

**QUELS SONT LES ESPOIRS ACTUELS  
DE REMYÉLINISATION  
DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL?**

par

B. ROGISTER

Lauréat du prix du Concours ordinaire de la 2<sup>e</sup> Section (2001 – 2002)

Source:

Bulletin et Mémoires de  
l'Académie Royale de Médecine,  
2003, vol. 158, n° 5-6, pp. 269-276.

**1. Introduction:**

Chez l'individu adulte jeune, la cause la plus fréquente de lésions de démyélinisation dans le système nerveux central est la sclérose en plaques et au cours de la dernière décennie, les progrès thérapeutiques dans le contrôle des réactions auto-immunes responsables de ces lésions sont remarquables. Citons notamment, pour les formes classiques de la maladie, l'avènement de l'interféron-béta, l'utilisation du co-polymère, l'optimisation des cures de corticoïdes en cas de poussées, et dans les formes à évolution lentement progressive, le recours à des drogues immunosuppressives telles que l'azathioprine et la cyclophosphamide. Dans le même temps cependant, on doit bien admettre que les progrès en matière de réparation des lésions myéliniques sont nettement plus modestes. Or, une fois la maladie maîtrisée ou en phase involutive, à partir d'un certain âge, l'absence de régénération de la myéline, avec comme conséquence une perturbation ou une perte fonctionnelle sur le plan neurologique, conditionne la qualité de vie du malade. Rappelons en effet que la myéline, cette membrane lipo-protéique élaborée dans le système nerveux central (SNC) par les extensions cytoplasmiques et membranaires des oligodendrocytes, est plus qu'une simple « gaine isolante » des axones: ses propriétés moléculaires sous-tendent la conduction saltatoire de l'influx nerveux.

Pourtant, il est bien établi qu'une ébauche de remyélinisation demeurant incomplète, apparaît spontanément dans les lésions démyélinisantes du SNC. L'identité des cellules potentiellement remyélinisantes du SNC reste débattue actuellement mais l'hypothèse la plus raisonnable consiste à considérer que ce ne sont pas les oligodendrocytes matures résiduels mais plutôt les progéniteurs oligodendrocytaires (OPCs ou Oligodendrocyte-Progenitor Cells) qui remplissent cette fonction aux niveau des sites lésionnels. Par ailleurs, on sait maintenant que persistent à l'âge adulte et dans diverses régions discrètes du système nerveux, des cellules souches totipotentes, capables de générer de manière continue de nouveaux neurones,

N° 1296

notamment dans l'hippocampe. On estime ainsi que chaque jour, et pour deux mille neurones existants, un nouveau neurone est formé au niveau du *gyrus dentatus* dans l'espèce humaine. Jusqu'à présent cependant, aucune évidence d'une néo-formation d'oligodendrocytes à partir de cellules souches n'a encore été apportée chez l'adulte.

Dans notre travail, nous nous sommes particulièrement intéressés à la genèse des oligodendrocytes au cours du développement embryonnaire. En effet, une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires et cellulaires, qui sous-tendent l'apparition des oligodendrocytes lors de l'ontogenèse du système nerveux, devrait nous permettre, à terme, de définir des stratégies thérapeutiques efficaces en vue de favoriser une remyélinisation des axones persistants. Nos observations permettent d'envisager sur le plan conceptuel deux approches différentes en vue de stimuler la remyélinisation: 1) soit le recrutement des OPC ou des cellules souches résidentes par un moyen pharmacologique quelconque; 2) soit la greffe de cellules immatures au niveau des sites lésionnels.

## 2. Le recrutement de progéniteurs endogènes:

La relative quiescence en terme de prolifération des OPCs adultes contraste avec l'importante activité mitotique et migratoire des OPCs, observée au cours du développement (Rogister *et coll.*, 1999). On sait que les OPCs embryonnaires sont sensibles à de nombreux facteurs de croissance au cours de la fin de la période embryonnaire et au début de la vie extra-utérine, et que ceux-ci stimulent la prolifération de ces cellules, leur survie et leur maturation en oligodendrocyte myélinisant. À côté de cette sensibilité aux facteurs de croissance, nous avons démontré dans nos précédents travaux que les OPCs embryonnaires ainsi que les cellules souches nerveuses expriment des récepteurs aux neurotransmetteurs, et notamment le récepteur ionotrope à la glycine (GLYR) (Belachew *et coll.*, 1998, Belachew *et coll.*, 2000a; Nguyen *et coll.*, 2002). Nous avons montré que l'activation de GLYR provoquait une entrée de  $Ca^{2+}$  dans les OPCs par induction d'une dépolarisation déclenchant l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants (Belachew *et coll.*, 2000a). L'activation de GLYR par la glycine stimule par ailleurs la prolifération des OPCs *in vitro* par un mécanisme apparaissant strictement  $Ca^{2+}$ -dépendant (Belachew *et coll.*, 2000b). Cette sensibilité à certains neurotransmetteurs laisse entrevoir la possibilité d'utiliser certains médicaments, connus pour moduler l'une ou l'autre voie de neurotransmission, dans le but de favoriser le recrutement des OPCs. Une telle approche est cependant

subordonnée à la démonstration que les OPCs adultes sont sensibles à ces neurotransmetteurs, de la même manière que les OPCs embryonnaires.

D'autre part, nous avons démontré que persistaient des précurseurs immatures dans le cortex cérébral des mammifères, au début de la vie extra-utérine. Ces cellules que nous avons appelées cellules gliales progénitrices sont caractérisées par l'expression de la forme polysialylée de la Neural-Cell Adhesion Molecule (PSA-NCAM). Elles peuvent se différencier en astrocytes ou en OPCs puis, dans ce cas, en oligodendrocytes, mais apparaissent incapables de se différencier en neurones (Ben-Hur *et coll.*, 1998). Cependant, ces cellules restent encore très immatures et sont capables de proliférer de manière importante, permettant d'obtenir ainsi de grandes quantités de progéniteurs gliaux à partir de quelques cellules. Ce caractère immature est illustré par le fait qu'elles sont cultivées en suspension, à l'instar des cellules souches nerveuses, et qu'elles forment dans ces conditions des sphères. Cette observation permet évidemment d'envisager la constitution de banques cellulaires en vue de greffes cellulaires (voir ci-dessous).

Plus récemment, nous nous sommes intéressés aux signaux cellulaires permettant aux cellules souches nerveuses (NSC) d'évoluer vers le phénotype OPC. Nous avons ainsi démontré le rôle important que joue un groupe de facteurs de croissance, les neurégulines, qui sont capables de stimuler à la fois la prolifération et la survie des NSC, mais aussi leur différenciation en oligodendrocytes (Calaora *et coll.*, 2001). Les neurégulines forment une famille de facteurs de croissance encodés par quatre gènes différents et agissant sur des récepteurs doués d'une activité tyrosine kinase. Nous n'avons abordé, dans un premier temps, que l'étude de l'expression et du rôle du premier de ces gènes, *NRG1*. Ce dernier contient un grand nombre d'exons qui se recombinent par épissage alternatif. De cette façon, *NRG1* code pour une quinzaine de protéines différentes, regroupées dans trois groupes en fonction de la structure de leur extrémité amino-terminale. Chacun de ces facteurs de croissance est caractérisé par la présence d'un domaine EGF par lequel il interagit avec ses récepteurs *erbB2*, *erbB3* ou *erbB4*. Nous avons démontré que les NSC expriment la forme SMDF-TM (Somato-Sensory neurons Derived Factor – TransMembranaire) encore appelée CRD-NRG lorsqu'elles prolifèrent tant *in vitro* qu'*in vivo*. Les autres formes protéiques issues de l'épissage différentiel de *NRG1* ne sont pas, ou très peu, exprimées dans ces conditions. Cette expression de SMDF-TM cesse lorsque les NSC se différencient. Nous avons également démontré que les NSC expriment deux formes de récepteurs aux neurégulines, *erbB2* et *erbB4*,

lorsqu'elles prolifèrent ou se différencient. En utilisant une forme soluble, recombinante de erbB3 (qui correspond en fait à son domaine extracellulaire), nous avons réalisé une inhibition des neurégulines dans les cultures de NSC. Dans ces conditions, on observe à la fois une diminution de la survie et de la prolifération des NSC. Dans le même temps, on observe que les NSC qui survivent se différencient préférentiellement en oligodendrocytes.

Actuellement une comparaison des effets de ces facteurs de croissance sur les cellules souches adultes est en cours. En effet, chez l'adulte, l'absence ou la faible réponse des NSCs, observée suite à une lésion de démyélinisation, peut être due soit à l'absence de ces facteurs de croissance dans le SNC adulte, soit à une absence de sensibilité des NSC adultes. En tout état de cause, le recours à ces facteurs en vue d'une utilisation thérapeutique passerait très vraisemblablement par le développement d'agonistes spécifiques non peptidiques, tant leur organisation au niveau génomique et protéique est complexe.

### 3. Les greffes de cellules immatures:

A nos yeux, cette approche, dans la sclérose en plaques, est grevée d'une difficulté quasi insurmontable et constituée par le nombre de lésions de démyélinisation: il est en effet illusoire d'imaginer de greffer des cellules capables de reformer de la myéline au niveau de toutes les lésions, à tout le moins observables en résonance magnétique. Cependant, on pourrait imaginer réserver cette approche à des cas particuliers dans lesquels on aurait pu attribuer, de manière certaine, l'origine d'un handicap fonctionnel tout à fait significatif à une lésion. Dans ce contexte restrictif, chez l'animal adulte, la greffe de cellules immatures (OPCs embryonnaires ou cellules souches) dans des lésions expérimentales de démyélinisation, apparaît relativement prometteuse (Keirstead *et coll.*, 1999).

Ainsi que nous l'avons signalé ci-dessus, les cellules progénitrices gliales PSA-NCAM sont caractérisées entre autres par des capacités prolifératives importantes en culture. Cette observation laisse envisager la possibilité d'obtenir de grandes quantités de cellules capables de se différencier en oligodendrocytes à partir d'une quantité limitée de cellules. Nous avons donc utilisé cette population cellulaire comme matériel de greffes dans des lésions expérimentales de démyélinisation chez l'animal. Cette population de progéniteurs gliaux PSA-NCAM, s'est avérée être un excellent matériel cellulaire: alors que chez les animaux non greffés, aucune remyélinisation n'est observée dans une lésion de démyélinisation chimiquement induite, chez les animaux

greffés, 95 à 100% des axones sont remyélinisés. Cependant, cette remyélinisation est due pour 20% des axones, à des cellules de Schwann, la cellule myélinisante du système nerveux périphérique. Par diverses approches, nous avons démontré que ces cellules de Schwann qui, en temps normal, ne se retrouvent jamais dans le système nerveux central, se sont différenciées à partir des cellules PSA-NCAM greffées. Cette observation est un des premiers exemples de la plasticité phénotypique des cellules souches et immatures, observées dans d'autres situations à l'heure actuelle, et qui laisse entrevoir d'autres possibilités en matière de thérapie cellulaire (voir ci-dessous). Par ailleurs, en culture, nous n'avons jamais pu obtenir une différenciation schwannienne des cellules PSA-NCAM. Ceci souligne le rôle inducteur particulier des conditions locales rencontrées par les cellules PSA-NCAM dans la lésion de démyélinisation.

### 4. Conclusion:

La réparation de la myéline dans le système nerveux central reste à l'heure actuelle un défi. Dans notre travail, nous avons envisagé d'abord le « recrutement » de cellules immatures, précurseurs immédiats ou non, des oligodendrocytes, et dont on sait qu'ils persistent dans le SNC des individus adultes. Nous avons démontré le rôle que joue un groupe important de facteurs de croissance, les neurégulines, et en collaboration avec le Dr. Belachew, nous avons également démontré le rôle potentiel que pourraient jouer certains neurotransmetteurs. Cette dernière observation pourrait s'avérer rapidement utile en matière de traitements: en effet, tant dans certaines pathologies neurologiques que dans les pathologies psychiatriques, on dispose à l'heure actuelle de nombreux médicaments capables de moduler positivement ou négativement, et de manière relativement spécifique, certains aspects de la transmission nerveuse due à plusieurs neurotransmetteurs et dès lors, il n'est pas utopique d'envisager une expérimentation clinique rapide.

Dans un second temps, nous avons exploré les possibilités de greffes de cellules immatures dans des lésions de démyélinisation et, tout en faisant certaines réserves sur l'utilisation clinique routinière d'une telle approche, nous avons démontré la faisabilité de celle-ci. Cependant, ne perdons pas de vue que ce traitement reste toutefois une allogreffe, imposant à la fois une immunosuppression du receveur, dont le statut immunologique est déjà particulier, et un prélèvement embryonnaire de cellules immatures, ce qui en soi constitue un problème éthique peu compatible encore une fois avec une pratique

clinique routinière. Au cours des trois dernières années, on a rapporté plusieurs exemples de plasticité phénotypique de cellules souches somatiques. En d'autres termes, des cellules souches prélevées au niveau d'un organe, sont capables, une fois greffées dans un autre tissu, de se « transdifférencier », en quelque sorte et d'adopter le phénotype caractéristique du tissu receveur. Nous avons déjà mentionné notre observation personnelle concernant les cellules gliales progénitrices PSA-NCAM du SNC qui peuvent se différencier en cellules de Schwann lorsqu'elles sont confrontées à un environnement particulier constitué par la lésion subaiguë de démyélinisation. De même, les cellules souches mésenchymateuses, présentes dans la moelle osseuse et normalement à l'origine des ostéocytes, des fibroblastes, des adipocytes et des chondrocytes, sont capables, après greffe dans le système nerveux, de se différencier en neurones et en oligodendrocytes si elles sont greffées au niveau de lésion de démyélinisation. Ces observations laissent entrevoir la possibilité d'autogreffes rendant caduques les réserves mentionnées ci-dessus quant à l'immunosuppression et au prélèvement embryonnaire. Récemment, nous avons entrepris d'étudier ce phénomène de transdifférenciation des cellules souches mésenchymateuses en cellules du système nerveux et nous avons démontré que celui-ci passe par différentes étapes: l'expression, par les cellules souches mésenchymateuses de la nestine, une protéine de filament intermédiaire, est le signe d'une « réceptivité » des cellules à des influences moléculaires de transdifférenciation (Wislet-Gendebien *et coll.*, 2003). Nous travaillons actuellement à l'identification de ces signaux.

#### Remerciements:

BR est Maître de Recherches du Fonds national de la Recherche Scientifique (F.N.R.S.). Ses travaux sont soutenus par le F.N.R.S., TELEVIE, la Fondation médicale Reine Elisabeth, la Fondation Charcot et la Ligue belge de la sclérose en plaques.

#### RÉSUMÉ

À l'heure actuelle, nos possibilités thérapeutiques en matière de remyélinisation du système nerveux central sont des plus limitées. Dès lors, l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent, au cours du développement, l'apparition des oligodendrocytes, pourrait à terme fournir des pistes de mécanisme thérapeutique favorisant la remyélinisation chez l'adulte, dans le cas de sclérose en plaques par exemple. Au cours de nos travaux, nous avons démontré que des neurotransmetteurs interagissant avec des récepteurs ionotropiques, exprimés par les cellules précurseurs

d'oligodendrocytes et certains membres d'une famille de facteurs de croissance, les neurégulines, favorisent la croissance et la prolifération des progéniteurs oligodendrogliaux. D'autre part, nous avons démontré que des greffes de cellules souches nerveuses, dans des lésions expérimentales de démyélinisation chez l'animal adulte, étaient suivies d'une remyélinisation importante.

#### SUMMARY

Up to now, there is no therapy in order to stimulate a remyelination in the adult central nervous system. So, the study the ontogenesis of oligodendrocytes at the cellular and molecular level could provide cues in order to design such a treatment that will be efficient to remyelinate patients after a multiple sclerosis relapse. In our work, we demonstrated that both neurotransmitters acting through ionotropic receptors, expressed by oligodendrocytes precursors and some members of the neuregulin growth factors family, could modulate the proliferation and the differentiation of oligodendrocytes progenitors. Furthermore, we demonstrated that the graft of neural stem cells in experimental demyelinated lesion in adult animals is responsible for an efficient remyelination.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BELACHEW S., ROGISTER B., RIGO J.-M., MALGRANGE B., MAZY-SERVAIS C., XHAUFLAIRE G., COUCKE P., MOONEN G. Cultured oligodendrocyte progenitors derived from cerebral cortex, express a glycine receptor which is pharmacologically distinct from the neuronal isoform. *Eur. J. Neurosci.*, 10, 3556-3564 (1998).
2. BELACHEW S., MALGRANGE B., RIGO J.-M., ROGISTER B., LEPRINCE P., HANS G., NGUYEN L., and MOONEN G. Glycine triggers an intracellular calcium influx in oligodendrocyte progenitor cells, which is mediated by the activation of both the ionotropic glycine receptor and Na<sup>+</sup>- dependent transporters. *Eur. J. Neurosci.*, 12, 192419-30 (2000a).
3. BELACHEW S., ROCHER V., NGUYEN L., HANS G., ROGISTER B., RIGO J.-M., MALGRANGE B. and MOONEN G. Glycine can regulate the proliferation and differentiation of oligodendrocyte progenitor cells. Abstract of 30<sup>th</sup> annual meeting of the *American Society for Neuroscience*, New Orleans (2000b).
4. BELACHEW S., YUAN X. AND GALLO V. UNRAVELING oligodendrocyte origin and function by cell-specific transgenesis. *Dev. Neurosci.*, 23, 287-298 (2001).
5. BEN HUR T., ROGISTER B., MURRAY K., ROUGON G. and DUBOIS-DALCQ M. Growth and fate of PSA-NCAM<sup>+</sup> precursors of the postnatal brain. *Journal of Neuroscience* 18, 5777-5788 (1998).
6. CALAORA V., ROGISTER B., BISMUTH K., MURRAY K., BRANDT H., LEPRINCE P., MARCHIONNI M. and DUBOIS-DALCQ M. Neuregulin signaling regulates neural precursor growth and the generation of oligodendrocytes *in vitro*. *J. Neurosci.*, 21, 4740-4751 (2001).
7. KEIRSTEADT T., BEN HUR, ROGISTER B., O'LEARY M., DUBOIS-DALCQ M. and BLAKEMORE W.F. Polysialylated neural cell adhesion molecule-positive CNS precursors generate both oligodendrocytes and Schwann cells to remyelinate the CNS after transplantation, *H.S. Journal of Neuroscience*, 19, 7529-7536 (1999).
8. NGUYEN L., MALGRANGE B., BELACHEW S., ROGISTER B., ROCHER V., MOONEN G. and RIGO J.-M. Functional glycine receptors are expressed by postnatal nestin positive neural stem/progenitor cells. *Eur. J. Neurosci.*, 15, 1299-1305 (2002).

9. REGISTER B., BEN HUR T. and DUBOIS-DALCQ M. From neural stem cells to myelinating oligodendrocytes, *Molecular and Cellular Neurosciences*, 14, 287-300 (1999).
10. WISLET-GENDEBIEN S., LEPRINCE P., MOONEN G. and REGISTER B. Regulation of nestin expression by cultivated bone marrow mesenchymal stem cells. *Cellular and Molecular Neuroscience*, *J.Cell. Sci.*, in press (2003).

*(Centre de Neurobiologie cellulaire et moléculaire, Service de Neurologie – U.Lg.).*