

Ontogenèse du système nerveux

- I. Neurogenèse
- II. migration des neurones
- III. croissance axonale
- IV. formation des synapses
- V. Remodelage des connexions

Introduction

- Fortes progressions des connaissances en recherche fondamentale concernant le développement du système nerveux ces vingt dernières années.
- Ces progressions ont été possibles sur animaux modèles d'embryologie et de génétique moléculaire.
- L'objectif de ces recherches est à terme, de pouvoir soigner des maladies neurodégénératives, en fortes progressions du fait du vieillissement de la population.

I. Mécanismes de la neurogenèse

- 1.1. Neurulation chez l'homme
- 1.2. Données de l'embryologie expérimentale chez l'amphibien
- 1.3. Rôle des facteurs BMP et FGF dans le déterminisme cellulaire.
- 1.4. Rôle des facteur bHLH dans la neurogenèse
- 1.5. Restriction de la neurogenèse par inhibition latérale
- 1.6. Mécanismes moléculaires de la neurogenèse
- 1.7. Organisation de la polarisation dorso-ventral du SN
- 1.8. Mécanismes de la différenciation des cellules du SN

Neurulation chez l'homme

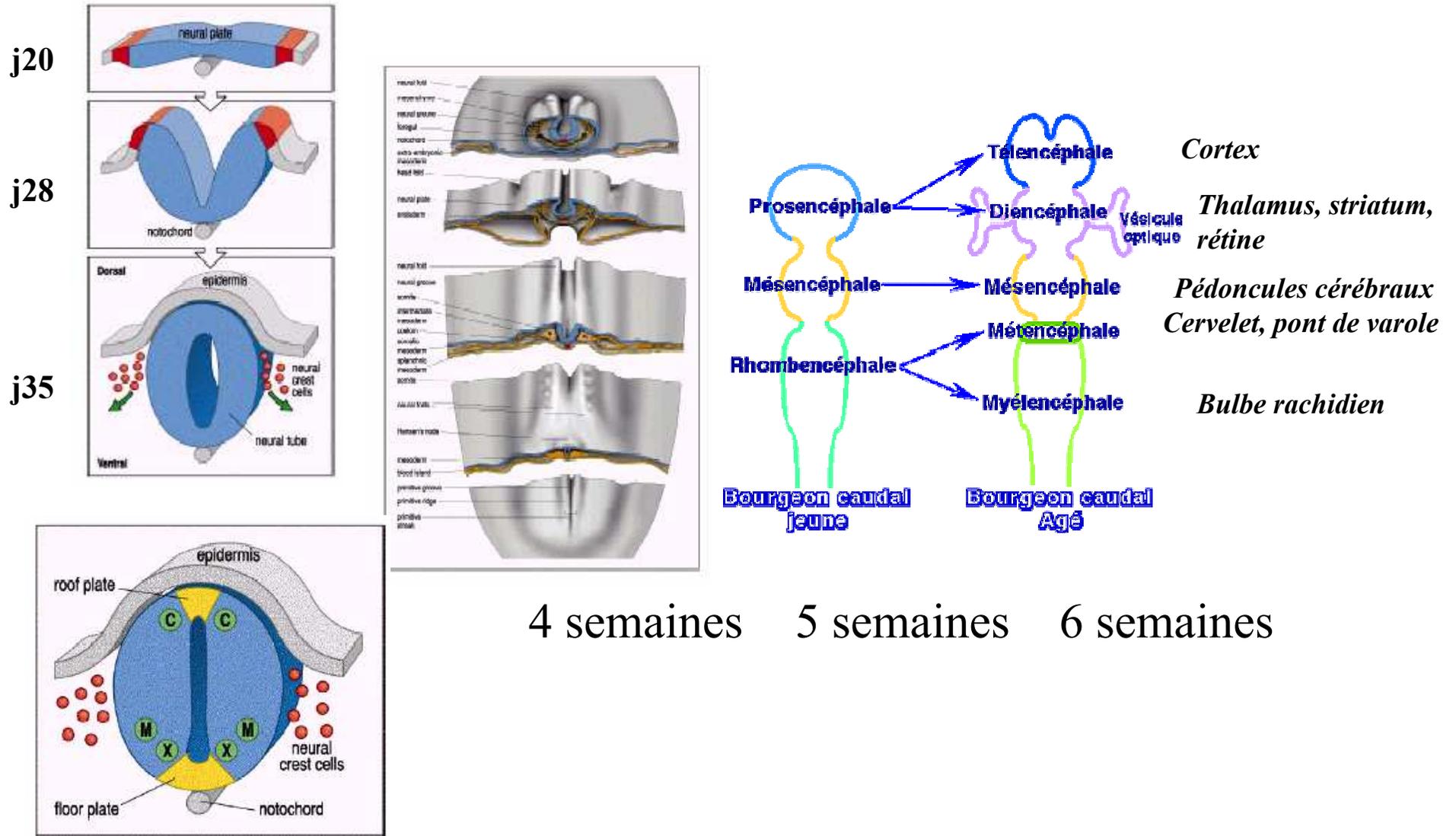


fig1

Formation initiale du système nerveux

- Avant la différenciation neuronale proprement dite le tissu nerveux humain embryonnaire s'organise successivement en:
 - Plaque neurale (j20),
 - Gouttière neurale (j28),
 - Tube neurale (j35)
- A la 5^{ème} semaine, le tube nerveux possède trois vésicules primitives.
- A la fin de la 6^{ème} semaine les 5 vésicules qui sont à l'origine de la structuration du futur système nerveux sont formées.

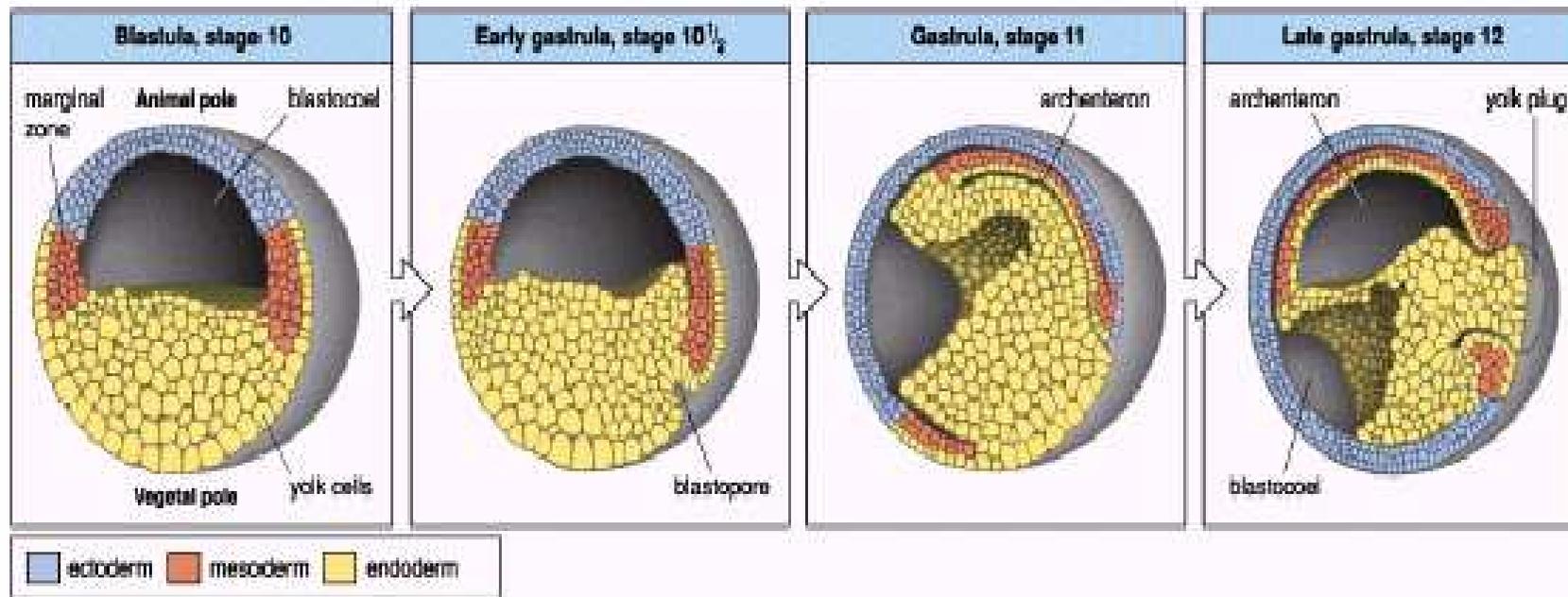
Induction neuronale en embryologie expérimentale chez le xénope et le poulet

- Les expériences de Spemann et Mangold chez le triton en 1924 ont mis en évidence:
 - Un organisateur à l'origine de l'induction du tissu nerveux.
 - Cet organisateur est localisé dans la zone marginale dorsale.
 - L'ectoderme ventral est aussi compétent pour former du tissu nerveux en début et non à la fin de la gastrulation.
- Le nœud de Hensen est l'organisateur chez les oiseaux.
- Spemann: Prix Nobel en 1935 pour découverte de l'embryogenèse

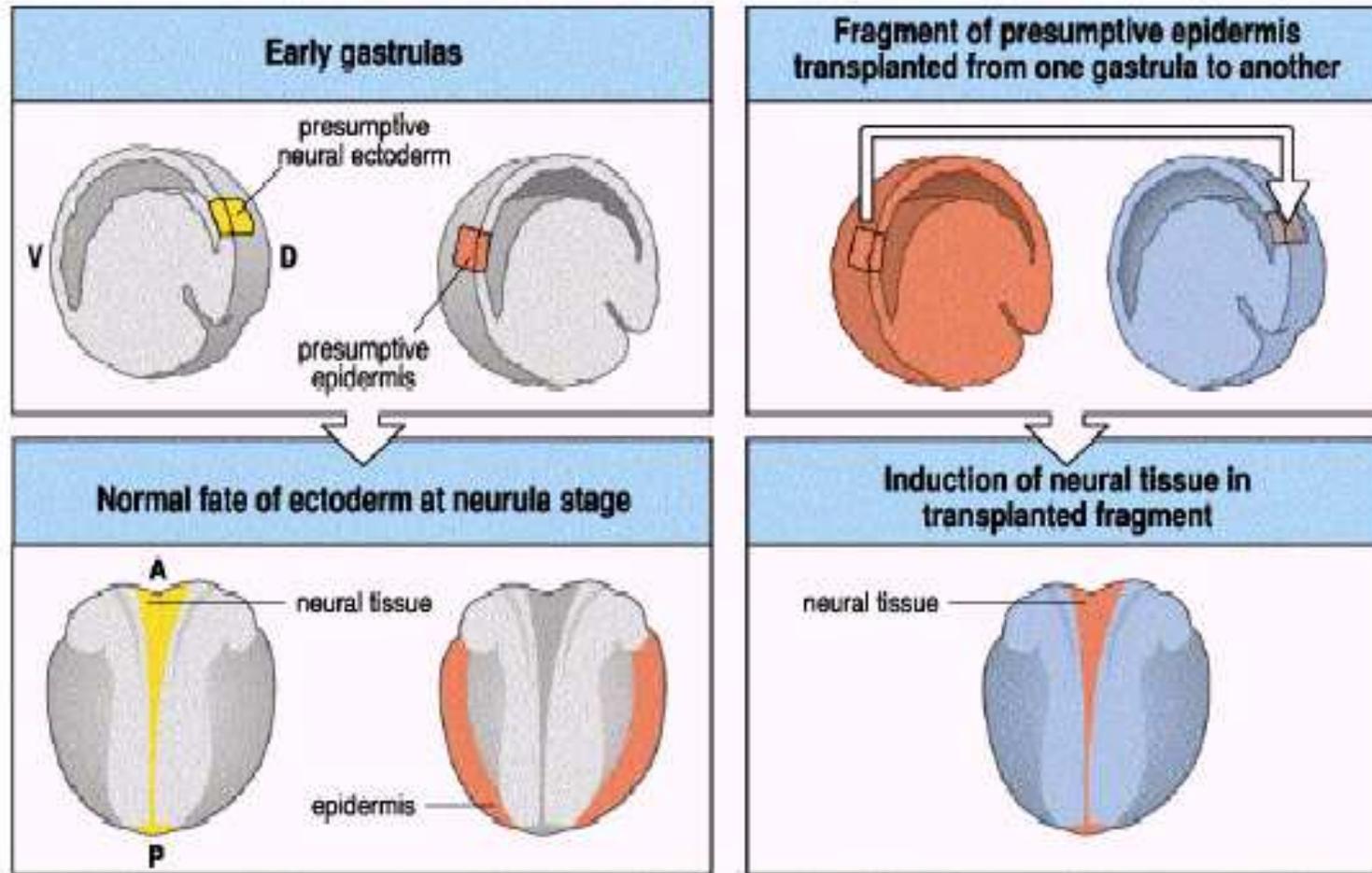
Induction neuronale en embryologie expérimentale chez le xénope et le poulet

- Les expériences de Spemann et Mangold chez le triton en 1924 ont mis en évidence:
 - Un organisateur à l'origine de l'induction du tissu nerveux.
 - Cet organisateur est localisé dans la zone marginale dorsale.
 - L'ectoderme ventral est aussi compétent pour former du tissu nerveux en début et non à la fin de la gastrulation.
- Le nœud de Hensen est l'organisateur chez les oiseaux.
- Spemann: Prix Nobel en 1935 pour découverte de l'embryogenèse

Neurulation chez le xénope



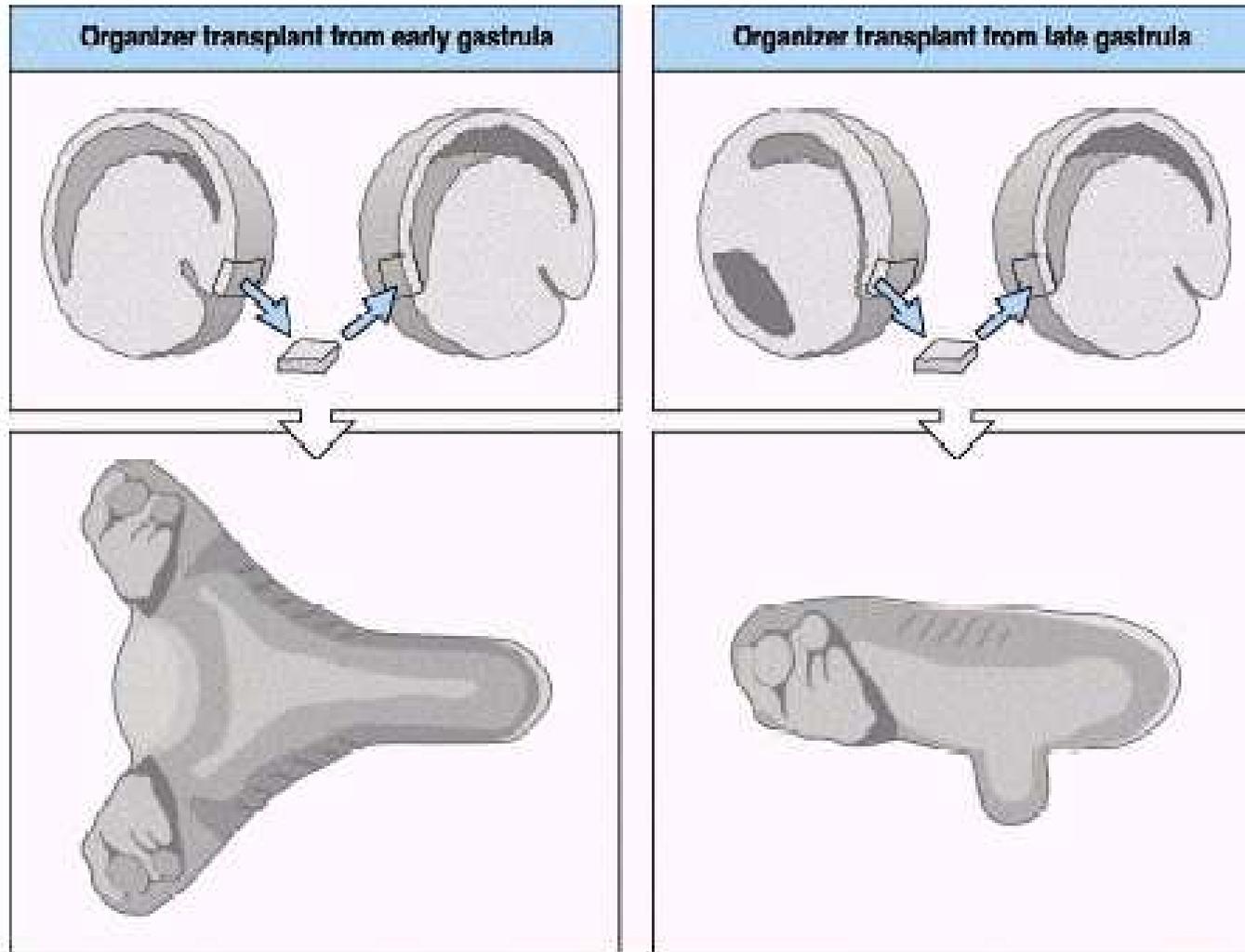
Compétence de l'ectoderme dorsal et ventral



Coloration

Grefe

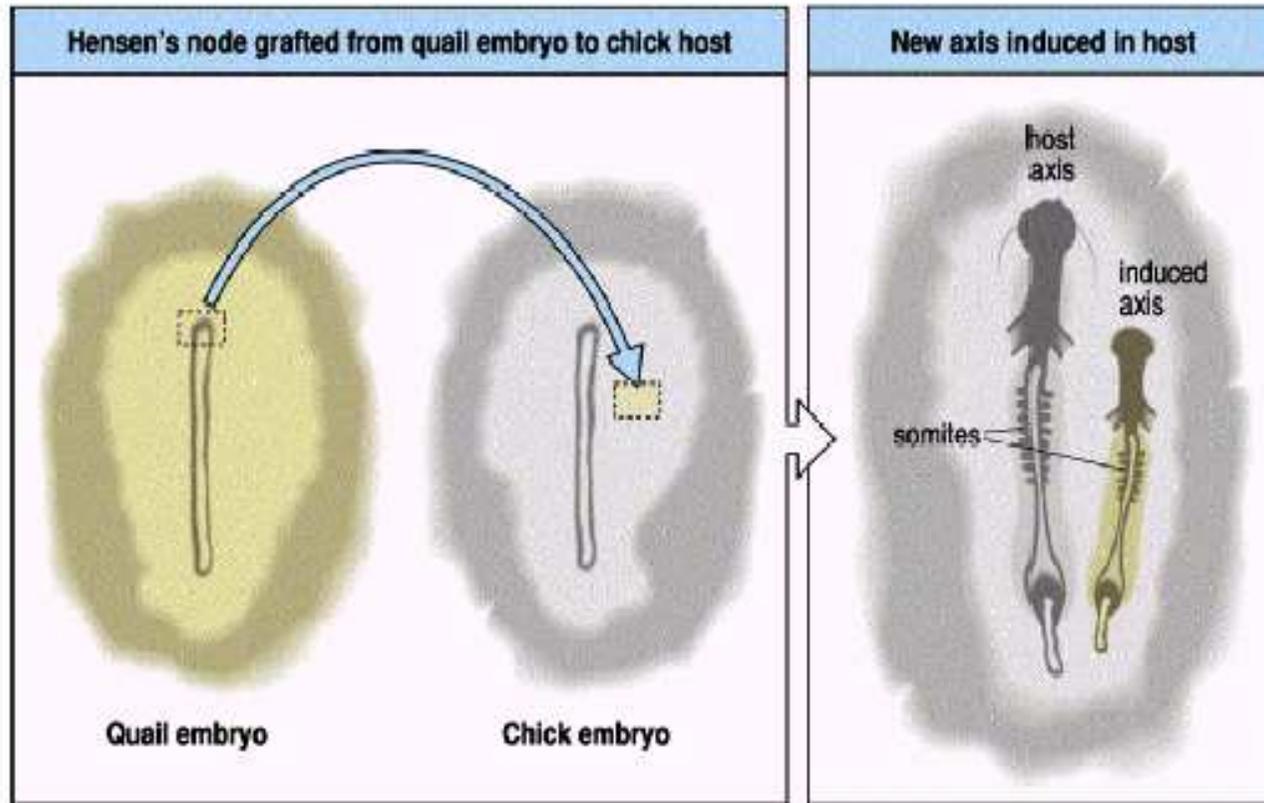
Mise en évidence de l'organisateur chez l'amphibien



Greffes

Mise en évidence de l'organisateur chez l'oiseau

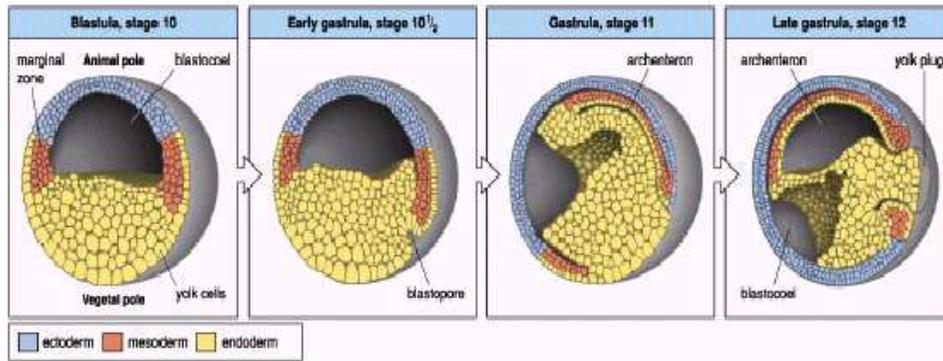
In chick, node is equivalent to frog organizer



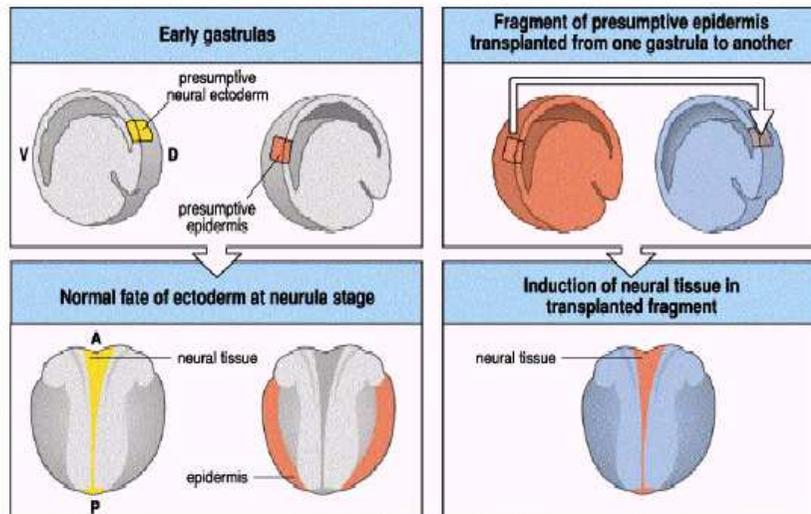
Greffes

Induction neuronale en embryologie expérimentale chez le xénope et le poulet

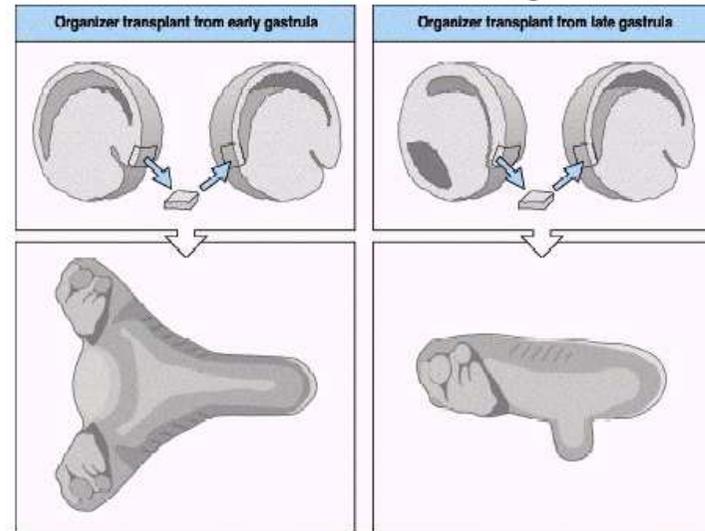
A: Neurulation chez le xénope



B: Compétence de l'ectoderme dorsal et ventral

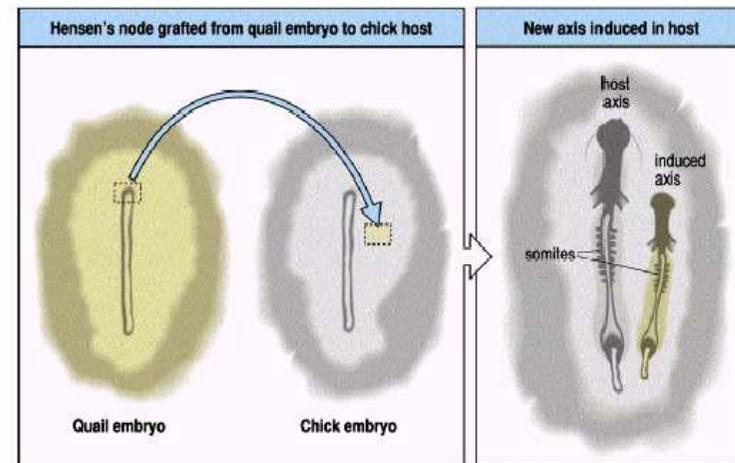


C: Mise en évidence de l'organisateur

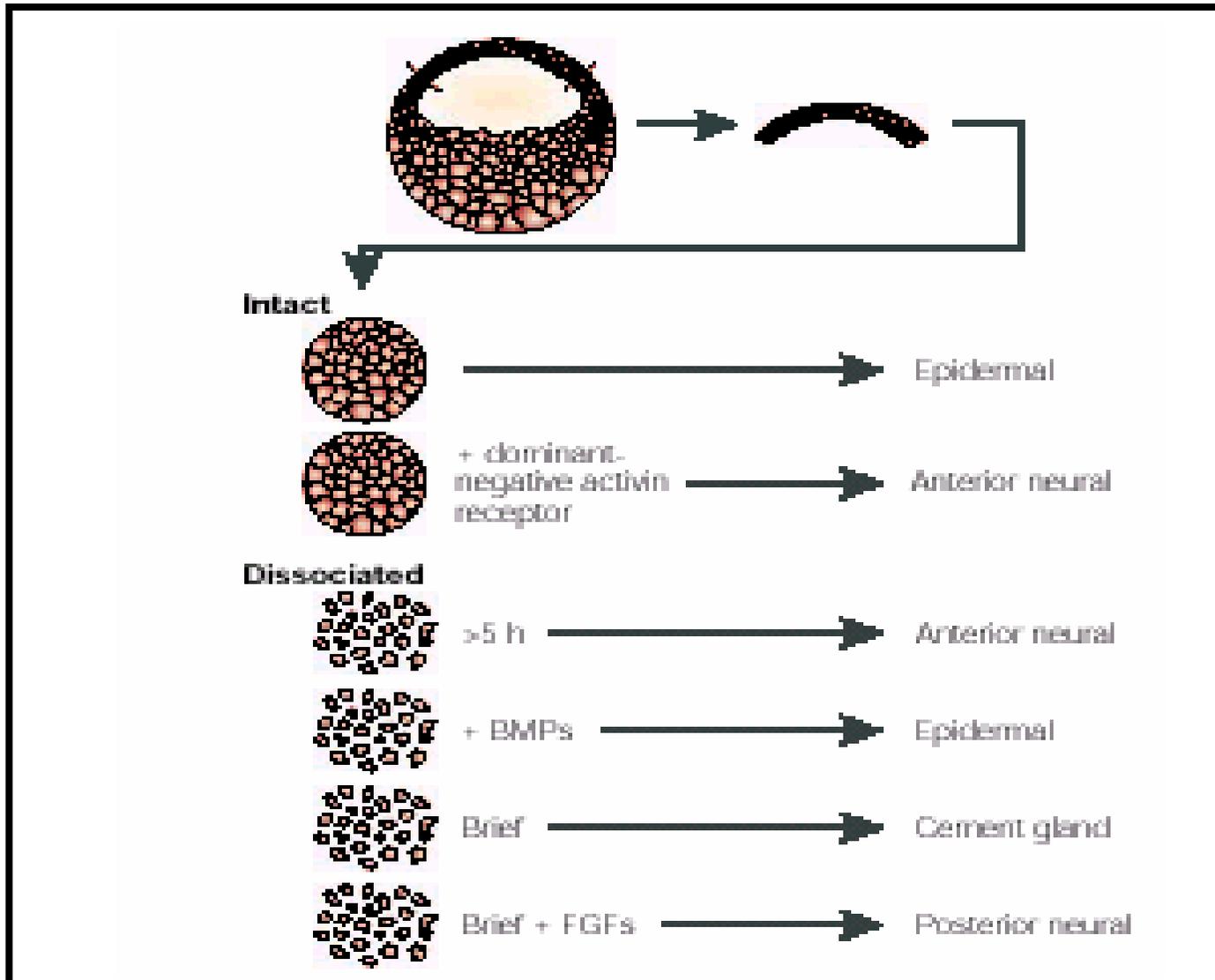


D

In chick, node is equivalent to frog organizer



Rôle des facteurs BMP et FGF dans la détermination cellulaire chez le xénope



Rôle de BMP et FGF chez le xénope

- Le facteur BMP excrété par les cellules ectodermiques induit la formation de tissu épidermique.
- L'excrétion des facteurs « inducteurs neuraux » (noggin, chordin, follistatin, cereberus et Xnr3) par l'organisateur de Spemman inhibe l'action du BMP.
- Le facteur FGF intervient dans l'induction du tissu nerveux postérieur.
- Conclusion: l'induction neurale est programmée par défaut.

Rôle de BMP et FGF chez d'autres vertébrés

- **Chez le poulet:**

- l'action du BMP est également une induction de l'épiderme.
- Le FGF inhibe la transcription des ARM_m codant pour le facteur BMP et est le mécanisme prépondérant de l'induction neural.
- Les facteurs wnts en inhibant l'action du FGF, favorise l'action épidermalisante du BMP.

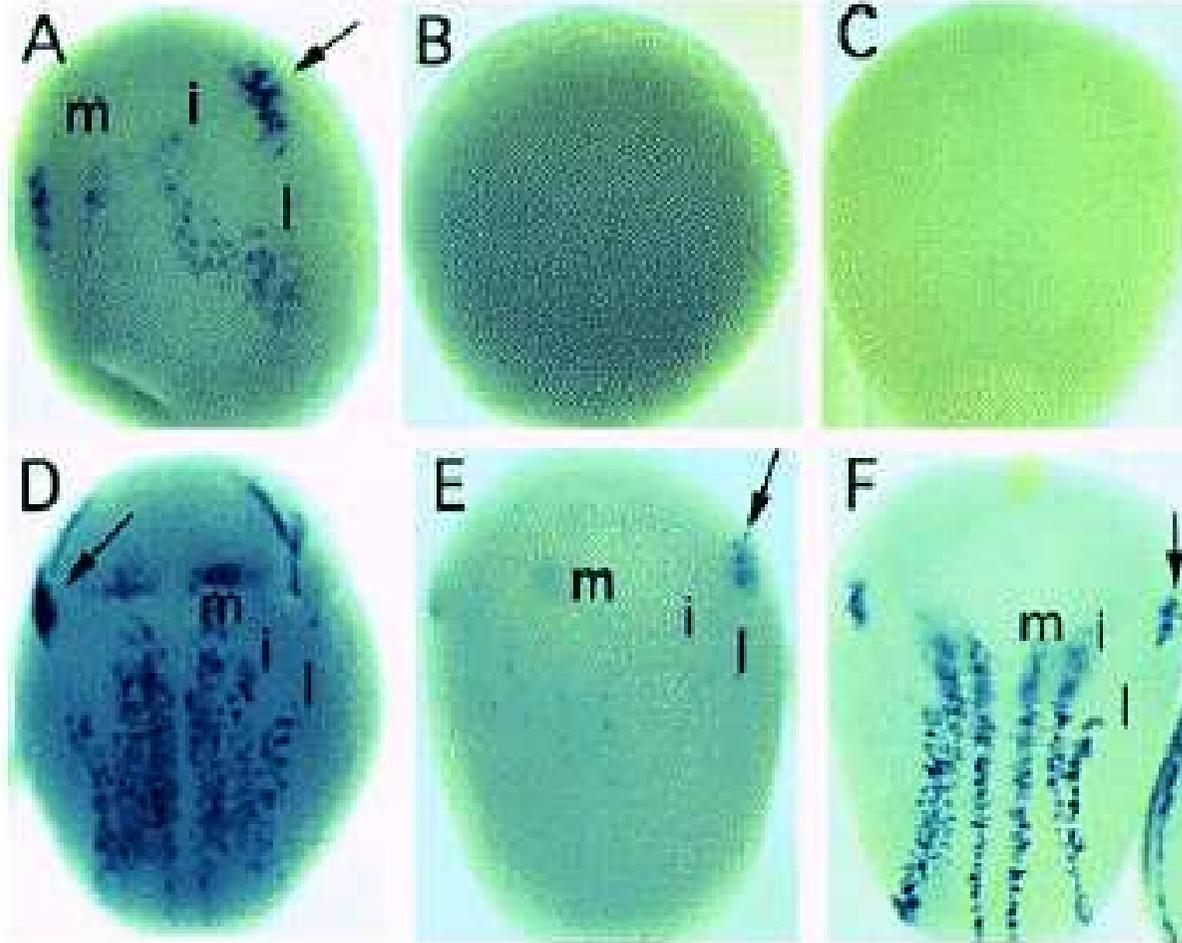
- **Dans les cellules souches de souris:**

- la différenciation neuronale *in vitro*, se fait aussi par défaut et peut être inhibée par le facteur BMP.

Expression de la neurogénine, NeuroD et neuro- β -tubuline au cours du développement embryonnaire du xénope

1) A,B,C: stade fin gastrula

4) A,D: expression de la neurogénine



2) D, E: plaque neural

3) F:gouttière neurale

5) B, E: expression de la neuroD

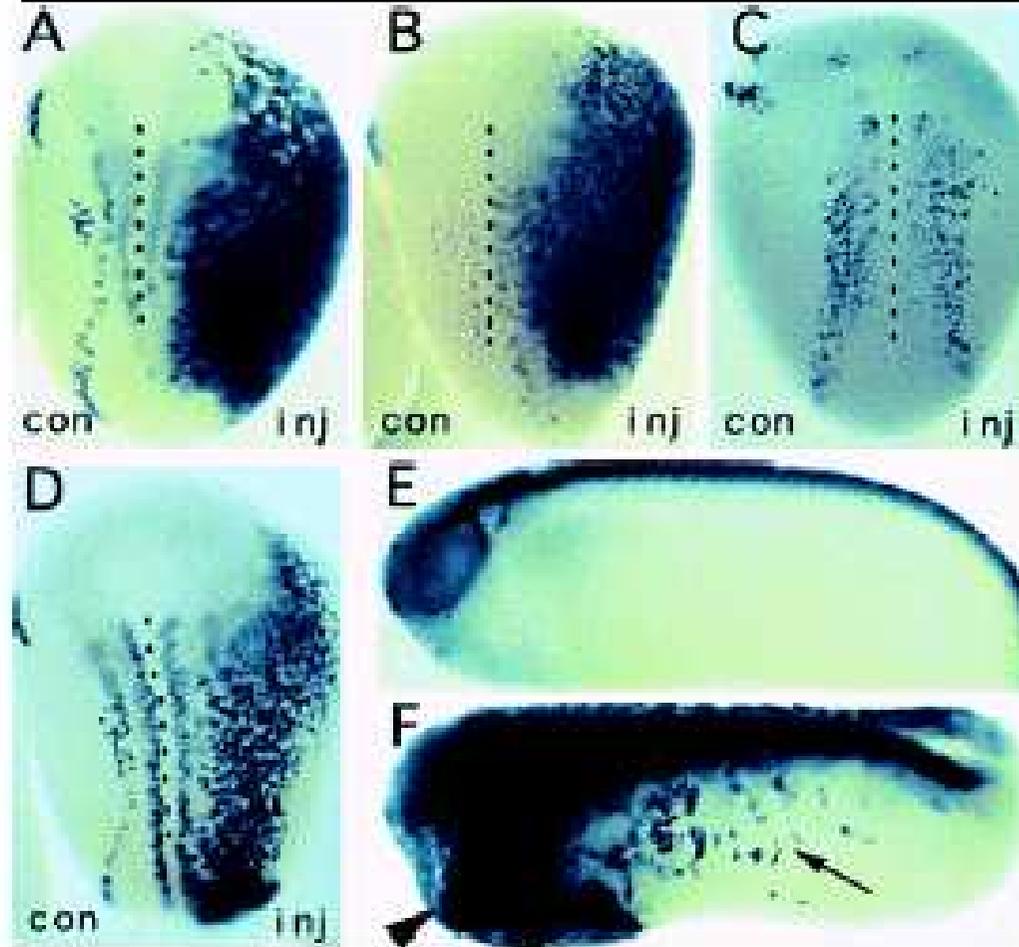
6) C, F: expression de la neuro- β -tubuline

Expression des facteurs de transcription (neurogénine, NeuroD) et marqueurs neuraux (neuro- β -tubuline) au cours du développement embryonnaire du xénope

- Neurogénine: fin gastrula
- NeuroD Plaque neurale
- Neuro- β -tubuline Gouttière neurale
- Ces messagers sont exprimés dans des cellules organisées en trois bandes longitudinales symétriques.

Effet de surexpression des facteurs bHLH chez le xénope.

1) A,B,C, D: stade gouttière neurale



2) E, F: stade bourgeon caudal

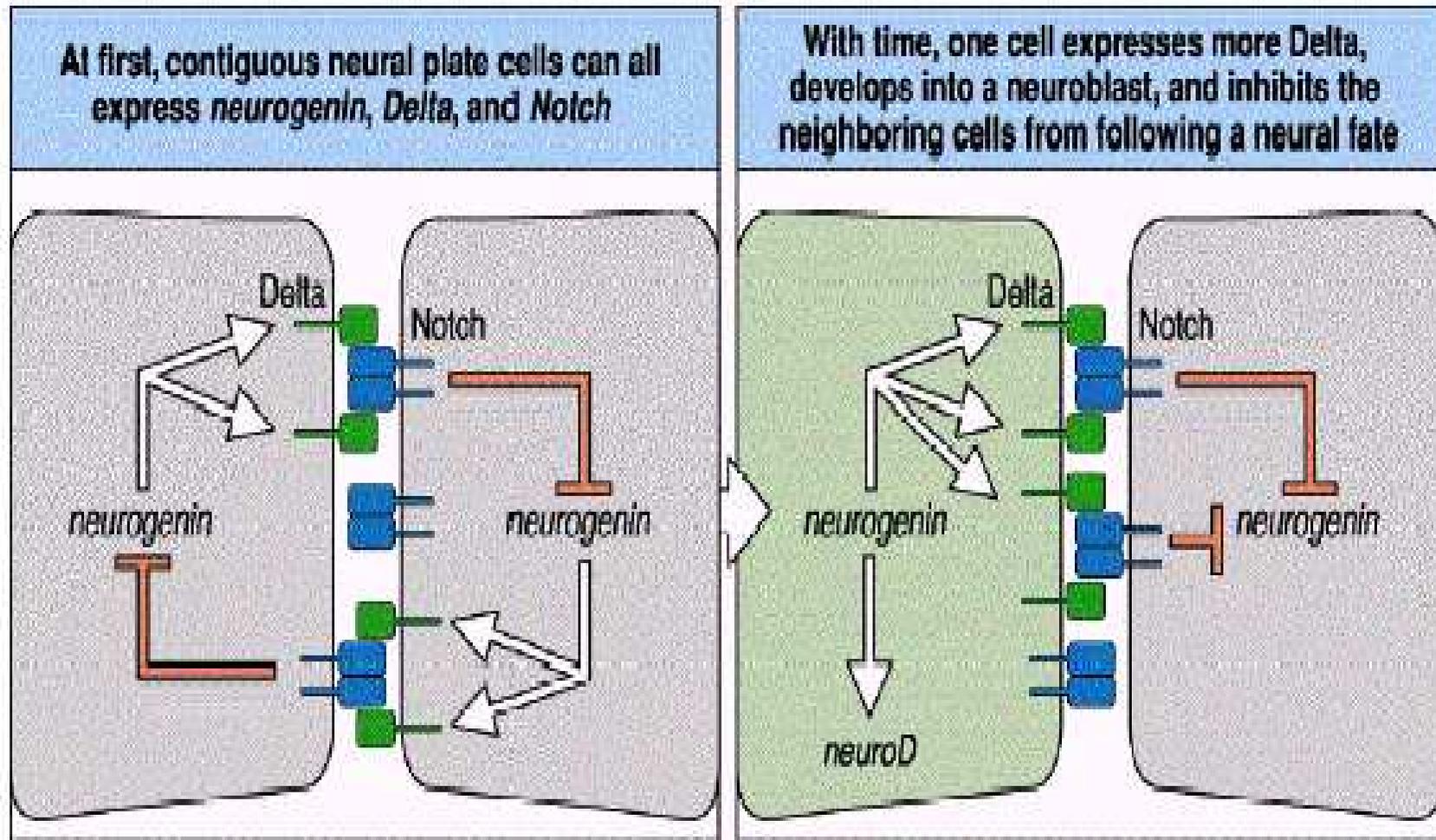
3) Injection: A, B, F neurogénine; C, D neuro D; E lac Z.

4) Expression: A, D, F, Neuro- β -tubuline; B neuro D; C neurogénine.

Effet de surexpression des facteurs bHLH chez le xénope.

- L'injection de messagers codant la neurogénine dans un des blastomères au stade 2 cellules (A, B et F) se traduit par:
 - une abondance de messagers neuro- β -tubuline (A, F) et neuroD (B) dans les cellules embryonnaires du côté injecté de l'embryon comparé au côté contrôle non injecté.
 - une **différenciation ectopique de neurone** au stade bourgeon caudal.
- L'injection de messagers codant la neuroD dans un des blastomères au stade 2 cellules (C et D) se traduit par:
 - une abondance de messagers neuro- β -tubuline (D) dans les cellules embryonnaires du côté injecté de l'embryon comparé au côté contrôle non injecté.
 - une absence de modification des niveaux d'expression de la neurogénine endogène.

Mécanisme d'inhibition latérale chez les vertébrés

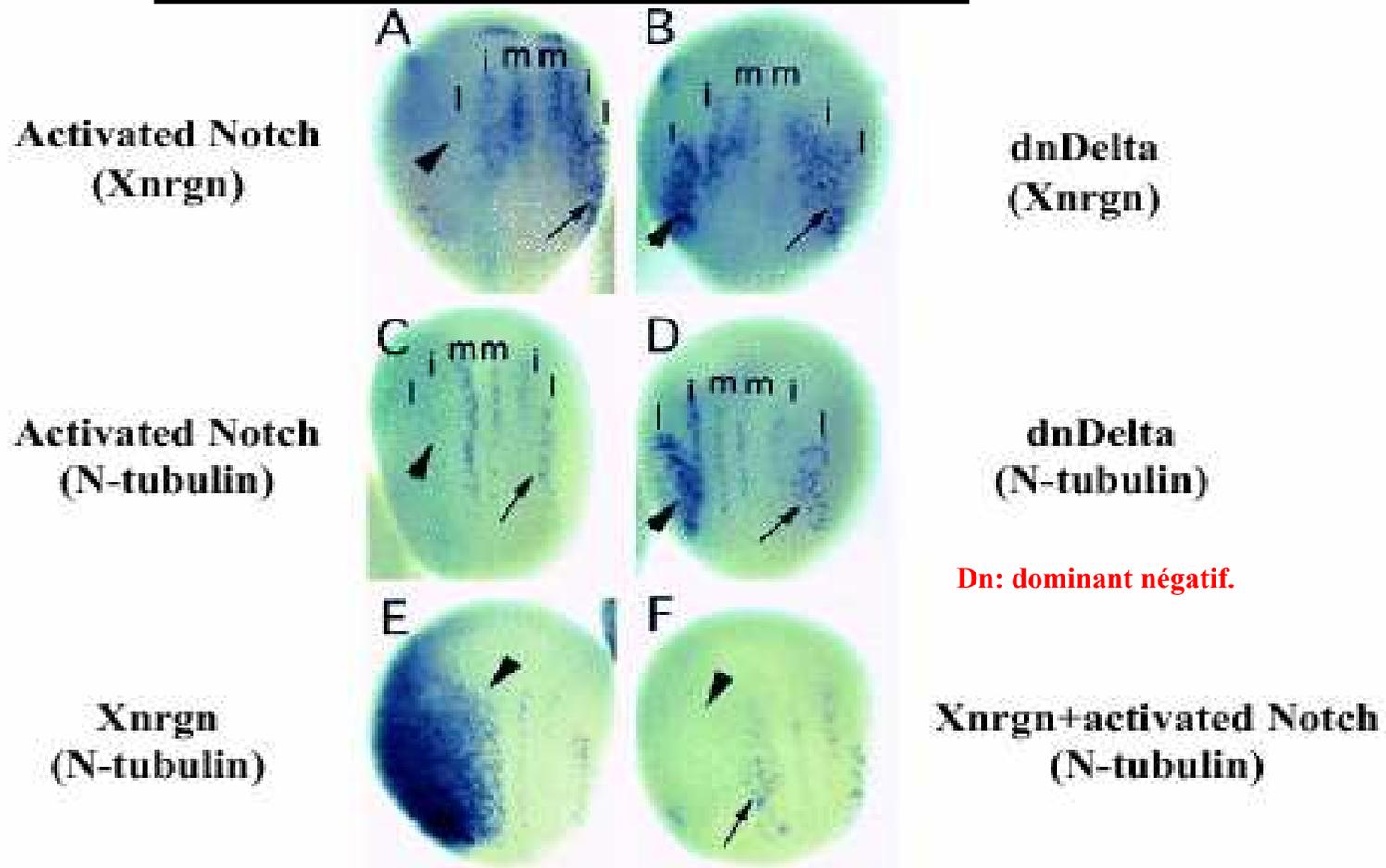


Mécanisme d'inhibition latérale chez les vertébrés

- Ce mécanisme a été initialement découvert chez la drosophile puis validé chez le xénope et le poulet.
- Notch provient d'un mutant de drosophile caractérisé par le fait que ces mutants hétérozygotes possèdent des encoches sur les ailes. Une étude de la fonction de ce gène a montré que la protéine notch est un récepteur dont l'activation conduit à la répression de la neurogénine ainsi que de son action.
- En début de gastrulation toutes les cellules de la plaque possèdent la même quantité de delta (ligand de notch) et donc une activation de notch similaire.

Mécanisme de restriction de la neurogenèse

1) A,B,C, D, E, F: stades gouttière neurale



2) Inj./non-inj

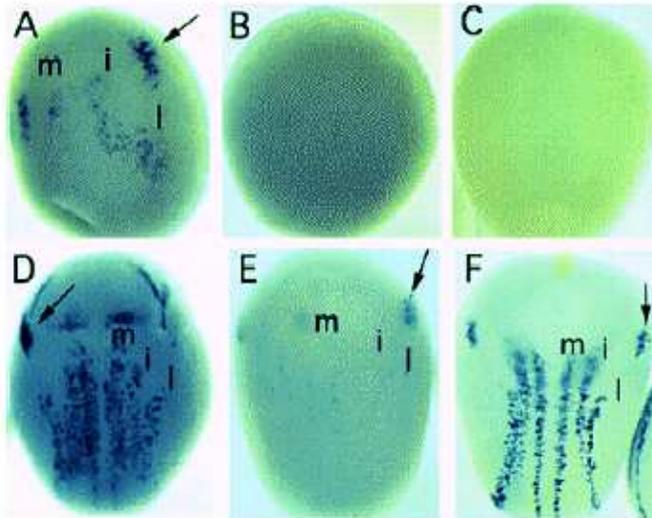
Inj./non-inj

2) Flèche: contrôle non injecté
Tête de flèche côté injecté.

Mécanisme de restriction de la neurogenèse

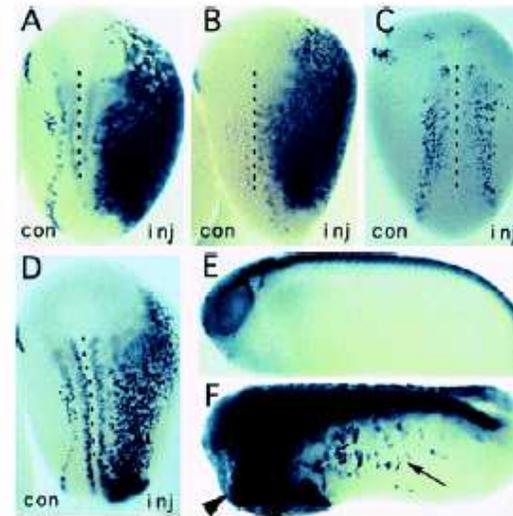
- L'injection d'une forme activée de **notch** entraîne une **réduction** des messagers de neurogénine (A) et neuro- β -tubuline (C) du côté injecté uniquement.
- L'injection d'un **dominant négatif de delta** entraîne une **abondance** des messagers de neurogénine et neuro- β -tubuline du coté injecté.
-
- L'injection de neurogénine entraîne une **abondance** de messagers de neuro- β -tubuline (E) du côté injecté uniquement. Cette abondance peut-être inhibée par une co-injection de la forme activée de notch (F).

I: Neurogenèse chez le xénope



Stade: A,B,C fin gastrula; D,E plaque neural; F gouttière neural. **Expression:** A,D Neurogenine; B,E NeuroD; F N-tubuline

II: Neurogenèse ectopique

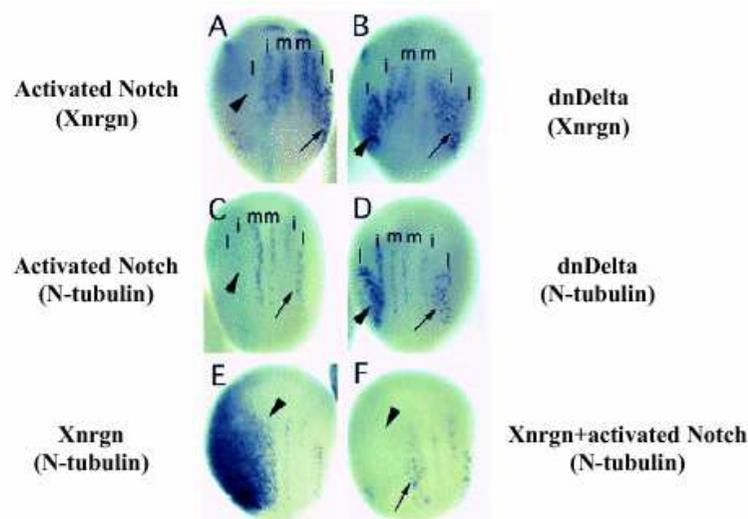


Stade: A-D gouttière neural; E,F bourgeon caudal;

Injection: A, B neurogénine; C, D Neuro D; E lac Z; F neurogénine.

Expression: A,D N-tubuline; B NeuroD; C neurogénine.

III: Mécanisme de restriction de la neurogenèse



Stade: A..F gouttière neurale.

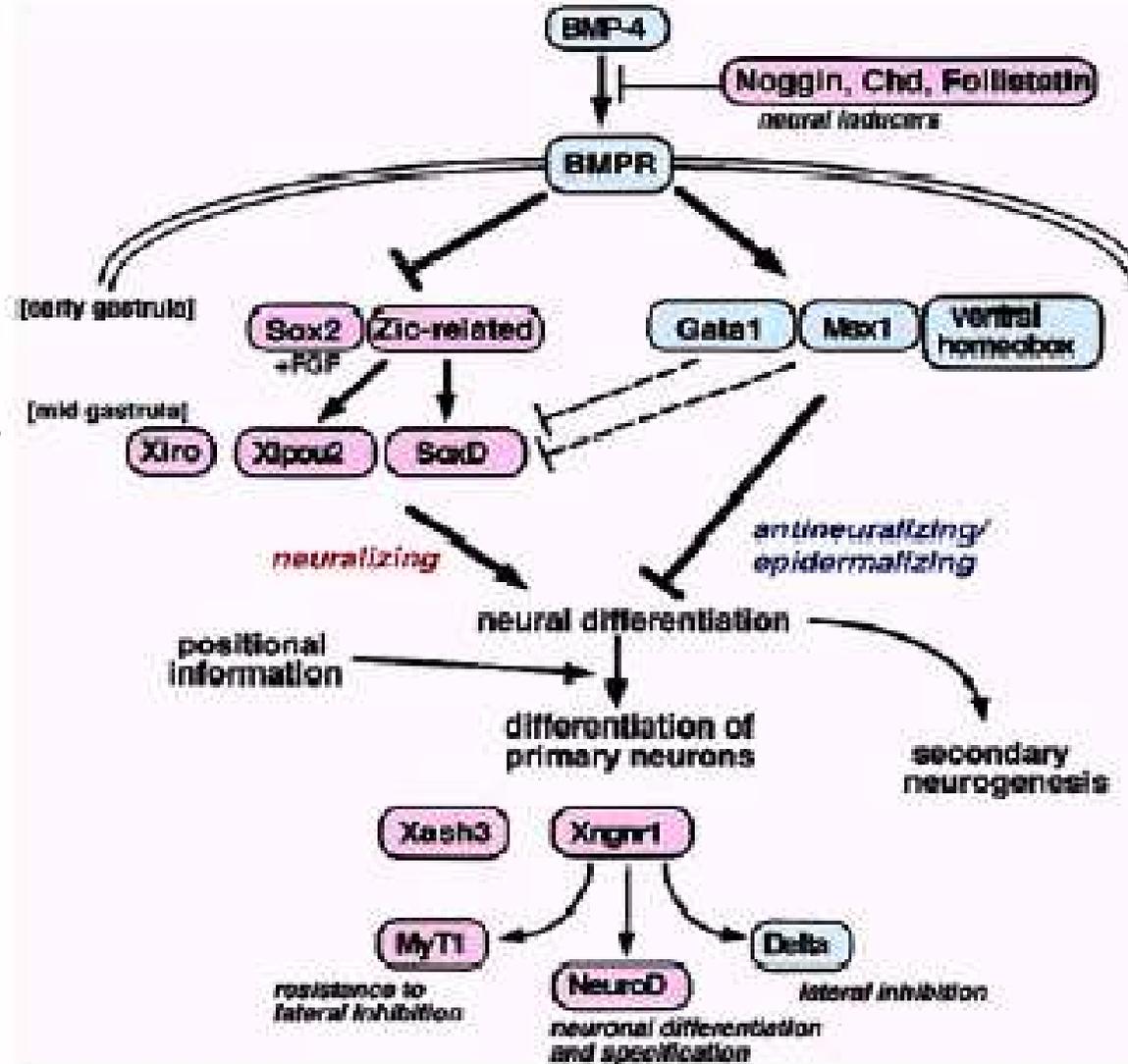
Flèche: contrôle non injecté; Tête de flèche côté injecté.

Dn: dominant négatif.

Mécanismes moléculaires de la neurogenèse

Facteurs neurogéniques

Facteurs neuralysants

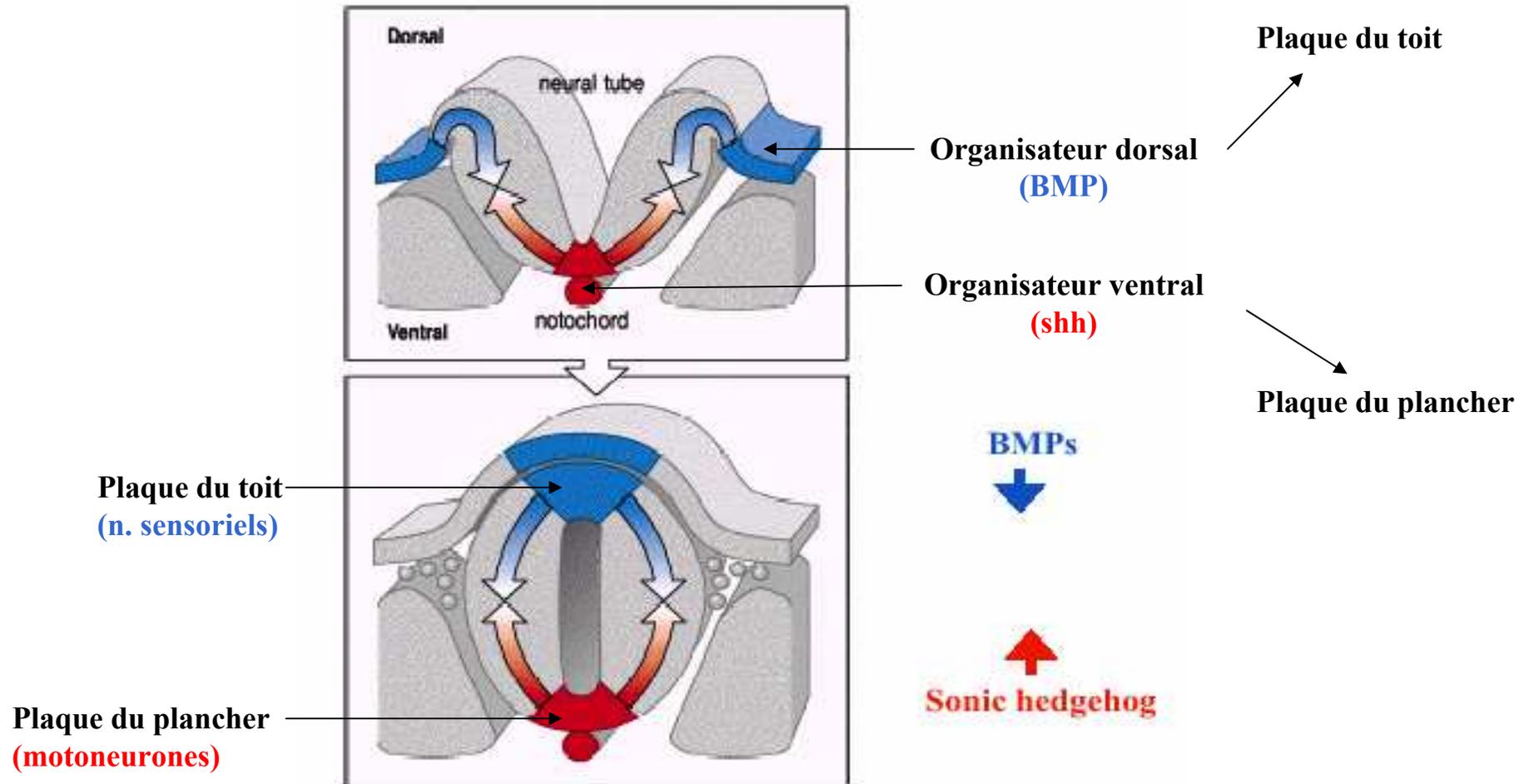


Inducteurs neuraux

Mécanisme de la neurogenèse

- L'activation des R-BMP entraîne:
 - Une inhibition de l'expression des gènes neurogéniques (Zic-related en début de gastrula et soxD en fin de gastrula).
 - Une activation de l'expression des gènes épidermalysants (gata1, max1...).
 - Les gènes épidermalysants inhibent l'expression des gènes neuralysants (neurogénine, neuroD...) en fin de gastrulation.
- Les inducteurs neuraux en antagonisant l'action des BMP en début de gastrulation, favorisent l'expression par défaut des gènes neurogéniques et neuraux.
- Une propriété des gènes neuralysants est que leur surexpression entraîne une différenciation neuronale ectopique contrairement aux gènes neurogéniques.
- Les précurseurs neuraux exprimant Myt1 et neuroD sont résistants à l'inhibition latérale. NeuroD est un facteur de spécification et de différenciation neuronale.

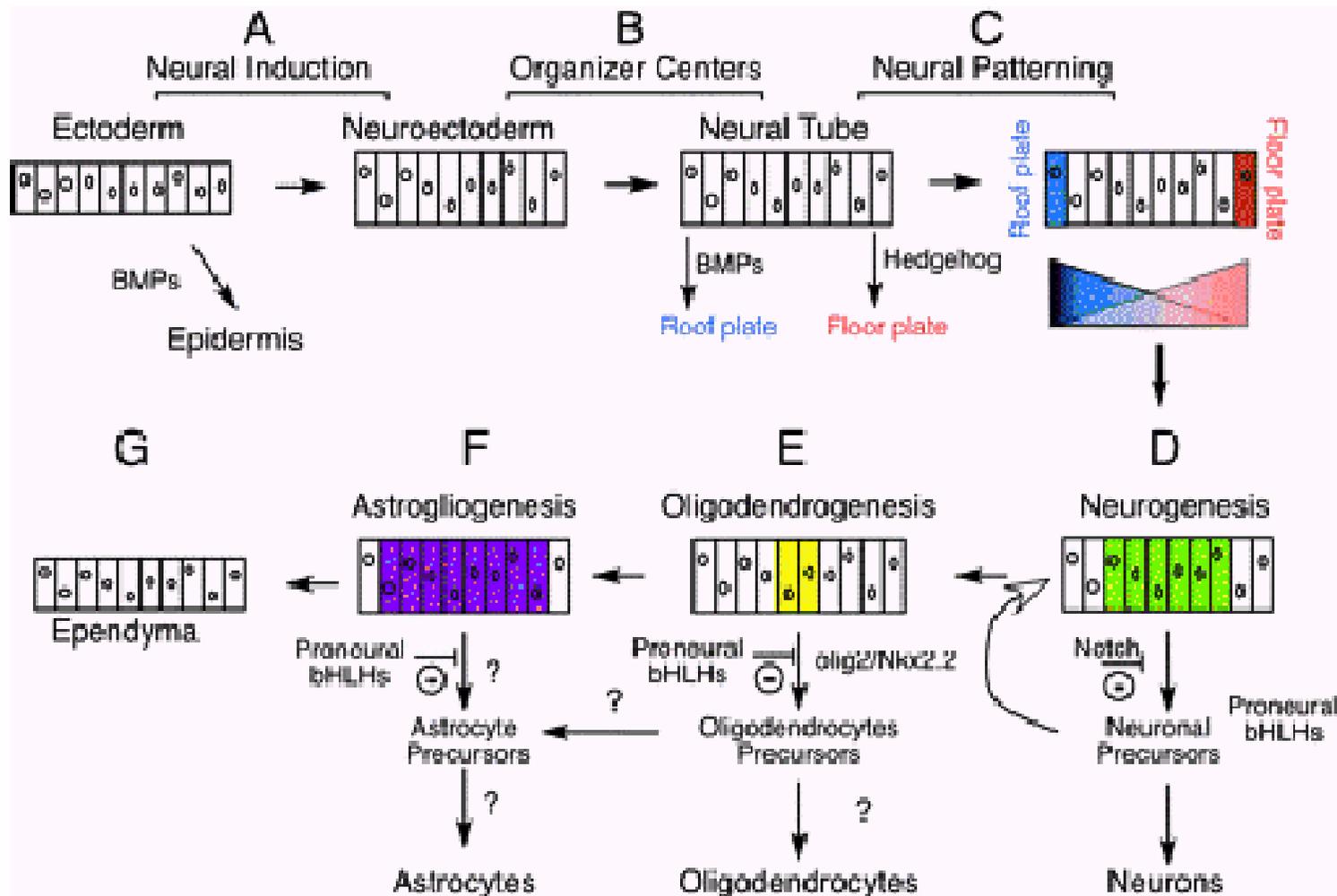
Centres organisateurs de la polarité dorso-ventrale du SN



Polarisation dorso-ventrale du SN

- Cette organisation a été bien étudiée chez le xénope et le poulet au niveau du développement la moelle épinière (1991-1997). Les résultats ont ensuite été confirmés chez le poisson zèbre et la souris.
- La moelle épinière chez un individu a pour fonction principale l'intégration des messages sensoriels et l'exécution des commandes motrices.
- Ectoderme riche en BMP va induire la formation de la plaque du toit du tube nerveux qui va ensuite induire la différenciation des cellules sensorielles.
- Le mésoderme axiale riche en sonic hedgehog va induire la formation de la plaque du plancher qui va induire la formation des motoneurones.
- Sonic hedgehog (shh) est un analogue de hedgehog (« hérisson ») de drosophile (mutant ayant de nombreux poils). La protéine est excrétée dans le milieu extracellulaire ou la partie N-terminale clivée devient active.

Mécanismes de la différenciation des cellules du SN



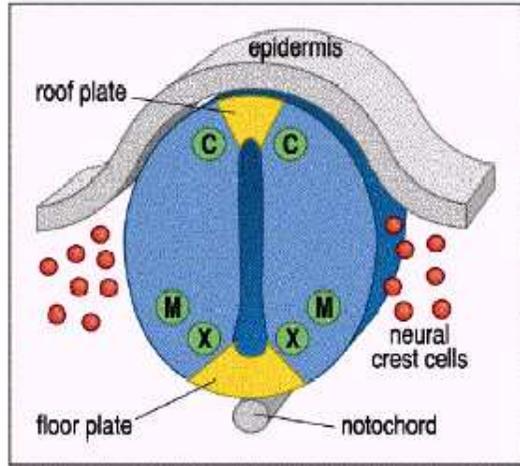
Mécanismes de la différenciation des cellules du SN

- Au cours du développement de l'embryon, les inducteurs neuraux produits par les organisateurs (spemann chez le Xénope et nœud de Hensen chez le poulet) vont permettre formation du neurectoderme au moment de la neurulation.
- Les centres organisateurs constitués par l'ectoderme à la périphérie du neurectoderme et le mésoderme axial vont induire la formation des plaques (toit et plancher) du tube neural.
- La neurogenèse primaire qui a lieu après la formation du tube nerveux est conditionnée par l'expression des facteurs bHLH (neurogénine et neuro). Le nombre de neurones primaires est régulé par le système notch-delta.
- Les cellules du tube nerveux ayant un faible taux de facteurs bHLH et qui expriment les facteurs de transcription olig2 ou nkx2.2 vont se différencier en oligodendrocytes. Les mécanismes de différenciation des astrocytes et des cellules épendymaires sont méconnus à l'heure actuelle.

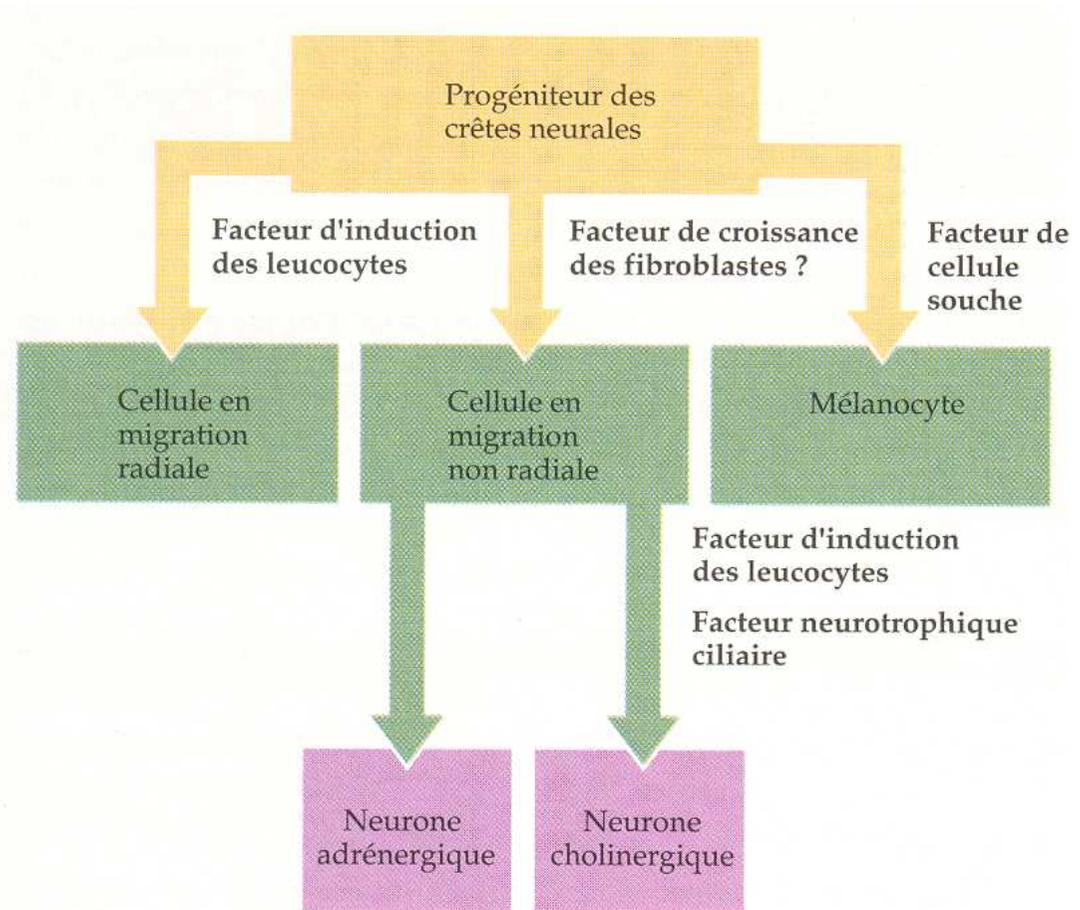
II. Migration des précurseurs neuronaux

- 2.1 Cas des cellules de la crête neurale
- 2.2. Zones de migration dans le cerveau embryonnaire
- 2.3. Migration radiale dans le SN
 - Description
 - Corticogénèse
 - Signaux moléculaires
- 2.4. Migration tangentielle dans le SN
- 2.5. Comparaison entre migration et guidage axonal
 - Nétrine/DCC
 - Slit/Robo
 - Semaphorine/Plexin, Met, L1, OTK, Neurolin
 - Ephrin/Eph

Migration des cellules de la crête neurale



1. Tube nerveux humain à j35



2. Différenciation des cellules de la crête

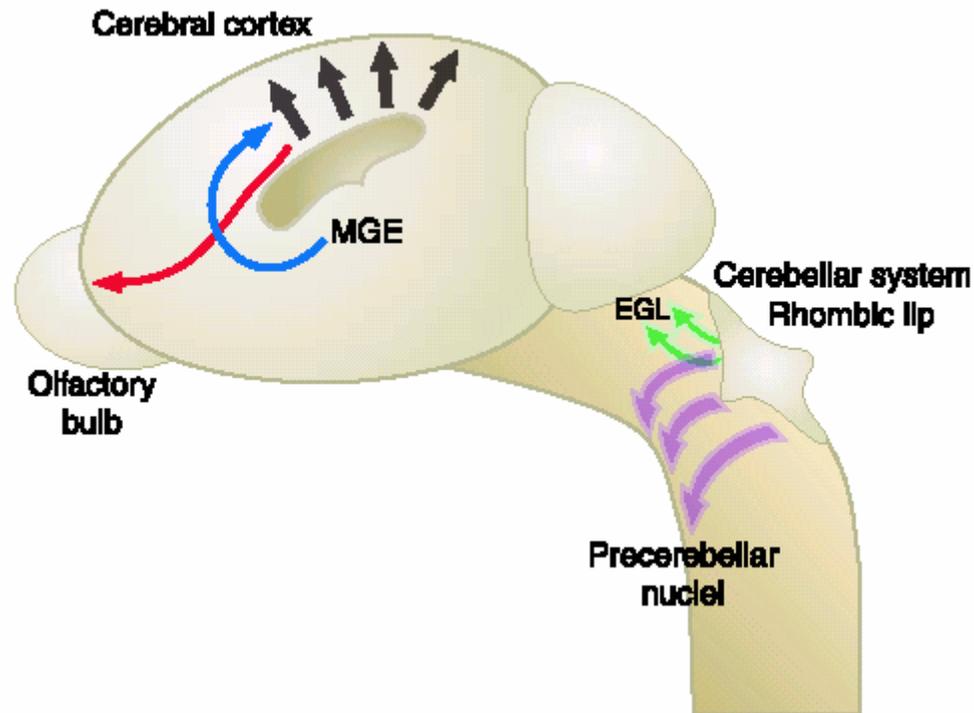
Migration des cellules de la crête neurale

- La migration des cellules de la crête neurale dépend essentiellement des interactions entre molécules d'adhésion cellulaires et la matrice extracellulaire. Elle se fait selon un mode radiale ou non.
- La différenciation des cellules dépend des facteurs de différenciation rencontrés pendant la migration.

Migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébré

- Deux types de migrations sont observées à l'intérieur du système nerveux des vertébrés:
 - Une migration radiale mise en évidence par Ramon y Cajal
 - Une migration tangentielle décrite plus récemment.

Zones de migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébré.

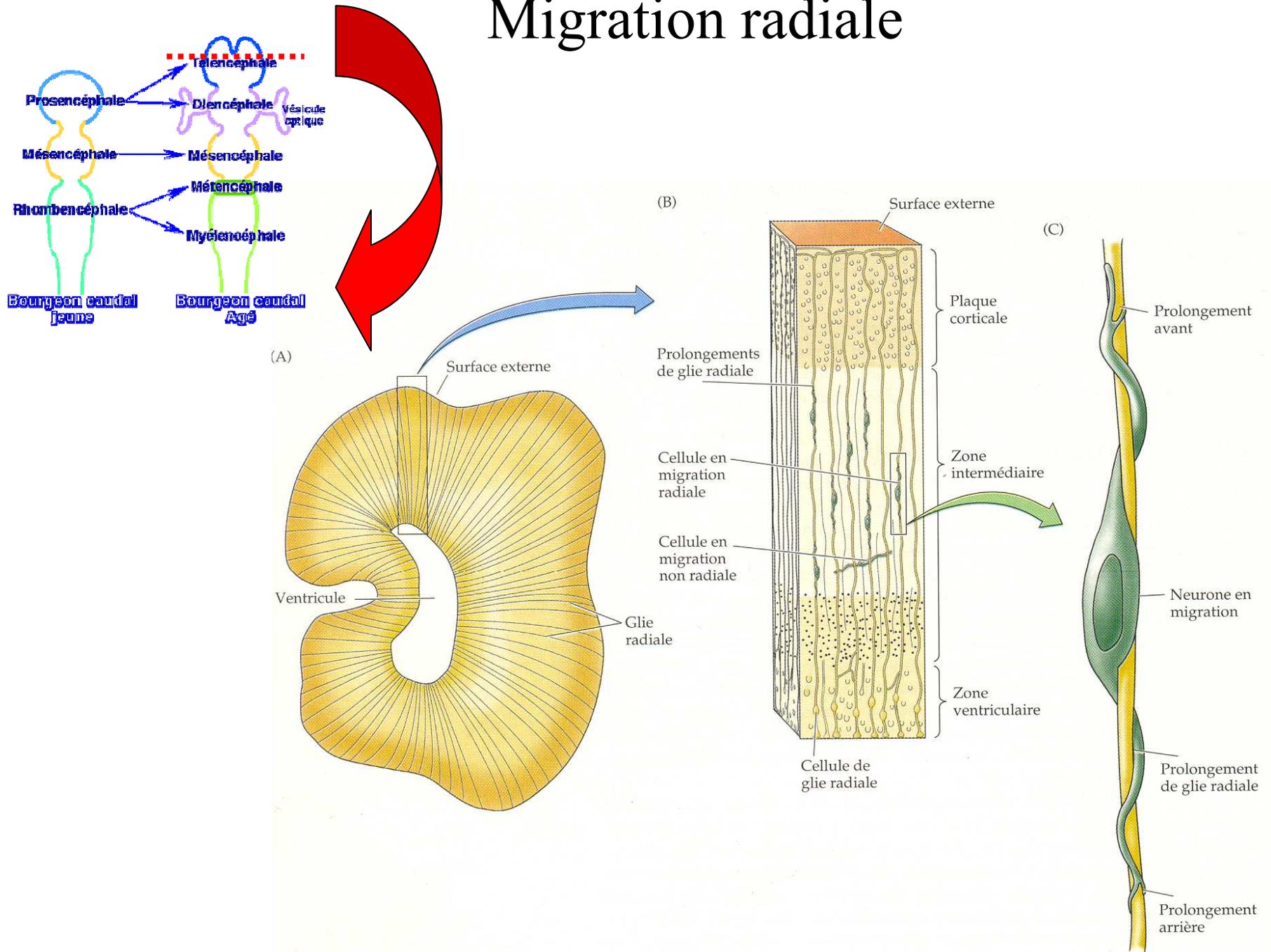


Cerebral cortex = cortex cerebral; MGE =Eminence ganglionnaire médiane; EGL= Couche germinative externe; Olfactory bulb = bulbe olfactif; Precerebellar nuclei = noyaux cérébelleux primaires; Cerebellar system = système cérébelleux

Migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébrés.

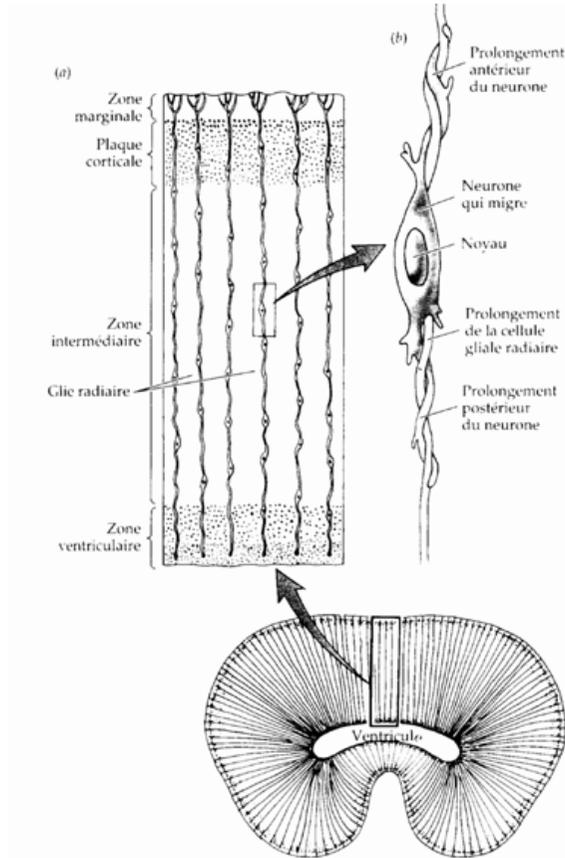
- La migration ventro-dorsale de type radiale permet de former les principales cellules du cortex (neurones pyramidaux).
- La migration ventro-dorsale, non radiale, des neuroblastes des éminence ganglionnaire médian (MGE) et ou latéraux (MGL) contribue à la différenciation des interneurones gabaergique (20% des neurones du SNC). Les sémaphorines sont impliquées dans cette migration.
- La migration postéro-antérieure, non radiale, à partir de la zone sub-ventriculaire du 3^{ème} ventricule contribue à peupler le bulbe olfactif de précurseurs gabaergiques. Les N-CAM (matrix extracellulaire) et les signaux de guidage axonaux intervient tout au long du parcours.
- Les précurseurs de la lèvre rhombencéphalique dorsale (EGL = Couche germinative externe) migrent dorsalement par un mécanisme de répulsion (netrin) et attraction (slit) et vont donner les futurs neurones du cervelet.
- Les précurseurs de la lèvre rhombencéphalique caudale (noyaux cérébelleux primaires du tronc cérébral (precerebellar nuclei) migrent ventralement attirés par la netrin à partir de la lèvre inférieure rhombencéphalique.

Migration radiale

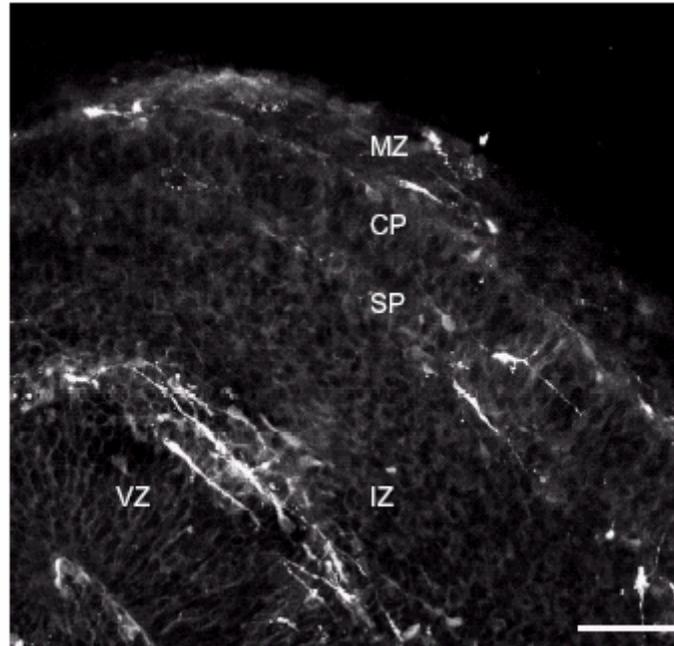


migration radial et corticogenèse

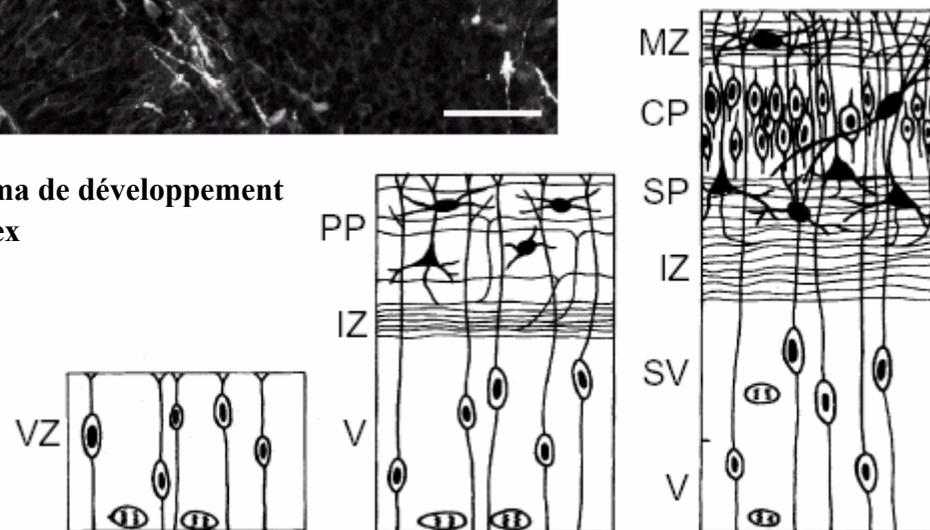
A: Schéma d'un neurone en migration radiale



B: Photographie en M.O. d'une tranche de cortex embryonnaire de rat

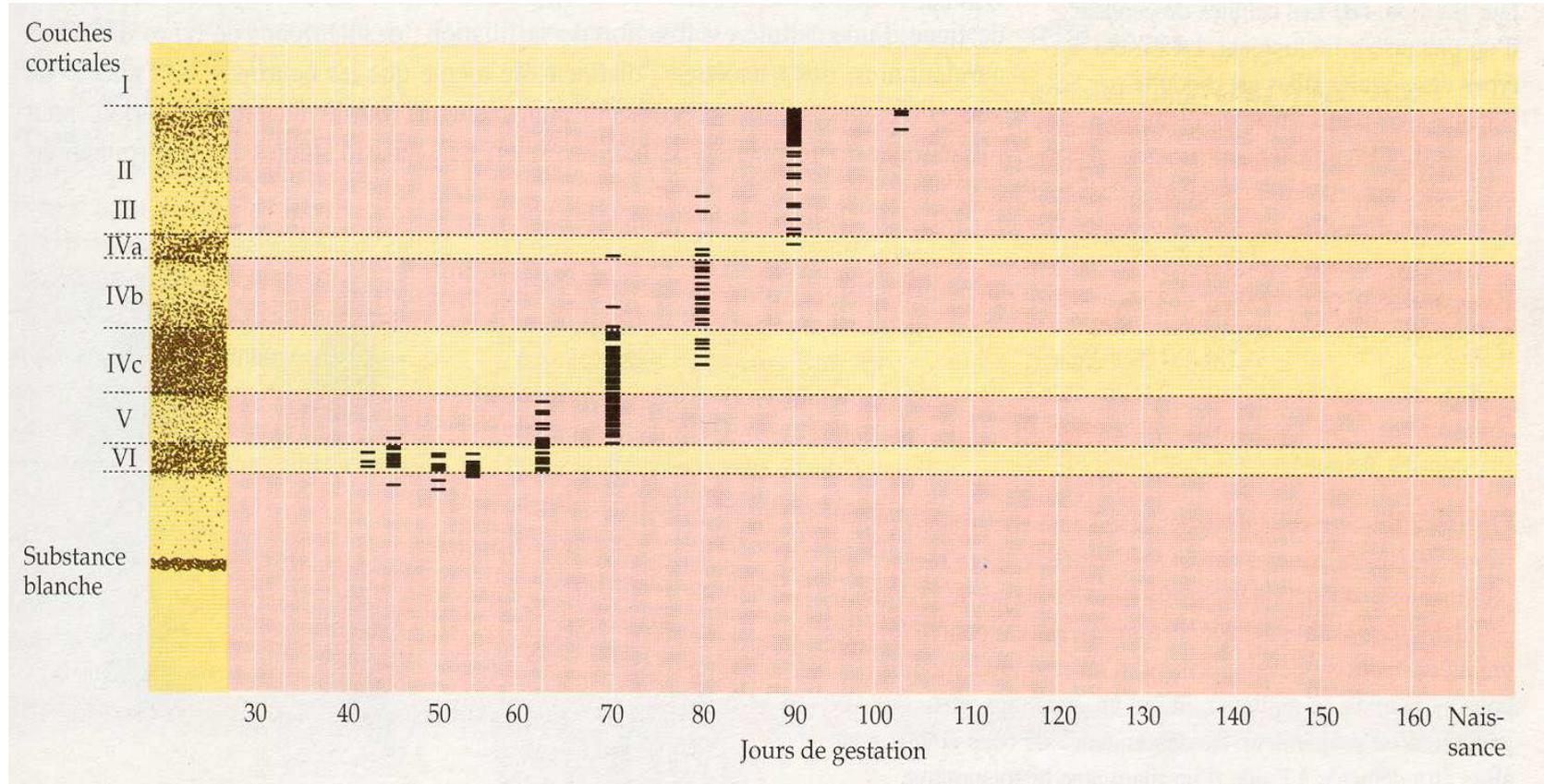


C: schéma de développement du cortex



Légende: VZ=zone ventriculaire; IZ= zone intermédiaire; PP=plaque primaire; MZ= zone marginale; CP=plaque corticale; SP =plancher de la plaque

Naissance des neurones au cours de la gestation du singe rhésus



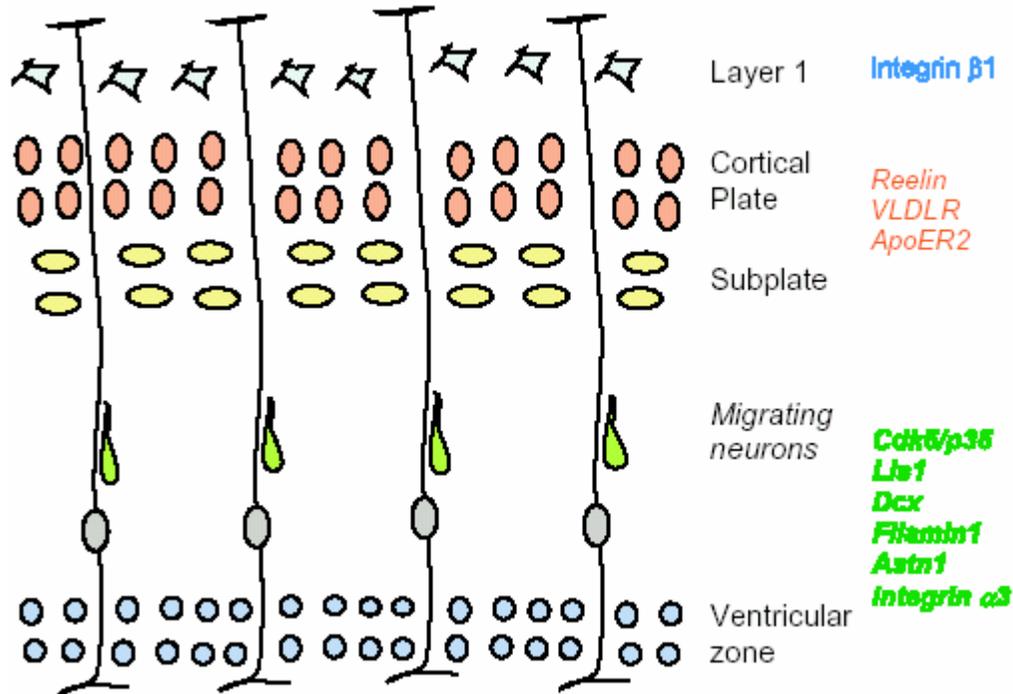
Naissance des neurones au cours de la gestation du singe rhésus

- A la date indiquée par les lignes verticales les femelles gestantes reçoivent une injection de thymidine tritiée.
- Les neurones ayant fait leur dernière réplication ou mitose juste après l'injection du marqueur garderont une forte dose dans leur noyau.
- Les marqueurs sont révélés par radiographie de coupe histologique en contact avec une émulsion photographique sensible.
- Les cellules marquées ont comme date de naissance, la date d'injection du marqueur.

II. Migration des précurseurs neuronaux

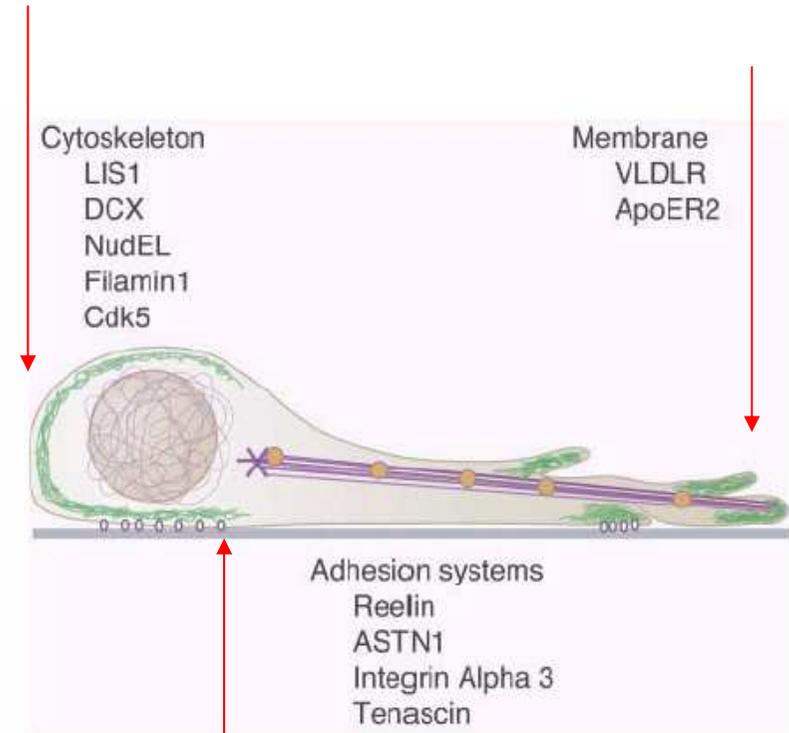
- 2.1 Cas des cellules de la crête neurale
- 2.2. Zones de migration dans le cerveau embryonnaire
- 2.3. Migration radiale dans le SN
 - Description
 - Corticogénèse
 - **Signaux moléculaires**
- 2.4. Migration tangentielle dans le SN
- 2.5. Comparaison entre migration et guidage axonal
 - Nétrine/DCC
 - Slit/Robo
 - Semaphorine/Plexin, Met, L1, OTK, Neurolin
 - Ephrin/Eph

Signaux de la migration radiale



3. Rétraction de l'adhérence post

1. extension d'un pseudopode



2. Déplacement Antérieur du noyau

Signalisation au cours de la migration

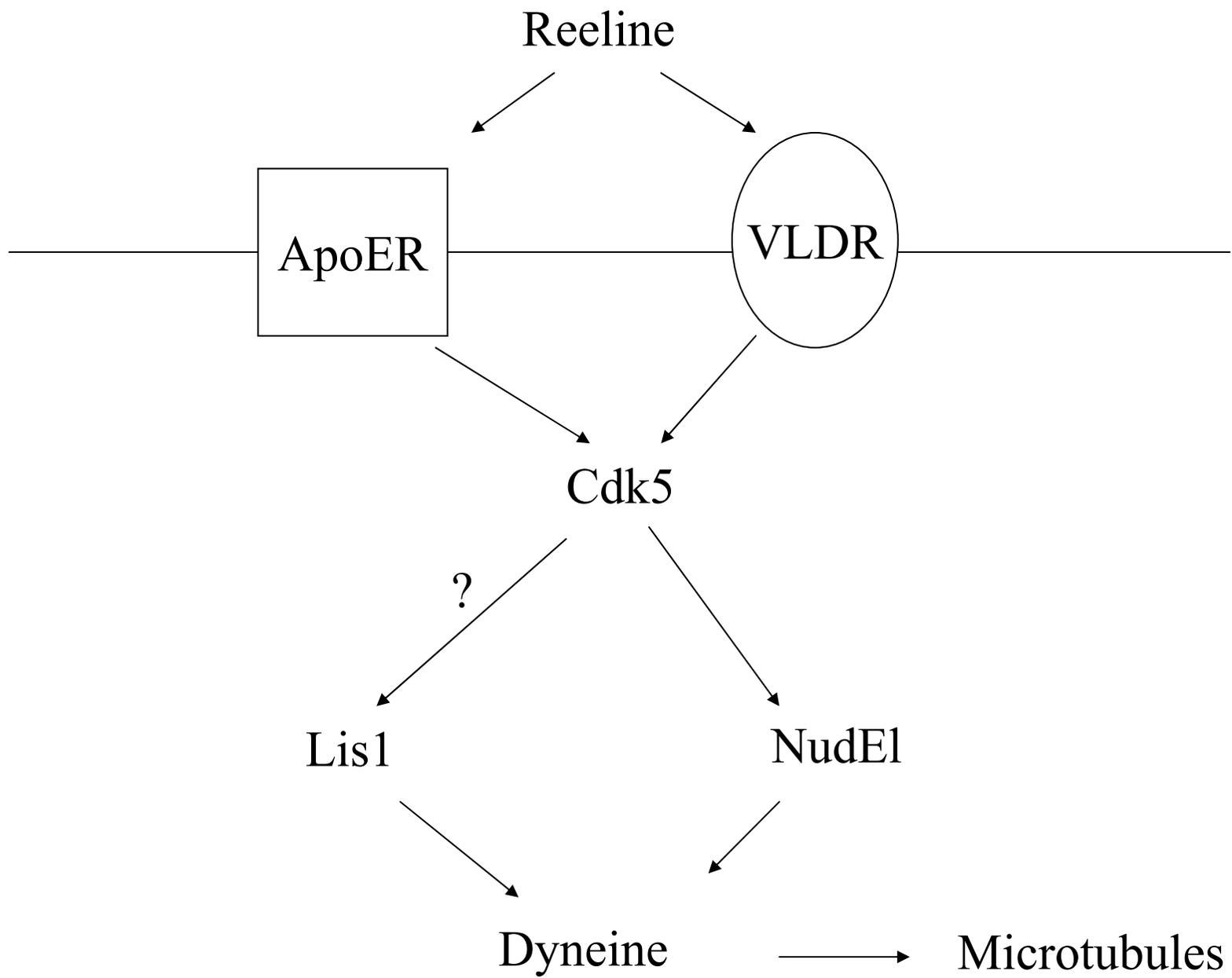
- Astrotactine est une glycoprotéine du neuroblaste permettant son interaction et sa migration le long de la glie radiaire.
- La filamine est une protéine du cytosquelette qui unit l'actine aux intégrines membranaires. Sa mutation provoque un défaut de migration actine-dépendante de précurseur neuronaux et leur accumulation en bordure de ventricules latéraux.

Signalisation au cours de la migration

- La reeline a été découverte grâce aux souris mutante « reeler ». Elle sont caractérisées par un défaut de stratification du cortex.
- La reeline est excrétée par les Cajal-Retzius cell. Elle se lie sur les récepteurs VLDL, ApoE et intégrines des neuroblastes en migration. Sa liaison aux intégrines déclenche un signal d'arrêt de la migration
- Cdk5 est une kinase impliquée dans la voie de transduction activée par la reeline.

Rôle du cytosquelette dans la migration

- Les mutant « Nud »: Nud signifie nuclear distribution et est impliqué dans la nucleokinese chez la levure *Aspergillus nidulens*
 - *NudF* est l'homologue de *Lis1* chez la levure.
 - *NudE* est une autre protéine interagissant avec les microtubules.
 - *NudEl* pour *NudE-like* est l'homologue chez la souris
- *Lis1* et *NudEl* interagissent avec le moteur moléculaire dynéine et sont impliqués dans la migration nucléaire dynéine-dépendante.
- *NudEl* est un substrat de *Cdk5*
- Le syndrome double cortex est une anomalie du gène double cortine liée au chromosome X qui code pour une protéine associée aux microtubules et impliquée dans la migration des neuroblastes.
 - Lissencéphalie: cortex cérébral lisse (réduction importante des sillons)
 - Double cortex (DCX): cortex dédoublé.



II. Migration des précurseurs neuronaux

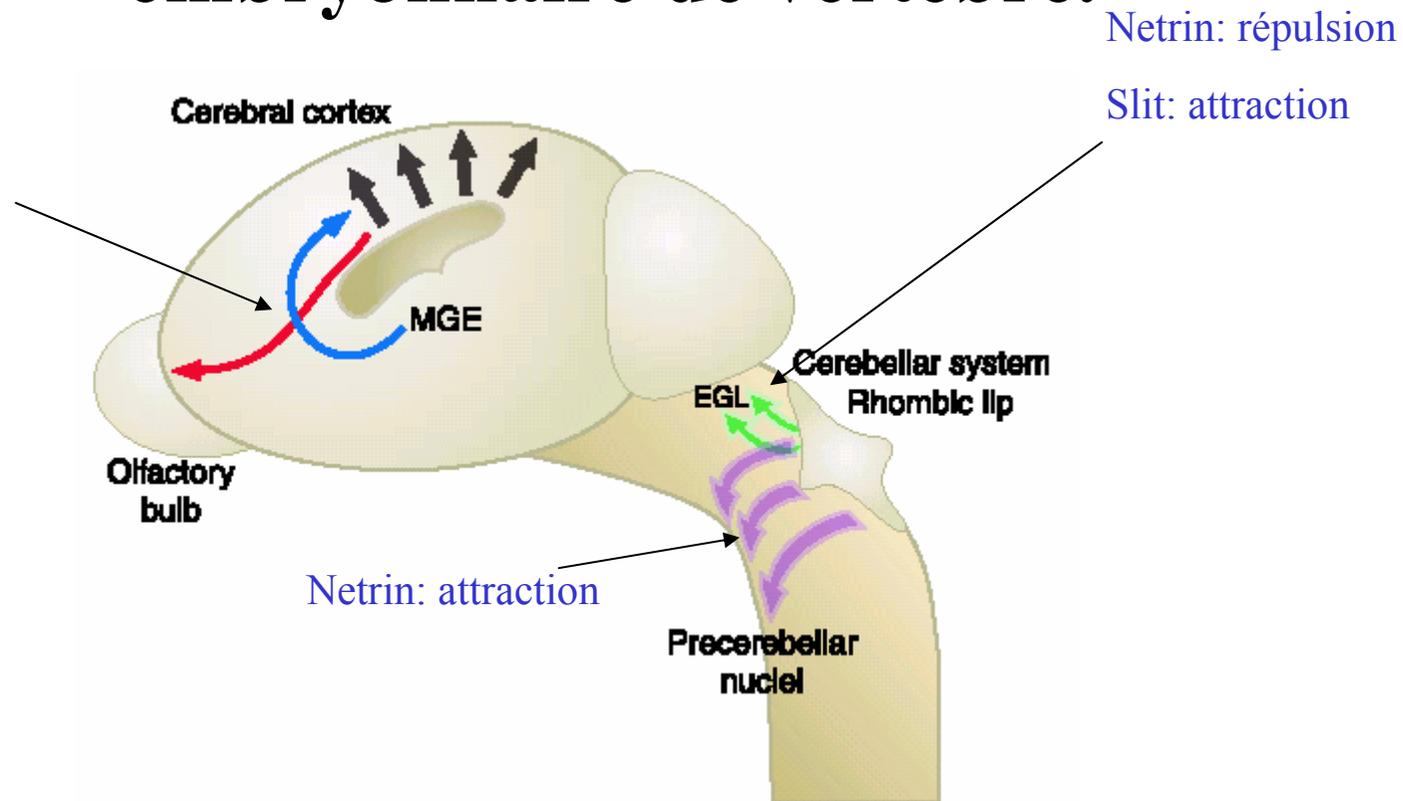
- 2.1 Cas des cellules de la crête neurale
- 2.2. Zones de migration dans le cerveau embryonnaire

- 2.3. Migration radiale dans le SN
 - Description
 - Corticogénèse
 - Signaux moléculaires
- 2.4. Migration tangentielle dans le SN

- 2.5. Comparaison entre migration et guidage axonal
 - Nétrine/DCC
 - Slit/Robo
 - Semaphorine/Plexin, Met, L1, OTK, Neurolin
 - Ephrin/Eph

Migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébré.

Sémaphorines
et NCAM



Cerebral cortex = cortex cerebral; MGE =Eminence ganglionnaire médiane; EGL= Couche germinative externe; Olfactory bulb = bulbe olfactif; Precerebellar nuclei = noyaux cérébelleux primaires; Cerebellar system = système cérébelleux

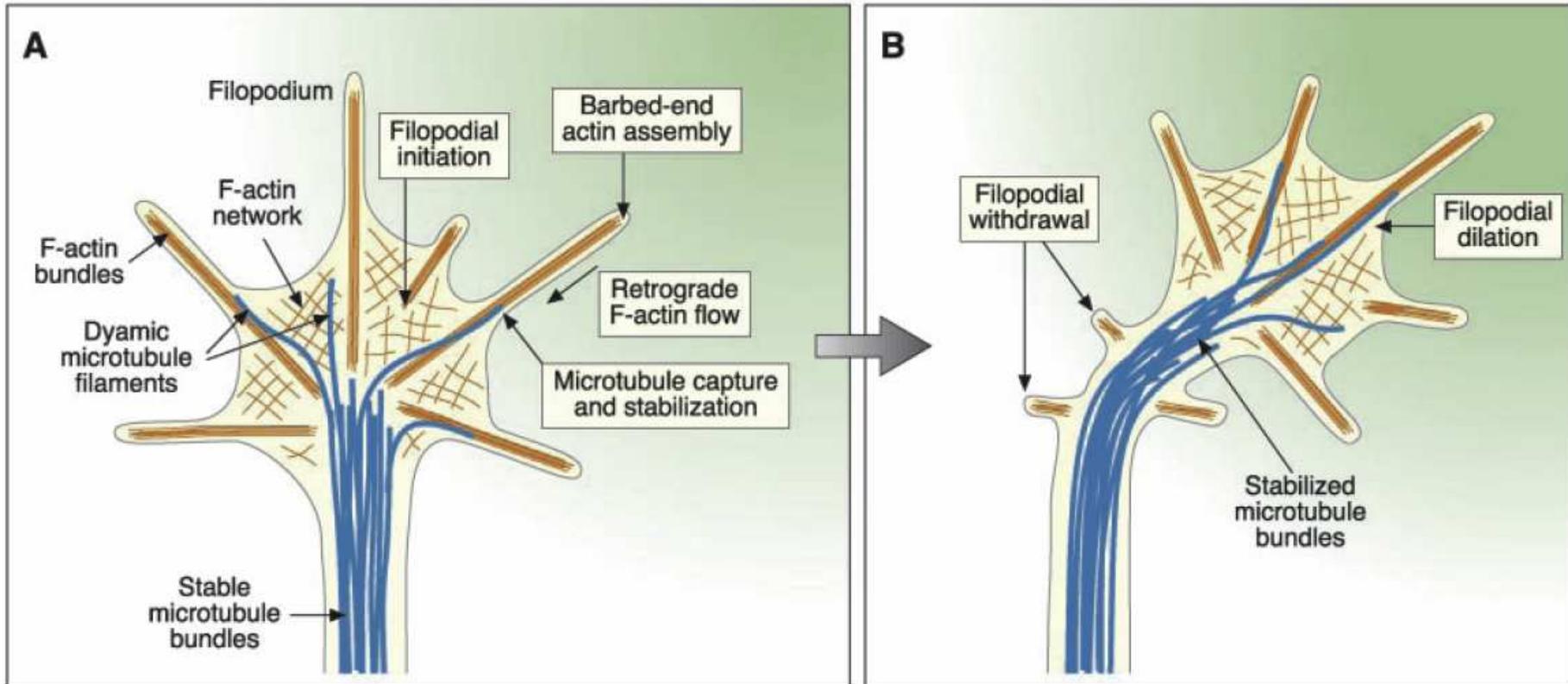
Migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébré.

- La migration ventro-dorsale de type radiale permet de former les principales cellules du cortex (neurones pyramidaux).
- La migration ventro-dorsale, non radiale, des neuroblastes des éminence ganglionnaire médian (MGE) et ou latéraux (MGL) contribue à la différenciation des interneurones gabaergique (20% des neurones du SNC). Les sémaphorines sont impliquées dans cette migration.
- La migration postéro-antérieure, non radiale, à partir de la zone sub-ventriculaire du 3^{ème} ventricule contribue à peupler le bulbe olfactif de précurseurs gabaergiques. Les N-CAM (matrix extracellulaire) et les sémaphorines interviennent tout au long du parcours.
- Les précurseurs de la lèvre rhombencéphalique dorsale (EGL = Couche germinative externe) migrent dorsalement par un mécanisme de répulsion (netrin) et attraction (slit) et vont donner les futurs neurones du cervelet.
- Les précurseurs de la lèvre rhombencéphalique caudale (noyaux cérébelleux primaires du tronc cérébral (precerebellar nuclei) migrent ventralement attirés par la netrin à partir de la lèvre inférieure rhombencéphalique.

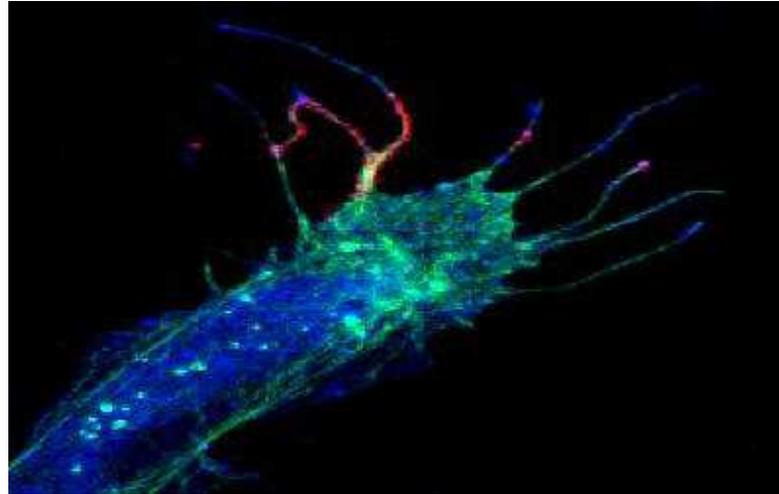
III. Guidage axonal

- 3.1. Structure du cône de croissance et dynamique du cytosquelette
- 3.2 Défauts de guidage axonal chez le nématode et la drosophile
- 3.3 Ligands et récepteurs
 - Nétrine/DCC
 - Slit/Robo
 - Semaphorine/Plexin, Met, L1, OTK, Neuropilin
 - Ephrin/Eph
- 3.4 Plasticité du guidage
 - mécanisme de commutation
 - Transduction
- 3.5 Rétinotopie tectale

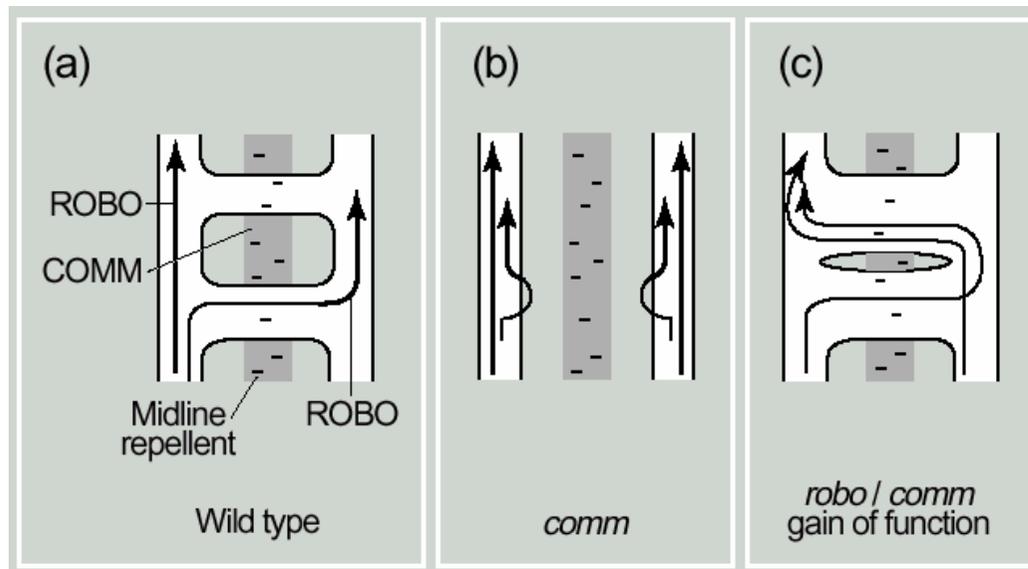
Mécanismes du guidage axonal



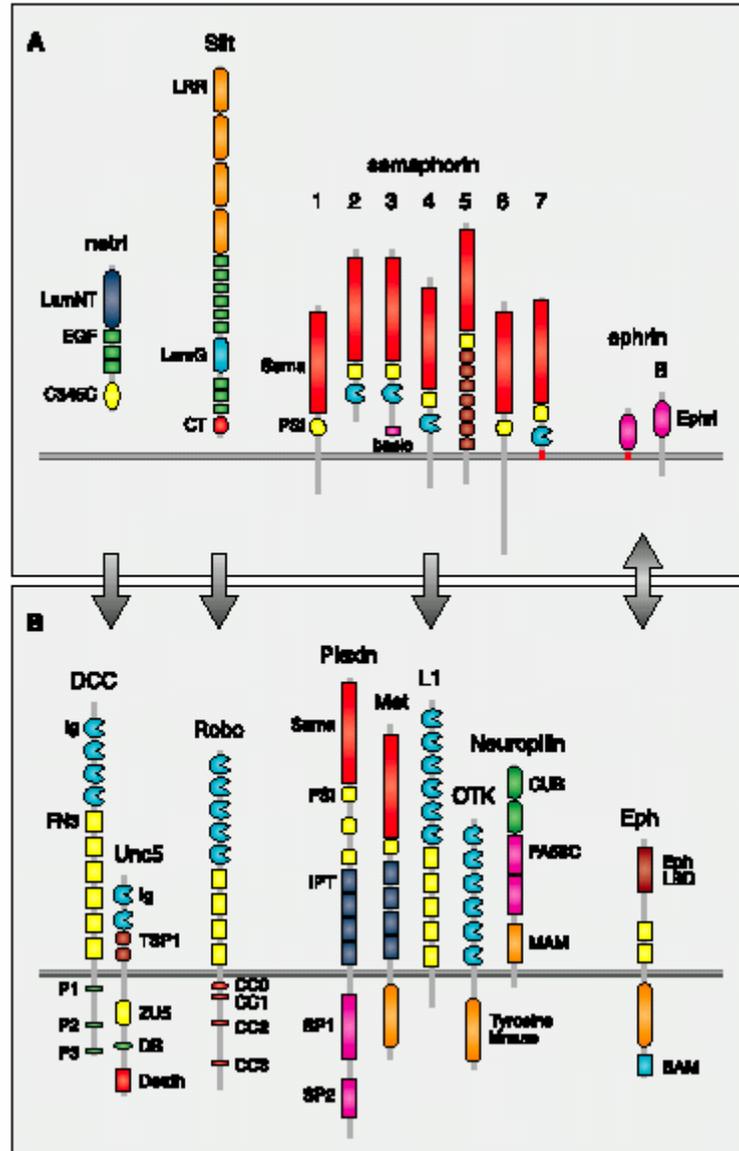
A: Cône de croissance



B: Guidage axonal de neurones commissuraux d'insecte



Guidage axonal: Ligands et récepteurs



Dickson 2002, Science vol. 298, p. 1959

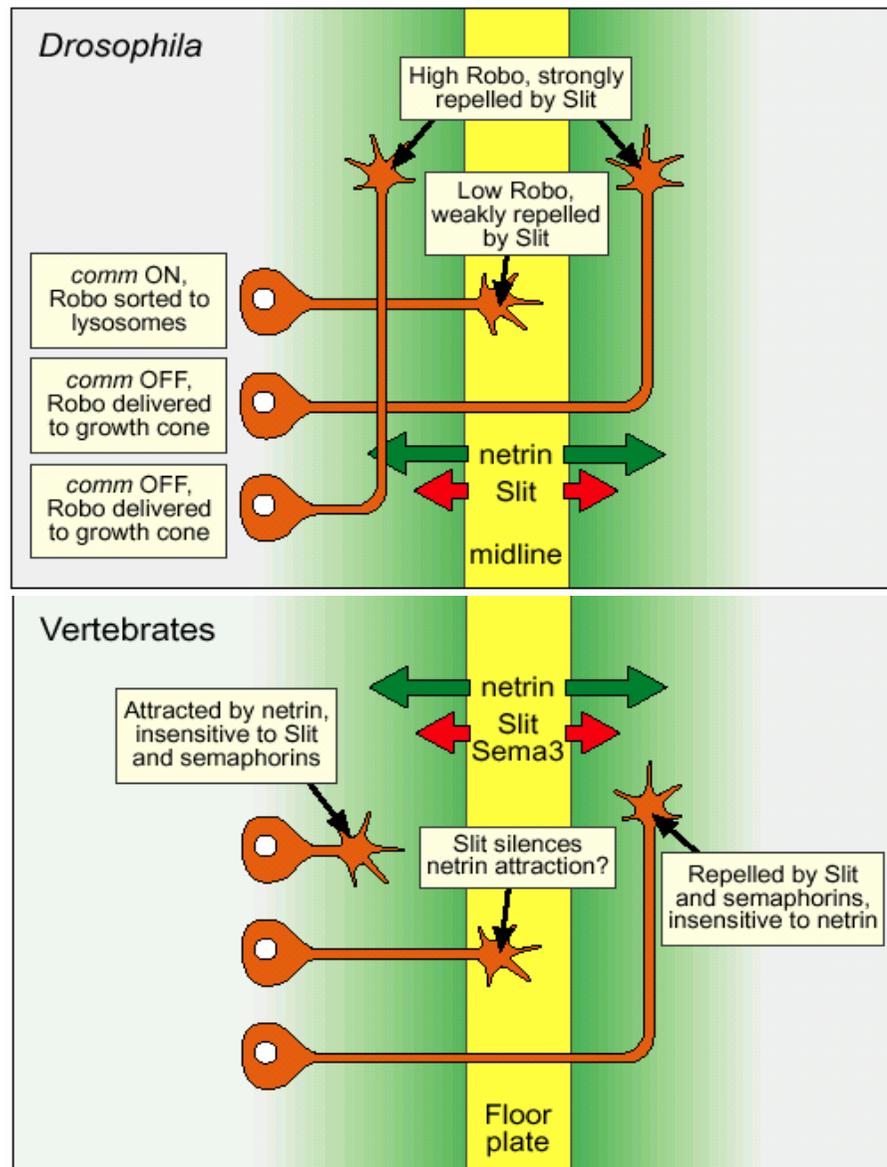
Ligands diffusibles

- Ligand Netrin / récepteur DCC et UN5
 - Nétrine signifie « le guide ». Il a été récemment montré que sa mutation entraîne un défaut de projection thalamo-cortical
 - DCC: deleted in colo-rectal cancer
 - UN5: mutant uncoordinated number 5
- Ligand Slit / récepteur ROBO
 - ROBO « round about »

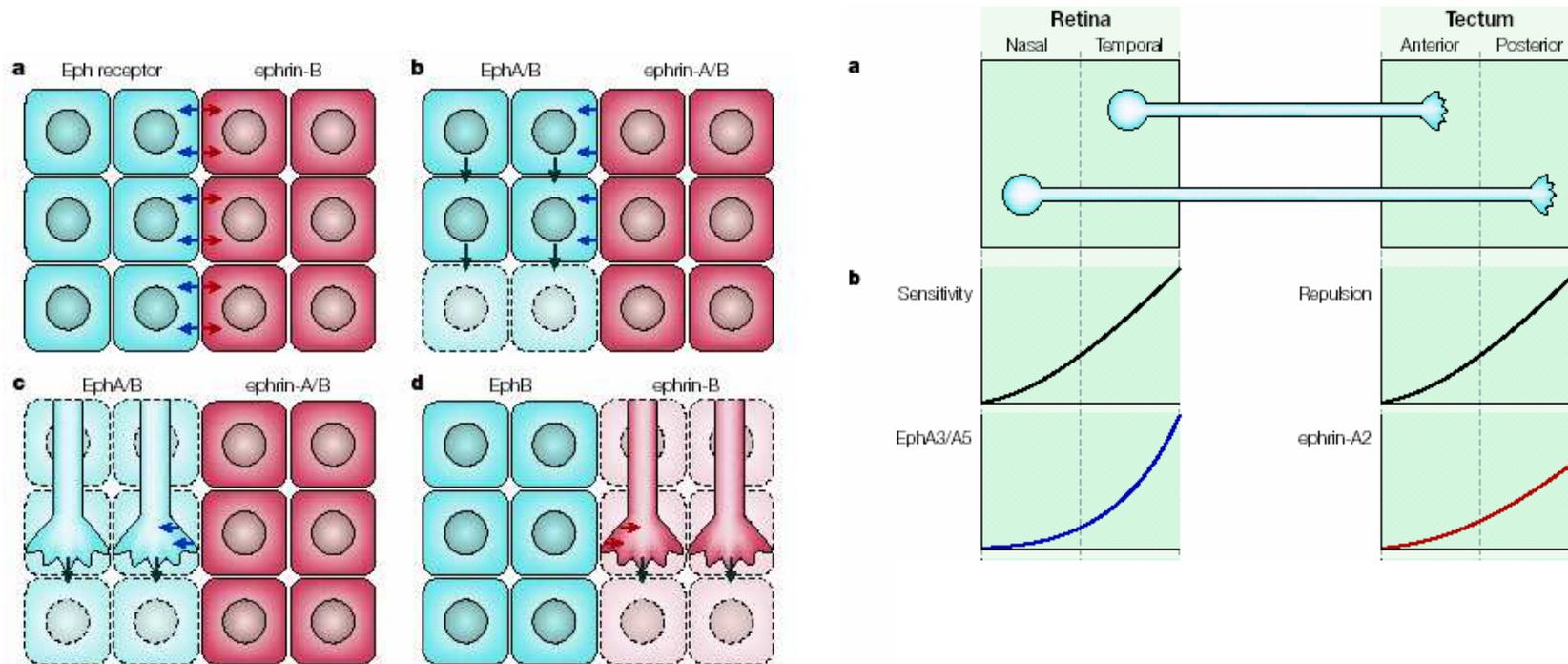
Ligands non diffusible

- Sémaphorines 1, 4-7.
 - Récepteurs: Plexines, neuropiline, Met, L1, OTK.
 - *Met: Mesenchymal-epithelial transition factor receptor tyrosine kinase*
- Ephrines
 - Récepteurs : EphA, EphB

Guidage axonal de neurone commissuraux de la moelle épinière



Répulsion cellulaire médiée par le système Ephrine/Eph



(a): délimitation de tissus

(b): guidage de la migration

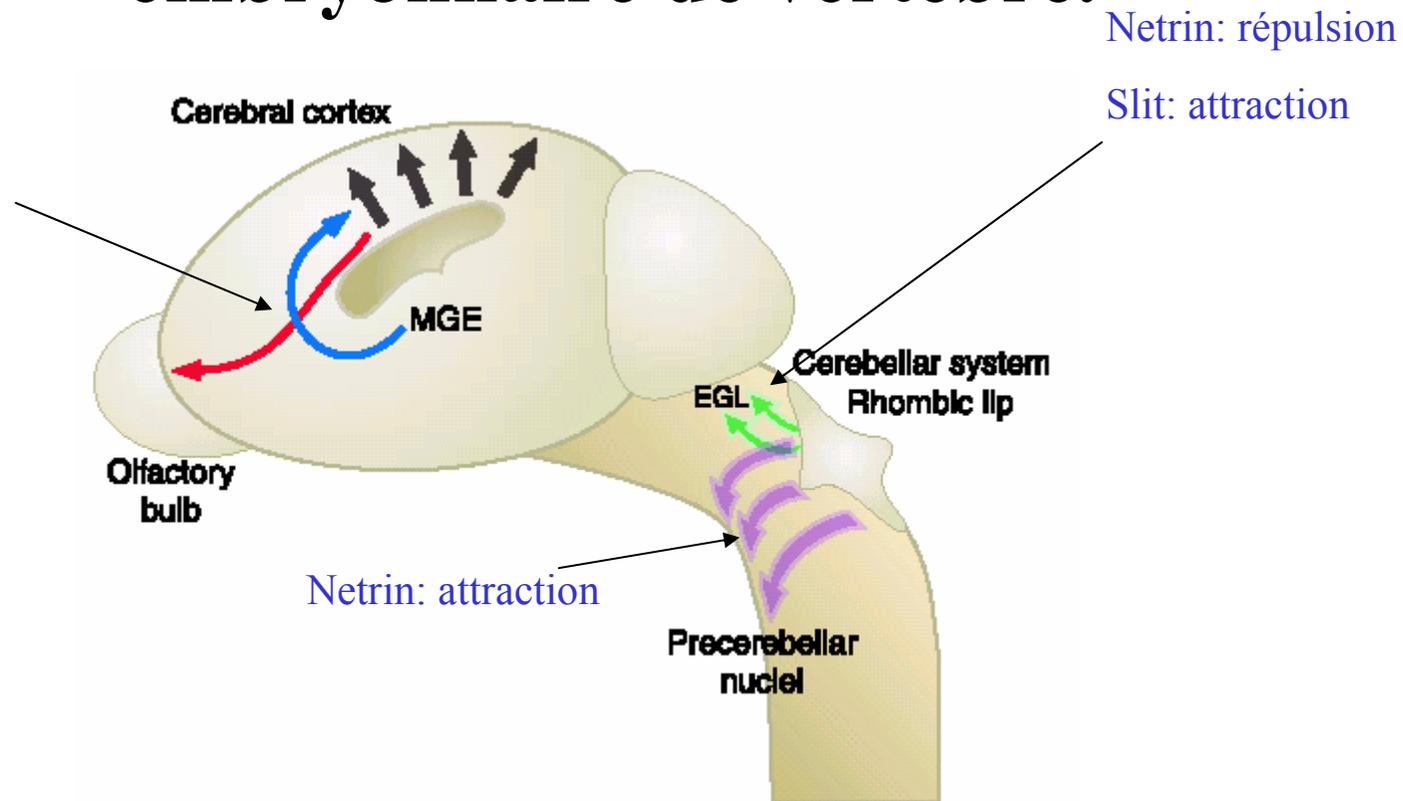
(c,d): guidage de la croissance axonale

II. Migration des précurseurs neuronaux

- 2.1 Cas des cellules de la crête neurale
- 2.2. Zones de migration dans le cerveau embryonnaire
- 2.3. Migration radiale dans le SN
 - Description
 - Corticogénèse
 - Signaux moléculaires
- 2.4. Migration tangentielle dans le SN
- 2.5. Comparaison entre migration et guidage axonal
 - Nétrine/DCC
 - Slit/Robo
 - Semaphorine/Plexin, Met, L1, OTK, Neurolin
 - Ephrin/Eph

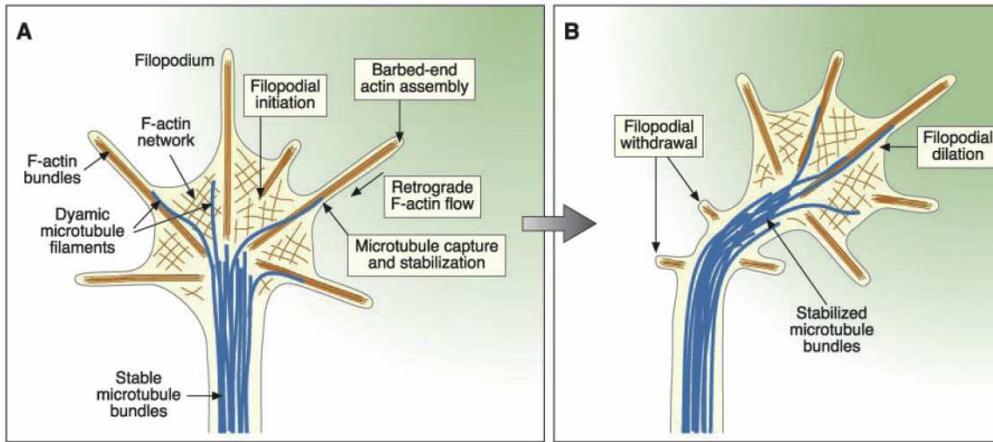
Migrations neuronales dans le cerveau embryonnaire de vertébré.

Sémaphorines
et NCAM

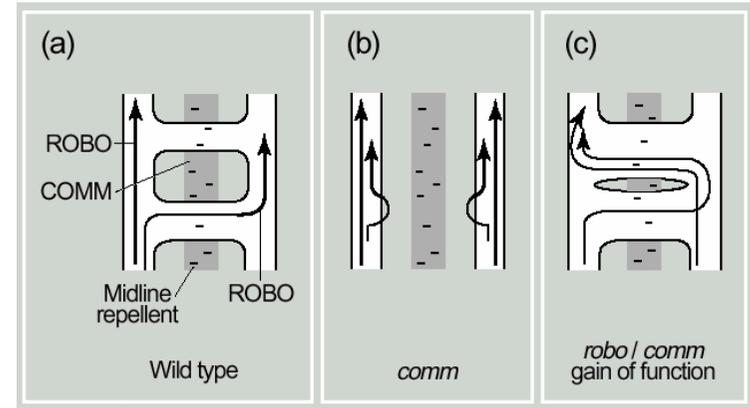


Cerebral cortex = cortex cerebral; MGE =Eminence ganglionnaire médiane; EGL= Couche germinative externe; Olfactory bulb = bulbe olfactif; Precerebellar nuclei = noyaux cérébelleux primaires; Cerebellar system = système cérébelleux

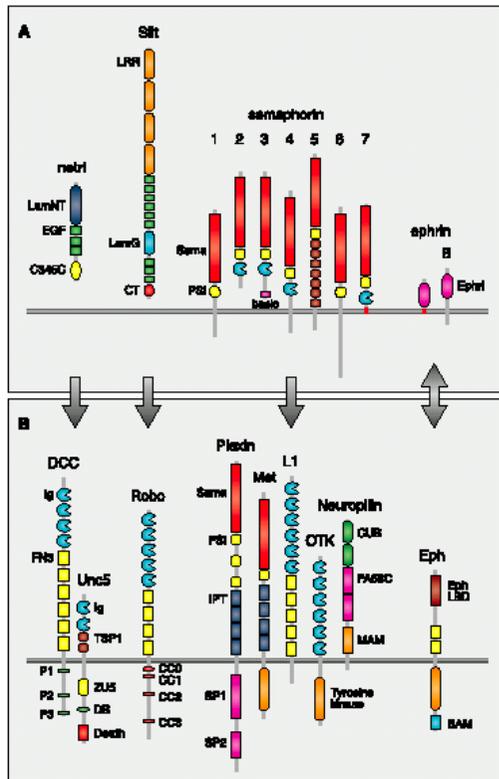
1. Mécanismes du guidage axonale



2. Gènes impliqués dans le guidage axonal de neurones d'insecte



3. Guidage axonal: Ligands et récepteurs



4. Guidage axonal de neurones commissuraux

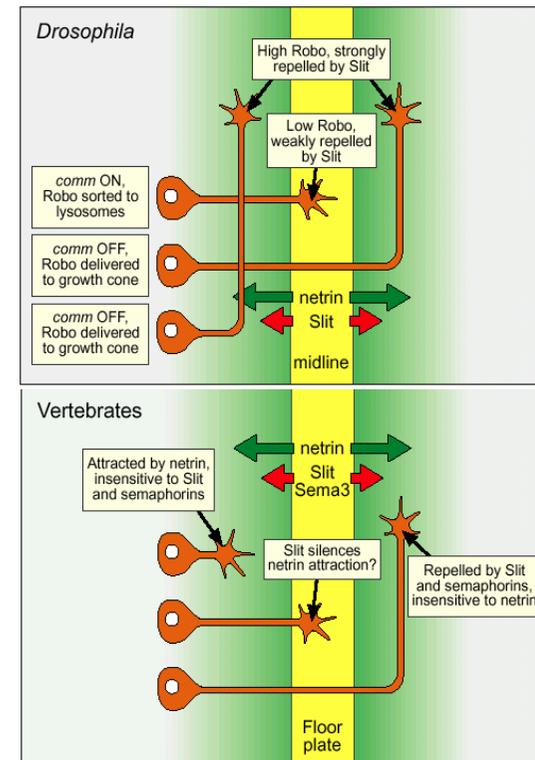


fig9