

Cerveau et régénérescence¹

■ Y. Arsenijevic²

Unité d'oculogénétique, Département d'ophtalmologie, Hôpital ophtalmique Jules Gonin, Ecole de médecine de l'Université de Lausanne

Summary

Arsenijevic Y. [Brain and regeneration.] *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 2003;154:86–90.

Contrary to the dogma taught in decades which inferred that the brain contains at birth all the cells necessary for its organisation, it is now well established that certain regions of the brain generate new neurons in adulthood. In rodents and monkeys, the olfactory bulb, the hippocampus and the associative cortex form neurons throughout life. The generation of new neurons is dependent on environmental factors such as stress, learning and exercise. In rodents neurogenesis can also occur after a lesion: focal lesions in the cortex stimulate the formation of new neurons able to connect to the right target showing the capacity of the brain to regenerate in certain situations. Neurogenesis was also revealed in the adult human hippocampus suggesting that the discoveries based on monkey studies could be transposed to the human brain. Neurogenic regions contain cells able to proliferate *in vitro* and to generate neurons and glia. This approach allows to study human neurogenesis in the laboratory in order to understand molecular mechanisms that control neuron survival and differentiation and to potentially produce neurons for cell transplantation studies. It appears that our brain maintains, throughout life, the capacity to generate new neurons in various brain areas, probably as a way of better adapting to environment fluctuations. This characteristic opens new perspectives for therapeutical approaches.

Keywords: *neurogenesis; stem cells; glia; human brain; regeneration*

Introduction

Comme nous venons de le voir, les maladies neuro-dégénératives ou les accidents vasculaires cérébraux amènent à la destruction du cerveau sans apparente réparation contrairement à la peau qui se cicatrise après une coupure ou à l'ossature qui se ressoude après une fracture. Il est coutume de penser que le cerveau est un organe achevé à la naissance et qui ne se répare pas de lui-même; mais de récentes découvertes remettent en cause ce dogme.

Résultats et discussion

La neurogénèse chez l'adulte

En 1965, Altman et Das [1] avaient fait une observation remarquable qui n'aura pris de l'intérêt que vers la fin du XX^e siècle. En injectant de la H³-thymidine (un nucléotide radioactif qui marque les cellules en prolifération) dans le péritoine de souris adultes, ils ont observé dans le cerveau que des cellules de type neuronal avaient incorporé cette substance. Cette expérience indiquait que de nouveaux neurones se formaient continuellement dans le système nerveux. Mais cette découverte ne suscita pas l'intérêt des autres chercheurs, car il était estimé que cette neurogénèse chez l'adulte ne concernait que les rongeurs, n'était localisée que dans une région du cerveau peu intéressante et n'était qu'occasionnelle. Ce n'est qu'en 1982 que Bayer et al. [2] montrent, toujours chez les rongeurs, que cette génération de neurones dans le bulbe olfactif est massive. En effet, en utilisant des techniques plus sensibles, ils ont pu montrer que des centaines de nouveaux neurones sont formés par jour. Par la suite, les groupes d'Alvarez-Buylla et de Luskin [3–5] ont révélé que l'origine

Correspondance:
Yvan Arsenijevic, PhD
Laboratoire d'oculogénétique
Hôpital ophtalmique Jules Gonin
15, avenue de France
CH-1004 Lausanne
e-mail: Yvan.Arsenijevic@chuv.hospvd.ch

1 Compte-rendu du Symposium Vie et mort des neurones, semaine du cerveau 2002, Lausanne.
2 Soutenu par le Fonds National de la Recherche Scientifique.

de ces neurones se situe dans une petite zone active adjacente aux ventricules latéraux. Les cellules dans ces régions se divisent puis migrent sur une longue distance à travers le parenchyme pour terminer leur course dans le bulbe olfactif. Il a été constaté d'une manière surprenante que ces cellules ne suivent aucun trajet anatomique et sont probablement guidées par des substances attractives ou repoussantes. Il a été montré récemment que les régions environnantes de ce trajet de migration sécrètent une substance nommée «slit», qui repousse les neurones en migration, les dirigeant vers le bulbe olfactif [6].

Ces découvertes ont pris de l'intérêt lorsque qu'il a été observé que l'hippocampe, une région contrôlant la mémoire à court terme et l'orientation spatiale, produit aussi un nombre significatif de neurones tout au long de la vie [2, 7]. Des dizaines de milliers de neurones sont quotidiennement produits, dont un grand pourcentage meurt les jours suivants. Cette propriété de neurogénèse n'est pas restreinte aux rongeurs; en effet, les primates et l'homme génèrent aussi des neurones dans l'hippocampe pendant la vie adulte [8, 9]. Ceci a pu être démontré de la manière suivante. Chez des personnes atteintes de glioblastomes, le degré de prolifération des tumeurs a été évalué par injection de bromodeoxyuridine, un marqueur de prolifération, afin de savoir combien de cellules prolifèrent au sein de la tumeur et à quelle rapidité. Après le décès de certaines personnes (suite à leur maladie), l'hippocampe a pu être prélevée et analysée comme il a été fait pour les rongeurs et les singes. Il a été observé que des neurones de l'hippocampe contenaient le marqueur de prolifération, montrant que de nouveaux neurones se formaient tout au long de la vie. Chez le singe, d'autres régions cérébrales impliquées dans l'apprentissage et l'analyse ont aussi été révélées être le siège de neurogénèse. Ces observations posent la question du rôle de la génération de nouveaux neurones dans le cerveau. Les expériences suivantes réalisées chez les rongeurs et le singe permettent d'émettre certaines hypothèses. Lorsque des singes sont soumis à un stress chronique, on observe une production réduite de neurones dans l'hippocampe [9]. Par contre, des souris soumises à un environnement enrichi ont la même production de neurones que leurs sœurs restées dans des cages standards, mais ont un plus grand nombre de neurones qui survivent à long terme [10, 11]. Les mêmes observations ont été faites sur des animaux âgés [12]. Ce phénomène peut être lié au fait de courir, qui double la quantité des neurones nouvellement produits [13, 14], ou à la mise en situation d'apprentissage, qui aug-

mente la survie des neurones après leur production [10]. Par des récentes études d'électrophysiologie, il a pu être démontré que ces nouveaux neurones sont actifs après leur formation et pourraient participer à la transmission d'information à travers le cerveau [15]. Ces expériences montrent que la survie des neurones produits peut être dépendante de facteurs de l'environnement et que les neurones pourraient être sélectionnés pour des processus de mémorisation ou d'analyse. Ces observations montrent que notre cerveau agit probablement de manière similaire aux situations citées ci-dessus et que nous avons toujours des neurones en formation dont la survie dépend de notre activité intellectuel ou physique. Notre cerveau semble être en constante restructuration.

On voit que le cerveau se construit tout au long de la vie et, face à ces découvertes, la possibilité de régénération après une lésion a été revisitée. Si une lésion massive touche une région du cerveau, aucun nouveau neurone n'est produit, seuls les astrocytes envahissent la région lésée et vont remplir l'espace mort. Par contre, si on induit chez la souris une mort neuronale ponctuelle et localisée, on aperçoit que de nouveaux neurones se mettent à la place des neurones morts et refont les connexions initiales [16]. Ces résultats montrent que le cerveau des mammifères a un pouvoir de régénération si les lésions sont restreintes.

Les phénomènes décrits ici montrent l'incroyable capacité de notre cerveau d'évoluer par rapport à notre environnement et à des agressions locales. Ces nouvelles découvertes ouvrent de nouvelles possibilités thérapeutiques. La constante stimulation d'une personne vieillissante devrait aider à ralentir ses pertes de facultés, comme il se fait maintenant avec certaines personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer. D'autre part, on peut envisager à long terme d'utiliser à des fins thérapeutiques les cellules qui forment les neurones. Si des cellules participent à la neurogénèse *in vivo*, on peut imaginer isoler ces cellules en laboratoire, les faire se multiplier et produire les neurones d'intérêts et finalement les transplanter dans le cas de maladie comme celle de Parkinson ou de Huntington. Des premières études vont dans ce sens. Il a été possible d'isoler dans le cerveau humain des cellules multipotentes, qui ont la capacité de former des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes [17–21]. Ces cellules se trouvent aux abords des ventricules, dans la zone subventriculaire. C'est à partir de cette région que le cerveau s'est formé pendant le développement grâce à la présence de cellules souches qui génèrent les neurones et la glie par différentes vagues successives. Les cellules souches fœtales ont d'abord été isolées

en laboratoire à partir de fœtus de souris [22]. La simplicité de l'isolation et de la multiplication de ces cellules a permis de découvrir de nombreux mécanismes concernant le fonctionnement de la neurogénèse et de produire en quantité quasi illimitée des cellules pour des études de transplantations. Ces deux domaines de recherches ont pu considérablement avancer grâce à cette nouvelle technologie [23–28]. Par contre, lorsque les chercheurs se sont intéressés aux cellules souches cérébrales adultes, les succès ont été nettement moins marqués mais néanmoins encourageants. Il a d'abord été montré chez la souris [29] et le rat [30], que le cerveau adulte, dont la rétine [31], conserve des cellules souches cérébrales. Ces cellules semblent être en partie différentes des cellules isolées à partir de fœtus par le fait qu'elles sont difficiles à amplifier et qu'elles nécessitent probablement d'autres facteurs neurotrophiques pour assurer leur survie [21, 32]. Chez l'homme, il en est de même: différents groupes ont pu isoler et amplifier des cellules souches cérébrales à partir de fœtus [33, 34]. Ces cellules peuvent être amplifiées au moins pendant deux ans en gardant la propriété de générer des neurones [34]. Ces cellules non-seulement se différencient en neurones, astrocytes et oligodendrocytes *in vitro*, mais aussi *in vivo* après transplantation dans des singes en cours de développement montrant que les cellules souches conservent, après amplification en laboratoire, une capacité de répondre à un programme de neurogénèse. Mais ces résultats sont à considérer avec prudence en vue des nouvelles découvertes montrant que certaines cellules souches peuvent, dans certaines conditions, fusionner avec les cellules de l'hôte montrant une fausse capacité de ces cellules de se différencier [35]. Chez l'homme adulte, il est possible d'amplifier de 10^8 fois des cellules progénitrices en 4 mois grâce à la stimulation de plusieurs facteurs [21]. Il a été montré que d'autres régions du cerveau contiennent des cellules capables de générer des neurones et de la glie, leur pouvoir de prolifération restant encore inconnu. En effet, le cortex frontal et temporal, ainsi que l'amygdale maintiennent tout au long de la vie des cellules capables de générer des neurones [17] suggérant que ces régions pourraient être le siège d'une neurogénèse pendant la vie adulte. Notre cerveau semble donc être en perpétuelle construction et notamment dans des régions responsables de l'analyse et de la mémoire (cortex associatif, hippocampe).

Neurogénèse et cellules souches

Le fait de pouvoir isoler en laboratoires des cellules souches humaines et de produire des neurones apporte de nouveaux outils pour la médecine. Il a été observé que les cellules humaines, bien qu'ayant de nombreuses homologues avec les cellules de souris, possèdent des différences intrinsèques. Par exemple, l'application d'un protocole visant à produire des oligodendrocytes à partir de cellules de souris non-seulement n'aboutit pas (à partir de cellules humaines) à la production d'oligodendrocytes, mais forme moins de neurones en comparaison de conditions standards [17]. Il apparaît donc qu'il est nécessaire d'avoir des cellules cérébrales humaines en laboratoire afin de déterminer quels facteurs naturels ou pharmacologiques peuvent agir sur la survie des neurones ou celle des cellules gliales. L'identification des gènes et des mécanismes soutenant le phénomène de survie a aussi de nombreuses implications pour la médecine. Lorsqu'on connaîtra mieux la fonction des facteurs de survie et leurs mécanismes, on pourra développer des thérapies qui tentent de ralentir ou de prévenir des maladies neurodégénératives ou des maladies affectant la glie comme la sclérose en plaque. Une autre perspective concerne l'utilisation des cellules souches adultes pour générer certains types de neurones à des fins de transplantation. Grâce à la transplantation de cellules fœtales du mésencéphale chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (qui perdent progressivement leurs neurones dopaminergiques du mésencéphale), il a pu être montré que la transplantation cellulaire peut soulager le patient des symptômes dont il souffre [36]. Comme il faut un à quatre embryons pour soigner un patient Parkinsonien et qu'un grand nombre de malades existe dans chaque pays, il est nécessaire de pouvoir produire des neurones dopaminergiques en grande quantité. Les cellules souches pourraient être une alternative à cette source de cellules primaires. Il existe trois sources différentes de cellules souches: les cellules souches embryonnaires dérivées du stade blastula de l'embryon, les cellules souches fœtales et enfin les cellules souches adultes. Chaque source a ses avantages et ses inconvénients, tant d'un point de vue biologique, que d'un point de vue éthique. Par exemple, les cellules embryonnaires prolifèrent relativement facilement et il existe des protocoles pour induire la formation de cellules dopaminergiques [37] qui sont fonctionnelles après transplantation dans des modèles de rats de la maladie de Parkinson [38]; mais il est connu que les cellules souches embryonnaires peuvent former des tumeurs. Il est

donc nécessaire de développer des procédures pour éliminer les cellules à potentiel tumorigénique. D'autre part, l'isolation de cellules souches embryonnaires a lieu à partir d'embryons surnuméraires provenant de la fécondation *in vitro* posant de nombreux problèmes éthiques. Pour les cellules adultes cérébrales, il est difficile jusqu'à présent (mais ce domaine vient juste de naître) de faire proliférer les cellules souches. Par contre, on sait comment induire des neurones dopaminergiques sur des cellules provenant de rat adulte [39], et il est supposé qu'une approche similaire pourrait être aussi efficace chez l'homme. Les cellules adultes ont aussi l'avantage de potentiellement pouvoir être utilisées pour une transplantation autologue afin de palier aux effets secondaires de l'immunosuppression. D'autre part, lorsqu'on connaîtra la biologie des cellules souches adultes, on pourra envisager de les stimuler directement dans le cerveau pour générer de nouveaux neurones comme cela a été décrit chez les rongeurs [40, 41] et le singe [42]. L'utilisation de cellules adultes posent aussi de nombreux problèmes éthiques comme d'avoir le consentement éclairé du patient pour des applications dont nous ne connaissons pas encore toutes les possibilités. Les cellules souches adultes peuvent aussi provenir de personnes décédées: il est délicat d'avoir l'accord d'une famille pour faire un don d'organe, encore plus pour un don de cellules pour la recherche, ceci sans altérer le don d'organe qui serait une catastrophe pour le patient en attente. Nous avons vu que les cellules souches pourraient avoir des débouchées thérapeutiques considérables, mais leur biologie n'est encore que peu comprise. C'est seulement en connaissant le potentiel de chaque source de cellules souches et les problèmes éthiques qui leurs sont liés qu'on pourra faire un réel choix de société afin de soigner nos malades et respecter notre conception de la vie. Il est donc nécessaire que les chercheurs puissent sous contrôle étatique étudier les cellules souches embryonnaires, fœtales et adultes pour atteindre ces buts.

Conclusions

Il apparaît donc que l'architecture de notre cerveau continue tout au long de la vie à se développer en fonction des stimulations bénéfiques et néfastes de l'environnement. Cet organe a, enfin de compte, des propriétés physiques d'adaptation, comme celles du muscle qui s'hypertrophie lors d'exercices et s'atrophie lors d'inaction. En fait, il aura fallu des années de recherches pour confir-

mer, d'un point de vue morphologique, un vieil adage qui prône d'avoir un esprit sain dans un corps sain.

Références

- Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965;124:319–35.
- Bayer SA, Yackel JW, Puri PS. Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life. *Science* 1982;216:890–2.
- Lois C, Alvarez-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:2074–7.
- Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 1994;264:1145–8.
- Luskin MB. Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* 1993;11:173–89.
- Wu W, Wong K, Chen J, Jiang Z, Dupuis S, Wu JY, et al. Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature* 1999;400:331–6.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 1996;16:2027–33.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998;4:1313–7.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:3168–71.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 1999;2:260–5.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997;386:493–5.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J Neurosci* 1998;18:3206–12.
- van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:13427–31.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999;2:266–70.
- van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 2002;415:1030–4.
- Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature* 2000;405:951–5.
- Arsenijevic Y, Villemure JG, Brunet JF, Bloch JJ, Deglon N, Kostic C, et al. Isolation of multipotent neural precursors residing in the cortex of the adult human brain. *Exp Neurol* 2001;170:48–62.

- 18 Johansson CB, Svensson M, Wallstedt L, Janson AM, Frisen J. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp Cell Res* 1999;253:733–6.
- 19 Kukekov VG, Laywell ED, Suslov O, Davies K, Scheffler B, Thomas LB, et al. Multipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp Neurol* 1999;156:333–44.
- 20 Pagano SF, Impagnatiello F, Girelli M, Cova L, Grioni E, Onofri M, et al. Isolation and characterization of neural stem cells from the adult human olfactory bulb. *Stem Cells* 2000;18:295–300.
- 21 Palmer TD, Schwartz PH, Taupin P, Kaspar B, Stein SA, Gage FH. Cell culture. Progenitor cells from human brain after death. *Nature* 2001;411:42–3.
- 22 Reynolds BA, Tetzlaff W, Weiss S. A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J Neurosci* 1992;12:4565–74.
- 23 Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM, Tramontin AD. A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:287–93.
- 24 Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000;287:1433–8.
- 25 McKay R. Stem cells and the cellular organization of the brain. *J Neurosci Res* 2000;59:298–300.
- 26 Morshead CM, van der Kooy D. A new “spin” on neural stem cells? *Curr Opin Neurobiol* 2001;11:59–65.
- 27 Sommer L, Rao M. Neural stem cells and regulation of cell number. *Prog Neurobiol* 2002;66:1–18.
- 28 Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:387–403.
- 29 Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992;255:1707–10.
- 30 Palmer TD, Takahashi J, Gage FH. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci* 1997;8:389–404.
- 31 Tropepe V, Coles BL, Chiasson BJ, Horsford DJ, Elia AJ, McInnes RR, et al. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science* 2000;287:2032–6.
- 32 Taupin P, Ray J, Fischer WH, Suhr ST, Håkansson K, Grubb A, et al. FGF-2-responsive neural stem cell proliferation requires CCg, a novel autocrine/paracrine cofactor. *Neuron* 2000;28:385–97.
- 33 Carpenter MK, Cui X, Hu ZY, Jackson J, Sherman S, Seiger A, et al. In vitro expansion of a multipotent population of human neural progenitor cells. *Exp Neurol* 1999;158:265–78.
- 34 Vescovi AL, Parati EA, Gritti A, Poulin P, Ferrario M, Wanke E, et al. Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. *Exp Neurol* 1999;156:71–83.
- 35 Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002;416:545–8.
- 36 Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat Neurosci* 2000;3:537–44.
- 37 Lee SH, Lumelsky N, Studer L, Auerbach JM, McKay RD. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2000;18:675–9.
- 38 Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002;418:50–6.
- 39 Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH. Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 1999;126:4017–26.
- 40 Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, Reynolds BA, Weiss S, van der Kooy D. In vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci* 1996;16:2649–58.
- 41 Aberg MA, Aberg ND, Hedbacker H, Oscarsson J, Eriksson PS. Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000;20:2896–903.
- 42 Fallon J, Reid S, Kinyamu R, Opole I, Opole R, Baratta J, et al. In vivo induction of massive proliferation, directed migration, and differentiation of neural cells in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:14686–91.