

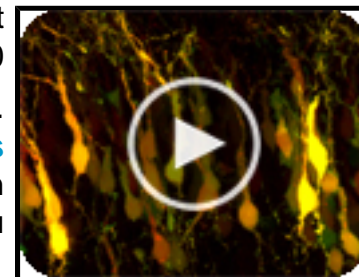
Les microARNs, régulateurs de la migration des neurones

19/06/14

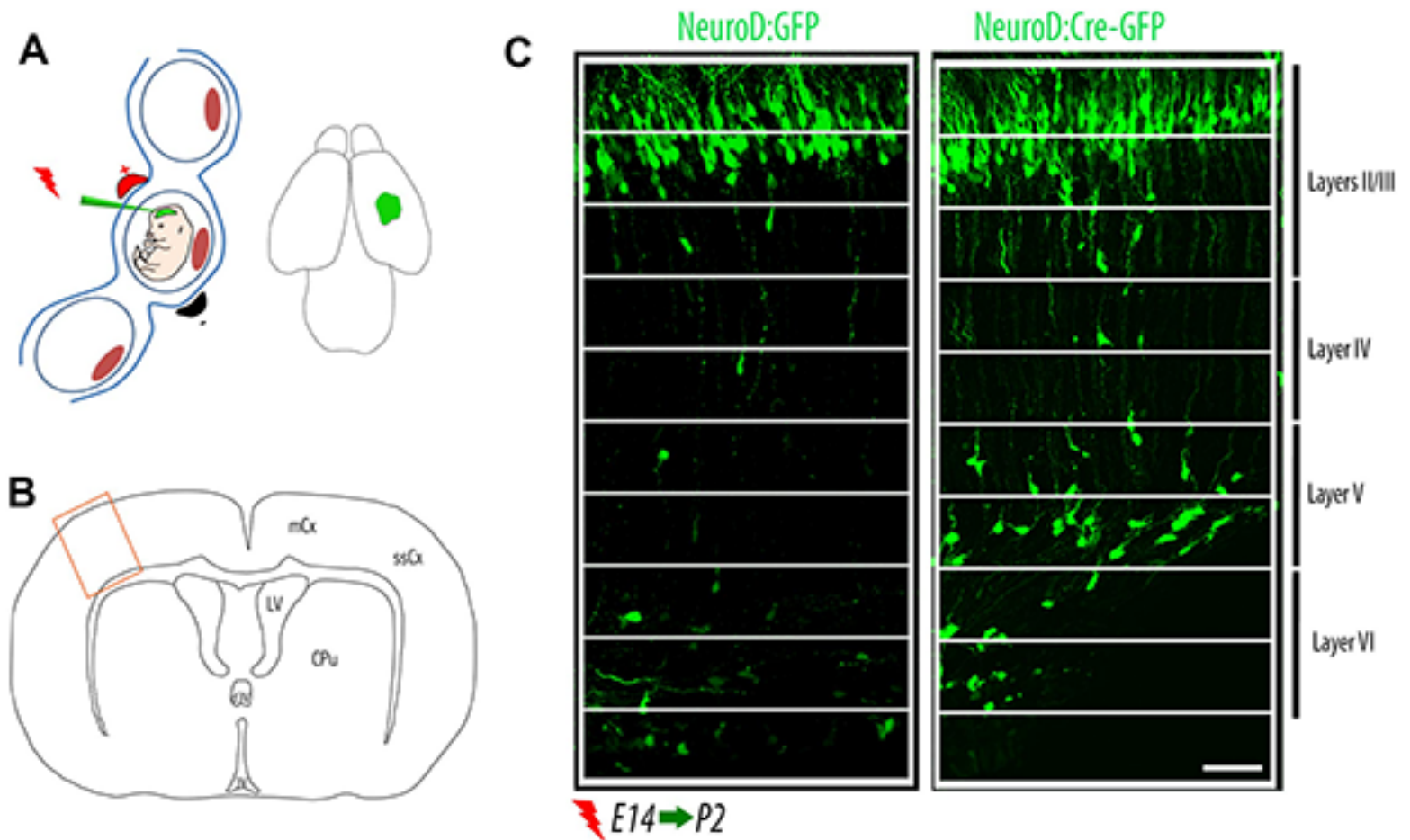
Régulateurs biologiques de l'expression des gènes, les microARNs ont été découverts dans les années 90. Dans le cadre d'une étude publiée dans la revue Cell Reports, l'équipe de Laurent Nguyen, du GIGA Neurosciences de l'Université de Liège, démontre pour la première fois l'importance de microARNs dans la régulation des gènes impliqués dans la migration des neurones corticaux.

Pour pouvoir entamer sa migration et atteindre sa position finale dans le cortex, le neurone de projection doit passer d'une morphologie multipolaire, en forme d'étoile, à une morphologie bipolaire. Cette transition multipolaire-bipolaire des neurones nouvellement formés est une clef de voûte, une étape indispensable, pour que la migration se déroule correctement. Et c'est en général le cas. Mais parfois, ce processus dérape, ce qui peut contribuer à l'apparition de maladies neurologiques caractérisées par une malformation corticale comme la lissencéphalie. L'équipe de Laurent Nguyen a montré que des microARNs sont impliqués dans la régulation fine des gènes qui contrôlent la migration des neurones. Ou plus exactement que deux d'entre eux ciblent le gène CoREST, connu pour être crucial dans la migration des neurones de projection. En l'absence de l'un ou l'autre de ces deux microARNs, les chercheurs ont observé une augmentation de l'expression du gène CoREST et donc, in fine, un dérèglement de la migration des neurones de projection.

Une des caractéristiques évolutives majeures des mammifères est le développement extraordinaire du **cortex cérébral**. Chez l'homme, sa surface atteint environ 2200 cm², soit plus ou moins l'équivalent de quatre feuilles de papier au format A4. Composée principalement de **neurones de projection** (80%) et d'**interneurones** (20%), cette surface impressionnante tient dans la boîte crânienne grâce à la formation de circonvolutions, ces replis sinueux délimités par des sillons qui donnent au cerveau l'aspect d'un plat de macaronis.



C'est au cours du développement embryonnaire que les six couches de neurones du cortex cérébral se mettent en place et s'organisent méticuleusement pour offrir à l'homme les fonctions sensorielles, motrices et d'association élaborées qu'on lui connaît. « *Le cortex cérébral se développe à partir de la région antérieure du système primitif, le télencéphale* », explique **Laurent Nguyen**, chef d'équipe au sein de l'**Unité Neurobiologie du développement** au **GIGA Neurosciences** de l'ULg. « *Des cellules souches locales donnent naissance à des vagues successives de neurones qui vont migrer pour former le cortex* », poursuit le Chercheur qualifié du **F.R.S.-FNRS** et **WELBIO**.

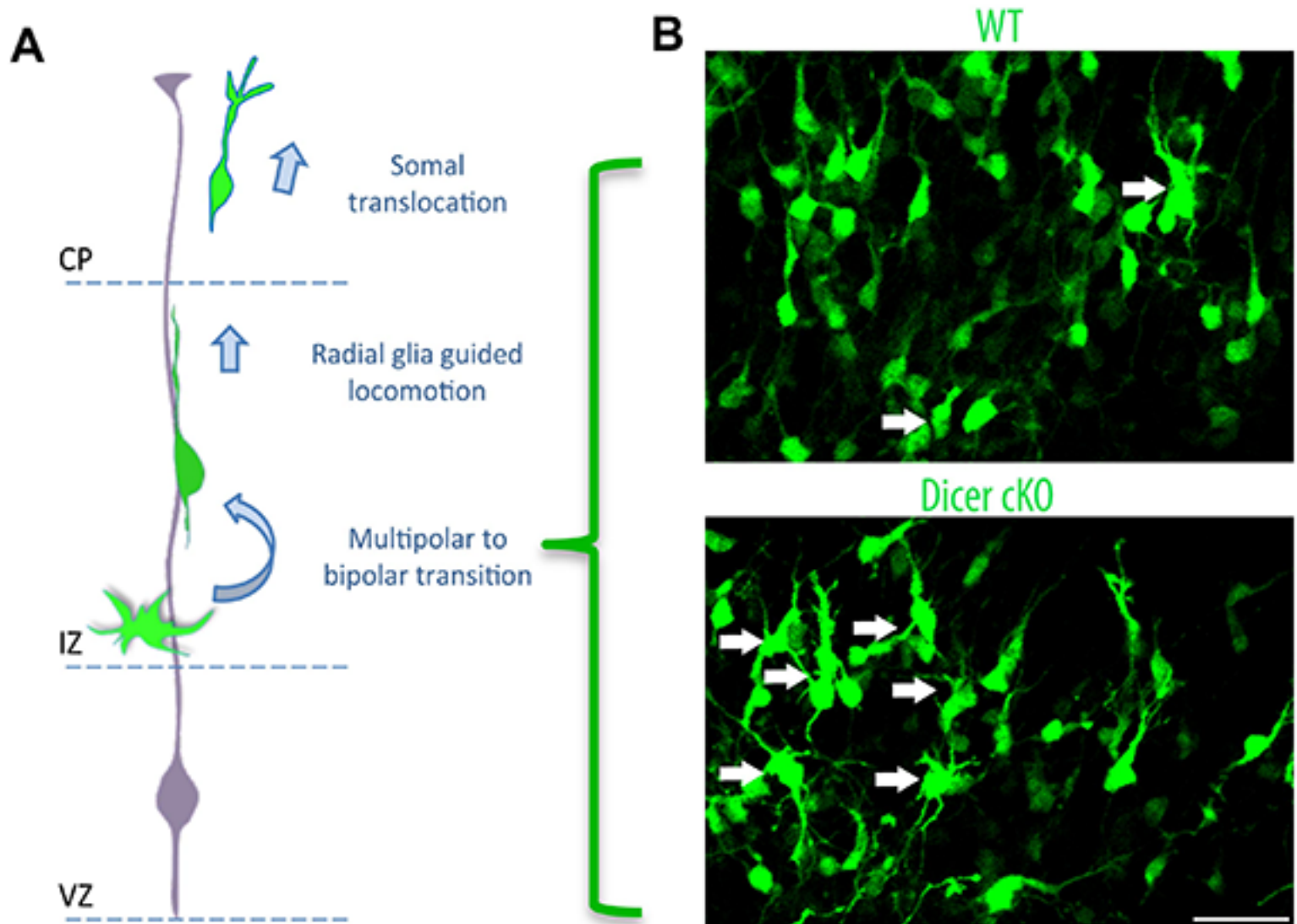


A. Schéma montrant la procédure d'injection et d'électroporation de plasmides in utero dans le cortex d'embryons murins de la lignée *Dicer lox/lox* (âge embryonnaire 14 ou E14). **B.** Dessin d'une coupe coronale de cerveau d'un souriceau (deux jours ou P2) montrant la région corticale électroporée (cadre rouge). **C.** Zones électroporées avec des plasmides *NeuroD:GFP* ou *NeuroD:Cre-GFP* (correspondants au cadre rouge sur le dessin B). **C.** L'expression de la *Cre-GFP* invalide *Dicer* et induit un défaut de migration des neurones de projection (cellules vertes).

La polarisation, une étape indispensable à la migration des neurones

Parmi les pathologies qui touchent le cerveau, on compte les tristement célèbres maladies d'**Alzheimer** et de **Parkinson**, dues à une dégénérescence liée à l'âge de cet organe. Mais des défauts peuvent également y survenir en tout début de vie, au moment où le cortex cérébral se forme. Une classe de maladies congénitales tout a fait spécifiques au cortex cérébral est appelée **lissencéphalie**. Ce terme désigne en effet l'ensemble des maladies qui ont en commun un aspect plus ou moins lisse de la surface du cerveau. Il s'agit donc d'anomalies liées à la formation des circonvolutions du cortex cérébral. « *La caractéristique principale de ces maladies est un défaut de migration des neurones qui résulte notamment d'un problème de conversion multipolaire-bipolaire des neurones en migration* », indique Laurent Nguyen. Ce dernier et son équipe s'intéressent à la manière dont les neurones nouvellement formés intègrent leur place définitive dans le cortex cérébral. « *On regarde*

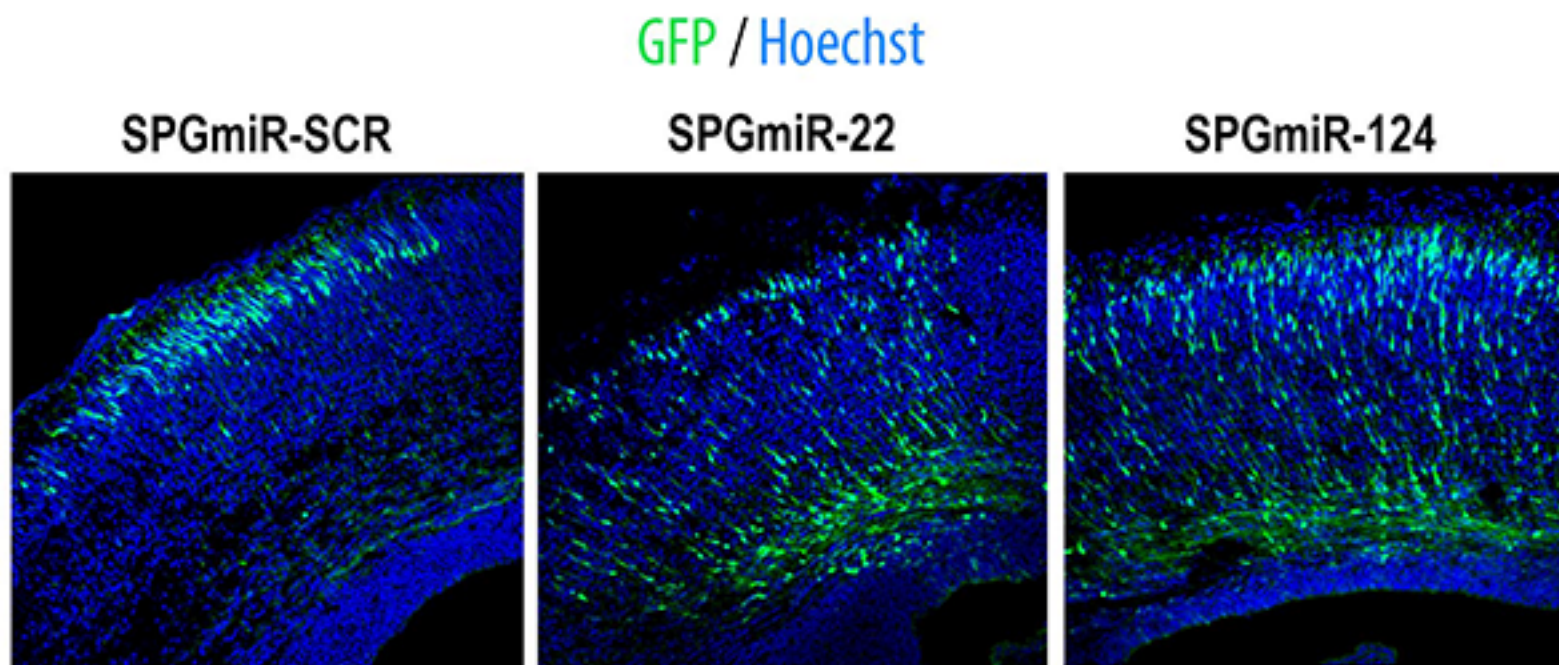
toutes les étapes : la prolifération, la sortie de cycle des cellules souches, la manière dont les neurones se comportent en migration et comment ils s'installent et se différencient dans les réseaux neuronaux préexistants dans le cortex », précise le scientifique (voir articles [La double vie des neurotransmetteurs](#), [La migration des interneurons corticaux](#), [La migration des neurones sous l'aile d'Elongator](#), [Vers une meilleure compréhension de la maladie d'Huntington](#)). Dans le cadre d'une nouvelle étude récemment publiée dans *Cell Reports* (1), les chercheurs liégeois se sont intéressés au mode de migration des neurones de projection lorsque le cortex a déjà une certaine épaisseur. « A ce stade, les neurones utilisent différents modes de migration et pour ce faire ils doivent adapter leur morphologie », précise Laurent Nguyen.



A. Les différentes étapes de la migration radiaire implique des changements morphologiques (modification de la polarité cellulaire). **B.** Accumulation de cellules multipolaires dans la zone intermédiaire (IZ) après invalidation de Dicer.

Les acteurs de la régulation fine de l'expression des gènes

Les neurones de projection réalisent une migration radiaire complexe. « *Au début de la corticogenèse, les neurones ont une attache à la surface du cerveau. La mise en place des premiers neurones du cortex se fait par déplacement du noyau, on parle de translocation somale* », explique Laurent Nguyen. « *Au fur et à mesure que le cortex s'élargit, les neurones de projection vont utiliser un système de migration mixte et majoritairement par locomotion sur le glie (cellules gliales) radiaire* ». Les câbles de glie radiaire servent de substrat, un peu comme des rails, pour que les neurones puissent migrer par locomotion afin d'atteindre leur position finale dans le cortex. Une fois ce but atteint, il y a modification du mode de migration : les neurones se décrochent des fibres de glie radiaire, s'attachent à la surface intérieure du cortex et hissent leur noyau jusqu'à sa position finale. « *Au cours de ce processus, le neurone de projection passe d'une morphologie multipolaire, en forme d'étoile, à une morphologie bipolaire, forme qu'il doit absolument acquérir pour pouvoir adhérer aux fibres de la glie radiaire et entamer la migration par locomotion* », indique Laurent Nguyen. « *Cette transition multipolaire-bipolaire des neurones nouvellement formés est une clef de voûte, une étape indispensable, pour que la migration se déroule correctement* ». Il arrive cependant que la régulation de ce processus flanche et entraîne des conséquences telle qu'une lissencéphalie par exemple. Comme pour de nombreux processus biologiques, la régulation de la migration des neurones peut se faire au niveau des gènes, des protéines ou encore de façon épigénétique. « *Dans ce dernier niveau, on trouve notamment les microARNs, petits ARNs non codant qui sont capables de réguler l'activité de certains gènes en ciblant leurs ARN messagers* », poursuit le chercheur. « *On considère actuellement que 60% de nos gènes sont régulés par des microARNs. La régulation épigénétique permet une régulation fine de l'expression des gènes* ».



Immunomarquage sur des coupes de cerveaux d'embryons électroporés avec des plasmides co-exprimant le GFP (en vert) avec des "éponges" qui bloquent spécifiquement l'expression de microARNs endogènes. Le blocage des microARNs miR-22 (condition SPGmiR-22) et miR-124 (condition SPGmiR-124) altère la migration des neurones de projections (en comparaison avec la condition contrôle SPGmiR-SCR).

Un challenge technique à relever

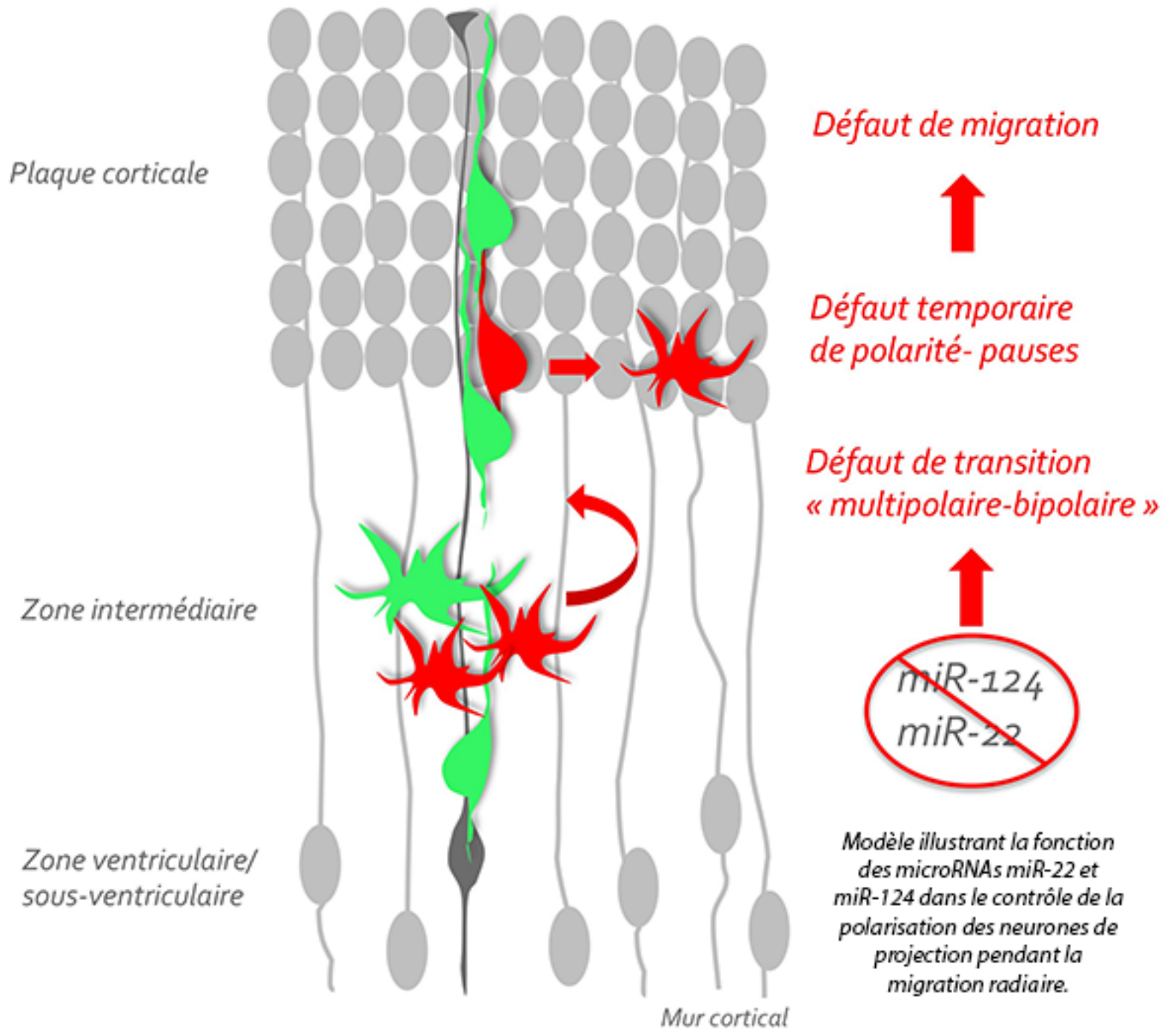
Lorsque Laurent Nguyen et son équipe ont démarré la présente étude, peu de choses étaient alors connues sur les microARNs. « *Nous voulions essayer de déterminer quels sont les microARNs importants pour le développement du cortex. De fil en aiguille, nous avons décidé d'aller voir spécifiquement si des microARNs sont impliqués dans le contrôle de la régulation fine des gènes qui contrôlent la migration des neurones. Et si oui, quels sont-ils ?* », reprend le scientifique. Cette démarche représentait un véritable challenge technique puisqu'il fallait s'assurer d'analyser les microARNs et leurs gènes cibles dans les neurones et pas dans leurs progéniteurs. « *En effet, on sait que les microARNs interviennent dans le contrôle de la biologie des cellules souches et des progéniteurs corticaux. Altérer les microARNs dans ces derniers pourrait affecter secondairement le comportement migratoire des neurones* », précise Laurent Nguyen. Grâce à une approche multidisciplinaire combinant animaux transgéniques, **électroporation in utero**, analyse par time-lapse (microscopie confocale couplée à l'imagerie en temps réel) et **microarray** (puce à ADN), les chercheurs ont réussi à relever ce défi et à identifier deux microARNs qui ciblent le gène CoREST : miR-124 et miR-22. « *CoREST fait partie d'un complexe d'inhibition de la transcription dont une des cibles est le gène doublecortin connu pour être crucial dans la migration des neurones de projection.* », explique Lauren Nguyen. En simple : en l'absence de miR-22 et/ou miR-124, les chercheurs ont observé une augmentation de l'expression du gène CoREST, et donc un renforcement de l'inhibition de la transcription du gène doublecortin, ce qui entraîne un dérèglement de la migration des neurones de projection. « *C'est la première fois que l'importance de certains*

microARNs dans le contrôle de gènes impliqués dans cette migration a été mise en évidence », révèle Laurent Nguyen.

Une migration ralentie en l'absence de miR-22 et miR-124

Le gène doublecortin (ou DCX) est indispensable au bon déroulement de la migration des neurones de projection justement parce qu'il contrôle la transition multipolaire-bipolaire de ceux-ci. « *En l'absence de miR-124 et miR-22, ce gène est inhibé et le **phénotype** observé est tout à fait caractéristique d'un problème de conversion multipolaire-bipolaire* », indique Laurent Nguyen. « *En condition physiologique, un neurone qui est devenu bipolaire, et qui est en locomotion, reste bipolaire. Lorsqu'on invalide miR-124 et/ou miR-22, certains neurones deviennent bipolaires mais ne le restent pas. Les neurones en locomotion perdent cette polarité, redeviennent multipolaires et s'arrêtent* », poursuit-il. Les chercheurs ont ainsi observé que la locomotion de ces neurones était ponctuée de pauses. « *Ensuite les neurones se réengagent sur la glie radiaire et cela correspond à la réacquisition d'une morphologie bipolaire. La plupart des neurones finissent par arriver au cortex mais ils sont ralentis* ». Pourquoi les neurones de projection adoptent-ils ce comportement tout à fait particulier ? « *Nous pensons que cela est dû au fait que doublecortin assure le maintien de la polarité en plus de participer à la conversion multipolaire-bipolaire* », explique Laurent Nguyen. De plus, doublecortin n'est pas le seul gène impliqué dans la transition multipolaire-bipolaire, de nombreux gènes peuvent entraîner des défauts de cette transition lorsqu'ils sont mutés. Ceci explique également pourquoi, malgré l'inhibition de doublecortin, la migration des neurones de projection ait tout de même lieu.

Migration radiaire des neurones de projection



Cette étude, la première à mettre en évidence l'importance de certains microARNs dans le contrôle de la migration des neurones de projection, ouvre la voie à de nouvelles pistes de recherche pour la compréhension de la régulation de ce processus complexe. De manière générale, on observe des défauts d'expression de

microARNs dans différents types de maladies tels que les cancers ou les maladies neurologiques. Cependant, ces régulateurs biologiques ayant été récemment découverts, il reste difficile de déterminer si leur défaut d'expression consiste plutôt en une cause ou en une conséquence des maladies dans lesquelles il est observé.

(1) Volvert, M.-L., Prévot, P.-P., Close, P., Laguesse, S., Pirotte, S., Hemphill, J., Rogister, F., Kruzy, N., Sacheli, R., Moonen, R., Deiters, A., Merkschlager, M., Chariot, A., Malgrange, B., Godin, J., and Nguyen, L. : *MicroRNA Targeting of CoREST Controls Polarization of Migrating Cortical Neurons*, Cell Rep (2014) <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.075>