

La reprogrammation directe des cellules gliales en neurones pour le traitement des maladies cérébrales

MARIE D'ORANGE & CHRISTOPHE HEINRICH

Institut Cellules Souches et Cerveau (SBRI), Inserm U1208, 69500 Bron, France

Pallier le défaut de régénérescence cérébrale

Contrairement à d'autres organes, le cerveau humain adulte ne possède pas de capacités intrinsèques de régénérescence. Lorsque des neurones meurent, suite à une lésion ou lors d'une maladie, ceux-ci ne sont donc pas remplacés. Un certain degré de plasticité cérébrale existe, notamment via la réorganisation des réseaux de neurones, mais elle reste bien souvent insuffisante pour pallier à l'absence des neurones perdus comme dans le cas de lésions massives de type AVC ou de maladies neurodégénératives qui, faute de traitement curatif progressent inévitablement. Il existe donc un besoin pour des stratégies thérapeutiques nouvelles visant à régénérer les neurones perdus.

Dans de nombreuses pathologies, la mort neuronale est accompagnée d'une glieuse réactionnelle, processus neuro-inflammatoire correspondant à l'activation et la prolifération des cellules gliales voisines. Serait-il possible de tirer profit de cette source cellulaire présente en abondance au site de la lésion ? Pourrait-on envisager de convertir ces cellules gliales en nouveaux neurones qui s'intégreraient dans les réseaux neuronaux pathologiques afin de restaurer les fonctions cognitives ? En effet, la reprogrammation cellulaire directe de ces cellules gliales en nouveaux neurones dit « neurones induits » a émergé comme une stratégie prometteuse pour la réparation du cerveau. Nous présentons ici cette approche et les derniers développements dans le domaine.

Déterminer et maintenir l'identité d'une cellule

Avant d'envisager de reprogrammer l'identité d'une cellule, il convient de comprendre comment celle-ci est

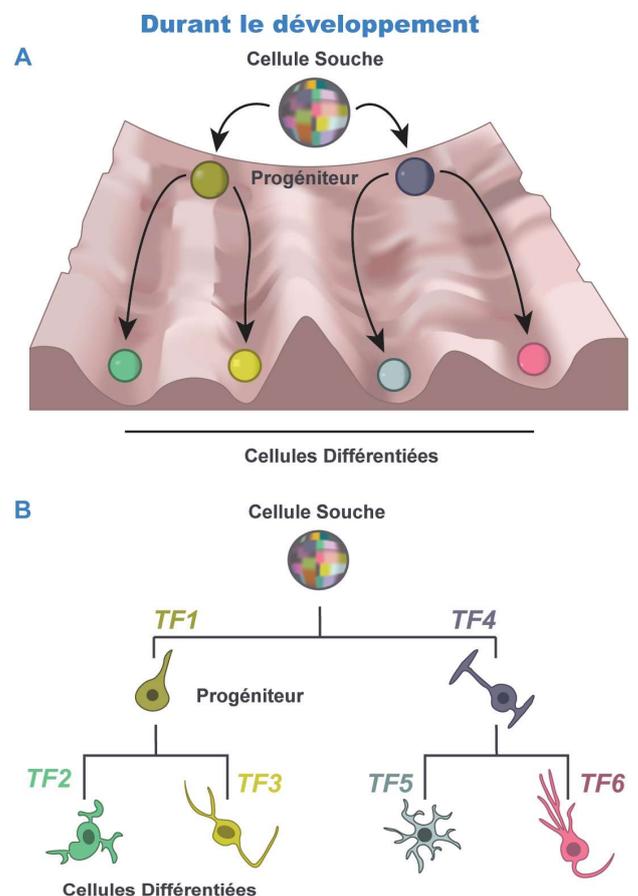


Figure 1 : (A) Selon C. H. Waddington, la trajectoire de différenciation d'une cellule souche en différents types cellulaires peut être représentée par une bille dévalant une colline. Chaque trajectoire de différenciation (représentée par une vallée) est séparée par des collines représentant les barrières épigénétiques permettant le maintien de l'identité cellulaire à l'âge adulte. (B) Ce processus hiérarchique est contrôlé par des cascades de facteurs de transcription (TF) qui vont progressivement restreindre la cellule à une voie de différenciation ou une autre.

établie et maintenue. La théorie classique élaborée par C. H. Waddington (Figure 1) présente la différenciation de cellules souches en différents types cellulaires comme un processus unidirectionnel et irréversible dans lequel le potentiel de la cellule est progressivement restreint le long de la trajectoire de différenciation jusqu'à atteindre son identité mature (1).

Ce processus est dirigé par des cascades de facteurs de transcription. Ces protéines de liaison à l'ADN vont contrôler l'induction et le maintien de l'expression de gènes spécifiques à chaque type cellulaire, permettant ainsi de diriger les cellules vers l'une ou l'autre voie de différenciation. Ce processus de différenciation, ainsi que le maintien de l'identité de la cellule différenciée, sont également influencés par de nombreux facteurs épigénétiques, c'est-à-dire des marques régulant l'accessibilité de certaines zones de chromatine et donc de certains gènes. Chaque cellule différenciée présente donc un paysage épigénétique spécifique permettant de maintenir son identité stable en assurant que seuls les gènes associés à cette identité peuvent s'exprimer (1).

Par-delà Waddington : la reprogrammation cellulaire

Remettant en cause le caractère irréversible de la différenciation cellulaire (1), les travaux de K. Takahashi & S. Yamanaka en 2006 ont démontré la possibilité de générer des cellules souches pluripotentes induites (iPSCs) à partir de fibroblastes par la surexpression de 4 facteurs de transcription (Oct4, Sox2, c-Myc, et Klf4), connus pour être exprimés par les cellules souches embryonnaires durant le développement (2). Plus tard, d'autres études ont démontré qu'il était aussi possible de reprogrammer directement un type cellulaire différencié (cellule A) en un autre (cellule B), sans passer par l'état pluripotent, en surexprimant dans la cellule A d'origine un ou des facteur(s) de transcription contrôlant l'identité de la cellule B d'arrivée (1). Ces données confirment la capacité des facteurs de transcription surexprimés à dépasser la barrière épigénétique qui garde l'identité cellulaire (Figure 2).

Serait-il alors possible de convertir par reprogrammation directe les cellules gliales pour régénérer les neurones perdus? En 2010 nous avons effectivement démontré que la surexpression d'un seul facteur de transcription dans des astrocytes de souris en culture induisait leur conversion en neurones fonctionnels (3). De manière cohérente avec ce qui est observé lors du développement, le type de neurone généré dépend du facteur utilisé (Figure 2) : les astrocytes surexprimant Dlx2 sont convertis en neurones GABAergiques inhibiteurs, alors que ceux surexprimant Neurog2 sont transformés en neurones glutamatergiques excitateurs.

Depuis 2013 jusqu'à nos jours, de nombreuses études dont les nôtres ont démontré que cette reprogrammation directe pouvait également être réalisée *in vivo* chez le rongeur (4–8). Ainsi, différents types de cellules gliales (astrocytes, glies NG2, microglies) ont pu être convertis en différents types de neurones (glutamatergiques, GABAergiques, dopaminergiques) dans plusieurs régions cérébrales, et ce à la fois dans le cerveau sain et en conditions pathologiques (4). Cette capacité à générer directement *in situ* des neurones induits à partir des cellules gliales proliférant au site de la lésion présente plusieurs avantages pour la réparation du cerveau. Comparée à une stratégie impliquant des cellules souches pluripotentes par exemple, qui nécessite le recours à une greffe, la reprogrammation directe est plus rapide, plus efficace et ne présente pas de risque de rejet.

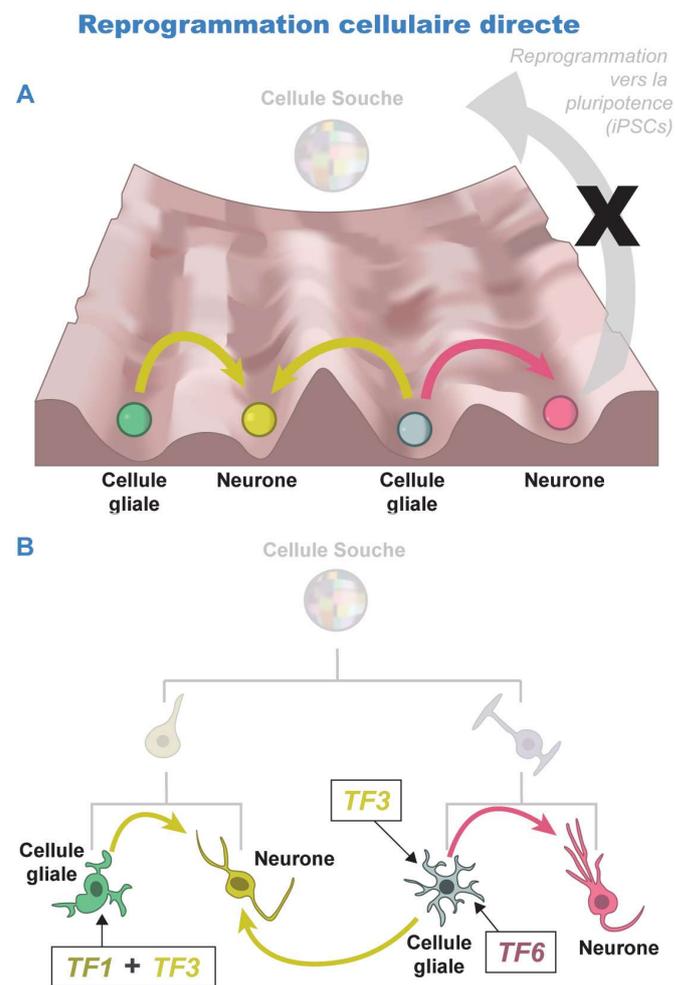


Figure 2 : (A) La reprogrammation cellulaire directe permet d'induire la conversion directe d'un type cellulaire (par exemple une cellule gliale) en un autre (par exemple un neurone) sans passer par un état de cellule souche pluripotente. (B) Cette reprogrammation est couramment induite grâce à la surexpression dans les cellules gliales de facteurs de transcription (TF) connus pour être impliqués dans la différenciation des neurones durant le développement. Le type de neurone généré (inhibiteur ou excitateur) est déterminé par le ou les facteur(s) de transcription utilisé(s) qui, influencé par d'autres éléments, dirigera la cellule reprogrammée dans l'une ou l'autre voie de différenciation.

La reprogrammation cellulaire directe : un outil pour la réparation du cerveau

Pour espérer avoir un impact fonctionnel, un neurone induit doit cependant respecter plusieurs critères :

Tout d'abord, il faut que celui-ci acquière la même identité que le neurone perdu car la fonctionnalité d'un neurone est intrinsèquement liée à son identité. Celle-ci va déterminer notamment le type de molécule utilisée pour communiquer avec d'autres cellules (glutamate, GABA), et donc comment le neurone module l'activité de ces cellules (excitation, inhibition). Au sein d'une même classe neuronale, on peut encore distinguer plusieurs sous-types qui n'auront pas les mêmes propriétés électriques ou se connecteront à un type de cellule différent, ceci étant déterminé notamment par leur localisation et l'expression de certaines molécules (calrétinine ou somatostatine pour les neurones inhibiteurs par exemple).

L'environnement cérébral peut également influencer, au même titre que les facteurs de transcription, la reprogrammation glie-neurone. Par exemple, la reprogrammation d'un même type de cellule gliale, la glie NG2, en neurones induits nécessite différentes combinaisons de facteurs selon que celle-ci s'effectue dans le cortex lésé, l'hippocampe épileptique ou le striatum sain (5–7). Et, alors que seuls des neurones GABAergiques sont générés dans l'hippocampe épileptique (7), des neurones à la fois GABAergiques et glutamatergiques sont observées dans le striatum (6).

La deuxième caractéristique que doivent posséder les neurones induits pour avoir un impact fonctionnel est d'être intégrés dans les réseaux cérébraux. Par des techniques de traçage synaptique, il a été démontré que les neurones induits générés dans le striatum et l'hippocampe recevaient effectivement des connexions synaptiques de la part des neurones endogènes (6, 7). Les neurones induits montraient par ailleurs des variations de leur activité électrique, suggérant qu'ils

étaient capables d'intégrer l'information provenant des neurones environnants.

Mais dans une visée thérapeutique, il est capital que les neurones induits se connectent en retour aux neurones endogènes afin de pouvoir moduler leur activité électrique, comme notre équipe l'a démontré dans une récente étude réalisée dans un modèle rongeur d'épilepsie (7). En effet, nous avons pu démontrer que les cellules gliales proliférant dans l'hippocampe de souris épileptiques peuvent être reprogrammées en neurones induits GABAergiques (Figure 3) recevant de nombreuses connexions des cellules environnantes. De manière remarquable, ces neurones induits établissent en retour des connexions synaptiques inhibitrices sur les cellules granulaires, permettant de directement réduire l'activité de ces neurones responsables des crises. Enfin, des électroencéphalogrammes réalisés chez les souris épileptiques ont déterminé que la présence des neurones induits permet de diviser par deux le nombre de crises d'épilepsie. L'activation des neurones induits par un agent pharmacologique a permis quant à elle d'abolir complètement les crises. Ainsi, nos résultats démontrent pour la première fois que les neurones induits ont la capacité de promouvoir une récupération fonctionnelle dans un contexte pathologique.

Ces résultats ont été complétés par ceux d'autres groupes démontrant une récupération des fonctions motrices grâce aux neurones induits dans un modèle de lésion de la moelle épinière (8), et confirment l'intérêt de la reprogrammation cellulaire pour la réparation des circuits neuronaux.

Quelles pistes pour le futur ?

Malgré la démonstration de l'impact thérapeutique de la reprogrammation glie-neurone dans des modèles animaux précliniques, il reste de nombreuses questions à élucider avant d'envisager une application clinique future. La première est de déterminer si les cellules cérébrales humaines peuvent être converties en neurones. Il est

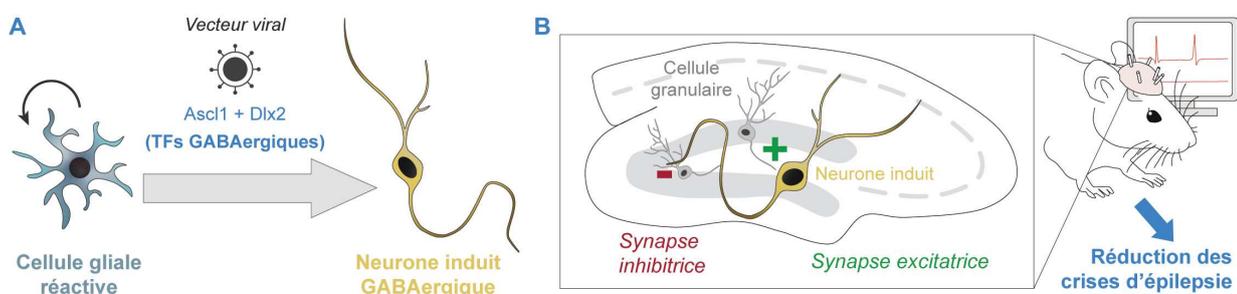


Figure 3 : (A) Notre équipe a récemment démontré qu'il était possible de reprogrammer les cellules gliales proliférant dans l'hippocampe de souris épileptiques en neurones induits GABAergiques inhibiteurs grâce à la surexpression de deux facteurs de transcription (TFs) GABAergiques : *Ascl1* et *Dlx2*. (B) Les neurones induits s'intègrent dans le réseau neuronal de l'hippocampe, reçoivent des connexions excitatrices des cellules granulaires environnantes et établissent sur celles-ci des connexions inhibitrices, entraînant une réduction massive du nombre de crises d'épilepsie.

également essentiel de comprendre les mécanismes impliqués dans la reprogrammation pour ainsi identifier des barrières potentielles. Ceci représente une première étape pour les surmonter et ainsi élargir la reprogrammation à d'autres pathologies neurologiques.

On ne sait pas encore si les cellules gliales humaines peuvent être converties en neurones. Cependant, il a été récemment démontré que d'autres cellules non-neuronales humaines du cerveau, les péricytes, pouvaient être reprogrammées *in vitro* en neurones induits (9). Cette même étude a permis d'identifier qu'une sous-population de péricytes reste cependant réfractaire à cette reprogrammation. Des études en cours ont pour but de comprendre les bases moléculaires de cette barrière à la reprogrammation.

Par ailleurs, plusieurs équipes étudient comment les changements séquentiels d'expression de gènes permettent la transformation progressive de l'identité cellulaire (9–11). D'autres analysent actuellement comment le paysage épigénétique, qui contrôle l'accessibilité de ces gènes, influence la reprogrammation

cellulaire (11). Ceci permettra de mieux comprendre comment différents facteurs (cellule d'origine, barrière épigénétique, environnement cérébral, ...) influent sur ce processus.

marie.dorange@inserm.fr
christophe.heinrich@inserm.fr

Références

- (1) Ladewig J. et al. (2013) *Nat Rev Mol Cell Biol* 14(4):225–236
- (2) Takahashi K. & Yamanaka S. (2006) *Cell* 126(4):663–676
- (3) Heinrich C. et al. (2010) *PLoS Biol* 18;8(5):e1000373
- (4) Vignoles R. et al. (2019) *Trends Mol Med* 25(10):897–914
- (5) Heinrich C. et al. (2014) *Stem Cell Reports* 3(6):1000–1014
- (6) Torper O. et al. (2015) *Cell Reports* 12(3):474–481
- (7) Lentini C. et al. (2021) *Cell Stem Cell* 28(12):2104–2121.e10
- (8) Tai W. et al. (2021) *Cell Stem Cell* 28(5):923–937.e4
- (9) Karow M. et al. (2018) *Nat Neurosci* 21(7):932–940
- (10) Zhang Y. et al. (2022) *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119(11):e2107339119
- (11) Pereira A. et al. (2024) *Nat Neurosci* 27(7):1260–1273