Orion et le dialogue neurone-glie au cours du remodelage neuronal

| PAR ANA BOULANGER ET JEAN-MAURICE DURA*

Introduction

Le remodelage neuronal est un mécanisme, présent dans tout le règne animal, qui élimine les neurites et peut aller jusqu'à la disparition des corps cellulaires. Le remodelage neuronal physiologique et développemental est un mécanisme nécessaire à la maturation des circuits neuronaux indispensable à leurs fonctions. De façon pas très surprenante d'un point de vue mécanistique, mais néanmoins très importante, des processus cellulaires et moléculaires similaires sont à l'œuvre au cours d'anomalies neuro-développementales et après blessure du système nerveux. En particulier, les phagocytes majeurs qui agissent pendant le remodelage neuronal et la dégénérescence neuronale sont les cellules gliales. Des voies de signalisation privilégiées entre les cellules gliales et les neurones, processus bien décrits (1). L'élimination des débris neuronaux par les cellules gliales peut être divisée en deux étapes distinctes. La première étape est l'infiltration des extensions cytoplasmiques des cellules gliales dans le faisceau axonal ou l'arbre dendritique et l'engloutissement des débris neuronaux. La deuxième étape est l'endocytose des débris engloutis par les cellules gliales conduisant à la formation de phagosomes puis de phagolysosomes. On connaît peu de choses de la relation entre les voies de signalisation activées dans la glie et l'initiation de la formation du phagolysosome. On peut noter que la fonction de phagocytose des cellules gliales avait été déjà proposée au début du XXe siècle (2, 3). Au cours des dernières décennies, un rôle clé des cellules gliales, autant pour l'élagage synaptique que pour l'élimination des neurones, a été clairement identifié. Des signaux envoyés par les neurones ou par les neurites amenés à disparaître sont reçus par des cellules gliales appropriées. En ce qui concerne la transformation des cellules gliales en phagocytes pendant le remodelage neuronal chez *Drosophila*, seulement quelques signaux et récepteurs, impliqués dans le dialogue neurone-glie, ont été identifiés ou proposés. La plupart sont des molécules conservées chez les mammifères. Ici, nous décrivons le rôle d'Orion qui induit l'infiltration des astrocytes et l'engloutissement des débris neuronaux au cours du remodelage neuronal des corps pédonculés, le centre de la mémoire de la drosophile. La protéine secrétée Orion a des caractéristiques d'une chimiokine de type CX3C. Quoique la signalisation par les chimiokines n'ait pas été décrite précédemment chez les insectes, nous proposons que l'implication d'un mécanisme de type chimiokine dans l'interaction neurone/glie est évolutivement ancien.

Le remodelage neuronal au cours du développement comprend l'élimination et/ou l'addition de synapses ou de neurites dans des circuits neuronaux déjà formés. Cette élimination ou élagage est définie comme la dégénérescence, régulée au cours du développement, d'axones, de dendrites et de synapses. L'élagage des axones et des dendrites est souvent suivi par une repousse adaptée au stade de développement suivant. L'élagage dépend de deux types de mécanismes cellulaires 1) autonomes (à l'intérieur des neurones) et 2) non autonomes (à partir des tissus environnants). Les mécanismes autonomes conduisent à des changements d'expression génique et à la dissociation locale du cytosquelette aboutissant à la fragmentation des neurites. Les mécanismes non autonomes impliquent une communication avec les cellules gliales et l'activation de leur machinerie phagocytaire (4, 5).

Il existe sept types de cellules gliales morphologiquement bien définis et qui montrent une grande diversité moléculaire dans le système nerveux de *Drosophila* (6). Une activité phagocytaire est proposée pour quatre types de glie : la glie astrocytaire, la glie engainante, la glie corticale qui sont toutes les trois spécifiques du système nerveux central et la glie entourante (wrapping) qui est trouvée seulement dans le système nerveux périphérique. On considère que ces cellules gliales sont activées par différents signaux envoyés par les neurones et qui, en retour, initient leur infiltration dans les faisceaux d'axones ainsi que l'engloutissement des débris axonaux suivi par leur destruction dans les phagosomes.

Les signaux de communication entre les neurones et la glie

*Institut de Génétique Humaine, Équipe Neurogénétique et Mémoire, Univ Montpellier, CNRS, Montpellier

au cours du développement et après blessure sont, à ce jour, très peu compris. Ici, nous discutons du rôle d'Orion, une protéine secrétée ayant des caractéristiques d'une chimiokine de type CX3C, en tant que signal transformant les cellules gliales en phagocytes au cours du remodelage du cerveau.

Le remodelage neuronal des corps pédonculés au cours de la métamorphose

Les corps pédonculés (CP) sont des structures du cerveau chez *Drosophila* indispensable à l'apprentissage et la mémoire olfactive (7). Le cas le plus documenté de remodelage neuronal est vraisemblablement l'élagage développemental des axones des neurones γ des CP (5, 8, 9). Les neurones γ sont les premiers neurones des CP, ils apparaissent à la fin du stade embryonnaire et arrêtent d'être produits à la fin du 3e stade larvaire. Ces neurones larvaires ont des axones branchés dont chaque branche projette dans les lobes dorsaux et médiaux des CP. Au début de la métamorphose, quand la larve se transforme en pupe qui va devenir un adulte, les neurones γ subissent un élagage des dendrites et axones larvaires suivis par une repousse des neurites spécifiques de l'adulte. En particulier, les axones γ des CP adultes ne sont pas branchés et projettent seulement dans le lobe médial (10). La plupart des effets de l'hormone stéroïde 20-hydroxyecdysone (ecdysone), l'hormone de la métamorphose, sont médiés par le récepteur à l'ecdysone EcR-B1. Ce facteur de transcription est indispensable à l'élagage des axones γ (5, 8, 9). Une orchestration précise du dialogue neurone-glie assure l'efficacité du remodelage des neurones γ. Tout d'abord le ligand Myoglianin (Myo) de type TGF- β, secrété principalement par la glie corticale, active ses récepteurs TGF- β dans les neurones γ. Puis, la voie TGF- β en association avec le complexe cohésine et la voie des récepteurs nucléaires active la transcription d'EcR-B1 dans les neurones γ larvaires (8, 9, 11). Les cibles candidates d'EcR-B1, à l'intérieur du neurone γ, sont notamment les gènes du système ubiquitine protéasome (UPS) et le gène de l'α-Tubulin. Les protéines UPS sont nécessaires pour l'élagage des axones γ. L'expression de l'α-Tubulin montre que le cytosquelette de microtubules disparait dès 8 heures après la formation de la pupe (8 h APF), avant que les premiers signes de dégénérescence soient observés. En résumé, une cascade génique à l'intérieur des neurones γ assure la fragmentation axonale. Un travail précurseur (12) a montré que, dans la jeune pupe, les extensions gliales entourent les CP puis pénètrent dans les deux lobes γ et engloutissent les débris axonaux. Il est important de noter que l'inhibition de certaines fonctions cellulaires dont l'endocytose, spécifiquement dans ces cellules gliales, supprime l'infiltration gliale et entraîne un délai notable dans l'élagage. Il a donc été suggéré que la glie a un rôle actif dans le processus de remodelage (12). De plus, il a été clairement montré que l'altération de la signalisation ecdysone, spécifiquement dans ces cellules gliales, aboutit à des défauts partiels d'élagage axonal des CP en plus d'un défaut très important dans l'élimination des débris (13). C'était la première fois que le rôle direct de la glie dans le processus d'élagage autour des CP était suggéré, au moins pour certains axones. Finalement, l'engloutissement et la phagocytose par les cellules gliales des axones des CP dépend de l'expression de EcR-B1 dans les neurones γ. Ce résultat suggère qu'un signal neuronal doit être produit par les axones γ des CP afin de recruter la glie autour des lobes γ (12). D'autre part, il a aussi été montré que le type majoritaire de glie responsable de l'élimination des débris des CP sont des astrocytes (13,14).

Rôle de la chimiokine-apparentée Orion dans le remodelage des corps pédonculés

Ce signal neuronal est probablement codé par le gène nouvellement identifié *orion* (15). Une mutation nulle et viable dans le gène *orion* a été trouvée dans un crible, chez l'adulte, pour des défauts d'élagage des axones des CP. Orion est secrétée à partir des neurones γ des CP, reste proche de la membrane axonale, est nécessaire à l'infiltration des astrocytes dans le faisceau d'axones γ et s'associe avec les extensions astrocytaires. À 6 h APF chez les individus dépourvus de fonction *orion*, à la différence des individus sauvages, il n'y a pas d'invasion des cellules gliales dans le faisceau γ. À 24 h APF, une absence d'infiltration des cellules gliales et d'engloutissement des axones en dégénérescence est toujours observée chez les mutants (figure 1). La fragmentation des axones γ est dépendante d'un programme intrinsèque

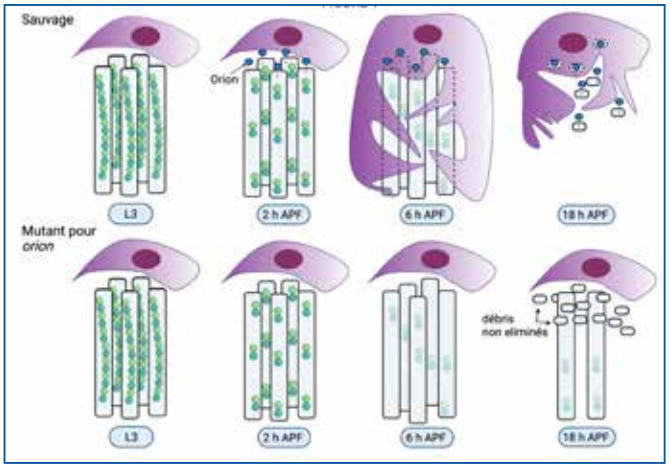


Figure 1 - La sécrétion d'Orion par les axones des CP induit l'infiltration des astrocytes et l'engloutissement des débris axonaux. *(En haut) En condition normale, le ligand Orion (points bleus) est secrété 2 heures après la formation de la pupe (2 h APF) sous le contrôle de EcR-B1. À 6 h APF Orion est reconnu par la glie comme le signal d'activation pour l'infiltration et l'engloutissement (les cellules gliales sont en magenta). (En bas) Dans un cerveau mutant pour orion, où donc Orion n'est pas fonctionnel, la fragmentation axonale a lieu, comme chez le sauvage, car elle est sous le contrôle d'un programme intrinsèque aux neurones. Le réseau de microtubules (en billes vert foncé - vert clair) commence à se désagréger à 2 h APF. Par contre, les astrocytes ne sont jamais activés, ils n'envahissent pas les faisceaux axonaux et les débris axonaux non engloutis sont visibles dès 18 h APF ainsi que quelques axones non élagués. Figure créée avec BioRender.com*

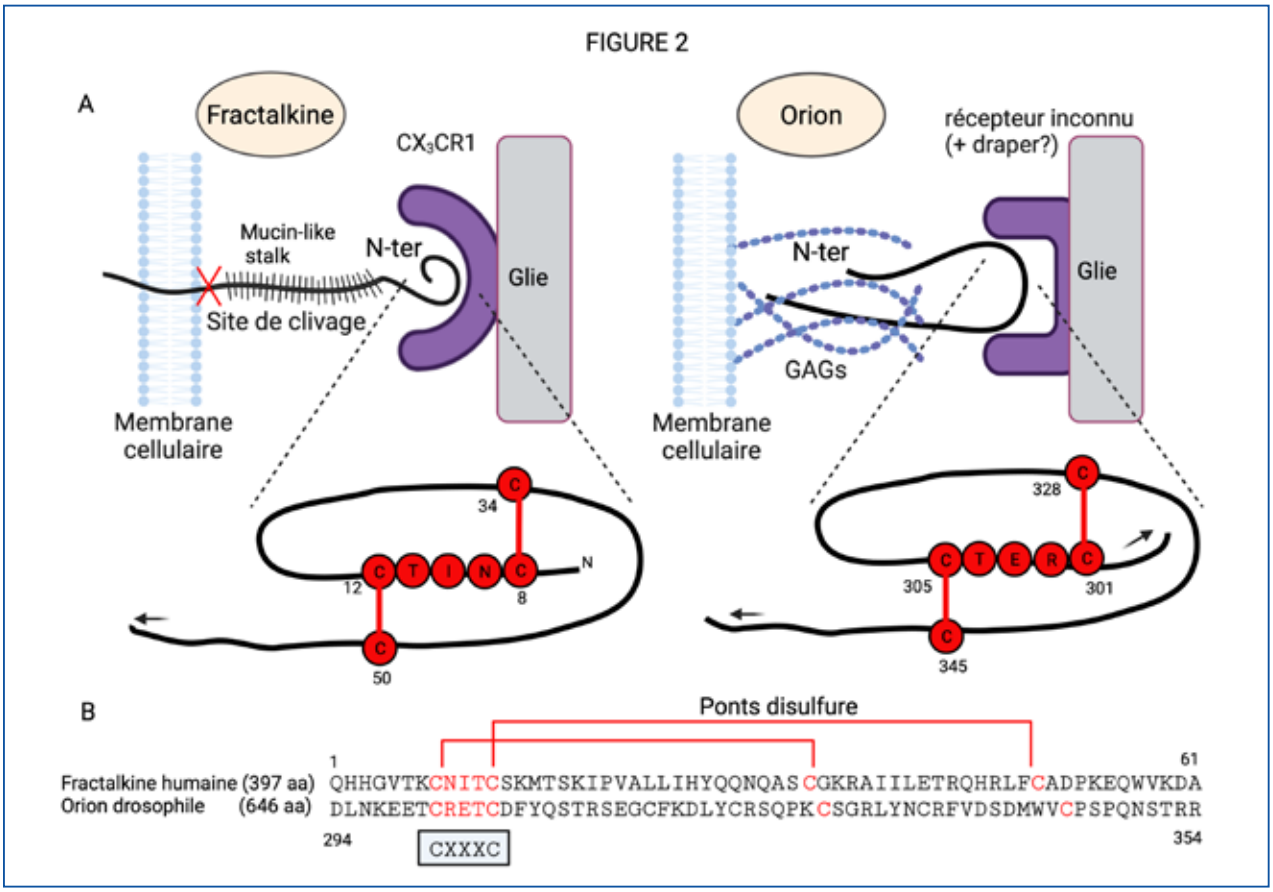


Figure 2 *- Similitudes entre la Fractalkine mammifère et Orion de drosophile. (En haut) La Fractalkine est une protéine membranaire qui peut être clivée. C'est la seule chimiokine CX3C mammifère identifiée. Le motif CX3C, qui se trouve dans la région N-ter, permet une structure en boucle de la protéine avec deux ponts disulfures. Ce motif est indispensable à la reconnaissance par son récepteur CX3CR1. En ce qui concerne la totalité de sa séquence, Orion n'est vraisemblablement pas un réel orthologue de la Fractalkine. Cela dit, de grandes similitudes existent entre les deux protéines : 1) fonction de communication neurone-glie ; 2) bien que sécrétée, Orion reste très poche de la membrane grâce à sa liaison à des glycosaminoglycanes (GAG, des polysaccharides complexes représentés à droite par des billes bleu foncé - bleu clair); 3) Le motif CX3C d'Orion peut également permettre une structure en boucle, avec des ponts disulfures, similaires à ceux de la Fractalkine. (En bas) comparaison de la séquence en acides aminés dans la région du motif CX3C de la Fractalkine et d'Orion. Figure créée avec BioRender.com*

aux CP qui n'est pas affecté dans le mutant *orion*. La quantité importante de débris axonaux visualisés chez les individus *orion*^{null} est due à l'incapacité des astrocytes d'éliminer les débris laissés après la fragmentation axonale. Néanmoins, chez ces individus mutants, alors que la majorité des axones dégénère, quelques axones γ larvaires persistent (figure 1). Ce qui pourrait indiquer un rôle des astrocytes au niveau de la coupure des axones. Ceci est en accord avec le découplage de deux processus décrits pour les astrocytes au cours du remodelage des CP : la fragmentation de certains axones et l'élimination des débris axonaux de la majorité des axones qui sont fragmentés (13).

Orion est exprimé dans les neurones γ et est probablement une cible transcriptionnelle de EcR-B1. Ceci est en accord avec l'hypothèse qu'un facteur diffusible est produit par les axones γ des CP afin de recruter la glie autour des lobes γ (12). L'expression d'Orion est requise dans les neurones γ mais pas dans la glie pour assurer le remodelage neuronal (15). Orion est une protéine secrétée qui porte des caractéristiques de chimiokine telles qu'un motif CX3C et trois séquences putatives de liaison aux glycosaminoglycanes (GAG), des polysaccharides complexes présents dans la matrice extracellulaire. La mutagenèse dirigée de ce motif et de ces séquences entraînent une perte totale ou partielle de la fonction d'Orion. Les chimiokines sont une famille de cytokines chimiotactiques caractérisées par un motif CC, CXC ou CX3C qui induit la migration directionnelle des cellules. La CX3CL1 mammifère (aussi connue sous le nom fractalkine) est impliquée dans la communication neurone-glie. La fractalkine et son récepteur, CX3CR1, sont requis pour le remodelage post-traumatique des neurones corticaux du cerveau dans le paradigme de lésion des moustaches comme cela a été montré récemment chez la souris (16). La fractalkine humaine présente des ponts disulfures intramoléculaires qui semblent conservés en relation avec leur distance au motif CX3C d'Orion (figure 2). Ceci indique la possibilité d'une conservation d'une structure d'ordre supérieur d'un domaine CX3C. Le domaine CX3C est vraisemblablement important pour la liaison de la fractalkine à son récepteur. Quoique portant un motif CX3C essentiel à

sa fonction, Orion (646 acides aminés) est bien plus grand que les chimiokines de vertébrés (397 acides aminés pour la fractalkine) et n'est donc vraisemblablement pas un véritable orthologue de la fractalkine. Néanmoins, nous proposons que la liaison d'Orion à son récepteur glial, inconnu à ce jour, pourrait s'établir, comme pour la fractalkine, *via* son motif CX3C (figure 2). Le récepteur *draper (drpr)* a un rôle essentiel dans l'activation phagocytaire des cellules gliales. Le gène *drpr* code pour un récepteur à domaine transmembranaire, homologue du gène *ced-1* de *C.elegans* et des gènes humains MEGF10 et MEGF11. Drpr est, entre autres, impliqué dans le remodelage neuronal où il est requis pour l'élagage des neurites et/ou pour l'élimination des corps cellulaires (17). À ce titre, Drpr semble être le candidat idéal en tant que récepteur d'Orion. Cela dit, les phénotypes mutants *orion*^{1} et *drpr*$^{\Delta 5}$, considérés comme des pertes totales de fonction, au niveau des CP sont différents. En effet, le phénotype mutant pour *orion* est plus sévère et plus pénétrant que celui de *drpr* (13,15). Cela suggère que Drpr n'est pas, ou du moins pas le seul, récepteur d'Orion. Ainsi, Orion et son récepteur astrocytaire pourraient être impliqués à la fois dans la fragmentation axonale et l'élimination des débris de façon similaire au rôle décrit pour EcR-B1 dans les astrocytes (13). Drpr, d'un autre coté pourrait être impliqué de façon majoritaire dans l'élimination des débris neuronaux avec seulement un rôle très mineur dans la fragmentation axonale. Le remodelage des CP peut être résumé en deux étapes de communication cellulaire entre les neurones et la glie encadrant un programme intrinsèque de fragmentation des axones γ. La première étape implique une signalisation, à partir de la glie corticale, par sécrétion de Myo qui active la voie TGF- β à l'intérieur des neurones γ permettant d'initier la cascade génique aboutissant à la fragmentation des axones γ. La deuxième étape est la sécrétion d'Orion par les axones γ des CP qui est reçue par les astrocytes et initie leur infiltration dans les faisceaux d'axones γ ainsi que l'engloutissement des fragments axonaux. Ainsi, la glie est la clé de voute du remodelage développemental des neurones, pas seulement en engloutissant et en phagocytant les débris neuronaux résultant d'une cascade génique intrinsèque mais aussi en permettant l'établissement de ce programme de fragmentation axonal.

Conclusion

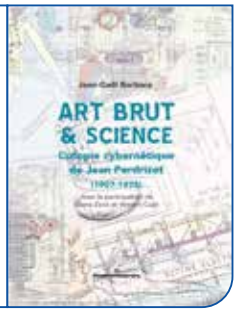
Les signaux envoyés par les neurones ou les neurites en dégénérescence afin d'être élagués au cours de processus développementaux ou enlevés après un traumatisme sont reçus par les cellules gliales appropriées. Après avoir reçu ces signaux, les cellules gliales sont transformées en phagocytes, infiltrent les sites de dégénérescence, engloutissent et éliminent les débris neuronaux par des mécanismes de phagocytose. Alors que la séquence primaire en acides aminés d'Orion, une chimiokine-apparentée de type CX3C, ne permet pas de considérer Orion comme un orthologue de la fractalkine humaine, il semble probable qu'une conservation fonctionnelle du mécanisme de signalisation employé soit similaire. Ceci peut indiquer que l'implication d'un mécanisme de type chimiokine dans les interactions cellulaires neurone-glie soit évolutivement ancien. Dans ce cadre fonctionnel, l'inhibition d'Orion pourrait être une voie thérapeutique à explorer afin d'élucider certaines pathologies neurodégénératives.

ana.boulanger@igh.cnrs.fr
jean-maurice.dura@igh.cnrs.fr

Références

(1) Faust T. E. et al. (2021). Nat. Rev. Neurosci. 22(11) : 657-673.
(2) Marinesco G. (1907). Revues générales des sciences pures et appliquées :145-159.
(3) Ramon y Cajal S. (translation 1991). DOI10.1093/acprof:oso/9780195065169.001.0001
(4) Riccomagno M. M. & Kolodkin A. L. (2015) Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 31 :779-805.
(5) Schuldiner O. & Yaron, A. (2015) Cell. Mol. Life. Sci. 72(1) :101-119
(6) Bittern J. et al. (2021) Dev Neurobiol, 81(5) :438-452.
(7) Heisenberg M. (2003) Nat. Rev. Neurosci. 4(4) : 266-275.
(8) Boulanger A. & Dura J. M. (2015) Biochim. Biophys. Acta 1849(2) : 187-195.
(9) Yaniv S. P. & Schuldiner O. (2016) Wiley Interdiscip Rev Dev Biol 5(5) : 618-635.
(10) Lee T et al. (1999). Development 126(18): 4065-4076.
(11) Boulanger A. et al. (2011). Nat. Neurosci. 14(1) : 37-44.
(12) Awasaki T. & Ito K. (2004). Curr. Biol. 14(8) : 668-677.
(13) Hakim Y. et al. (2014). PLoS One, 9(1).
(14) Tasdemir-Yilmaz O. E. & Freeman M. R. (2014). Genes & Development, 28(1) : 20-33.
(15) Boulanger A. et al. (2021). Nat. Commun. 12(1) : 1849.
(16) Gunner, G. et al. (2019). Nat. Neurosci. 22(7), 1075-1088.
(17) Melcarne C.et al. (2019). Insect. Biochem. Mol. Biol. 109 : 1-12.

Jean-Gaël Barbara
Art brut & science
L'Utopie cybernique de Jean Perdrizet (1907-1975)
Éditions Herman



William Rostène
Le retournement du temps
Fiction Historico-scientifique
Éditions Sydney Laurent