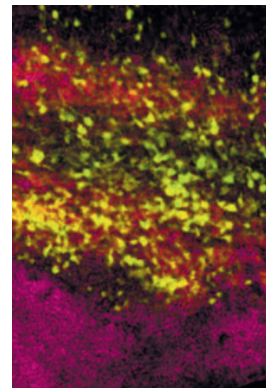


► Les variants pathogènes du gène *NDE1* sont responsables de microlissencéphalies chez l'homme et constituent le déficit de la neurogenèse le plus sévère décrit à ce jour. Le gène *NDE1* code une phosphoprotéine essentielle à la neurogenèse, qui est exprimée dans différents compartiments cellulaires des neuroblastes. Le mécanisme physiopathologique précis de la microlissencéphalie n'est pas encore complètement élucidé. Plus de 60 partenaires d'interaction protéique avec *NDE1* ont été rapportés, notamment des protéines impliquées dans la formation du fuseau mitotique, la ciliation, la protection du génome des neuroblastes en division ou encore l'apoptose (la LIS1, la dynéine, la cohésine) et constituent autant de pistes explorées dans cette revue. ◀

Variations pathogènes de *NDE1* et microlissencéphalie

De la pathologie au développement cérébral normal

Sara Cabet^{1,2}, Laurent Guibaud², Damien Sanlaville^{1,3}



¹Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, groupement hospitalier Est, France.

²Service de radiologie, Hospices Civils de Lyon, groupement hospitalier Est, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, France.

³Inserm U1028, CNRS UMR5292, équipe GENDEV, Centre de recherche en neurosciences de Lyon, 69000 Lyon, France. damien.sanlaville@chu-lyon.fr

indispensable à l'entrée en mitose, et dans la protection du génome des neuroblastes en division.

NDE1 en pathologie humaine

Entre 2011 et 2013, 13 individus présentant des variations pathogènes de *NDE1* ont été rapportés. Ils étaient porteurs soit de variations pathogènes homozygotes, non-sens ou *frameshift* (décalage du cadre de lecture), responsables d'une protéine *NDE1* tronquée instable, soit d'une délétion de la région 16p13.11 du chromosome emportant le gène *NDE1*, combinée à une variation pathogène ponctuelle du gène sur l'allèle non délété [1-3]. Les 13 individus rapportés présentaient les critères malformatifs de microlissencéphalie avec un périmètre crânien très inférieur à la normale et une forme majeure de gyration simplifiée [1]. Le nombre de neurones des couches II, III et IV du cortex cérébral était nettement diminué, sans ectopie neuronale² [1, 2]. Il est important de rappeler ici que l'identification chez un patient d'une micro-délétion 16p13.11, en présence d'un phénotype compatible, doit faire rechercher un variant pathogène sur l'autre allèle du gène. En effet, les variations du nombre de copies de la région 16p13.11, comprenant le gène *NDE1*, font partie des microremaniements chromosomiques fréquemment observés en raison de la présence, dans cette région chromosomique, de répétitions à faible nombre de copies (ou *low copy repeats*, LCR) qui favorisent la création de micro-délétions et

Les variants nucléotidiques pathogènes du gène *NDE1* (*nuclear distribution element 1*), situé sur le bras court du chromosome 16, sont à l'origine de microlissencéphalies chez l'homme [1-3]. Ils sont responsables du déficit de la neurogenèse le plus sévère décrit à ce jour [2]. La microlissencéphalie est une malformation associant diminution sévère du périmètre crânien et gyration extrêmement simplifiée¹ [1]. Le gène *NDE1* code une phosphoprotéine multidomaine (Figure 1), exprimée dans les neuroblastes, qui possède des domaines d'interaction avec LIS1 (*lissencephaly 1*) et la dynéine, deux protéines impliquées dans le développement cérébral et la formation du fuseau mitotique [1]. Les mécanismes physiopathologiques précis de la microlissencéphalie observée dans les cas de variations pathogènes du gène *NDE1* ne sont cependant pas complètement élucidés.

Cette revue s'intéresse au rôle de *NDE1* dans le développement cérébral normal et pathologique et, plus particulièrement, dans la régulation de la ciliogenèse, étape

Vignette (Photo © Inserm – Loïc Broix).

¹ La gyration simplifiée se caractérise par une simplification des circonvolutions et une diminution du nombre et de la profondeur des sillons corticaux.

² Anomalie de migration neuronale.

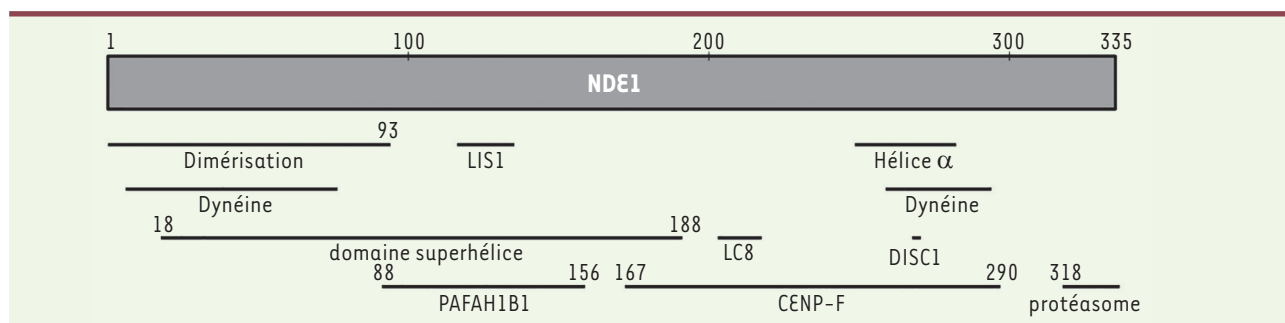


Figure 1. La protéine NDE1 est une phosphoprotéine multidomaine de 335 acides aminés interagissant avec plus de 60 partenaires protéiques. La majorité des domaines protéiques d'interaction impliqués ne sont pas encore précisément localisés sur la séquence de NDE1 (d'après [6, 13-16]).

de micro-duplications, par un mécanisme de recombinaison allélique non homologue (NAHR) [4].

Le phénotype observé chez les patients présentant ces altérations suggère un rôle essentiel de NDE1 dans la neurogenèse humaine. Celle-ci associe des étapes de prolifération (divisions symétriques des neuroblastes), de détermination (divisions asymétriques), de migration et de différenciation (Figure 2). Si la lissencéphalie isolée de type 1 est due à un défaut de migration neuronale [1], la microlissencéphalie pourrait, quant à elle, impliquer également un défaut de production neuronale [5].

NDE1, acteur de la mitose des neuroblastes

NDE1 est fortement exprimée au niveau du centrosome des neuroblastes humains, et cette expression est maximale au début de la mitose (à l'interphase et à la prophase) [2], et au niveau du fuseau mitotique [1, 2]. L'interaction entre NDE1 et LIS1 qui active la dynéine, est nécessaire à la bipolarité et à l'orientation du fuseau mitotique [6]. Dans le modèle murin déficient en NDE1, celui des rats *Nde1*^{-/-}, la réduction du nombre de neurones des couches II/III est associée à une perte de localisation centrosomale de NDE1 dans les neuroblastes, à des anomalies d'assemblage et d'orientation du fuseau mitotique, et à un retard de progression de la mitose [1]. Le rôle de la protéine NDE1, au niveau du centrosome, pourrait ne pas se limiter à la régulation de la formation et de l'orientation du fuseau mitotique des neuroblastes en division. Un arrêt complet du cycle cellulaire des cellules souches neurales, avant même leur entrée en mitose, a en effet été observé chez des embryons de rats *Nde1*^{-/-}, notamment en phase G1, et cela de manière spécifique, comme en témoigne l'absence d'effet similaire en cas de déplétion complète du paralogue³ de *Nde1*, *Ndel1* (*NUDE neurodevelopment protein 1-like 1*) [5]. La protéine NDE1 est donc requise pour des processus cellulaires pré-mitotiques qui sont indispensables à la progression du cycle cellulaire des cellules souches neurales.

³ On dit que des gènes sont paralogues lorsqu'ils proviennent de la duplication d'un même gène mais qu'ils évoluent différemment.

Le cil : lien entre NDE1 et le cycle cellulaire

NDE1 pourrait être un régulateur négatif de la longueur ciliaire. Le niveau d'expression de la protéine au niveau du centrosome, élevé en mitose et réduit en quiescence, pourrait être interprété comme étant inversement corrélé à la ciliogenèse, qui est initiée à l'entrée en quiescence des cellules et inhibée au moment de l'entrée en mitose [7] (→).

L'initiation de la résorption ciliaire est nécessaire à la progression de la phase G1 à la phase S dans les cellules ciliées entrant en division [5]. La déplétion de NDE1, ou uniquement la perte de sa localisation centrosomale, provoque une augmentation de la longueur des cils primaires des cellules (un effet spécifique et dont l'importance dépend du niveau de déplétion de NDE1) et un retard de ré-entrée dans le cycle cellulaire (transition quiescence-prolifération) [8]. Ce retard est corrélé à la longueur ciliaire, comme le montre son absence lorsque la délétion de NDE1 est associée à une inhibition de la ciliogenèse, par l'utilisation d'ARN interférents ciblant IFT88 (*intraflagellar transport protein 88*) [8]. NDE1 influence donc le délai d'entrée dans le cycle cellulaire et la progression de la phase G1 à la phase S des cellules en division, en modulant la résorption ciliaire.

Interaction entre NDE1 et dynéine et longueur ciliaire

La résorption ciliaire induite par NDE1 pourrait résulter de son interaction avec la dynéine. En effet, cette protéine est nécessaire à la résorption ciliaire. C'est un moteur moléculaire qui assure le transport intraciliaire rétrograde et sa sous-unité LC8 (ou DYNLL1) interagit directement avec NDE1 [8]. Une augmentation de la longueur ciliaire, comparable à celle induite par la

(→) Voir la Synthèse de N. Delgehr et N. Spassky, m/s n° 11, novembre 2014, page 976

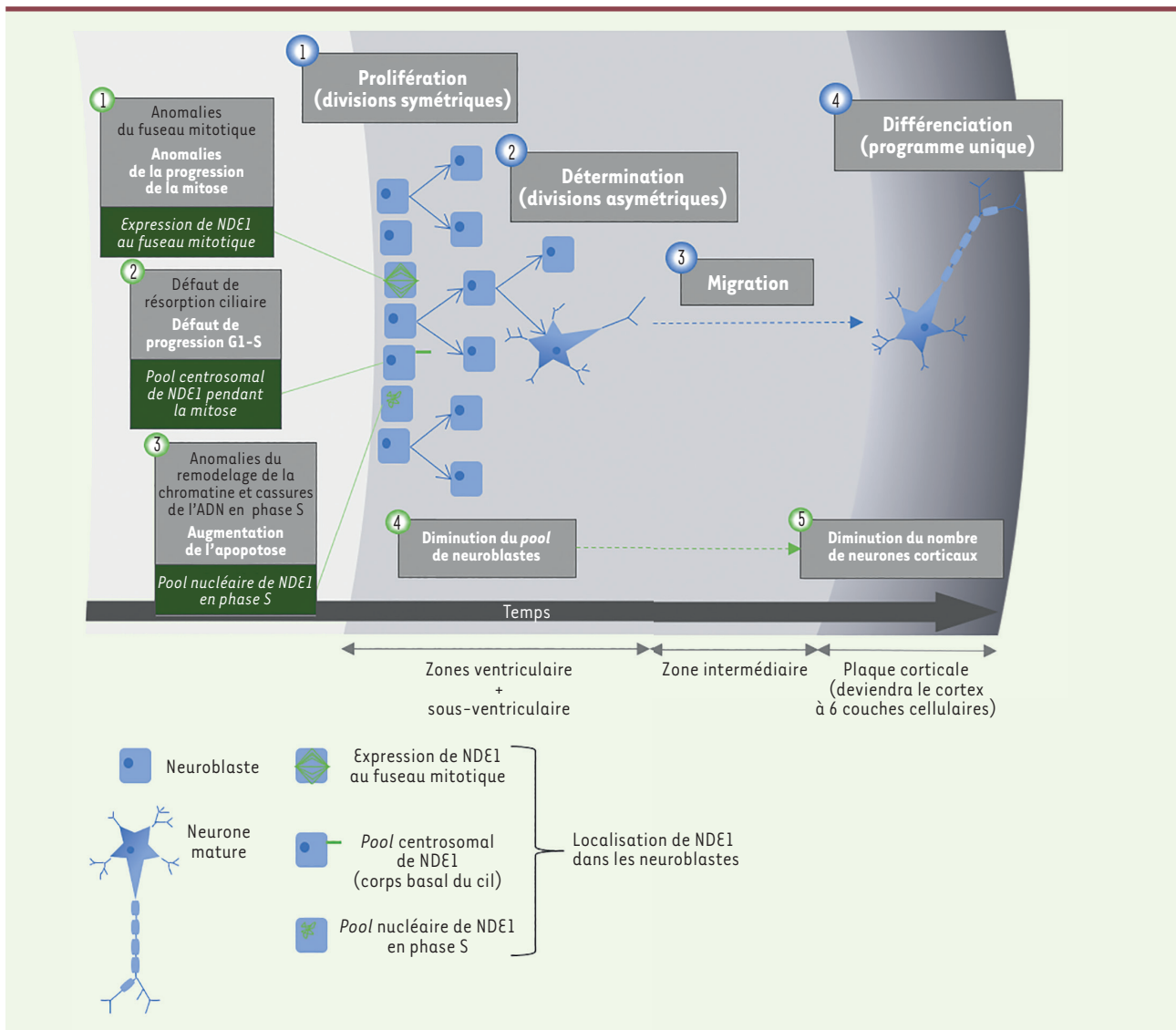


Figure 2. La formation des neurones des six couches du cortex cérébral associe étapes de prolifération (divisions symétriques des neuroblastes), détermination (divisions asymétriques), migration et différenciation (numérotées en bleu sur le schéma). En 2018, l'étude de la transcription en cellule unique dans les neuroblastes à différents stades de développement embryonnaire a mis en évidence une évolution des neuroblastes à l'origine de la diversité des neurones des différentes couches, le programme de différenciation post-mitotique étant ensuite identique pour tous les neuroblastes [12]. NDE1 est impliquée dans la neurogenèse embryonnaire comme en témoigne l'observation de microlissencéphalies liées aux variants pathogènes de NDE1 (mécanismes physiopathologiques et localisation de NDE1 numérotés en vert sur le schéma).

déplétion complète de *NDE1*, est observée dans les cellules exprimant une protéine NDE1 dont la séquence peptidique nécessaire à son interaction directe avec LC8 a été tronquée [8]. La localisation forcée de LC8 au niveau du corps basal, par une transgénèse permettant d'ajouter une séquence de localisation centrosomale à celle de LC8, entraîne une diminution de la longueur des cils [8]. NDE1 pourrait donc induire la résorption ciliaire en agissant sur le processus de transport intraciliaire par recrutement de la sous-unité LC8 de la dynéine au niveau du corps basal. Le recrutement de LC8 pourrait être aboli en phase G0-G1 par dégradation de NDE1, afin de permettre la ciliogenèse : NDE1 est

un substrat de la kinase CDK5 (*cyclin-dependent kinase 5*) dont l'activité augmente en phase G0-G1. Une fois phosphorylée au niveau de la tyrosine T191, NDE1 serait reconnue par l'ubiquitine-ligase FBW7 (*F-box and WD repeat domain-containing 7*) – dont la colocalisation avec NDE1 a été observée au centrosome – [9] et dégradée par le protéasome [6]. Lors de l'entrée dans le cycle cellulaire, la réduction de l'activité de CDK5 permettrait l'accumulation de NDE1 et donc la résorption ciliaire [9]. Bien que les anomalies du centriole

constituent un point commun évident entre ciliopathies et microcéphalies (comme celles liées aux variations pathogènes du gène *PLK4* [*polo-like kinase 4*], gène codant une protéine régulant la biogenèse du centriole [10]), une hypothèse alternative concernant le mécanisme physiopathologique de la microlissencéphalie, n'impliquant pas le *pool* centrosomal de NDE1, est soutenue par des travaux centrés sur l'apoptose cellulaire.

Augmentation de l'apoptose

La diminution du nombre de neurones observée en cas de variation pathogène de *NDE1* pourrait être due à une réduction du *pool* de neuroblastes résultant de l'augmentation anormale de la mort cellulaire, plutôt qu'à un défaut de leur division asymétrique. Chez les rats *Nde1*^{-/-}, une telle augmentation de l'apoptose des neuroblastes a été observée, celle-ci ayant pour origine des cassures de l'ADN double brin et l'activation du gène suppresseur de tumeur *TP53* [11]. Les mutants *Nde1*^{-/-} chez lesquels l'apoptose est inhibée par délétion du gène *TP53* ne présentent aucune anomalie de taille ou de structure du cerveau, malgré la présence de cassures de l'ADN [11]. Cette observation constitue certainement l'argument le plus fort en faveur d'un mécanisme physiopathologique de la microlissencéphalie reposant sur l'apoptose des neuroblastes. Les anomalies de fuseau mitotique et le retard de progression de la mitose des neuroblastes d'animaux *Nde1*^{-/-} ne semblent pas pouvoir expliquer à eux seuls la réduction du *pool* de neuroblastes : une expérience similaire d'inhibition de l'apoptose a démontré une restauration de la prolifération des cellules rétinienues humaines présentant une délétion du gène *PLK4* (gène impliqué dans des cas de microcéphalie), malgré l'absence de centriole et une mitose anormalement longue [10]. Se pose alors la question du mécanisme par lequel les variations pathogènes de *NDE1* favorisent les cassures de l'ADN et donc l'apoptose des neuroblastes.

NDE1 et protection du génome

NDE1 pourrait participer à la protection du génome pendant la mitose : les variations pathogènes de *NDE1* entraînent une augmentation de l'instabilité génomique similaire à celle observée dans les cohésinopathies [11]. D'ailleurs, une interaction directe entre NDE1 et le complexe de la cohésine a été rapportée. La cohésine est essentielle au bon déroulement de la ségrégation du matériel génétique pendant la mitose, en maintenant ensemble les chromatides sœurs pendant la prophase et la métaphase : elle engendre une résistance à la traction exercée par les microtubules du fuseau. Cette résistance, témoignant de l'attachement des kinétochores aux microtubules, est requise pour le passage du point de contrôle entre métaphase et anaphase [11].

D'autres arguments sont en faveur d'un rôle de NDE1 préférentiellement au cours de la phase S, phase durant laquelle un *pool* nucléaire de NDE1 a d'ailleurs été observé [11]. En effet, les cassures de l'ADN double brin chez les rats mutants *Nde1*^{-/-} ont lieu au cours de la

réplication, et des blocages des fourches de réplication ont été observés au niveau des domaines hétérochromatiques à l'origine d'un retard significatif de la réplication (une phase S plus longue) [11]. De plus, une interaction directe a été mise en évidence entre NDE1 et SNF2H (ou SMARCA5 [*SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 5*]), une protéine de remodelage de la chromatine recrutée en phase S et impliquée dans la répartition des nucléosomes le long du brin d'ADN lors de la réplication de l'hétérochromatine (Figure 3). Or, la durée de leur phase S serait fortement corrélée au devenir des neuroblastes [11]. En 2018, l'étude de la transcription en cellule unique dans les neuroblastes à différents stades du développement embryonnaire murin a mis en évidence une évolution des neuroblastes à l'origine de la diversité des neurones des différentes couches, le programme de différenciation post-mitotique étant ensuite identique pour tous les neuroblastes (Figure 2) [12]. NDE1 pourrait donc jouer un rôle précoce dans la formation des neurones des couches II/III au moment où le devenir des neuroblastes dont ils sont issus est établi plutôt que lors de la division terminale asymétrique des neuroblastes.

Conclusion

NDE1 est essentielle à la neurogenèse des couches II/III(IV) et le mécanisme physiopathologique responsable de la microlissencéphalie le plus rapporté dans la littérature lui confère un rôle dans la formation et l'orientation du fuseau mitotique. Il semble que NDE1 soit étroitement liée au cycle cellulaire des neuroblastes, en tant que régulateur négatif de la ciliation, et qu'elle participe à la protection du génome lors de la réplication de l'ADN. Les variations pathogènes du gène *NDE1* pourraient être à l'origine d'une perte des neurones des couches II/III(IV) par apoptose des neuroblastes dont ils auraient dû être issus. L'atteinte sélective des neurones des couches II/III/IV en cas d'haplo-insuffisance de *NDE1* reste un élément obscur et soulève la question d'un rôle de NDE1 limité dans le temps (ponctuel au cours de la corticogenèse) et/ou dans l'espace. ♦

SUMMARY

Microlissencephaly due to pathogenic variants of *NDE1*: from pathology to normal brain development

Pathogenic variants of the gene *NDE1* (Nuclear Distribution Element 1) in humans lead to microlissencephaly which associates a reduced head circumfe-

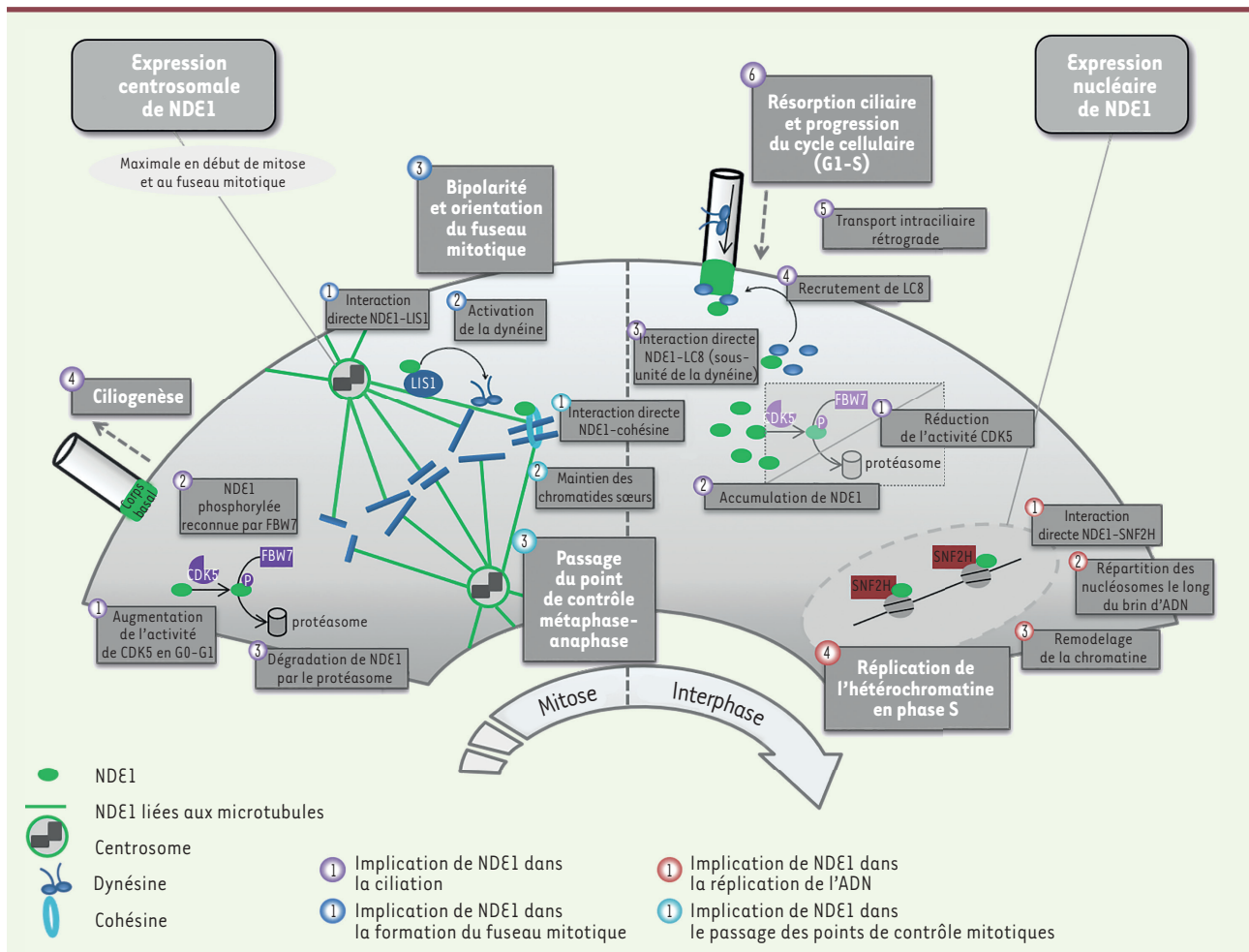


Figure 3. Le niveau d'expression de NDE1 au centrosome et au fuseau mitotique est élevé en début de mitose (partie gauche du schéma). L'interaction directe de NDE1 avec LIS1 active la dynéine et est requise pour la bipolarité et l'orientation du fuseau mitotique. Concernant la ciliation, la présence de NDE1 au corps basal permet le recrutement de la sous-unité LC8 de la dynéine, qui assure le transport rétrograde requis pour la résorption ciliaire. La ciliogenèse est quant à elle permise par la dégradation de NDE1 par le protéasome suite à sa phosphorylation par la kinase CDK5 et à sa reconnaissance par l'ubiquitine-ligase FBW7. Le pool nucléaire de NDE1 interagit directement avec le complexe de la cohésine et permet le passage du point de contrôle entre métaphase et anaphase. NDE1 interagit également directement avec la protéine SNF2H qui est recrutée en phase S pour la réplication de l'hétérochromatine (partie droite du schéma).

rence and a simplified gyration. Microlissencephaly is the most severe deficit of neurogenesis described to date but its precise physiopathological mechanism is not yet well known. The *NDE1* gene encodes a phosphoprotein that is essential to neurogenesis and that is expressed in various cell compartments of neuroblasts. More than 60 interaction partners with NDE1 have been reported, notably various proteins involved in formation of the mitotic spindle, in ciliation, in genome protection of dividing neuroblasts or even in apoptosis (like LIS1, dynein or cohesin), which are all avenues that we explore in this review. ♦

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient leurs collègues du service de Génétique des Hospices Civils de Lyon ainsi que l'équipe enseignante du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire parcours génétique de la cellule et pathologie de l'Université Lyon 1.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

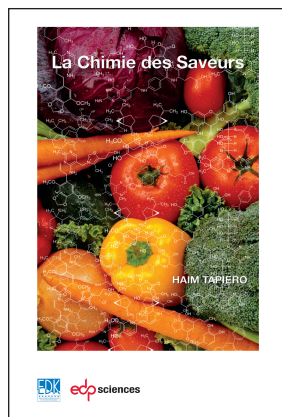
1. Alkuraya FS, Cai X, Emery C, et al. Human mutations in NDE1 cause extreme microcephaly with lissencephaly. *Am J Hum Genet* 2011 ; 88 : 536-47.
2. Bakircioglu M, Carvalho OP, Khurshid M, et al. The essential role of centrosomal NDE1 in human cerebral cortex neurogenesis. *Am J Hum Genet* 2011 ; 88 : 523-35.
3. Paciorkowski AR, Keppler-Noreuil K, Robinson L, et al. Deletion 16p13.11 uncovers NDE1 mutations on the non-deleted homolog and extends the spectrum of severe microcephaly to include fetal brain disruption. *Am J Med Genet* 2013 ; 161A : 1523-30.
4. Hannes FD, Sharp AJ, Mefford HC, et al. Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. *J Med Genet* 2009 ; 46 : 223-32.

RÉFÉRENCES

- Doobin DJ, Kemal S, Dantas TJ, et al. Severe NDE1-mediated microcephaly results from neural progenitor cell cycle arrests at multiple specific stages. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 12551.
- Monda JK, Cheeseman IM. Nde1 promotes diverse dynein functions through differential interactions and exhibits an isoform-specific proteasome association. *Mol Biol Cell* 2018 ; 29 : 2336-45.
- Delgehr N, Spassky N. Cil primaire, cycle cellulaire et prolifération. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 976-9.
- Kim S, Zaghoul NA, Bubenshchikova E, et al. Nde1-mediated inhibition of ciliogenesis affects cell cycle re-entry. *Nat Cell Biol* 2011 ; 13 : 351-60.
- Maskey D, Marlin MC, Kim S, et al. Cell cycle-dependent ubiquitylation and destruction of NDE1 by CDK5-FBW7 regulates ciliary length. *EMBO J* 2015 ; 34 : 2424-40.
- Lambrus BG, Uetake Y, Clutario KM, et al. p53 protects against genome instability following centriole duplication failure. *J Cell Biol* 2015 ; 210 : 63-77.
- Houlihan SL, Feng Y. The scaffold protein Nde1 safeguards the brain genome during S phase of early neural progenitor differentiation. *Elife* 2014 ; 3 : e03297.
- Telley L, Agirman G, Prados J, et al. Single-cell transcriptional dynamics and origins of neuronal diversity in the developing mouse neocortex. *bioRxiv* 2018 ; 409458.1.
- Soares DC, Bradshaw NJ, Zou J, et al. The mitosis and neurodevelopment proteins NDE1 and NDEL1 form dimers, tetramers, and polymers with a folded back structure in solution. *J Biol Chem* 2012 ; 287 : 32381-93.
- Wynne CL, Vallee RB. Cdk1 phosphorylation of the dynein adapter Nde1 controls cargo binding from G2 to anaphase. *J Cell Biol* 2018 ; 217 : 3019-29.
- Bradshaw NJ, Hennah W, Soares DC. NDE1 and NDEL1: twin neurodevelopmental proteins with similar nature but different nurture. *Biomol Concepts* 2013 ; 4 : 447-64.
- Soukoulis V, Reddy S, Pooley RD, et al. Cytoplasmic LEK1 is a regulator of microtubule function through its interaction with the LIS1 pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 8549-54.

TIRÉS À PART

D. Sanlaville



ISBN : 978-2-7598-1137-3 180 pages

La cuisine est une science. Il existe une relation étroite entre élaborer une recette et entreprendre une recherche scientifique. Quelle que soit l'origine d'une recette, d'un livre ou inventée, il faudra faire le choix des ingrédients, les mélanger et les cuire de manière appropriée afin de ne pas altérer les substances actives qui composent les ingrédients.

Une fois la cuisson terminée, il faudra analyser le goût et si nécessaire prévoir son amélioration. Améliorer une recette nécessite de connaître le ou les processus qui interviennent dans le développement des arômes, des saveurs et de la texture. Cette approche est similaire à celle développée par le scientifique.

La relation entre l'élaboration des recettes, les substances nutritives qui composent les ingrédients et la santé de l'homme est issue de plusieurs disciplines de la recherche fondamentale et clinique. Au cours des dernières années, de nombreux travaux scientifiques ont été publiés sur le rôle de la nutrition et la réduction des risques dans les pathologies comme les maladies cardio-vasculaires ou les cancers.

Le but principal de cet ouvrage a été d'identifier la structure chimique des composants actifs des ingrédients utilisés en cuisine (légumes, herbes aromatiques, épices) et qui entrent dans la préparation des recettes pour « végétariens » et « omnivores ».



BON DE COMMANDE

À retourner à EDP Sciences, 17 avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex A - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **La chimie des Saveurs** : 20 € + 3 € de port = **23 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |

Tarifs d'abonnement m/s - 2020



Abonnez-vous
à **médecine/sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement
page 950 dans ce numéro de m/s

