

Signaux axonaux et myélinogenèse dans le système nerveux central

Catherine Lubetzki
Corinne Demerens
Bernard Zalc

Les oligodendrocytes dans le système nerveux central et les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique ont la capacité de synthétiser de grandes quantités de membrane qui s'enroulent autour des axones pour former la gaine de myéline. Dans le système nerveux périphérique, les signaux axonaux sont indispensables à toutes les étapes de la myélinisation. En revanche, il était généralement admis que le développement oligodendrogial était indépendant des neurones. Des résultats récents remettent en cause cette notion : tôt au cours du développement embryonnaire, les neurones pourraient induire la genèse des précurseurs d'oligodendrocytes. Plus tardivement, l'activité électrique neuronale influe sur la prolifération et la survie des progéniteurs d'oligodendrocytes. Au moment de la myélinisation, il semble exister des signaux axonaux permettant à un prolongement oligodendrocytaire de reconnaître spécifiquement un axone d'une dendrite. Enfin, l'induction du processus de myélinisation dépendrait de l'activité électrique neuronale. L'ensemble de ces résultats permet d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques dans les maladies démyélinisantes, notamment la sclérose en plaques.

La myéline est synthétisée par les oligodendrocytes dans le système nerveux central et par les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique. Leur propriété commune est leur capacité de synthétiser une énorme quantité de membrane qui s'enroule autour des axones et forme, après compactage, la gaine de myéline. L'enchaînement de ces événements, ou myélinisation, est ainsi à l'origine d'une interaction extraordinairement étroite entre les cellules

myélinisantes et les neurones. Il n'est donc pas surprenant que toute atteinte de l'un des deux partenaires se traduise par une souffrance dramatique de l'autre. Mais avant d'en arriver à ces situations de rupture, on conçoit facilement, du fait de cette relation structurale très étroite, que neurones et cellules myélinisantes échangent, au cours du développement, des signaux qui permettent l'établissement de ces interactions. En l'état actuel de nos connaissances, l'influence neuronale sur les cellules

ADRESSE

C. Lubetzki: *professeur des universités, praticien hospitalier*. C. Demerens: *étudiante en thèse*. B. Zalc: *directeur de recherche à l'Inserm*. Laboratoire de neurobiologie cellulaire, moléculaire et clinique, Inserm U. 134, hôpital de la Salpêtrière, 75651, Paris Cedex 13, France.

myélinisantes semble, de prime abord, bien différente dans le système nerveux périphérique et dans le système nerveux central. Dans le système nerveux périphérique, les signaux axonaux sont indispensables à toutes les étapes qui conduisent, au cours du développement, un précurseur de cellule de Schwann à se différencier en cellule de Schwann myélinisante. Par exemple, il a été démontré qu'en l'absence de neurone, une cellule précurseur de cellule de Schwann ne peut proliférer, survivre et se différencier. Il a de même été clairement établi que ce sont des signaux d'origine axonale qui permettent à une cellule de Schwann de s'enrouler autour de l'axone pour former une gaine de myéline [1].

Curieusement, dans le système nerveux central, la myélinogénèse semble beaucoup moins dépendante de l'axone. Les cellules progénitrices d'oligodendrocytes peuvent proliférer, survivre et se différencier en oligodendrocytes, quand elles sont cultivées en l'absence de neurones. Ces oligodendrocytes nouvellement différenciés peuvent alors synthétiser tous les constituants spécifiques de la myéline, toujours en l'absence de neurones. Les oligodendrocytes matures peuvent même former, à l'extrémité de leurs prolongements, de grandes extensions membranaires, comparables à de la myéline déroulée, qui parfois s'enroulent sur elles-mêmes ou, si on leur en donne la possibilité, adhèrent à des fibres de carbone ou de verre, pour former des structures pseudo-myéliniques. On a alors émis l'hypothèse d'un programme de développement indépendant du neurone, intrinsèque à l'oligodendrocyte. Des résultats récents suggèrent néanmoins que des signaux axonaux joueraient un rôle crucial sur plusieurs de ces étapes. La nature et le mécanisme d'action de ces signaux ne sont pas complètement connus mais leur analyse suscite un intérêt croissant pour l'étude physiopathologique et thérapeutique des maladies démyélinisantes humaines comme la sclérose en plaques. Nous aborderons successivement les stades du développement oligodendrogial et l'influence des signaux d'origine neuronale sur ces différentes étapes. Les mécanismes d'action de ces signaux axonaux, hypothétiques pour la plupart, seront ensuite envisagés.

Le développement des cellules de la lignée oligodendrogiale

Par analogie avec le système hématopoïétique, on peut distinguer trois grandes étapes de différenciation dans le lignage oligodendrogial: le stade précurseur, celui de progéniteur, et enfin l'oligodendrocyte. Un certain nombre d'étapes de maturation conduisent ensuite l'oligodendrocyte nouvellement différencié à se transformer en cellule myélinisante. Chaque stade de différenciation ou de maturation est défini par des modifications morphologiques et par l'apparition (ou la disparition) de marqueurs spécifiques permettant ainsi d'identifier chaque type cellulaire (figure 1).

Le précurseur d'oligodendrocyte

Les caractéristiques du précurseur d'oligodendrocyte sont encore peu connues et sont la source de controverses. L'absence de marqueurs bien établis permettant de repérer spécifiquement cette cellule tant en culture qu'*in vivo* dans le neuroépithélium germinatif*, explique l'absence d'arguments précis permettant de localiser, topographiquement et dans le temps, l'émergence des précurseurs d'oligodendrocytes. Certains des marqueurs proposés, comme la nestine, ou la forme polysialylée de la N-CAM (*neural cell adhesion molecule*), sont communs à d'autres types cellulaires et, de ce fait, peu opérationnels. D'autres, comme le récepteur du PDGF α [2], ou la DM-20 [3] ne font pas encore l'unanimité (figure 1).

Au cours du développement embryonnaire, ces précurseurs migrent hors de l'épithélium germinatif vers la zone sous-ventriculaire** [4], puis poursuivent leur migration pour se positionner le long des grands trajets de fibres. C'est au cours de ces migrations, dès la

zone sous-ventriculaire, que s'opère la transition vers le stade progéniteur.

Le progéniteur d'oligodendrocyte

On peut, arbitrairement, définir que le stade de cellule progénitrice est atteint lorsque ces cellules sont positionnées dans la couche sous-ventriculaire. Le progéniteur d'oligodendrocyte est identifié par sa morphologie bipolaire, ainsi que par la synthèse d'antigènes de la famille des gangliosides (GD3, et ceux reconnus par l'anticorps monoclonal A2B5) et d'un protéoglycan reconnu par l'anticorps NG2 (figures 1 et 2A). Comme l'ont montré les études *in vitro**** et les expériences de greffes intracérébrales, le progéniteur prolifère activement et possède des propriétés migratoires. Au cours de cette migration le long des trajets de fibres qui constitueront les futurs faisceaux de substance blanche, le progéniteur se transforme en préoligodendrocyte (figures 1 et 2B), cellule plus arborisée, à la morphologie étoilée, qui garde la capacité de se diviser. L'anticorps O4, qui reconnaît le sulfatide et un autre antigène encore mal défini, marque le stade préoligodendrocyte.

L'oligodendrocyte différencié

Le préoligodendrocyte se transforme ensuite en oligodendrocyte immature (figures 1 et 2C). Cette étape est caractérisée par l'apparition du marqueur galactosylcéramide (GalC), lipide majoritaire de la myéline et de l'oligodendrocyte [5], ainsi que par la synthèse d'une autre protéine myélinique: la (2'-3')-cyclique-nucléotide phosphodiesterase (CNP) [8]. L'oligodendrocyte immature est richement arborisé et a perdu la capacité de se diviser.

La maturation oligodendrogiale

Après cette étape de différenciation suivent plusieurs étapes de maturation. D'oligodendrocyte immature, la cellule se transforme en oligodendrocyte mature non myélinisant, cellule très richement arborisée, avec des ramifications primaires, secondaires et tertiaires (figures 1 et 2D). Ce stade de maturation est caractérisé par l'apparition de nouveaux antigènes myéliniques comme la protéine basique de la myéline (MBP), la pro-

* L'épithélium germinatif est formé par la couche cellulaire adjacente à la lumière du tube neural. Cet épithélium est également appelé zone ventriculaire, puis, plus tardivement, épendyme.

** La zone sous-ventriculaire est formée par la couche cellulaire située entre l'épithélium germinatif, en dedans, et la zone intermédiaire, en dehors.

*** Il existe aujourd'hui plusieurs sens donnés aux termes *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo*. Dans cet article, l'auteur réserve le terme de *in vivo* aux études portant sur l'organisme entier; *in vitro*, sur celles réalisées en cultures cellulaires; et, *ex vivo*, aux études portant sur des cellules extraites mais non cultivées.

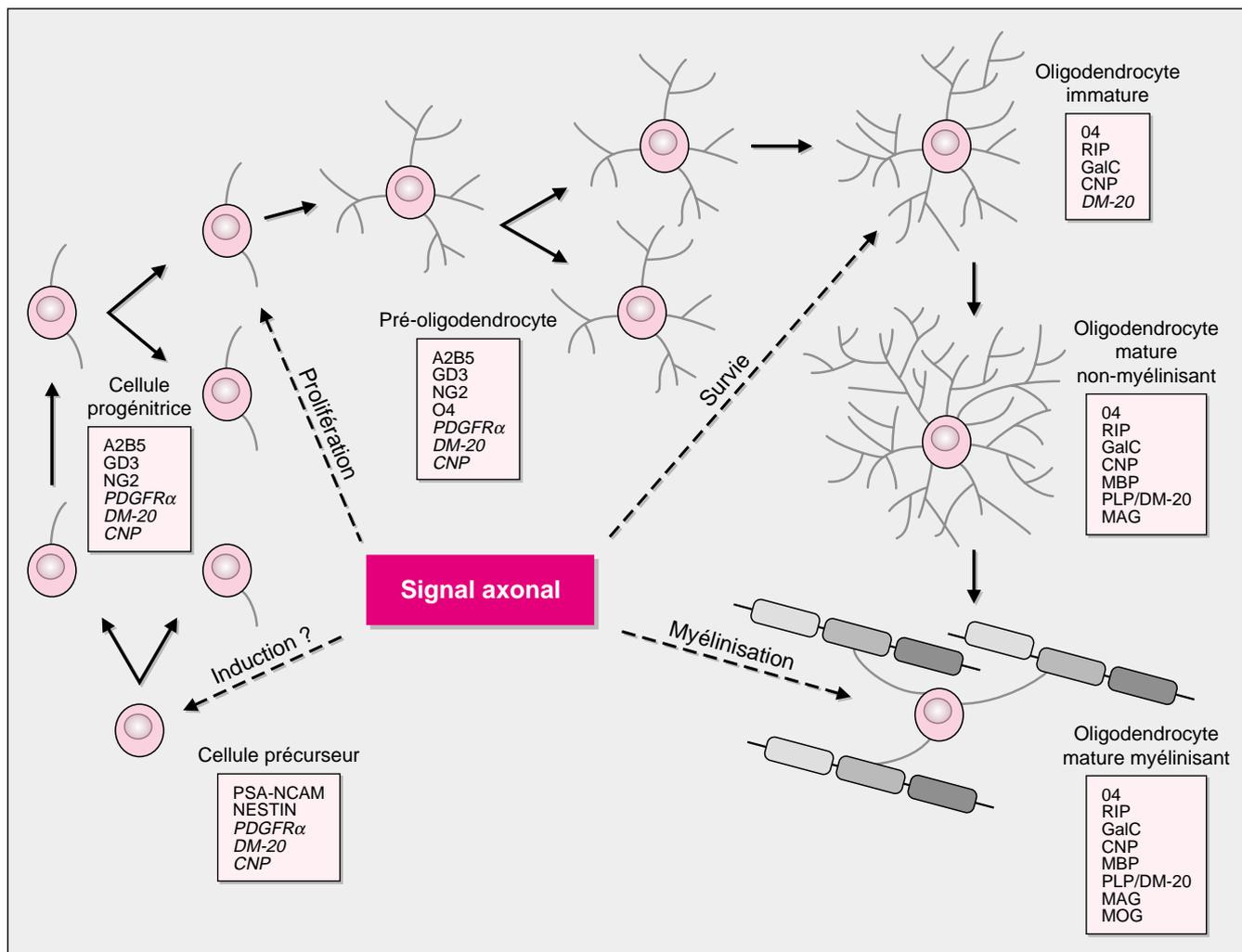


Figure 1. **Représentation schématique du lignage oligodendrocytaire, montrant les sites d'action des signaux neuronaux ou axonaux.** Au cours de la différenciation du lignage oligodendrocytaire, la cellule précurseur devient successivement progénitrice, préoligodendrocyte puis oligodendrocyte immature, cellule postmitotique. Suit la période de maturation avec apparition de l'oligodendrocyte mature non myélinisant puis enfin myélinisant. Chacune de ces étapes se caractérise par des modifications morphologiques et la synthèse de marqueurs indiqués dans les cartouches. Pour certains de ces marqueurs (notés en italique) seul l'ARNm, et non la protéine correspondante, a été détecté. PDGFR: platelet-derived growth factor receptor, CNP: (2'-3')-cyclique-nucléotide phosphodiesterase; GalC: galactosylcéramide; MBP: protéine basique de la myéline; MAG: glycoprotéine associée à la myéline; PLP: protéolipide protéine; MOG: myelin/oligodendrocyte protein. NCAM: neural-cell adhesion molecule. A2B5, GD3, NG2, O4, RIP: anticorps monoclonaux.

téolipide protéine (PLP), la glycoprotéine associée à la myéline (MAG), qui ne seront pas détaillés dans cette revue. Leur apparition se fait de façon séquentielle au cours du développement, comme l'ont montré les études *in vitro* [6] et *ex vivo**** [7]. L'apparition de la MOG (*myelin/oligodendrocyte glycoprotein*) indique la fin de la maturation oligodendrogliale et l'engagement de la cellule dans la voie de la myélinisation [8]. L'étape ultérieure est l'élaboration des gaines de myéline par enroulement des prom-

longements oligodendrogliaux autour de l'axone (figures 1, 3C et 4).

Le rôle des signaux axonaux sur le développement oligodendrocytaire

Les différentes étapes de la différenciation et de la maturation des cellules de la lignée oligodendrogliale ont été observées dans des cultures primaires dépourvues de neurone [9, 10]. Comment concilier cette indépendance de

développement et l'étroite relation structurale entre les deux types cellulaires? Le neurone n'aurait-il pas de rôle à jouer dans le développement de son partenaire le plus proche? En fait, l'examen attentif des conditions expérimentales ayant conduit à proposer l'existence d'un programme intrinsèque de développement du lignage oligodendrocytaire montre qu'il s'agit d'une indépendance toute relative. Ainsi, toutes les expériences *in vitro* sur lesquelles repose cette hypothèse ont été réalisées, pour les

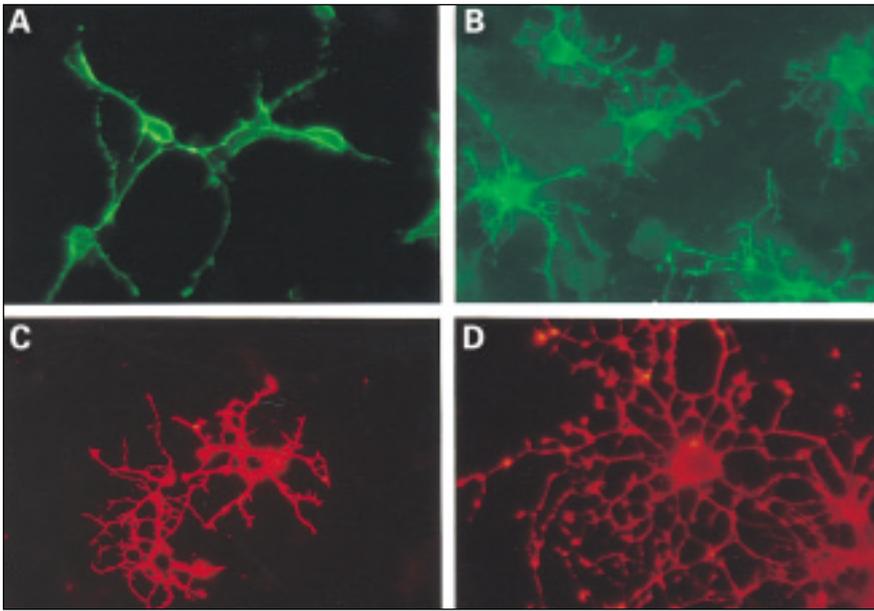


Figure 2. **Les différents stades de différenciation du lignage oligodendrocytaire peuvent s'observer en culture.** **A.** Progéniteurs d'oligodendrocytes marqués par immunofluorescence indirecte avec l'anticorps monoclonal A2B5. Noter la morphologie globalement bipolaire de ces cellules. **B.** Préoligodendrocytes caractérisés par leur morphologie plus arborisée et la synthèse du marqueur reconnu par l'anticorps monoclonal O4. **C.** Oligodendrocytes immatures. Ce stade signe la sortie du cycle mitotique et se caractérise par une riche arborisation et la synthèse du galactosylcéramide, détecté par immunofluorescence à l'aide d'un anticorps spécifique. **D.** Oligodendrocyte mature non myélinisant, coloré par un anticorps anti-MBP (protéine basique de la myéline). Cette cellule se caractérise par sa très riche arborisation permettant de reconnaître des prolongements primaires, secondaires et tertiaires.

plus démonstratives, dans des milieux de culture définis, mais systématiquement supplémentés en différents facteurs de croissance. Or, on sait maintenant que ces facteurs de croissance, indispensables à la survie et à la prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes sont produits, *in vitro* et *in vivo*, par les neurones et/ou les astrocytes, qui règlent ainsi le développement des cellules de la lignée oligodendrogliale. Nous analyserons dans cette revue l'influence neuronale sur le développement oligodendroglial et tenterons d'illustrer quand et comment, tout au long des processus de différenciation, de maturation et de myélinisation, interviennent ces signaux neuronaux.

Rôle des neurones dans l'induction des précurseurs d'oligodendrocytes

Les mécanismes d'induction du précurseur d'oligodendrocyte à partir des cellules du neuroépithélium germinatif sont encore peu connus. Un bon

nombre d'arguments plaide pour une origine majoritairement ventrale de ce lignage [11] conduisant à proposer une induction par la notochorde et la plaque du plancher [12, 13]. Cependant, l'existence de foyers dorsaux de précurseurs d'oligodendrocytes dans la moelle épinière cervicale [14] (Thomas *et al.*, en préparation), donc à distance de la notochorde, et le fait que la production des précurseurs d'oligodendrocytes soit postérieure à celle des neurones, permettent d'envisager l'existence d'un facteur inducteur d'origine neuronale. Cette induction neuronale n'est encore qu'hypothétique, mais elle constituerait, chronologiquement, la toute première interaction entre neurone et oligodendrocyte.

Signal axonal et prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes

Les progéniteurs d'oligodendrocytes et les préoligodendrocytes ont la capacité de se diviser, mais cette pro-

lifération est sous la dépendance de signaux provenant d'autres types cellulaires. Ainsi, en culture mono-cellulaire sans facteur de croissance, un progéniteur d'oligodendrocyte cesse de se diviser et se différencie en oligodendrocyte [9].

L'effet mitogène des neurones des ganglions spinaux sur les cultures de progéniteurs d'oligodendrocytes est connu depuis plusieurs années [15]. *In vivo*, Barres et Raff [16] ont montré que, dans le nerf optique, la prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes dépend de l'activité électrique des cellules ganglionnaires de la rétine. Très récemment, des expériences utilisant une lignée de souris transgéniques exprimant le gène *Bcl2* sous le contrôle du promoteur du gène de la NSE (*neuron specific enolase*), ont apporté une démonstration supplémentaire *in vivo* du rôle des signaux axonaux dans la régulation du nombre d'oligodendrocytes au cours du développement [17].

Signal axonal et survie des oligodendrocytes

L'apoptose oligodendrogliale a été décrite dans le nerf optique, au cours du développement [18], où elle peut atteindre 50 % des oligodendrocytes nouvellement produits. Elle pourrait permettre, dans une optique finaliste, d'adapter le nombre d'oligodendrocytes au nombre d'axones à myéliniser. Des résultats *in vitro* et *in vivo* indiquent que cette apoptose résulterait de signaux dépendants d'autres types cellulaires.

Ainsi, *in vitro*, les progéniteurs d'oligodendrocytes et les oligodendrocytes meurent rapidement par apoptose s'ils sont cultivés en l'absence de facteurs de croissance et/ou d'autres types cellulaires, astrocytes ou neurones. *In vivo*, dans les lignées de souris transgéniques exprimant le gène *Bcl2* sous le contrôle du promoteur de la protéine NSE, l'augmentation du nombre de neurones entraîne une augmentation du nombre d'oligodendrocytes, liée à la fois à une augmentation de la prolifération et à une diminution de l'apoptose [17].

L'apoptose oligodendrogliale a aussi été décrite dans des conditions pathologiques de rupture axonale, où elle peut toucher des oligoden-

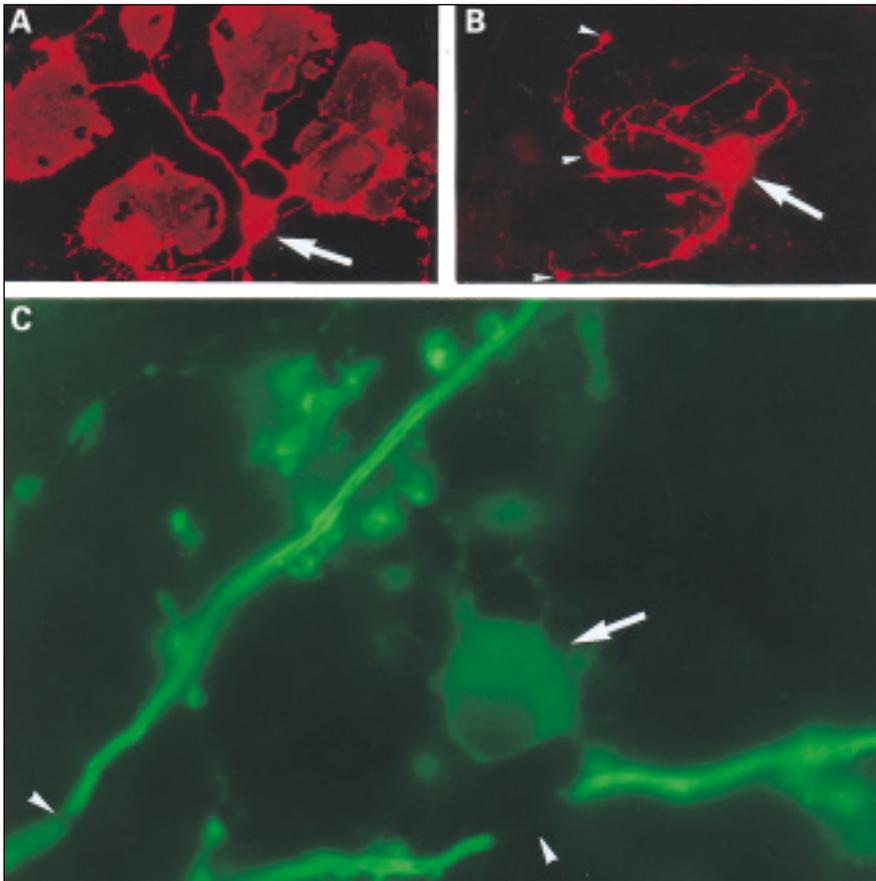


Figure 3. **Oligodendrocytes pseudo-myélinisants et myélinisants.** **A.** Dans des cultures pratiquement pures d'oligodendrocytes, totalement dépourvues de neurones, la maturation peut se poursuivre jusqu'au stade de cellule pseudo-myélinisante. Cette cellule est caractérisée par la synthèse de MBP (protéine basique de la myéline) (illustrée ici par immunofluorescence indirecte), l'appauvrissement de l'arborisation (perte de tous les prolongements tertiaires et de la majorité des prolongements secondaires et primaires) et l'apparition à l'extrémité des prolongements restants de grandes extensions membranaires évocatrices de membranes myéliniques déroulées **B.** Souvent, ces membranes se replient sur elles-mêmes pour former à l'extrémité des prolongements des « boules » de pseudo-myéline (têtes de flèche). **C.** Dans des co-cultures de neurones et d'oligodendrocytes, les prolongements oligodendrogliaux viennent s'enrouler autour des axones pour former une gaine de myéline, caractérisée par son apparence en double contour après immunomarquage avec un anticorps anti-MBP. Les têtes de flèche indiquent l'emplacement de nœuds de Ranvier. Le corps cellulaire de l'oligodendrocyte myélinisant est moins visible car il n'est pas situé dans le même plan de mise au point que les fibres myélinisées. Les flèches pointent les corps cellulaires des oligodendrocytes.

drocytes différenciés. Ainsi, la section postnatale du nerf optique, réalisée plusieurs jours après l'apparition dans le nerf des premiers oligodendrocytes différenciés, entraîne une augmentation considérable de l'apoptose oligodendrogliale, les astrocytes étant épargnés. L'ensemble de ces résultats suggère

que l'apoptose oligodendrogliale serait réglée, au moins partiellement, par des signaux d'origine neuronale. On peut ainsi envisager l'existence d'un programme suicide intrinsèque de l'oligodendrocyte qui tuerait la cellule « par défaut » lorsqu'elle n'a pas pu contacter un axone non myélinisé lui donnant un signal de survie

[10, 18] ou, dans des circonstances pathologiques, lorsqu'elle est privée du contact avec l'axone. Néanmoins, ces résultats n'ont été montrés que dans le nerf optique, dans lequel le rapport oligodendrocytes/axones myélinisés est d'environ 1/50. Il reste à savoir si ces données peuvent être extrapolées à d'autres structures, et notamment à la moelle épinière, où ce rapport est proche de 1/1. Par son rôle-clé sur les deux étapes de prolifération et de survie des cellules de la lignée oligodendrogliale, le neurone apparaît donc comme le régulateur majeur du nombre d'oligodendrocytes.

Signal axonal et myélinisation

La myélinisation comporte plusieurs étapes: (1) mise en contact du prolongement de l'oligodendrocyte et de l'axone, ce qui implique une reconnaissance préalable de l'axone par l'oligodendrocyte; (2) mise en route de la myélinisation avec enroulement des prolongements oligodendrogliaux autour de l'axone; (3) augmentation de la synthèse des protéines myéliniques permettant l'élaboration des gaines de myéline; (4) compactage des prolongements enroulés, aboutissant à la structure très dense de la gaine de myéline; (5) enfin, arrêt de la myélinisation après un certain nombre d'enroulements, ce qui détermine l'épaisseur de la gaine de myéline, qui varie en fonction du diamètre axonal (figure 4). Que sait-on du rôle des interactions neuro-gliales à ces différentes étapes? L'utilisation d'un système *in vitro* de myélinisation, à partir de co-cultures d'oligodendrocytes et de neurones centraux (figure 3C), s'est avérée très instructive dans l'étude de ces interactions. Plusieurs signaux de myélinisation ont pu ainsi être mis en évidence:

- *Un signal de reconnaissance axonal*
Comment se fait-il que, *in vivo*, seuls les axones soient myélinisés? Au cours du développement, les oligodendrocytes peuvent se trouver placés le long des trajets axonaux et absents du voisinage des dendrites. Dans une boîte de culture, cet argument « topographique » n'intervient pas, les neurones et les oligodendrocytes étant distribués au hasard. Or

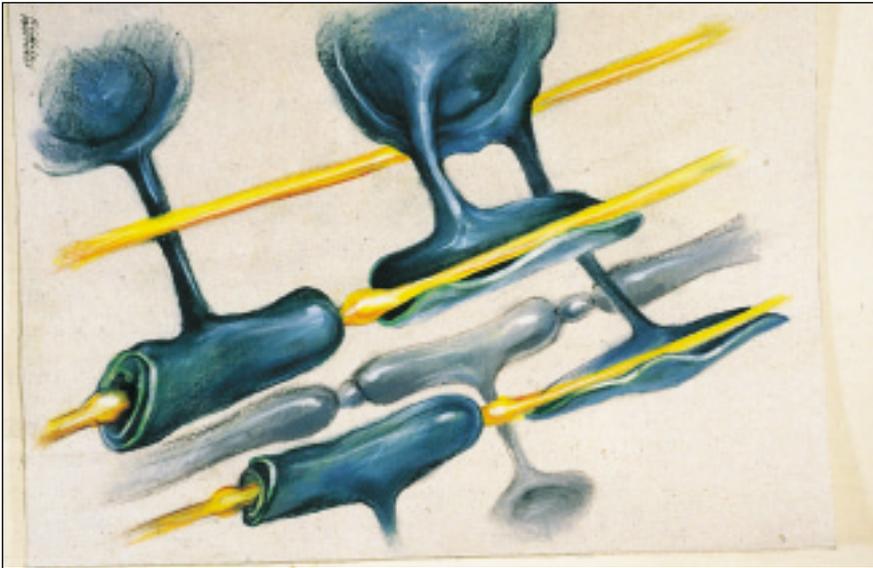


Figure 4. **Représentation « artistique » des étapes initiales de la myélinisation.** Les oligodendrocytes et leurs prolongements apparaissent en bleu et les axones en jaune. Après une première étape de reconnaissance (à droite de la figure), les prolongements oligodendrocytaires s'enroulent autour des axones pour former une myéline lâche (à gauche de la figure), qui se compacte ultérieurement.

nous avons montré que dans des cultures neurones/oligodendrocytes, seuls les axones sont myélinisés, et jamais les dendrites. Ces observations suggèrent qu'il ne s'agirait pas d'un enroulement « au hasard » des prolongements oligodendrogliaux autour de la fibre neuritique la plus proche mais d'un « choix » par l'oligodendrocyte entre différents prolongements, comme s'il existait un signal de reconnaissance spécifiquement axonal informant l'oligodendrocyte de la nature de la fibre à myéliniser [19].

- *Un signal de compactage de la myéline*
Le rôle du neurone dans le compactage a été suggéré par l'étude des formations pseudo-myéliniques élaborées par les oligodendrocytes en l'absence de neurones. En effet, dans des cultures purement oligodendrogliales, l'oligodendrocyte non myélinisant peut se transformer en oligodendrocyte pseudo-myélinisant caractérisé par une réduction considérable de son arborisation : les prolongements secondaires et tertiaires disparaissent pour ne laisser que quelques prolongements primaires épais. Au bout de ces prolongements apparaissent deux types de forma-

tions : des structures étalées, en « feuille d'arbre », qui pourraient être comparées à une myéline déroulée ou non enroulée (figure 3A), ou des structures rondes, en « boule » (figure 3B). En microscopie électronique, ces structures en boules correspondent à des empilements de membranes oligodendrogliales, sans enroulement de type myélinique ni compactage [19]. Ces prolongements peuvent adhérer à des fibres de verre ou de carbone, mais, là encore, sans aboutir à une structure compactée [20]. Il en est de même des structures pseudo-myéliniques observées *in vivo* dans le nerf optique après dégénérescence wallérienne après axotomie.

- *Signal axonal et synthèse des protéines myéliniques*
In vitro, en l'absence de neurones, on détecte, dans les oligodendrocytes, des concentrations significatives de transcrits myéliniques [21], dont l'expression apparaît selon la même séquence temporelle qu'*in vivo* [7]. L'axone semble en revanche indispensable, au moment de la myélinisation, pour permettre à l'oligodendrocyte d'augmenter considérablement son activité de synthèse. Au cours de

la myélinisation, un corps cellulaire d'oligodendrocyte doit en effet produire jusqu'à 50 fois son propre poids sous forme de membrane myélinique [22].

L'influence des neurones sur la synthèse des protéines myéliniques a initialement été suggérée en montrant que, comparées à des cultures oligodendrogliales très purifiées, les concentrations de transcrits codant pour deux protéines myéliniques majoritaires, la *myelin basic protein* (MBP) et la protéolipide-protéine (PLP) sont significativement augmentées quand les oligodendrocytes sont cultivés en présence de neurones [23].

En outre, le signal axonal semble nécessaire au maintien d'une concentration constante de protéines myéliniques. Ces résultats découlent d'études sur les concentrations de transcrits codant pour les protéines majoritaires de la myéline lors d'une section du nerf optique. Cette rupture axonale entraîne en effet une chute nette des concentrations d'ARNm codant pour les PLP, MBP, *myelin-associated glycoprotein* (MAG) et *cyclic-nucleotide-phospho-hydrolase* (CNPase) ; cette chute est observée dès le troisième jour après l'axotomie, chez des animaux jeunes, peu de temps après le début de la myélinisation, mais aussi chez des animaux de plus de trois mois et donc bien après la fin du processus de myélinisation [24].

Mécanismes d'action des signaux neuronaux

Prolifération et survie des cellules de la lignée oligodendrogliale

Deux types de facteurs semblent impliqués dans la prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes : d'une part, des facteurs liés à la membrane axonale, conférant une activité mitogène à des extraits de membrane axonale [25], d'autre part, des facteurs de croissance sécrétés [26] (Tableau 1). Trois facteurs peptidiques sont connus pour stimuler la division des progéniteurs d'oligodendrocytes : le *platelet derived growth factor* (PDGF), le *basic fibroblast growth factor* (bFGF), la neurotrophine 3 (NT3) [27]. Enfin, le GGF (*glial growth factor*) qui a un rôle

Tableau I

EFFETS DE DIFFÉRENTS FACTEURS DE CROISSANCE SUR LA PROLIFÉRATION ET LA SURVIE DES CELLULES DU LIGNAGE OLIGODENDROCYTAIRE

	b-FGF	PDGF	NT3	GGF	IGF-1	CNTF	LIF	IL-6
Prolifération	+	+	+	+	-	-	-	-
Survie	-	+	+	+	+	+	+	+

démontré dans la prolifération et la survie des cellules de Schwann, aurait le même effet sur les progéniteurs d'oligodendrocytes [28].

Le rôle des neurones dans la survie des cellules de la lignée oligodendrogliale semble relayé par des facteurs de croissance (Tableau I). Certains de ces facteurs sont identiques à ceux conférant des propriétés mitogènes: c'est le cas du PDGF, de la NT3 et du GGF. D'autres facteurs ne semblent avoir qu'un effet anti-apoptotique, sans effet sur la prolifération. Ce sont l'IGF-1, le CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) et les facteurs apparentés LIF (*leukemia inhibiting factor*) et IL-6 (interleukine-6). L'effet de ces facteurs de croissance sur la survie à long terme apparaît additif [27]. Initialement mis en évidence *in vitro*, il a été confirmé, pour certains d'entre eux *in vivo*. L'administration de PDGF, d'IGF-1 ou de CNTF diminue d'environ 80 % l'apoptose oligodendrogliale au cours du développement. Quant à l'apoptose après axotomie, elle peut être prévenue par l'apport de CNTF et d'IGF-1, mais pas de PDGF. Le facteur PDGF n'aurait peut être qu'un effet transitoire sur la survie des oligodendrocytes nouvellement différenciés en quête d'axones à myéliniser, mais il serait opérant sur les cellules plus matures.

Pour agir sur la prolifération ou sur la survie des progéniteurs d'oligodendrocytes, il faut envisager que ces facteurs, produits par le neurone, puissent être sécrétés par les axones le long desquels se positionnent les progéniteurs. Chez l'adulte, les phénomènes de neurosécrétion sont restreints aux terminaisons synaptiques; une sécrétion axonale a cependant été décrite au cours du développement [29]. En outre, il a été montré que la prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes dépend de l'acti-

tivité électrique neuronale [16] et que la sécrétion de certains facteurs neurotrophiques neuronaux (NGF, BDNF) dépend aussi, pour une part, de l'activité électrique neuronale [30]. On peut donc imaginer le scénario suivant: les progéniteurs d'oligodendrocytes, produits à partir de précurseurs localisés dans l'assise germinative, migrent et se positionnent le long des grands faisceaux axonaux. L'établissement de l'activité électrique neuronale provoquerait la libération, le long des axones, des facteurs mitogènes agissant sur les progéniteurs d'oligodendrocytes. Pour séduisant qu'il soit, ce schéma reste hypothétique et il est possible que l'effet mitogène des neurones soit indirect. En effet, tous les facteurs de croissance impliqués dans la prolifération et dans la survie des oligodendrocytes ont aussi été décrits dans les astrocytes en culture, et leurs effets reproduits par des milieux conditionnés d'astrocytes. L'existence d'une production astrocytaire de ces facteurs de croissance n'a pas été démontrée *in vivo*, dans des conditions normales, mais quelques résultats suggèrent la possibilité d'une synthèse astrocytaire dans certaines conditions pathologiques. Cela conduit à proposer un effet de l'activité neuronale sur la prolifération des progéniteurs d'oligodendrocytes, indirect et relayé par une sécrétion astrocytaire [27]. La question de la nature du signal échangé entre les neurones électriquement actifs et les astrocytes voisins reste entière.

Myélinisation

Le rôle de l'activité électrique sur la myélinisation a été suggéré depuis de nombreuses années par les observations réalisées sur le nerf optique: Gyllensten *et al.* [31] ont rapporté

un retard de myélinisation des animaux maintenus dès la naissance dans l'obscurité. De même, le nerf optique du rat-taube du Cap (naturellement aveugle) est très sévèrement hypomyélinisé [32]. En revanche, l'ouverture expérimentale prématurée des paupières induit, chez le lapin, une accélération du processus de myélinisation [33]. Plus récemment, nous avons tenté de réévaluer le rôle de l'activité électrique sur la mise en route de la myélinisation, à l'aide de neurotoxines, spécifiques des canaux sodiques dépendants du potentiel, bloquant (térodotoxine, TTX) ou stimulant (toxine α de scorpion) l'activité électrique, à la fois *in vitro* dans des cultures myélinisantes et *in vivo* dans le nerf optique [34].

In vitro, dans des cultures myélinisantes, l'ajout de térodotoxine au milieu deux jours avant le début de la myélinisation, induit une diminution drastique du nombre de segments axonaux myélinisés par unité de surface, sans diminution du nombre d'oligodendrocytes ou de neurones. Cette inhibition de la myélinisation induite par la térodotoxine n'est pas supprimée par l'ajout de K^+ , ce qui suggère que c'est l'activité électrique et non la dépolarisation de la membrane axonale qui serait responsable de l'inhibition de la myélinisation. Cet effet inhibiteur du blocage de l'influx nerveux sur la myélinisation a été confirmé, *in vivo*, par des injections intravitréennes de térodotoxine avant le début de la myélinisation dans le nerf optique (qui survient au 6^e jour postnatal). Injectée au 4^e jour postnatal (c'est-à-dire deux jours avant le début de la myélinisation) la térodotoxine induit une diminution significative du nombre d'oligodendrocytes myélinisants dans les nerfs optiques traités par la térodotoxine. En revanche, si l'on ajoute dans les cultures myélinisantes de la toxine α de scorpion qui, en augmentant la probabilité d'ouverture des canaux sodiques dépendants du potentiel induit une activité électrique répétitive, on observe un doublement du nombre de segments myélinisés. En montrant que la myélinisation est inhibée par le blocage de l'influx nerveux et, au contraire, augmentée par une activité électrique répétitive, nous suggérons

que l'activité électrique neuronale jouerait un rôle majeur dans la mise en route du processus de myélinisation [34]. Cette observation permet de proposer un mécanisme réglant la myélinisation sélective de certaines catégories d'axones. Ainsi, le faisceau médian du télencéphale est constitué de fibres myélinisées et non myélinisées. Les axones dopaminergiques de la voie nigro-striée font partie du contingent de fibres amyéliniques; or il est bien établi que les neurones dopaminergiques sont électriquement peu actifs (trois à quatre potentiels d'action par seconde). Selon notre hypothèse, cette faible activité électrique empêcherait la reconnaissance des axones par les prolongements oligodendrocytaires, à l'inverse des fibres ayant des trains de potentiel 10 à 20 fois supérieurs. Il reste à déterminer la nature moléculaire des signaux de myélinisation induits par l'activité électrique neuronale: changement de l'environnement ionique, synthèse de molécule de surface axonale ou sécrétion de facteurs? La question est ouverte.

Conclusion

L'oligodendrocyte et le neurone sont engagés dans un dialogue cellulaire et moléculaire qui va déterminer le statut fonctionnel de chacun des types cellulaires au cours du développement, mais aussi dans le système nerveux central adulte. Le décryptage de ce dialogue neuro-glial peut permettre de mieux appréhender certains mécanismes physiopathologiques dans les maladies démyélinisantes humaines comme la sclérose en plaques. On sait en effet, notamment grâce aux travaux des groupes de C. Raine [35] et de H. Lassmann [36] qu'il existe, dans la sclérose en plaques, une remyélinisation spontanée des plaques de démyélinisation. Cette remyélinisation, assurée par les oligodendrocytes matures et/ou les progéniteurs gliaux adultes recrutés par l'agression myélinique, est observée sur une grande proportion de plaques récentes, quelle que soit l'ancienneté de la maladie. Cette réparation endogène est malheureusement insuffisante dans la majorité des lésions. Il a, en outre, été montré que les oligodendrocytes persistaient au sein de

plaques entièrement démyélinisées, suggérant que la cible primitive de la maladie serait la gaine de myéline et non l'oligodendrocyte. Tout se passe donc comme si les oligodendrocytes survivaient à l'agression myélinique initiale, mais remyélinisaient de façon insuffisante. A la lumière des travaux récents sur l'importance des signaux axonaux dans le fonctionnement oligodendroglial, on peut envisager que cette faillite partielle de la remyélinisation soit liée, directement ou indirectement, au bloc de conduction de l'influx nerveux au sein des zones démyélinisées et donc, à une perturbation du ou des signaux axonaux nécessaires à la remyélinisation. Cette hypothèse physiopathologique fait envisager de façon radicalement différente les perspectives thérapeutiques de la maladie, en favorisant le développement de molécules neurotrophiques, qui en protégeant le neurone, maintiendraient l'activité électrique le long de l'axone, ou lèveraient le bloc de conduction, afin de permettre la remyélinisation. Elle ne peut bien entendue être envisagée sans association avec un traitement étiologique de l'agression myélinique, mais peut représenter un champ d'investigation riche de promesses dans le traitement des maladies démyélinisantes humaines ■

Remerciements

Nous remercions Frédérique Mathieu pour la réalisation de la figure 4 et le Dr Jean Féger pour les discussions stimulantes et ses commentaires judicieux. Les travaux des auteurs ont bénéficié du soutien de l'Inserm, de l'ARSEP, d'ELA, de l'Association Recherche et Partage et du Council for Tobacco Research (grant N° 3952).

RÉFÉRENCES

1. Mirsky R, Stewart HJS, Taberner A, Bradke A, Dong Z, Jessen KR. Development and differentiation of Schwann cells. *Rev Neurol* 1996; 152: 308-13.
2. Pringle NP, Mudhar HS, Collarini EJ, Richardson WD. PDGF receptors in the rat CNS: during late neurogenesis, PDGF alpha receptor expression appears to be restricted to glial cells of the oligodendrocyte lineage. *Development* 1992; 115: 535-51.

3. Timsit S, Martinez S, Allinquant B, Peyron F, Puelles L, Zalc B. Oligodendrocytes originate in a restricted zone of the embryonic ventral neural tube defined by DM-20 mRNA expression. *J Neurosci* 1995; 15: 1012-24.
4. Privat A, Leblond CP. The subependymal layer and neighbouring region in the brain of young rats. *J Comp Neurol* 1972; 142: 277-302.
5. Zalc B, Monge M, Dupouey P, Hauw JJ, Baumann N. Immunohistochemical localization of galactosyl and sulfogalactosylceramide in the brain of the 30 day-old mouse. *Brain Res* 1981; 211: 341-54.
6. Dubois-Dalcq M, Behar T, Hudson L, Lazarini RA. Emergence of three myelin proteins in oligodendrocytes cultured without neurons. *J Cell Biol* 1986; 102: 384-92.
7. Monge M, Kadiisky D, Jacques C, Zalc B. Oligodendroglial expression and deposition of four major myelin constituents in the myelin sheath during development. *Dev Neurosci* 1986; 8: 222-35.
8. Solly SK, Thomas JL, Monge M, Demerens C, Lubetzki C, Gardinier MV, Matthieu JM, Zalc B. Myelin/oligodendrocyte glycoprotein (MOG) expression is associated with myelin deposition. *Glia* 1996; 18: 39-48.
9. Temple S, Raff MC. Differentiation of a bipotential glial progenitor cell in single cell culture. *Nature* 1985; 313: 223-5.
10. Lubetzki C, Goujet-Zalc C, Demerens C, Danos O, Zalc B. Clonal segregation of oligodendrocytes and astrocytes during in vitro differentiation of glial progenitor cells. *Glia* 1992; 6: 289-300.
11. Miller R. Oligodendrocyte origins. *Trends Neurosci* 1996; 19: 92-6.
12. Trousse F, Giess MC, Soula C, Ghandour S, Duprat AM, Cochard P. Notochord and floor plate stimulate differentiation in cultures of the chick dorsal neural tube. *J Neurosci Res* 1995; 41: 552-60.
13. Pringle NP, Yu WP, Guthrie S, Roelink H, Lumsden A, Peterson AC, Richardson WD. Determination of neuroepithelial cell fate: induction of the oligodendrocyte lineage by ventral midline cells and Sonic Hedgehog. *Dev Biol* 1996; 177: 30-42.
14. Cameron-Curry P, Le Douarin N. Oligodendrocyte precursors originate from both the dorsal and the ventral parts of the spinal cord. *Neuron* 1996; 15: 1299-310.
15. Wood PM, Bunge R. Myelination of cultured dorsal root ganglion neurons by oligodendrocytes obtained from adult rat. *J Neurol Sci* 1986; 74: 153-69.
16. Barres BA, Raff MC. Proliferation of oligodendrocytes precursors cells depends on electrical activity in axons. *Nature* 1993; 361: 258-60.
17. Burne JF, Staple JK, Raff MC. Glial cells are increased proportionally in transgenic optic nerves with increased numbers of axons. *J Neurosci* 1996; 16: 2064-73.

RÉFÉRENCES

18. Barres BA, Hart IK, Coles HSI, Burne JF, Richardson WD, Voyvodic JT, Raff MC. Cell death and control of cell survival in the oligodendrocyte lineage. *Cell* 1992; 70: 31-46.
19. Lubetzki C, Demerens C, Anglade P, Villaroya H, Frankfurter AV, Lee MY, Zalc B. Even in culture oligodendrocytes myelinate solely axons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6820-4.
20. Althaus HH, Montz H, Neuhoff V. Isolation and cultivation of mature oligodendroglial cells. *Naturwissenschaften* 1984; 71: 309-15.
21. Lubetzki C, Goujet-Zalc C, Gansmüller A, Monge M, Brillat M, Zalc B. Morphological, biochemical and functional characterization of bulk isolated glial progenitor cells. *J Neurochem* 1991; 56: 671-80.
22. Pfeiffer SE, Warrington AE, Bansal R. The oligodendrocyte and its many processes. *Trends Cell Biol* 1993; 3: 191-7.
23. Macklin WB, Weill CL, Deininger PL. Expression of myelin proteolipid and basic protein mRNAs in cultured cells. *J Neurosci Res* 1986; 6: 203-17.
24. Scherer SS, Vogelbacker HH, Kamholz J. Axons modulate the expression of proteolipid protein in the CNS. *J Neurosci Res* 1992; 32: 138-48.
25. Chen SJ, De Vries GH. Mitogenic effect of axolemma enriched fraction on cultured oligodendrocytes. *J Neurochem* 1989; 52: 325-7.
26. Hardy R, Reynolds R. Rat cerebral cortical neurons in primary cultures release a mitogen specific for early oligodendrocyte progenitors. *J Neurosci* 1993; 34: 589-600.
27. Barres BA, Jacobson MD, Schmidt R, Sendtner M, Raff MC. Does oligodendrocyte survival depend on axons? *Curr Biol* 1993; 3: 489-97.
28. Canoll PD, Musacchio JM, Hardy R, Reynolds R, Marchionni MA, Salzer JL. GGF/Neuregulin is a neuronal signal that promotes the proliferation and survival and inhibits and inhibits the differentiation of oligodendrocyte progenitors. *Neuron* 1996; 17: 229-43.
29. Matteoli M, Takei K, Perin MS, Sudhof TC, De Camilli P. *J Cell Biol* 1992; 117: 849-61.
30. Blochl A, Thoenen H. Characterisation of nerve growth factor (NGF) release from hippocampal neurons: evidence for a constitutive and an unconventional sodium-dependent regulated pathway. *Eur J Neurosci* 1995; 7: 1220-8.
31. Gyllenstein L, Malmfors T, Norrlin-Grette ML. Developmental and functional alterations in the fiber composition of the optic nerve in visually deprived mice. *J Comp Neurol* 1966; 128: 413-8.
32. Omlin FX. Gliosis, does it naturally occur in the optic nerve of the adult cape mole rat (*Georchus Capensis*). *Proceedings of the 1st European meeting on Glial cell function*. Heidelberg: 1994, p. 146.
33. Tauber H, Waehndt TV, Neuhoff V. Myelination in rabbit optic nerves is accelerated by artificial eye opening. *Neurosci Lett* 1980; 16: 235-8.
34. Demerens C, Stankof B, Logak M, Anglade P, Allinquant B, Couraud F, Zalc B, Lubetzki C. Induction of myelination in the central nervous system by electrical activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9887-92.
35. Raine CS, Scheiberg L, Waltz JM. Multiple sclerosis: oligodendroglia survival and proliferation in an active established lesion. *Lab Invest* 1981; 45: 534-46.
36. Lassmann H, Vass K. Are current immunological concepts of multiple sclerosis reflected by the immunopathology of its lesions? *Springer Semin Immunopathol* 1995; 17: 77-87.

TIRÉS À PART

C. Lubetzki.

Summary

Axonal signals and myelinogenesis in the central nervous system

Oligodendrocytes, in the central nervous system (CNS), and Schwann cells, in the peripheral nervous system (PNS), have the unique ability to synthesize large amounts of membrane that wrap around axons and compact to form myelin. The close interaction between axons and myelin forming cells, suggests the existence of mutual cross-talks between the neurons and their myelinating partners. Indeed, in the peripheral nervous system it is now well established that axonal signals are mandatory at all the stages of Schwann cell precursors development into myelin-forming cells and that the signal for nerve engulfment and ensheathment originates in axons with which mature Schwann cells interact. Until recently, it was generally assumed that, in contrast to Schwann cells, oligodendrocytes developed independently from neurons. Here we review results from several laboratories suggesting that neurons influence myelinogenesis. Early during embryonic development neurons may play a role in the induction of oligodendrocyte precursors. Later on, proliferation and survival of oligodendrocyte progenitors have been shown to depend on electrical activity in axons. At the time of myelination, the existence of a specific axonal signal allowing oligodendrocyte processes to recognize axons from dendrites, has been put forward and the induction of the myelination process seems to depend on neuronal electrical activity. Finally, neurons may influence the rate of myelin protein synthesis and normal myelin compaction requires axonal signaling. The implications of these recent findings are discussed in the perspective of the physiopathology of demyelinating disease and of emerging therapeutic strategies aimed at myelin repair.

