



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **10 décembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur FOUCAULT Louis**

Titre de la thèse : « *Diversité, dynamiques et potentiel régénératif des cellules souches neurales de la zone sous ventriculaire dorsale* »

Résumé



Le système nerveux central est un tissu particulièrement complexe, composé de nombreuses régions fonctionnellement distinctes mais interconnectées. A l'échelle cellulaire, cette complexité s'illustre par la présence de milliards de cellules, notamment des neurones et des cellules gliales. Celles-ci peuvent être classifiées en de nombreux sous-types, basés sur leurs caractéristiques morphologiques, électriques, protéiques ainsi que sur leur schéma de connexion. Ces cellules sont majoritairement produites durant la vie embryonnaire et proviennent des cellules souches neurales qui sont présentes dans la région périventriculaire.

Le développement de cette organisation complexe et unique, débute par la mise en place des axes antéro/postérieur et dorso/ventral du cerveau, qui est dirigée par l'expression de morphogènes, tels que sonic hedgehog (shh) et wntless (Wnt). Le cortex est la partie dorsale du cerveau antérieur, il est impliqué dans de nombreuses tâches, cognitives, sensorielles, émotionnelles ou motrices. La capacité du cortex à effectuer ces tâches est due à son organisation cytoarchitecturale très précise. Les cellules souches neurales corticales sont localisées dans le domaine le plus dorsal (i.e. le pallium) des zones ventriculaire et sous-ventriculaire qui constituent la zone germinale majeure du cerveau embryonnaire puis adulte. Ces cellules souches neurales produisent toutes les cellules corticales dans un processus séquentiel très précis, qui résulte en une organisation laminaire du cortex. Au début de la neurogenèse corticale, les programmes cellulaires intrinsèques prédominent qui résultent en la production des neurones corticaux des couches profondes. Ensuite, des signaux extrinsèques émergent progressivement, qui influencent la production des neurones corticaux des couches superficielles. Les neurones corticaux produits par les cellules souches neurales corticales sont excitateurs et représentent 80% des neurones corticaux ; les neurones inhibiteurs proviennent d'autres populations de cellules souches neurales situées dans les régions sous-corticales (i.e. sous-palliales). Enfin, autour de la naissance, une sous-population de cellules souches neurales change de destin pour produire les cellules gliales. Parallèlement, des modifications épigénétiques et des régulations post-transcriptionnelles participent à la modification de la compétence des cellules souches neurales au cours du temps. L'activité germinale persiste dans la zone sous-ventriculaire dorsale après la naissance. Les cellules

souches neurales dorsales postnatales donnent naissance à divers sous-types de neurones des bulbes olfactifs, et à des cellules gliales qui envahissent le parenchyme adjacent, incluant le cortex.

L'observation d'une persistance des cellules souches neurales à des temps postnataux, à entraîner de nombreuses études visant à étudier leur possible recrutement suite à une lésion cérébrale. Il est maintenant démontré que les cellules souches neurales adultes répondent à une lésion, notamment par une augmentation de leur prolifération. Cependant, leur implication directe dans la production de nouvelles cellules, migrant au site lésionnel et intégrant les réseaux cellulaires présents et lésés pour les « réparer » n'est pas, pour le moment, pleinement démontrée. Une telle capacité régénérative dépend notamment de la capacité des cellules souches postnatales à produire les types cellulaires affectés par la lésion.

Le cerveau néonatal est connu pour avoir une capacité de régénération et de récupération fonctionnelle importante suite à une lésion. En effet, le cerveau des nouveaux-nés est toujours en développement, et les cellules qui le composent sont dans un processus de maturation qui permet leur adaptation à une lésion. Néanmoins, cette récupération fonctionnelle néonatale ne semble pas être exclusivement due à la réorganisation des cellules déjà présentes dans le cerveau au moment de la lésion, mais semble aussi résulter de sa capacité à régénérer de nouvelles cellules. Néanmoins, l'implication directe des cellules souches neurales néonatales dans ce processus de régénération reste, pour le moment, à définir.

Ces observations soulèvent d'importantes interrogations sur 1) l'identité des cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire dorsale postnatale ainsi que sur les mécanismes aboutissant au déclin de l'activité germinale glutamatergique, 2) la possibilité de réactiver la neurogenèse glutamatergique dans un contexte lésionnel.

Objectif 1 : Nous avons effectué une analyse du transcriptome de cellules uniques de la zone sous ventriculaire dorsale postnatale afin d'explorer les mécanismes conduisant à la fermeture de l'activité germinale palliale. Nous montrons que des cellules souches palliales et sous-palliales coexistent dans cette région, permettant pour la première fois une étude comparative de leur activité germinale postnatale. A l'aide de différentes analyses bioinformatiques et d'approches histologiques, nous montrons que ces cellules entrent, après la naissance, dans un état de quiescence. D'une façon intéressante, les cellules souches neurales palliales entrent dans une quiescence profonde, caractérisée par une activité persistante de la voie de signalisation Tgf β , ainsi que par une activité transcriptionnelle réduite et une expression du facteur de transcription Hopx. En revanche, les cellules souches neurales sous-palliales restent transcriptionnellement actives, dans un état de quiescence moins profond. De plus, la production de neurones par les cellules souches neurales palliales est aussi entravée par l'acquisition de traits sous-palléaux, une prolifération réduite des progéniteurs et une différenciation neuronale altérée. Ainsi, de multiples mécanismes convergent pour arrêter l'activité germinale palliale tôt après la naissance.

Objectif 2 : Nous avons utilisé l'hypoxie néonatale chronique comme modèle de lésion précoce du cerveau chez les rongeurs, pour étudier le potentiel régénératif des cellules souches neurales de la zone sous ventriculaire dorsale postnatale, et leur compétence à produire différents types cellulaires. Nos résultats confirment que l'hypoxie chronique néonatale induit la mort d'une proportion de cellules et retarde la

maturation des oligodendrocytes corticaux. De plus, nous révélons une augmentation de la prolifération dans la zone sous ventriculaire dorsale en fin de période d'hypoxie, qui inclut les progéniteurs d'oligodendrocytes et de neurones glutamatergiques. Le marquage de ces cellules et de leur progéniture démontre leur contribution à une nouvelle oligodendrogénèse et neurogenèse corticale limitée. Une analyse transcriptionnelle indique que cette réponse est associée à une réexpression de transcrits présents dans les progéniteurs corticaux embryonnaires. En particulier, une réactivation de la voie de signalisation N6-méthyladénosine, est observée. Des validations histologiques ainsi que des expériences de gain de fonction valident un rôle de cette voie de signalisation dans la réponse observée. Enfin, des évidences à la fois histologiques et transcriptionnelles montrent une réactivation de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine suite à la période d'hypoxie. Une activation pharmacologique de cette voie de signalisation, par administration intranasale de l'inhibiteur de Gsk3 β : CHIR99021, promeut la production de nouveaux oligodendrocytes et neurones corticaux, ainsi que leur spécification et maturation, sans effet délétère sur le réservoir de cellules souches neurales et leur activité germinale.

Dans son ensemble, mon travail de thèse apporte de nouvelles connaissances sur la dynamique et la compétence des cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire postnatale à générer et régénérer différents types de cellules neurales, dans un tissu sain ou lésé. Mon travail identifie aussi de nouvelles pistes de réflexion qui sont résumées dans les perspectives de cette thèse.