

L'épendymocyte : un progéniteur neuronal et glial bien caché

C'est un gros pavé que l'équipe de Jonas Frisen (Institut Karolinska, Stockholm, Suède) vient de lancer dans la mare neurobiologique en révélant la présence de cellules progénitrices donnant naissance à des neurones olfactifs et à des astrocytes dans diverses régions de l'épendyme du cerveau adulte chez le rat [1]. L'importance de ces résultats ne tient pas tant à l'existence même de ces progéniteurs, car on sait depuis longtemps qu'une neurogenèse persiste chez l'adulte pour quelques populations neuronales très restreintes ([2] et voir *m/s* 1998, n° 12, p. 1453) et la gliogenèse adulte n'a jamais été discutée, qu'à leur localisation dans une région classiquement considérée comme un simple épithélium de surface.

La vision classique de l'épendyme

Chez les mammifères adultes, les épendymocytes apparaissent comme des cellules ciliées cuboïdes qui forment une couche continue tout au long de la paroi des cavités du système ventriculaire cérébral et spinal [3]. Les épendymocytes sont liés entre eux, dans la région apico-latérale proche de la lumière, par des *zonulae adherens* et des jonctions *gap*, mais pas par des jonctions serrées, ce qui laisse la place à des échanges importants entre les cavités ventriculaires, dans lesquelles circule le liquide céphalo-rachidien, et le parenchyme cérébral, qu'une simple lame basale sépare de cette couche épendymocytaire.

Les épendymocytes présentent, à leur pôle apical – donc dans la lumière – des microvillosités et plusieurs dizaines de cils mobiles de 10 à 20 µm de long. Ces cils battent de façon rythmique environ 200 fois par minute et semblent ainsi participer au flux rostro-caudal du liquide céphalo-rachidien. A leur pôle basal,

les épendymocytes contactent une lame basale, celle d'un vaisseau ou un « labyrinthe de lame basale » situé à l'interface entre l'épendyme et le parenchyme de la zone subventriculaire (figure 1).

Ces caractéristiques topographiques et morphologiques semblaient bien, aux yeux de la plupart des neurobiologistes, définir un épithélium fort peu intégrable dans le schéma d'organisation de l'ectoderme nerveux.

Un certain nombre de données plaïdaient, pourtant, en faveur d'une telle intégration qu'un petit cercle de neurobiologistes avait proclamée en incluant les épendymocytes dans une large famille appelée « l'épendymoglie » [3, 4]. Les épendymocytes sont, tout d'abord, morphologiquement très semblables à diverses cel-

lules « de soutien » observées dans les tissus nerveux centraux et périphériques dans lesquelles on retrouve, en particulier la polarisation entre une face ciliée ou microvillositaire et un contact avec une lame basale. Les cellules de Müller de la rétine et les tanyocytes d'organes circumventriculaires font, par exemple, partie de ces cellules dont la nature « gliale » n'est pas mise en cause. Les épendymocytes contiennent, d'autre part, des protéines classiquement exprimées par des cellules du parenchyme nerveux : filaments intermédiaires formés de vimentine, présents dans les astrocytes immatures, la nestine et le récepteur Notch 1, deux protéines qui servent de marqueurs des progéniteurs neuronaux et gliaux dans les études développementales [5].

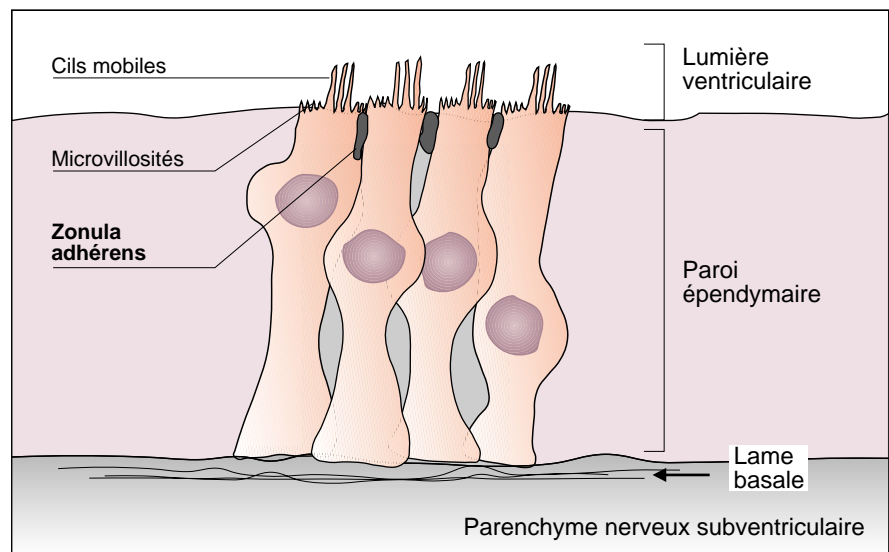


Figure 1. **Présentation très schématique de cellules de l'épendyme du ventricule latéral.** Les épendymocytes sont des cellules allongées entre la lumière ventriculaire (pôle apical) et une lame basale qui les sépare du parenchyme nerveux (pôle basal). Ils forment une couche cellulaire dans laquelle les cellules sont liées entre elles par des *zonulae adherens* et des jonctions *gap*. Le liquide céphalo-rachidien passe facilement entre elles, depuis la lumière ventriculaire jusqu'au parenchyme cérébral.

L'épendyme, réserve de progéniteurs neuronaux et gliaux

Jonas Frisen et son équipe apportent à ce débat un éclairage radicalement différent [1]. Tranchant le nœud gordien, ils font des épendymocytes non seulement des cellules du tissu nerveux central à part entière, mais même LA réserve de cellules souches neurales dans ce tissu, capables de produire des neurones dans les quelques situations dans lesquelles existe une prolifération à l'âge adulte, et des astrocytes d'une façon peut-être plus générale.

Pour réaliser cette démonstration chez le rat, les auteurs ont tout d'abord injecté dans un ventricule latéral un marqueur fluorescent (DiI) ou génique (grâce à un vecteur adénoviral recombinant pour le gène *lacZ* d'*E. coli*). Dans un premier temps, seuls les épendymocytes ont été marqués mais, secondairement, les marqueurs sont apparus dans la zone subventriculaire – site d'une intense prolifération connue des neurones à destinée olfactive [2] – puis dans le flux migratoire rostral et, enfin, dans le bulbe olfactif 10 jours plus tard.

On ne pouvait toutefois qualifier les cellules épendymaires de « cellules souches neurales » qu'après avoir prouvé, à l'échelon clonal, qu'elles expriment les propriétés cardinales des cellules souches, autorenouvellement et multipotence. Les auteurs ont tout d'abord prélevé la région ventriculaire six heures seulement après injection de DiI. Ayant dissocié les cellules, ils ont induit leur prolifération et analysé leur descendance en utilisant les techniques développées par diverses équipes pour obtenir des progéniteurs à partir de tissus nerveux adultes [6]. Près de 90 % des « sphères » de cellules indifférenciées ainsi obtenues étaient marquées par le DiI, donc d'origine épendymaire, et donnaient naissance à des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes. Des résultats équivalents ont été obtenus à partir de l'épendyme qui borde le canal central de la moelle épinière. Les auteurs ont ensuite confirmé que la descendance d'une fraction d'épendymocytes cultivés individuellement associait les

trois types cellulaires, neurones, astrocytes, et oligodendrocytes, mais aussi de nouvelles cellules multipotentes, preuve d'un certain degré d'autorenouvellement.

Un certain nombre de contrôles plus loin... les auteurs, enfin sûrs de pouvoir convaincre une communauté peu préparée à recevoir leur résultat, se sont attaqués à la caractérisation du phénomène prolifératif épendymaire. De nombreuses études ont dans le passé été réalisées chez l'adulte pour rechercher une prolifération neuronale ou gliale – à l'aide d'injections de thymidine tritiée ou de bromo-désoxy-uridine (BrdU) – sans jamais révéler celle des épendymocytes. Partant de cet échec répété, qui semblait au moins indiquer une occurrence rare des cellules en cycle, les auteurs ont réalisé un marquage au BrdU continu pendant deux à six semaines en l'ajoutant à l'eau de boisson. De cette façon, de nombreux épendymocytes ont été marqués, ainsi que des cellules de la zone subventriculaire, réparties en petits groupes évoquant la descendance d'une cellule souche unique. En laissant un intervalle d'une à deux semaines entre la fin de l'administration de BrdU et l'analyse, les auteurs se sont débarrassés de ces cellules subventriculaires alors que les épendymocytes restaient marqués. Ce résultat suggérait que le rythme de prolifération des premières était beaucoup plus élevé que celle des secondes, la perte du marquage étant lié à la dilution au cours des divisions.

La même expérience réalisée au niveau du canal central de la moelle épinière n'a pas donné le même résultat. Certes, un bon nombre d'épendymocytes étaient marqués par le BrdU après une administration prolongée mais, comme l'absence de zone subventriculaire le laissait prévoir, pratiquement aucune cellule n'était marquée hors de l'épendyme chez l'animal intact. En revanche, la réalisation d'une lésion traumatique spinale provoqua une intense prolifération et l'apparition d'une importante descendance astrocytaire. La migration de ces astrocytes formés à partir de l'épendyme a été strictement dirigée vers le site de la lésion.

Les épendymocytes sont-ils des cellules souches du système nerveux ?

L'analyse de l'orientation dans l'espace des divisions des épendymocytes, et l'absence de marquage de deux cellules épendymaires adjacentes suggèrent aux auteurs un processus de divisions asymétriques, à partir d'une cellule proliférant à bas bruit (l'épendymocyte), donnant naissance à une cellule fille capable, elle, d'une prolifération rapide. La descendance de cette cellule fille semble, toutefois, déterminée strictement en fonction de la localisation topographique de l'épendymocyte originel : en neurones olfactifs à partir de la paroi du ventricule latéral (et, par extension, peut-être en neurones du gyrus denté hippocampique à partir d'une région voisine), en astrocytes ailleurs lorsqu'une lésion est secondairement le site d'une cicatrice gliale (*figure 2*).

Il faut sans doute attendre les résultats des études visant à définir toutes les capacités de ces cellules progénitrices – qui ne manqueront pas d'arriver très vite – pour savoir si ce schéma est le bon. *In vitro*, la prolifération puis la différenciation forcées des épendymocytes, qu'ils proviennent du ventricule latéral ou du canal central de la moelle épinière, aboutissent à la naissance de cellules appartenant aux trois lignages du tissu nerveux central (neurones, astrocytes et oligodendrocytes). En sera-t-il de même *in vivo* ? Si cela était le cas, les épendymocytes acquerraient effectivement le statut de cellule souche du système nerveux central adulte, au sens où l'on utilise ces termes dans le système hématopoïétique du moins. Les résultats très récents de l'équipe d'Angelo Vescovi suggérant que des progéniteurs du système nerveux seraient capables de reconstituer le système hématopoïétique d'un receveur irradié [7], s'ils sont vérifiés, tendraient même à indiquer que la frontière entre les deux systèmes pourrait être beaucoup moins nette qu'il y paraît à première vue. Les épendymocytes pourraient ainsi être passés, en quelques semaines, du statut de « simples cellules épithéliales » à celui de « progé-

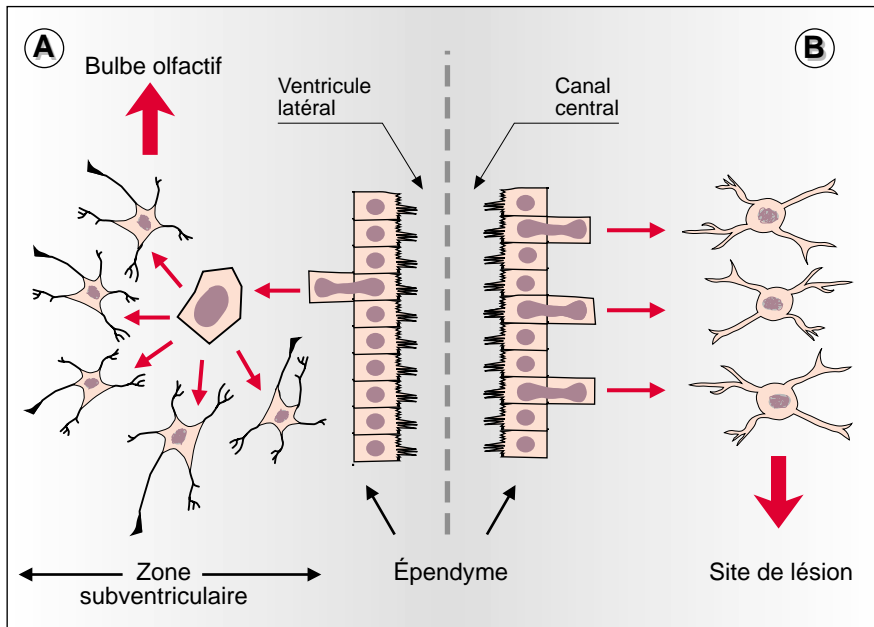


Figure 2. **Les épendymocytes sont des progéniteurs neuronaux et gliaux.** **A.** Au niveau de la paroi du ventricule latéral, la division asymétrique d'un épendymocyte donne naissance à une cellule fille qui prolifère activement dans la zone subventriculaire. La descendance finale est faite de neurones qui migrent vers le bulbe olfactif. **B.** Au niveau du canal central de la moelle épinière, la division asymétrique d'un épendymocyte ne donne pas de descendance identifiable chez l'animal intact. Lors d'une lésion traumatique de la moelle épinière, le rythme de prolifération s'accroît considérablement (50 fois) et celle-ci donne naissance à des astrocytes qui migrent massivement vers la zone de lésion.

niteurs neuronaux et gliaux » pour mieux se voir reconnaître demain « cellules souches du système nerveux adulte » et après-demain « cellules souches »... tout court !

M.P.

1. Johansson CB, Monna S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisen J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell* 1999; 96: 25-34.
2. Lledo PM, Carleton A, Desmaisons D, Salin PA, Vincent JD. Mémoire olfactive et migration neuronale chez l'adulte. *Med Sci* 1998; 14: 771-6.
3. Bruni JE, Del Bigio MR, Clattenburg RF. Ependyma: normal and pathological: a review of the literature. *Brain Res Rev* 1985; 9: 1-19.
4. Reichenbach A, Robinson SR. Ependymoglia and ependymoglia-like cells. In: Kettenman H, Ransom BR, Neuroglia, Oxford Univ Press, New York, 1995; 58-84.
5. Doetsch F, Garcia-Verda V, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and tridimensional organization of the subventricular germinal zone in the mammalian brain. *J Neurosci* 1997; 17: 5046-61.
6. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian nervous system. *Science* 1992; 255: 1707-10.
7. Bjornson CRR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. *Science* 1999; 283: 534-7.

BRÈVES

■■■ Pourquoi l'espèce humaine n'est-elle pas éteinte ? C'est la question posée par les résultats de Eyre Walker et Keightley (Bristol et Édimbourg, GB) concernant le taux par génération de mutations délétères dans l'espèce humaine et chez les primates les plus proches, les chimpanzés et les gorilles [1]. Il est relativement facile d'estimer le taux de mutation global du génome, touchant l'ensemble des régions codantes et non codantes: le nombre énorme de 100 nouvelles mutations par individu a été calculé. C'est sur le taux de mutation dans les séquences codantes pour des protéines que les chercheurs britanniques se sont concentrés. Ils ont mesuré dans 46 protéines les mutations d'acides aminés apparues depuis la séparation d'avec le chimpanzé. Ils ont

trouvé 143 substitutions non synonymes : 231 étaient attendues si elles s'étaient produites au même rythme que les mutations neutres. Les mutations délétères ont donc été éliminées à la hauteur de 40 % et n'ont pas été transmises dans le génome. On peut calculer, à partir de ces résultats, que 4,2 mutations environ surviennent par personne et par génération, dont 1,6 sont délétères. Des rythmes de mutation extrêmement voisins ont été trouvés chez le chimpanzé et le gorille. Ce nombre de 1,6 est sans doute sous-estimé car les mutations survenant en dehors des séquences codantes mais susceptibles d'entraîner une altération de la régulation de l'expression n'ont pas été prises en compte, et James Crow (Madison, WI, USA) avance le nombre de 3 mutations délétères par

personne et par génération [2]. Cela est énorme, comment n'avons-nous pas disparu ? C'est, bien sûr, grâce à la recombinaison génétique qui caractérise la reproduction sexuée. Les mutations peuvent être éliminées à ce stade de la reproduction, à condition que la consanguinité soit évitée. Peut-on envisager que le tabou de l'inceste, répandu sur la terre entière, ait été sélectionné (plus que décrété) pour empêcher trop de mutations délétères ? Pour être si général, il doit venir de très loin... au moins depuis la naissance d'*Homo sapiens*. Existe-t-il aussi chez les primates (dans la vie sauvage) ?

- [1. Eyre-Walker A, Keightley PD. *Nature* 1999; 397: 344-7.]
- [2. Crow JF. *Nature* 1999; 397: 293-4.]