

Conduction nerveuse d'excitation sans potentiel d'action

Caroline Fasano, Jean-Pierre Niel, François Tercé, Jean-Pierre Miolan

C. Fasano : Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, H3C 3J7 Canada.
J.P. Niel, J.P. Miolan : Laboratoire de Physiologie Neurovégétative, UMR CNRS 6153 - Inra 1147, Institut Fédératif de Recherche Jean Roche IFR 11, Université Paul Cézanne, Faculté des Sciences et Techniques, 13000 Marseille, France.

Jean-pierre.miolan@univ-cezanne.fr

F. Tercé : Inserm U563, Toulouse, France ; Université Toulouse III Paul Sabatier, IFR 30, Génopole de Toulouse, Plateau Technique de Lipidomique, 31000 Toulouse, France.

> Le fonctionnement des réseaux de neurones repose sur la succession de deux étapes bien différentes de nature respectivement électrique et chimique. Un potentiel d'action parcourt d'abord toute la longueur de l'axone d'un neu-

rone et provoque à son extrémité la libération de neuromédiateurs. Ceux-ci vont ensuite activer des récepteurs situés sur un autre neurone et modifier son excitabilité, ce qui peut conduire à la genèse d'un autre potentiel d'action. La conduction de l'excitation nerveuse a, jusqu'à présent, été exclusivement attribuée à des déplacements, de part et d'autre de la membrane, d'ions, c'est-à-dire de molécules chargées électriquement. Cette notion constitue un dogme fondamental des Neurosciences qui n'a encore jamais été remis en cause.

Un modèle de conduction nerveuse d'excitation sans potentiel d'action

En utilisant un modèle de physiologie intégrée, nous avons d'abord démontré chez le mammifère qu'un réseau de neurones peut parfaitement fonctionner en l'absence de potentiel d'action [1] et organiser un réflexe régulateur de la motricité digestive: le réflexe gastro-duodénal inhibiteur (GDI). Celui-ci se présente sous la forme d'une inhibition de la motricité duodénale en réponse à une activation des mécanorécepteurs gastriques. Notre étude a été effectuée sur une préparation *in vitro* composée d'un centre nerveux périphérique, le plexus cœliaque [2], connecté à l'estomac et au duodénum (Figure 1). Nous avons ensuite établi que le neuromédiateur libéré dans le plexus cœliaque lors de ce fonctionnement neuronal non conventionnel est un gaz, le monoxyde d'azote (NO) [3]. À ce stade de nos recherches le mécanisme de

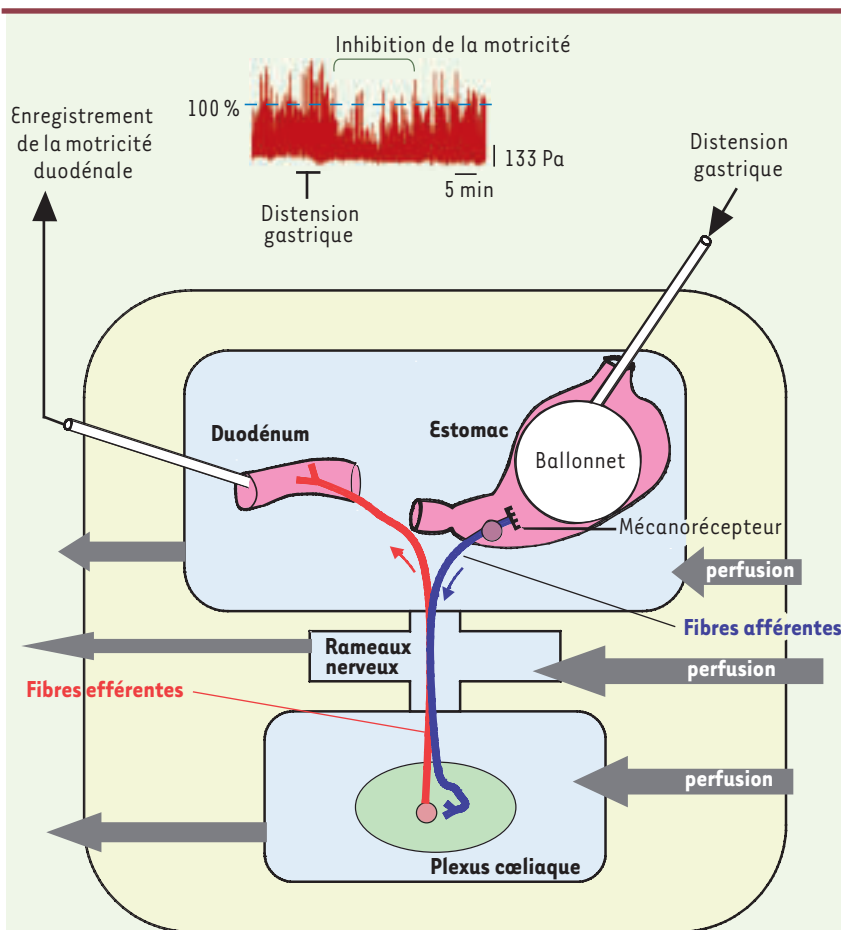


Figure 1. Préparation *in vitro* utilisée pour l'étude du mécanisme de conduction nerveuse d'excitation sans potentiel d'action. Le bac à organe comporte 3 compartiments adjacents recevant le plexus cœliaque, les rameaux nerveux et les viscères (estomac et duodénum). Chaque compartiment est perfusé indépendamment avec une solution physiologique ou des agents pharmacologiques. La conduction nerveuse de l'excitation est induite par l'activation de mécanorécepteurs gastriques.

cette conduction nerveuse d'excitation sans potentiel d'action demeurait encore inconnu. Le seul indice que nous avons était la vitesse de propagation de cette conduction nerveuse qui est d'environ 1 cm/min. Cette valeur est très inférieure à celle des potentiels d'action les plus lents (0,1 m/s), mais bien supérieure aux flux moléculaires axonaux les plus rapides (40 cm/jour). Nous avons alors envisagé le rôle de structures membranaires et de seconds messagers dans ce mécanisme atypique. Cette étude a nécessité des approches neuropharmacologiques et biochimiques et a pu être réalisée grâce à une collaboration entre 3 équipes de recherche et un plateau technique (Université Paul Cézanne, Université Paul Sabatier, CNRS, Inserm et Inra).

Le rôle du céramide

Dans un premier temps, nous avons analysé la composition lipidique des fibres nerveuses connectant le plexus cœliaque aux viscères. Pendant le réflexe GDI, seule se produit une augmentation significative d'un sphingolipide, le céramide. La perfusion des rameaux nerveux par un analogue perméant du céramide produit, en l'absence de distension gastrique, une inhibition de la motricité duodénale qui mime celle obtenue durant le réflexe, et

une augmentation du taux de céramide endogène. Ce résultat a également été obtenu en présence d'une molécule bloquant les potentiels d'action, la tétrodotoxine. Le réflexe GDI et l'augmentation du taux de céramide endogène sont bloqués lorsque les rameaux nerveux sont perfusés par des inhibiteurs non spécifiques (chlorpromazine, gentamicine) ou spécifiques (GW 4869) de la sphingomyélinase neutre, l'enzyme qui hydrolyse la sphingomyéline pour produire du céramide. En revanche, la perfusion des rameaux nerveux par une sphingomyélinase bactérienne provoque une inhibition de la motricité duodénale et une augmentation du taux de céramide endogène. L'ensemble de ces résultats nous a permis de conclure que la conduction de l'excitation sans potentiel d'action nécessite une production récurrente de céramide le long des fibres nerveuses. Les sphingolipides sont connus pour être préférentiellement localisés au niveau de régions spécialisées de la membrane, les microdomaines lipidiques ou radeaux.

Radeaux lipidiques et conduction nerveuse

Nous avons donc émis l'hypothèse selon laquelle ces radeaux pourraient intervenir dans ce mécanisme de conduction.

Cependant ces radeaux n'avaient encore jamais été mis en évidence dans les éléments périphériques du système nerveux végétatif. Nous avons montré l'existence d'une fraction à faible densité et riche en cholestérol obtenue à partir d'extraits membranaires de rameaux nerveux. Dans cette fraction nous avons détecté par immunohistochimie et analyse protéomique la présence de molécules reconnues comme marqueurs des radeaux : l'annexine II, le ganglioside GM1 et la tubuline. Toutes ces données nous ont permis d'établir l'existence de radeaux dans les fibres nerveuses étudiées. Nous avons alors montré que le réflexe GDI et l'augmentation du taux de céramide endogène sont abolis lorsque la structure des radeaux dans les fibres est désorganisée par l'extraction du cholestérol membranaire avec la méthyl- β -cyclodextrine. Cela permet de conclure que l'intégrité des radeaux lipidiques est nécessaire au mécanisme de conduction nerveuse sans potentiel d'action. Le céramide est une molécule hydrophobe qui reste localisée au niveau de la membrane plasmique. Il est connu pour jouer, entre autres, un rôle de second messager [4-7]. Nous avons alors recherché certaines des cibles cytoplasmiques qu'il pouvait activer. Nous avons en particulier identifié le

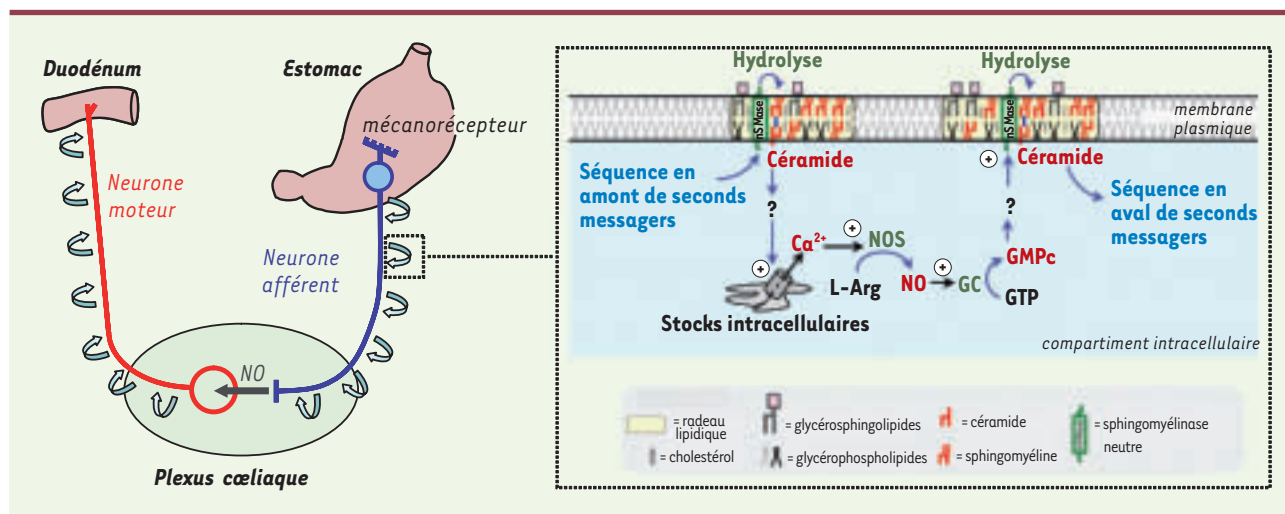


Figure 2. Mécanisme de conduction nerveuse de l'excitation sans potentiel d'action. L'excitation propagée le long des fibres nerveuses fait intervenir les radeaux lipidiques et l'activation en cascade de la séquence de seconds messagers suivante : L-Arg : L-Arginine, NO : monoxyde d'azote, NOS : NO synthase, GC : guanylyl cyclase, GTP : guanosine triphosphate, GMPc : guanosine monophosphate cyclique.



calcium libéré à partir de stocks intracellulaires, le NO et la guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Cette séquence de seconds messagers est activée en cascade le long des fibres nerveuses et provoque une production récurrente de céramide de radeau en radeau (Figure 2). Ce mécanisme permet la propagation le long des fibres nerveuses de cette excitation indépendante de potentiel d'action. Cette étude récemment publiée dans la revue PLoS ONE [8] a permis de montrer qu'en plus du fonctionnement classique faisant intervenir des potentiels d'action, les neurones peuvent conduire une excitation produite par une cas-

cade de seconds messagers. Le premier type de mécanisme est adapté à un fonctionnement rapide du neurone alors que le second doit être mis en jeu dans des phénomènes plus lents. L'existence de ce nouveau mécanisme ouvre des perspectives de recherche dans le fonctionnement neuronal d'un point de vue fondamental et clinique. ♦

Nervous conduction of excitation independent of action potentials

RÉFÉRENCES

1. Mazet B, Miolan JP, Niel JP, Roman C. New insights into the organization of a gastroduodenal inhibitory reflex by the coeliac plexus. *J Auton Nerv Syst* 1993; 46: 135-46.
2. Miolan JP, Niel JP. The mammalian sympathetic prevertebral ganglia: integrative properties and role in the nervous control of digestive tract motility. *J Auton Nerv Syst* 1996; 58: 125-38.
3. Quinson N, Catalin D, Niel JP, Miolan JP. Release of nitric oxide within the coeliac plexus is involved in the organization of a gastroduodenal inhibitory reflex in the rabbit. *J Physiol* 1999; 519: 223-34.
4. Fasano C, Hiol A, Miolan JP, Niel JP. Les sphingolipides: vecteurs d'agents pathogènes et cause de maladies génétiques. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 411-5.
5. Hannun YA. The sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide. *J Biol Chem* 1994; 269: 3125-8.
6. Hannun YA. *Sphingolipid-mediated signal transduction*. Heidelberg: Springer, 1997: 188 p.
7. Liu G, Kleine L, Hebert RL. Advances in the signal transduction of ceramide and related sphingolipids. *Crit Rev Cl Lab Sci* 1999; 36: 511-73.
8. Fasano C, Tercé F, Niel J, Nguyen HTT, Hiol A, et al. Neuronal conduction of excitation without action potentials based on ceramide production. *PLoS One* 2007; 2: e612.

NOUVELLE

Cellules souches et progéniteurs dans la glande mammaire : rôle critique du facteur de transcription Gata-3

Marie-Liesse Asselin-Labat

> La glande mammaire se développe chez l'embryon à partir de la formation de bourgeons mammaires primitifs. Après la naissance, elle subit un grand nombre de changements lors de la puberté, et chez l'adulte au cours de chaque cycle menstruel et des grossesses. Ces modifications sont contrôlées par des stimulations hormonales (œstrogène, progestérone, prolactine) et des facteurs de croissance (EGF, *epidermal growth factor...*) [1].

La glande mammaire est composée de canaux formant un réseau de branchements remplissant le coussinet graisseux. La glande est formée de trois épithélium distincts : le myo-épithélium, localisé au niveau basal, entoure les canaux et leur donne leurs propriétés contractiles. L'épithélium luminal fait face au lumen et est subdivisé en cellules longeant les canaux

et en cellules alvéolaires responsables de la production et de la sécrétion du lait au cours de la grossesse et de la lactation. Notre groupe s'intéresse à l'identification des cellules souches mammaires et de leur descendance. L'identification d'une hiérarchie cellulaire (cellules souches → progéniteurs → cellules différenciées) et des facteurs de transcription critiques pour la spécification vers un lignage cellulaire constitue une base nécessaire pour la compréhension des phénomènes oncogéniques observés dans les cancers du sein.

Identification et isolement de la cellule souche mammaire

L'importante capacité proliférative et régénérative du tissu mammaire lors de chaque cycle reproductif et l'existence

The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Victorian Breast Cancer Research Consortium, 1G Royal Parade, Parkville, VIC 3050 Australia.
labat@wehi.edu.au

de différents lignages cellulaires ont suggéré l'existence de cellules souches de la glande mammaire (CSMa) [2]. En se fondant sur l'expression de marqueurs cellulaires membranaires et sur des expériences de transplantation *in vivo*, notre groupe [3] et l'équipe de C. Eaves [4] ont récemment identifié et isolé une sous-population de l'épithélium mammaire murin enrichie en CSMa. La glande mammaire est composée d'une grande diversité de cellules. Par tri en cytométrie de flux (FACS, *fluorescence-activated cell sorting*), nous avons éliminé les cellules exprimant les marqueurs spécifiques des cellules endothéliales et hématopoïétiques (CD31⁻CD45⁻TER119⁻ ou *Lin⁻*) et séparé les populations exprimant le *heat stable antigen* (HSA ou CD24) selon leur niveau d'expression de l'inté-