

Un nouveau rebondissement dans la quête de l'origine des interneurons GABAergiques du cortex cérébral ?

Nicolas Narboux-Nême, Marion Wassef

École Normale Supérieure,
Cnrs UMR 8542, Équipe
régionalisation nerveuse,
46, rue d'Ulm,
75230 Paris Cedex 05, France.
nnarboux@wotan.ens.fr

> Les neurones du cortex cérébral adulte des mammifères peuvent être répartis en deux catégories en fonction du neurotransmetteur qu'ils utilisent. Les neurones utilisant le glutamate sont excitateurs et projettent leurs axones à longue distance dans d'autres régions corticales ou à l'extérieur du cortex. Les neurones GABAergiques utilisent le GABA (acide γ -amino-butérique), sont locaux et ont une fonction inhibitrice qui leur permet de moduler l'activité des neurones glutamatergiques.

On savait depuis longtemps, chez la souris, que les cellules GABAergiques et glutamatergiques du cortex cérébral ne proviennent pas des mêmes cellules progénitrices du neuro-épithélium [1]. On pensait néanmoins que les cellules progénitrices de tous les types cellulaires du cortex cérébral se trouvaient dans la zone ventriculaire corticale (ZV), où se trouvent les cellules en phase proliférative. Après avoir quitté le cycle cellulaire, les précurseurs des neurones migrent selon un axe radial à travers la zone sous-ventriculaire adjacente (ZSV) (→) pour coloniser l'ébauche corticale en formation [2]. Des cellules migrant tangentiellement à la surface du cortex cérébral avaient été observées, mais ce phénomène était tenu pour marginal. On a cependant découvert que ces cellules à migration tangentielle proviennent des éminences ganglionnaires latérales et médianes du télencéphale basal [3], qui formeront le striatum et le pallidum. De plus, loin d'être marginale, cette migration d'origine extracorticale fournit au cortex la quasi-totalité de

ses futurs interneurons GABAergiques (Figure 1B).

Les cellules du télencéphale basal se distinguent des cellules corticales notamment par l'expression de gènes spécifiques. Parmi ceux-ci, les gènes codant pour les neurogénines et Mash1, des facteurs de transcription à domaine bHLH (*basic helix loop helix*), spécifient l'identité neurale par opposition à l'identité gliale. Si les gènes *Neurogénine 1* et *2* sont exprimés spécifiquement dans les progéniteurs du cortex cérébral, Mash1 (*mammalian achaete-scute homolog-1*) a un profil d'expression complémentaire, restreint aux progéniteurs du télencéphale basal. Il y spécifie l'identité des neurones des éminences ganglionnaires en induisant l'expression des gènes *Dlx1/2* (*distal-less homeobox 1/2*) [4]. L'expression des gènes *Dlx* induit à son tour la production de GABA par ces cellules [5]. Par la suite, lorsque les neurones GABAergiques quittent la région ventriculaire dans

laquelle ils sont produits, ils cessent d'exprimer Mash1, mais la transcription de *Dlx* et la production de GABA persistent tout au long de leur migration [3].

Mais qu'en est-il chez l'homme? C'est la question à laquelle K. Letinic *et al.* ont tenté de répondre dans un article paru il y a quelques mois dans *Nature* [6]. La question est moins anecdotique qu'il n'y paraît pour deux raisons. La première est qu'un certain nombre de maladies humaines comme l'épilepsie ou la schizophrénie sont en partie associées à des dysfonctionnements de ces cellules. L'étude des anomalies de migration des

interneurons au cours du développement pourrait aider à comprendre les facteurs prédisposant à ces maladies. Par ailleurs, d'un point de vue évolutif, cette question se révèle pertinente. En effet, une des caractéristiques des primates est l'énorme accroissement de la taille de leur cortex cérébral par rapport à celle des autres régions du cerveau. La région produisant les cellules destinées à coloniser le cortex, dont les cellules GABAergiques, ne s'étant pas accrue dans les mêmes proportions, on pourrait craindre une pénurie de cellules. Par ailleurs, des études récentes du même groupe ont montré que les interneurons peuplant le thalamus humain ont un comportement différent chez le rongeur et chez l'homme: chez tous les mammifères étudiés, les interneurons GABAergiques du thalamus sont exclusivement produits localement dans le diencéphale. Cependant, chez l'homme, un contingent de cellules GABAergiques du thalamus provient des éminences ganglionnaires du télencéphale basal [7] qui est pourtant situé dans une autre division du cerveau (flèche verte de la Figure 1A). *In vitro*, le thalamus dorsal humain a une action attractive sur les cellules GABAergiques du télencéphale basal alors que cette action est répulsive dans les autres espèces de mammifères, primates y compris. Dans ces conditions, qu'en est-il, chez l'homme, des cellules GABAergiques du cortex cérébral qui, chez les rongeurs, proviennent par migration du télencéphale basal?

Les auteurs utilisent pour cette étude des cultures organotypiques de tranches de cerveaux de fœtus humains. Ils observent

(→) m/s
2003, n° 3,
p. 263



que la majorité des cellules reconnues par un anticorps anti-GABA comme par un anticorps anti-Dlx ont une orientation tangentielle et sont situées dans les zones ventriculaires et sous-ventriculaires corticales. Grâce à un colorant lipophile fluorescent, le Dil, les auteurs marquent sur du tissu vivant toutes les cellules situées dans certaines régions ciblées des zones ventriculaires et sous-ventriculaires corticales. Ils peuvent ainsi suivre en temps réel, par une technique de

vidéomicroscopie, les cellules qu'ils ont observées précédemment par immunohistochimie. Ils observent qu'à dix semaines de gestation, presque toutes les cellules migrent dans une direction radiale, la proportion de cellules qui migrent tangentiellement augmentant avec l'âge. Les auteurs transfectent ensuite dans les cellules de ces tranches de cerveau une construction d'ADN permettant d'exprimer une protéine fluorescente, EYFP (*enhanced yellow fluorescent protein*),

spécifiquement dans les neurones. Ils observent alors une importante migration tangentielle des neurones marqués, indiquant que les cellules marquées par le Dil dans les régions ventriculaires et sous-ventriculaires corticales sont bien des neurones et non un autre type cellulaire, glial par exemple. Il existe donc une catégorie de neurones se trouvant dans la région proliférative corticale, capables de migrer tangentiellement, et dont tout laisse penser qu'il s'agit de neurones GABAergiques.

Observées en microscopie électronique, les cellules GABA immunoréactives à orientation tangentielle présentes dans la zone sous-ventriculaire corticale forment un réseau compact interagissant étroitement avec d'autres neurones, ce qui suggère une migration groupée en contact étroit avec d'autres neurones présents dans le cortex cérébral.

Les auteurs ont voulu, par une approche de culture d'explants *in vitro*, vérifier chez l'homme les propriétés migratoires des cellules GABAergiques corticales. Chez la souris, les cellules GABAergiques migrent tangentiellement dans la zone proliférative corticale puis radialement dans l'ébauche corticale le long de la glie radiaire pour coloniser les couches corticales en formation [8]. Chez l'homme, les cellules GABAergiques des explants de ZV et de ZSV migrent en chaînes sans établir de contact avec la glie, mimant la migration en réseau observée au microscope électronique. En revanche, les cellules GABAergiques qui migrent

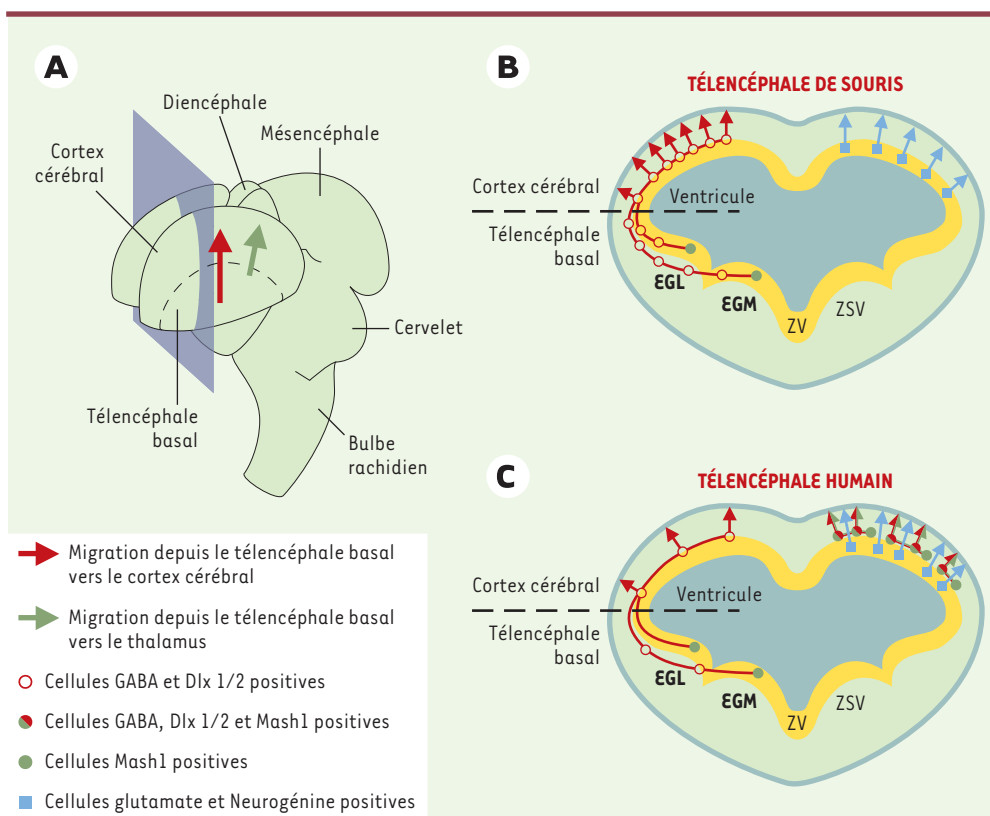


Figure 1. Origine des neurones du cortex cérébral. **A.** Représentation de trois quarts d'un cerveau embryonnaire de souris. La flèche rouge représente la migration tangentielle des cellules GABAergiques du télencéphale basal jusqu'au cortex cérébral. La flèche verte représente la migration des cellules GABAergiques du télencéphale basal vers le thalamus, spécifique de l'homme. **B, C.** Schémas de coupes transversales de télencéphale de souris (**B**) et d'homme (**C**). Chaque coupe montre dans sa partie gauche le comportement des cellules GABAergiques provenant du télencéphale basal et dans la partie droite celui des neurones produits par le cortex cérébral. Chez l'homme comme chez la souris, tous les neurones glutamatergiques du cortex, exprimant la Neurogénine, proviennent de progéniteurs corticaux. Chez la souris, les cellules GABAergiques du cortex sont produites dans la région ventriculaire du télencéphale basal par des progéniteurs exprimant *Mash1*. Au cours de leur migration tangentielle jusqu'au cortex cérébral, elles cessent d'exprimer *Mash1*, expriment les gènes *Dlx* et produisent du GABA. Chez l'homme, seul un tiers des cellules GABAergiques du cortex cérébral se comportent ainsi. Les deux tiers restants sont produits localement par des progéniteurs *Mash1* positifs dans la zone sous-ventriculaire corticale. Ces cellules expriment *Mash1* puis les *Dlx* et produisent du GABA. EGL : éminence ganglionnaire latérale; EGM : éminence ganglionnaire médiane; ZV : zone ventriculaire; ZSV : zone sous-ventriculaire.

hors des explants provenant d'ébauches corticales ne migrent qu'au contact d'une cellule gliale. Il n'y a donc pas de discordance entre les rongeurs et l'homme dans le mécanisme de migration des cellules GABAergiques: elles colonisent le cortex par migration tangentielle dans la zone proliférative corticale, suivie d'une migration radiale le long de la glie pour rejoindre l'ébauche corticale et s'y différencier.

L'originalité des cellules GABAergiques corticales humaines réside dans les gènes qu'elles expriment. Comme celles de la souris, les cellules GABAergiques du cortex cérébral humain expriment les gènes *Dlx*. Cependant, contrairement à la souris, les deux tiers d'entre elles expriment aussi *Mash1*. De plus, *Mash1* est exprimé par 85 % des cellules en division de la ZSV chez l'homme. Tout indique donc que la majorité des interneurons GABAergiques humains sont en fait produits dans la région proliférative corticale et ne proviennent pas du télencéphale basal. Cette prolifération locale a été vérifiée en infectant les cellules des tranches organotypiques de cortex avec un virus porteur d'un transgène codant pour la GFP (*green fluorescent protein*), qui ne s'intègre que dans les cellules en division. L'observation dans le cortex juste après l'infection de cellules fluorescentes indique que certaines cellules ont proliféré. Une partie de ces cellules migrent tangentiellement et d'autres continuent à proliférer tout en produisant des cellules à migration tangentielle. La grande majorité de ces cellules migrant tangentiellement sont reconnues par un anticorps anti-GABA, toutes expriment *Dlx*, et toutes - celles qui prolifèrent comme celles qui migrent - expriment *Mash1*. *Mash1* est donc exprimé par les cellules GABAergiques produites localement par les progéniteurs corticaux. En effet, les auteurs ont exclu que l'expression du gène *Mash1* par les cellules GABAergiques corticales reflète la migration de progéniteurs *Mash1* positifs à partir des éminences ganglionnaires. *In vitro*, les cellules migrant hors d'explants issus d'éminences ganglionnaires n'expri-

ment jamais *Mash1* et ne prolifèrent pas. On peut donc conclure que, chez l'homme, à la différence de ce qui se passe chez le rongeur, la majorité des interneurons humains sont produits par le cortex et non par le télencéphale basal. De plus, ces cellules trouvent leur origine dans la région sous-ventriculaire corticale, qui est, chez la souris, principalement impliquée dans la production de cellules gliales [9]. Le tiers restant des cellules GABAergiques du cortex humain provient des éminences ganglionnaires et ont un comportement semblable à celui qui est observé chez la souris (Figure 1C). Une hypothèse finaliste pourrait justifier l'originalité du comportement des neurones GABAergiques humains produits localement par le cortex, par la nécessité de prévoir une seconde source d'interneurones chez les primates, compte tenu de l'accroissement de la taille du néocortex. Ces résultats nécessitent toutefois quelques précisions. En effet, alors que la formation du cortex dure 10 jours chez la souris, elle dure 200 jours chez l'homme. Les auteurs admettent que leur période d'analyse, qui s'étend de 10 à 25 semaines *in utero*, visualise « la principale vague de production et de migration des neurones corticaux dans le cerveau humain », sans exclure que les cellules GABAergiques observées dans le cortex à dix semaines, et considérées comme produites localement, aient en réalité migré préalablement depuis les éminences ganglionnaires. Certaines cellules GABAergiques tardives sont connues chez la souris [10] pour se diviser dans la zone proliférative corticale après leur migration depuis l'éminence ganglionnaire latérale, mais on ignore si elles expriment *Mash1*. Il demeure possible que, chez l'homme, certaines cellules ayant migré précocement puissent à nouveau se diviser et exprimer *Mash1*.

Bien que faisant l'objet de nombreuses études, un grand nombre de questions sur les cellules GABAergiques corticales restent sans réponse même chez la souris. Les résultats de cette étude pourraient apporter de nouvelles perspec-

tives de recherche. En effet, bien que l'on sache que l'énorme majorité des interneurons GABAergiques corticaux proviennent du télencéphale basal, personne n'a jamais réussi à obtenir un cortex cérébral totalement dépourvu d'interneurones. Il persiste 10 % d'interneurones dans le cortex de souris dont les gènes *Dlx1/2* (nécessaires aux cellules GABAergiques en migration) ont été invalidés [5]. Nous avons nous-mêmes observé qu'*in vitro* les cultures de cellules corticales, ou d'explants de neuroépithélium cortical, même très précoces, contiennent des interneurons en l'absence de toute éminence ganglionnaire. Ces neurones pourraient, là encore, être originaire des éminences ganglionnaires et avoir migré très précocement. On sait par ailleurs que *Mash1*, très majoritairement exprimé dans le télencéphale basal, est aussi faiblement exprimé par certains progéniteurs corticaux [4]. Peut-être existe-t-il dans le cortex cérébral murin une sous-population d'interneurones GABAergiques exprimant *Mash1*, produits localement, mais difficilement décelables *in situ*.

Alors, mécanisme inédit dans la production de cellules GABAergiques corticales humaines ou amplification d'un phénomène commun à tous les mammifères? Dans les deux cas, ces travaux sont remarquables par la qualité des expériences menées sur des fœtus humains, avec des techniques habituellement réservées aux modèles plus faciles d'accès. Ces travaux permettent d'avoir une meilleure idée de la divergence des mécanismes employés par différents organismes pour peupler leur cortex d'interneurones. Comprendre ce phénomène est crucial pour comprendre le fonctionnement cérébral et, par extension, ses dysfonctionnements pathologiques. Dans le prolongement de cette étude, la manière dont ces cellules procèdent ensuite pour se répartir et se différencier harmonieusement dans l'espace cortical demeure mal comprise. ♦

Origin of GABAergic cortical interneurons in mice and humans



RÉFÉRENCES

1. Parnavelas JG, Barfield JA, Franke E, Luskin MB. Separate progenitor cells give rise to pyramidal and nonpyramidal neurons in the rat telencephalon. *Cereb Cortex* 1991; 1: 463-8.
2. Rakic P. Radial versus tangential migration of neuronal clones in the developing cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11323-7.
3. Anderson SA, Eisenstat DD, Shi L, Rubenstein JL. Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: dependence on *Dlx* genes. *Science* 1997; 278: 474-6.
4. Fode C, Ma Q, Casarosa S, Ang SL, Anderson DJ, Guillemot F. A role of neural determination genes in specifying the dorsoventral identity of telencephalic neurons. *Genes Dev* 2000; 14: 67-80.
5. Anderson S, Mione M, Yun K, Rubenstein JLR. Differential origins of neocortical projection and local circuit neurons: role of *Dlx* genes in neocortical interneurogenesis. *Cereb Cortex* 1999; 9: 646-54.
6. Letinic K, Zoncu R, Rakic P. Origin of GABAergic neurons in the human neocortex. *Nature* 2002; 417: 645-9.
7. Letinic K, Rakic P. Telencephalic origin of human thalamic GABAergic neurons. *Nat Neurosci* 2001; 4: 931-6.
8. Naderajah B, Alifragis P, Wong RO, Parnavelas JG. Ventricule-directed migration in the developing cerebral cortex. *Nat Neurosci* 2002; 5: 218-24.
9. Kakita A, Goldman J. Patterns and dynamics of SVZ cell migration in the postnatal forebrain: monitoring living progenitors in slice preparations. *Neuron* 1999; 23: 461-72.
10. Anderson SA, Marin O, Horn C, Jennings K, Rubenstein JLR. Distinct cortical migrations from the medial and lateral ganglionic eminences. *Development* 2001; 128: 353-63.

NOUVELLE

Le récepteur nucléaire orphelin *Rev-erb α* oscille entre répression et activation

Michèle Teboul, Franck Delaunay

> La plupart des organismes contrôlent leur physiologie et leur comportement selon un rythme de 24 heures grâce à une horloge biologique interne. Chez les mammifères, cette horloge réside dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus et elle est synchronisée par la lumière *via* le tractus rétino-hypothalamique (→). En aval, le contrôle rythmique des fonctions physiologiques semble se faire soit directement, soit par l'intermédiaire d'horloges circadiennes présentes au sein même des organes périphériques. Dans ce dernier cas, l'horloge des NSC synchroniserait les rythmes produits localement par les oscillateurs périphériques (→).

Les rythmes circadiens sont contrôlés par

(→) *m/s*
2000, n° 4,
p. 504

(→) *m/s*
2001, n° 4,
p. 501

des gènes « horloges » dont le mode d'action est maintenant extrêmement bien documenté dans la plupart des organismes modèles [1]. Cependant, chez les vertébrés, les

données récentes issues entre autres des expériences d'inactivation de certains gènes « horloges » indiquent que certaines pièces du puzzle sont encore manquantes. L'une d'elles vient d'être identifiée par l'équipe d'U. Schibler (Genève, Suisse) qui montre que le récepteur nucléaire orphelin *Rev-erb α* constitue un composant central de l'horloge des mammifères [2].

L'oscillateur moléculaire de l'horloge circadienne des mammifères

L'élément central de l'horloge circadienne est un oscillateur moléculaire constitué de plusieurs gènes « horloges » qui interagissent entre eux pour former une boucle d'autorégulation négative transcriptionnelle et post-traductionnelle. Les gènes *Clock* et *Bmal1* codent pour deux facteurs bHLH-PAS qui s'hétérodimérisent et activent la transcription des gènes *Period* (*Per1*, *Per2*, *Per3*) et

Cryptochrome (*Cry1* et *Cry2*) *via* des séquences CACGTG présentes dans les promoteurs de ces gènes. Lorsque les

Laboratoire de physiologie
des membranes cellulaires,
Cnrs UMR 6078,
Université
de Nice-Sophia Antipolis,
Chemin du Lazaret,
06230 Villefranche-sur-Mer,
France.
teboul@obs-vlfr.fr

protéines PER et CRY atteignent une concentration critique, les complexes PER:CRY entrent dans le noyau où ils répriment la transcription de leur propre gène en bloquant l'activité de l'hétérodimère CLOCK:BMAL. C'est cette boucle entre

activation et répression qui engendre un oscillateur moléculaire dont la période est de 24 heures. La phosphorylation, la dégradation et l'entrée dans le noyau des protéines de l'horloge contrôlent finement ce mécanisme et permettent d'entretenir l'oscillation en l'absence de stimulus externe [3, 4]. L'expression en antiphasse des gènes *Clock* et *Bmal1*, d'une part, et des gènes *Per* et *Cry*, d'autre part, suggère que ces deux groupes de gènes sont sous le contrôle de mécanismes différents. D'ailleurs, l'analyse des souris mutantes pour les gènes *Per2*, *Cry1* et *Cry2* a montré la régulation positive du gène *Bmal1* par les répresseurs PER2, CRY1 et CRY2 [5]. Ce paradoxe apparent s'explique en fait par l'implication du récepteur nucléaire orphelin *Rev-erb α* , un nouveau venu dans l'oscillateur moléculaire.