429-32.
16. Rondi-Reig L, Lohof A, Lemaigre-Dubreuil Y, et al. Hu-Bcl-2 transgenic mice with supernumerary neurons exhibit timing impairment in a complex motor task. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 2285-90.
17. Hadj-Sahraoui N, Frederic F, Zanjani H, Herrup K, Delhaye-Bouchaud N, Mariani J. Purkinje cell loss in heterozygous *staggerer* mutant mice during aging. *Dev Brain Res* 1997; 98: 1-8.

## MS2000

## Summary

## A neuron's epitaph

The integrity of the central nervous system requires controlling the neuron life span. During embryonic life, neurons are produced in large quantities, but this number is reduced to allow the formation of a functional adult brain. Neuronal cell loss can also occur in neurodegenerative diseases as well as during normal aging process. In this paper, we will review the genetic factors that influence neuronal survival. The expression of the Bcl-2 family of proteins is directly involved in the regulation of neuronal development and the evolution of neuronal diseases.