

RNA Profiling of Mouse Ependymal Cells after Spinal Cord Injury Identifies the Oncostatin Pathway as a Potential Key Regulator of Spinal Cord Stem Cell Fate

Robert Chevreau ^{1,†}, Hussein Ghazale ^{1,†}, Chantal Ripoll ^{1,†}, Chaima Chalfouh ², Quentin Delarue ², Anne Laure Hemonnot-Girard ¹ , Daria Mamaeva ³, Helene Hirbec ¹ , Bernard Rothhut ¹, Shalaka Wahane ⁴, Florence Evelyne Perrin ^{5,6} , Harun Najib Noristani ⁷ , Nicolas Guerout ^{2,†}  and Jean Philippe Hugnot ^{1,*,†}

4 types de cellules gliales:

-Astrocytes

-Oligodendrocytes / Schwann

-Ependymocytes

-Microglie

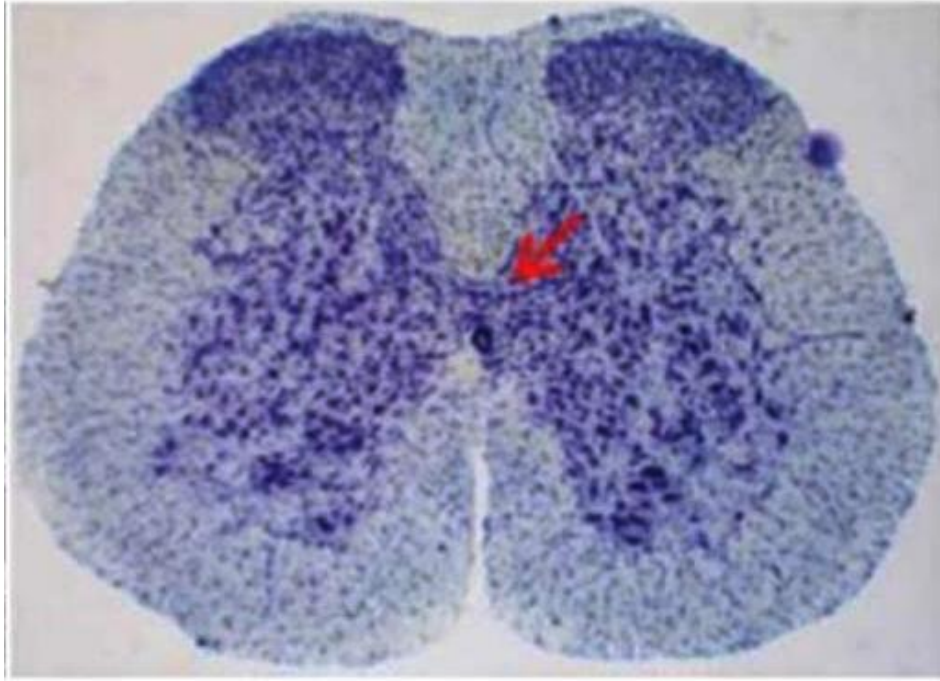
Les ventricules sont délimités par la couche épendymaire

Il existe une variété de cellules épendymaires

- E1 (bi-ciliées)
- E2 (multi-ciliées)

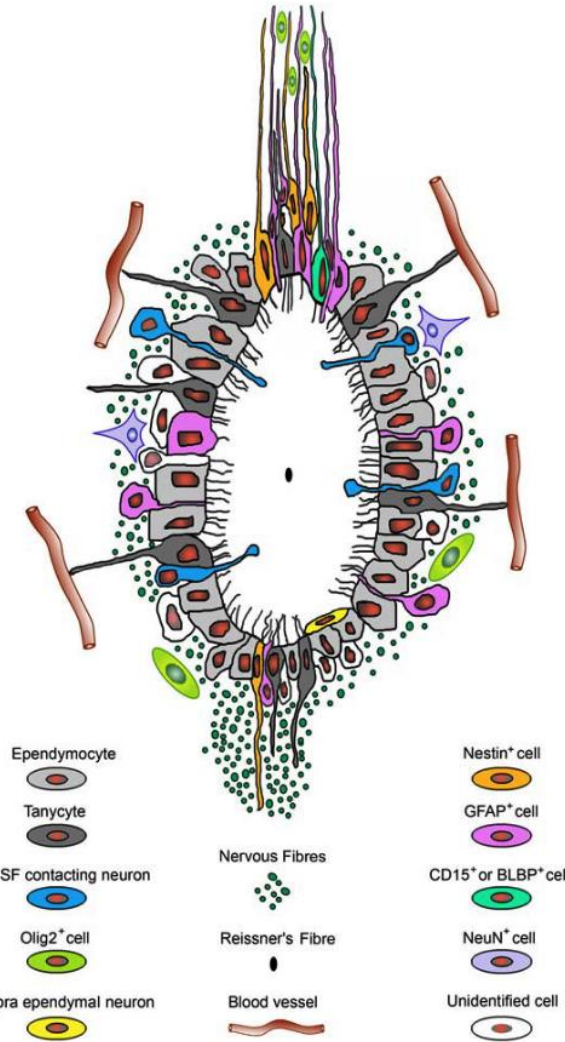
Leur rôle: produire et faire circuler le LCR

Des cellules souches neuronales côtoient les cellules épendymaire au niveau des ventricules latéraux (**SVZ**)



Fratini, M. et al. Simultaneous submicrometric 3D imaging of the microvascular network and the neuronal system in a mouse spinal cord. *Sci. Rep*, 2015

Le canal central est également délimité par une zone épendymaire, constitué principalement d'épendymocyte (cellules épendymaires)



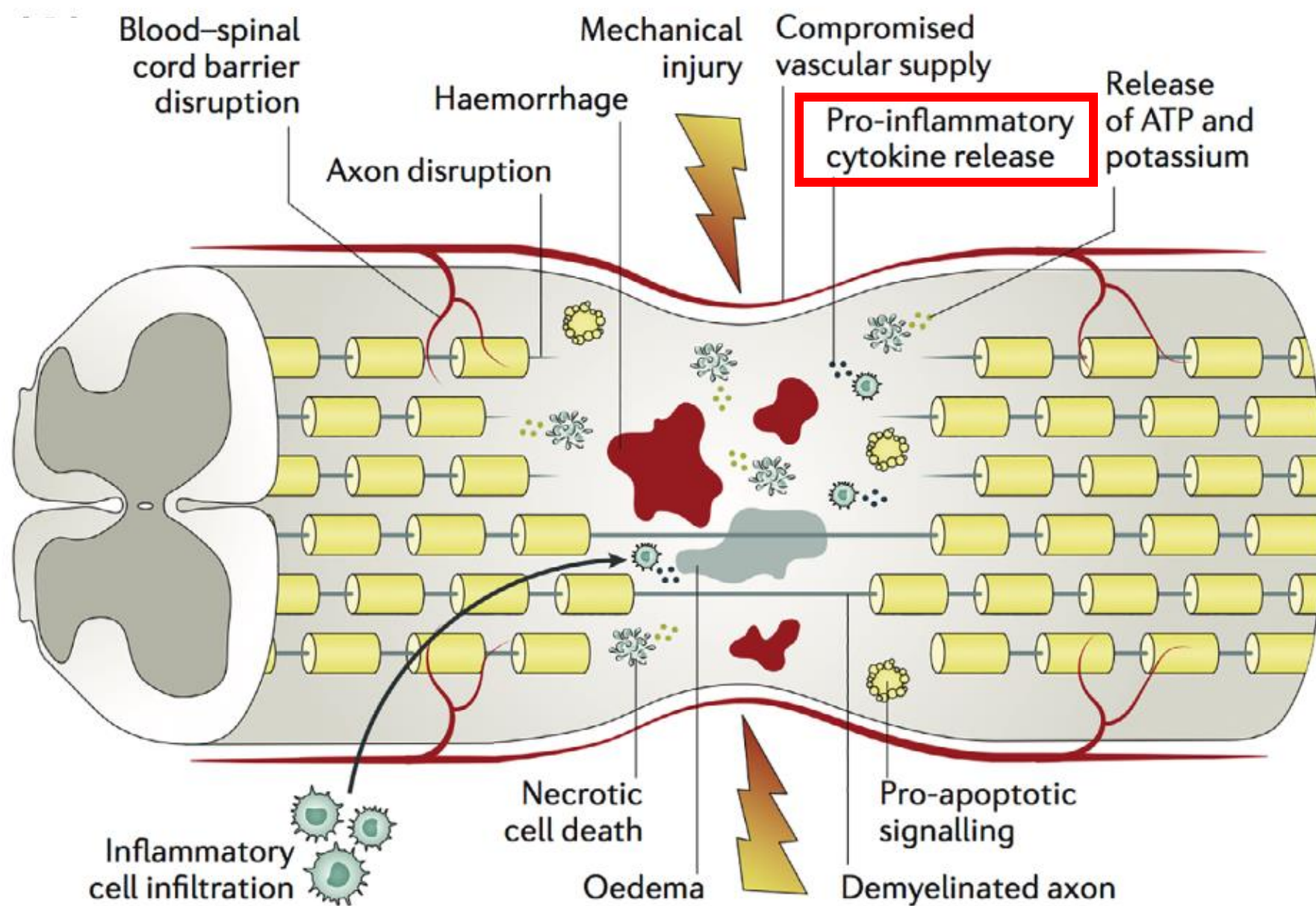
Hugenot JP, Franzen R, The spinal cord ependymal region: a stem cell niche in the caudal central nervous system. *Frontiers in bioscience*, 2011

Ce qu'on sait sur les lésions du SNC

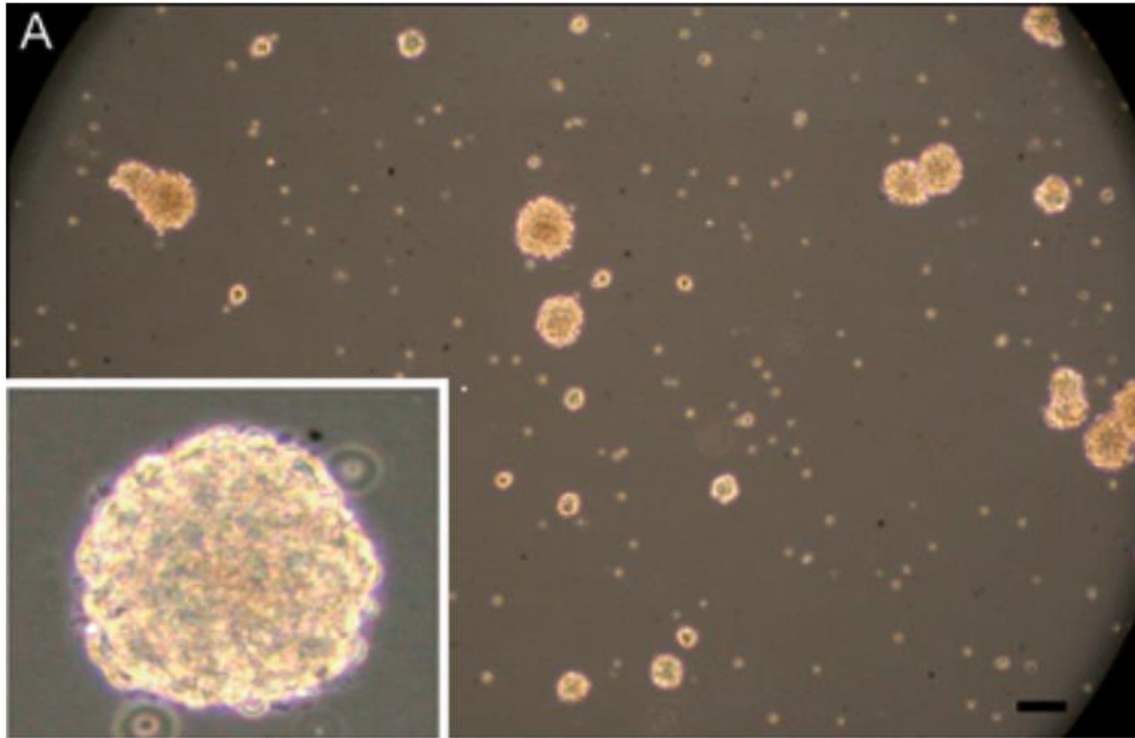
Induisent la gliose (astrogliose)

Cette cicatrice est une barrière au rétablissement fonctionnel

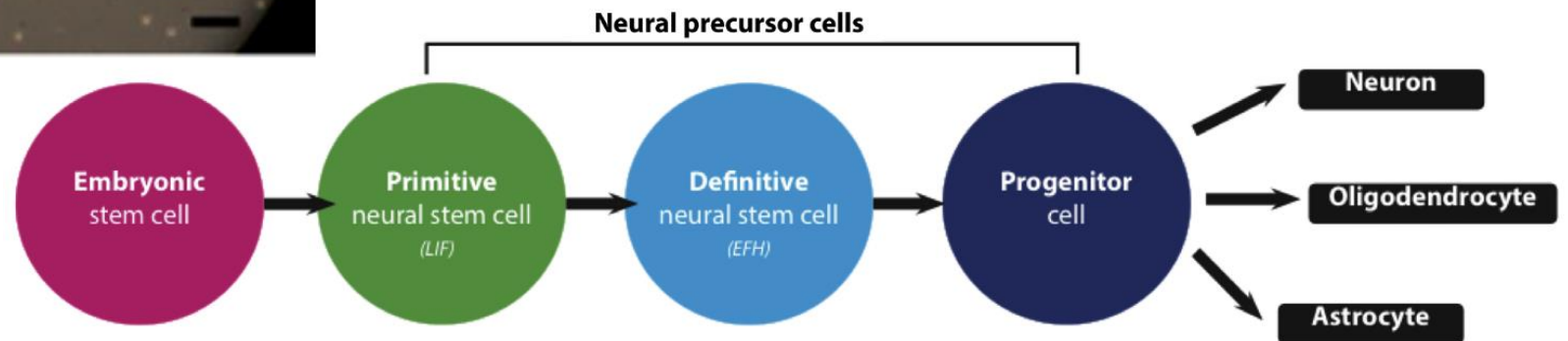
La neurogénèse chez les mammifères est largement insuffisante pour réparer les dégâts portés au SNC



La découverte des neurosphères



Un outil très important en neuroscience!



Deleryolle L.P, Rietze R.L, Reynolds B.A, The neurosphere assay, a method under scrutiny. Acta Neuropsychiatrica. 2008

Ahuja C.S, Mothe A, Khazaei, Badhiwala J.Hm Gilbert E. A, van der Kooy D, Morsehead C, Tator C, Fehlings M.G. The leading edge: Emerging neuroprotective and neuroregenerative cell-based therapies for spinal cord injury

Les cellules épendymaires sont-elles des cellules souches?

Des cellules de la couche épendymaire se différencient essentiellement en astrocytes suite à une lésion de la moelle

Meletis K, Barnabé-Heider, F, Carlén M, Evergren E, Tomilin N, Shupliakov O, Frisén J. Spinal Cord Injury Reveals Multilineage Differentiation of Ependymal Cells. PLoS Biol. 2008

Une lésion de la moelle entraîne une prolifération intense au niveau de la couche épendymaire

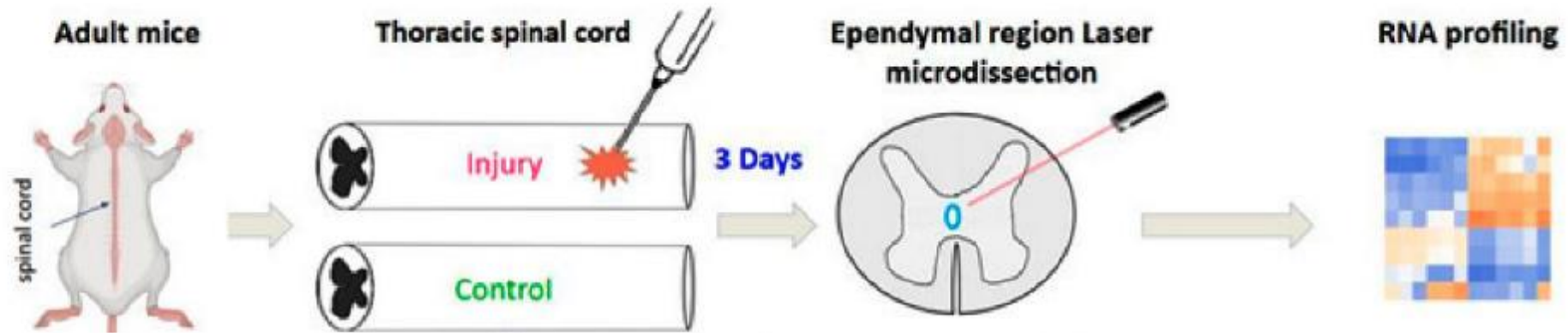
Lorsque cultivés in vitro, des cellules de la couche épendymaire peuvent se différencier en neurones

Pourquoi des cellules de la couche épendymaire se différencient en astrocytes in vivo?

Quels gènes et quelles voies moléculaires sont impliquées?

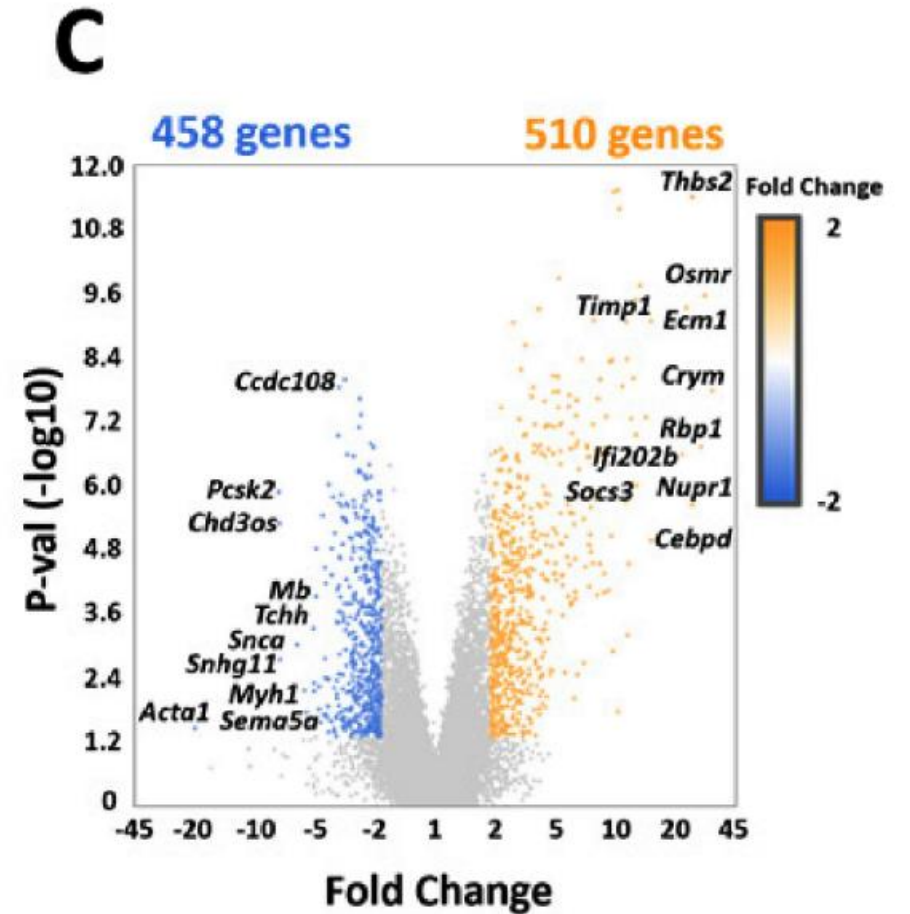
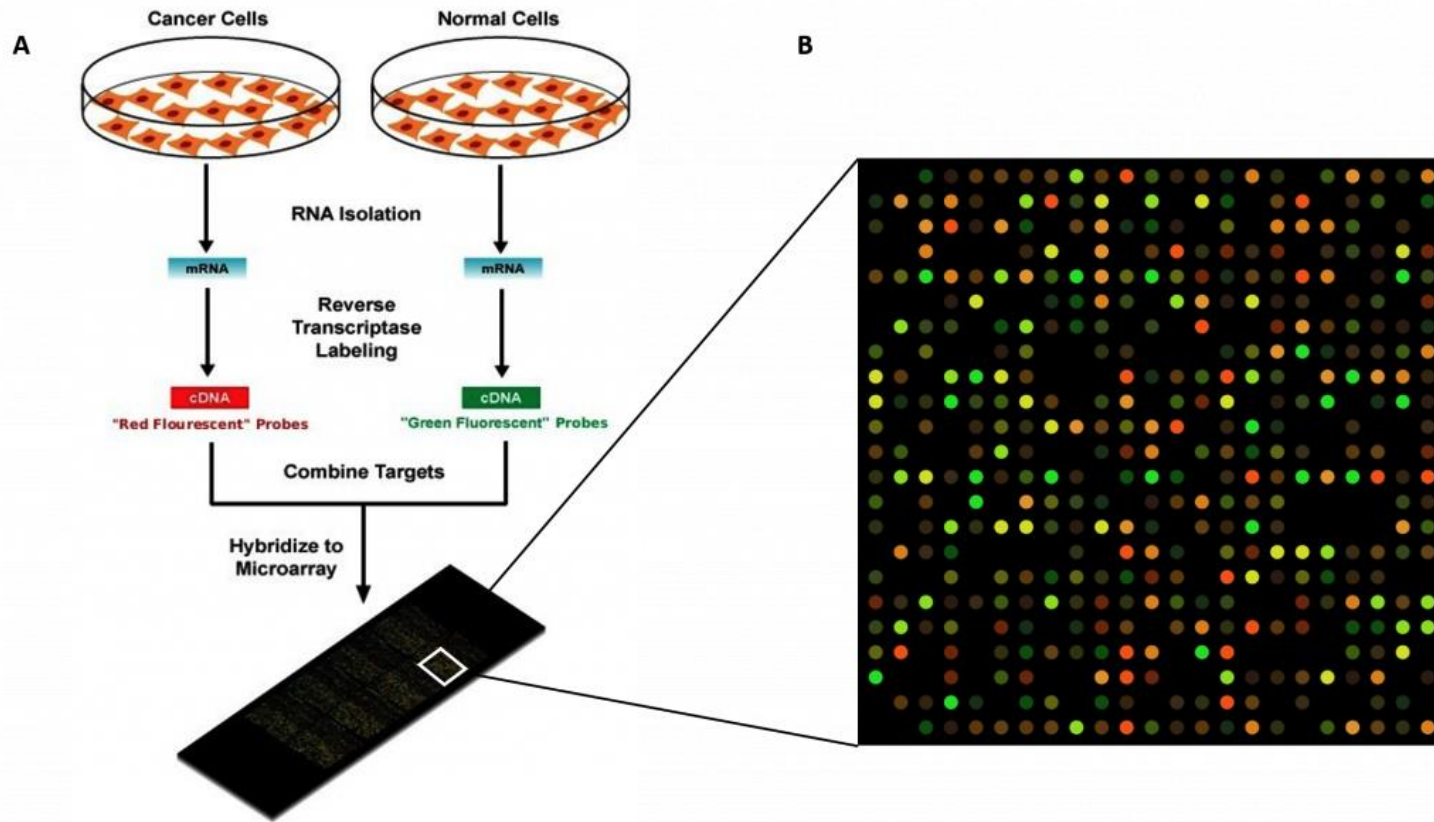
Peut-on intervenir pour favoriser la neurogénèse in situ?

Protocole de base:



RNA profiling: comparaison de la quantité d'ARN produit sur l'ensemble du génome entre contrôle et lésion

Microarray!

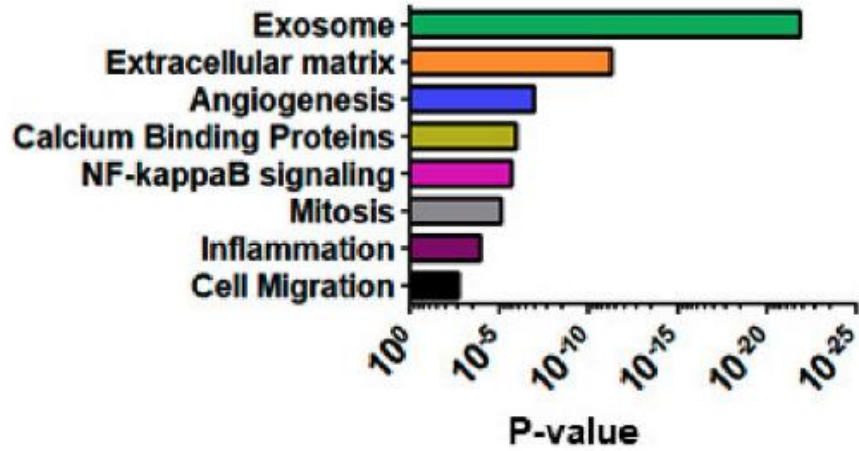


Fold change: coefficient de changement

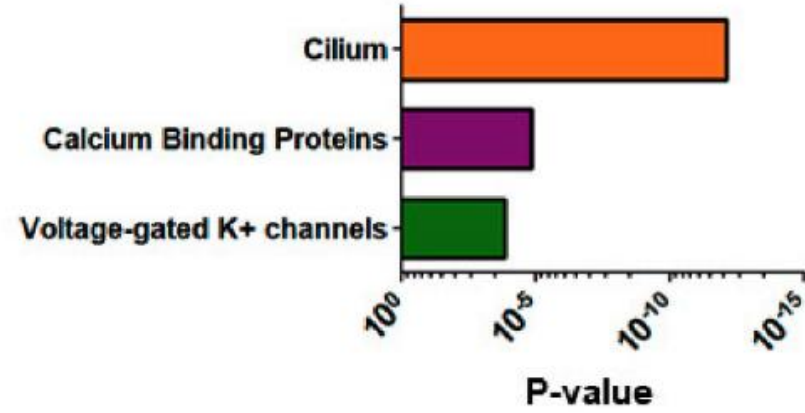
Bioinformatique

D

Upregulated genes



Downregulated genes



Gene Symbol

Description

Fold Change

p-Value

FDR

Crym

crystallin. mu

33.3

1.6×10^{-8}

2.5×10^{-5}

Osmr

oncostatin M receptor

30.3

2.6×10^{-10}

1.7×10^{-6}

Rbp1

retinol binding protein 1. cellular

28.8

1.8×10^{-7}

0.0001

Gfap

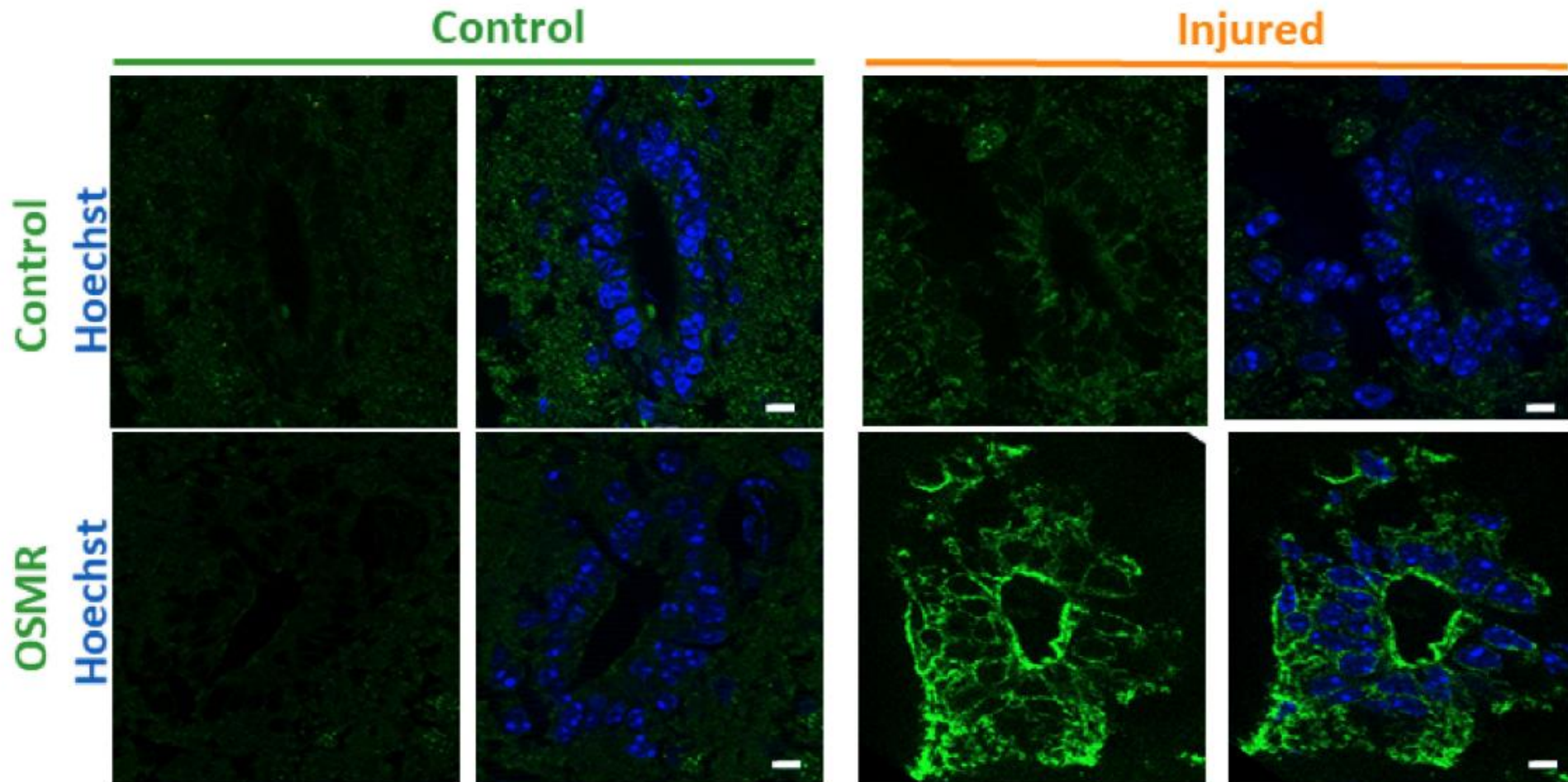
glial fibrillary acidic protein

12.9

9.8×10^{-7}

0.0004

Immuno pour confirmer



Barres:10 um

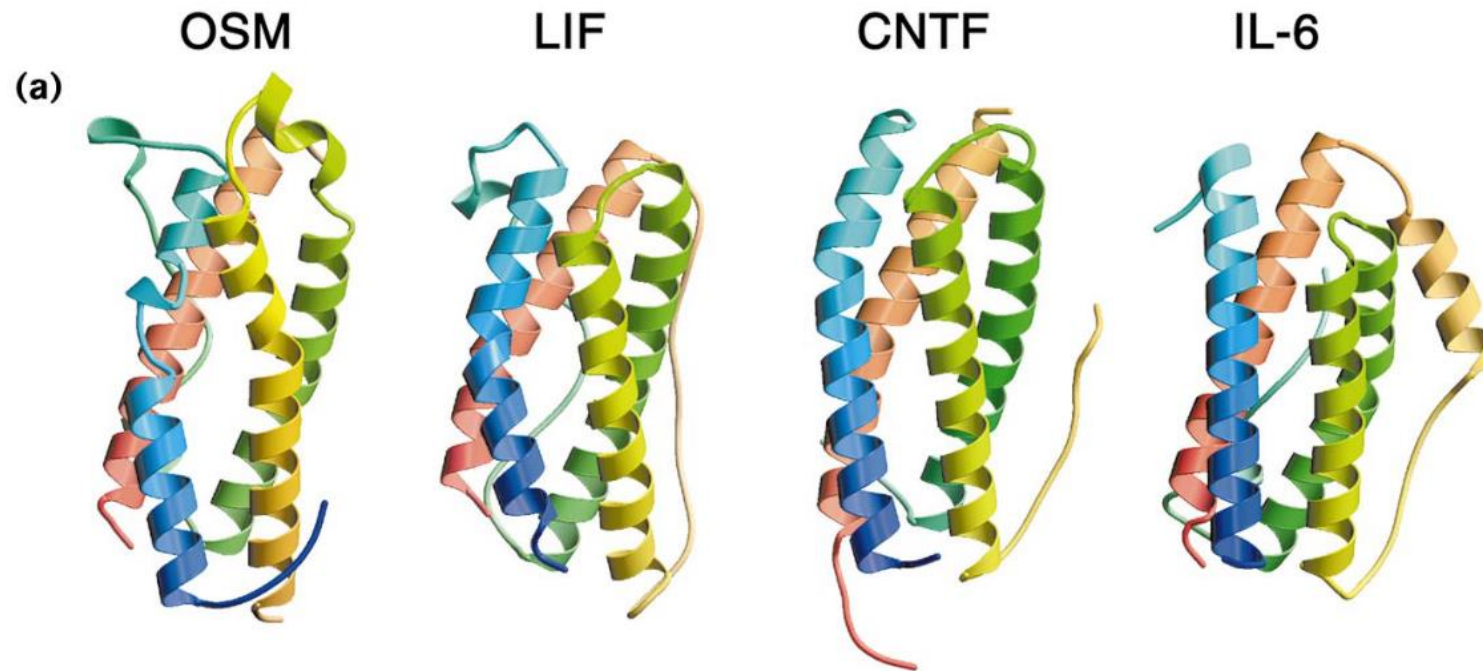
Hoechst: marqueur de noyaux cellulaires
OSMR: Oncostatin M Receptor

Résumé:

Les lésions de la ME augmentent l'expression de plusieurs centaines de gènes au niveau de la zone épendymaire

OSMR, le gène du récepteur à l'oncostatine M est très fortement induit (2ème coef de changement le plus élevé)

Le ligand: Oncostatine M:



Un membre de la famille des IL-6

Fonctions pléiotropes, plutôt pro-inflammatoire

Rôle de l'oncostatine: pourquoi l'investiguer?

On sait déjà que:

C'est un membre de la famille des IL-6, inducteurs de l'astrogénèse

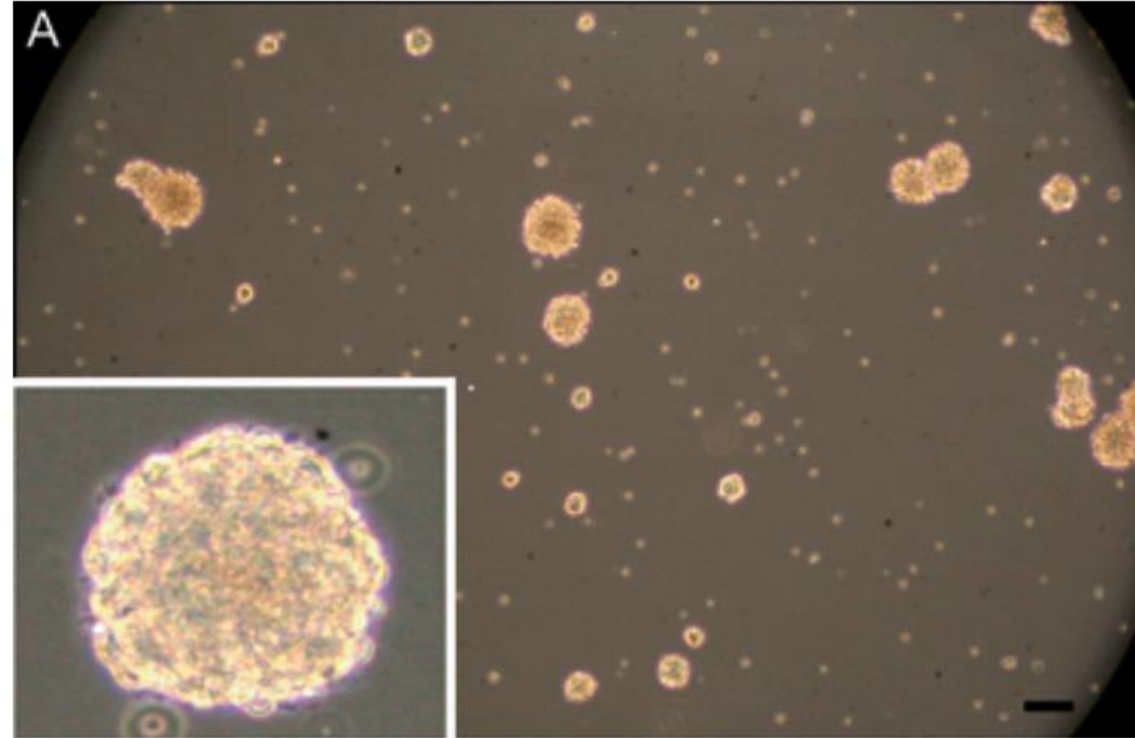
Taga T, Fukuga S. Role of IL-6 in neural stem cell differentiation. Clin Rev Allergy Immunol. 2005

OSMR (récepteur à l'oncostatine), est exprimé par les astrocytes

Beatus, P.; Jhaveri, D.J.; Walker, T.L.; Lucas, P.G.; Rietze, R.L.; Cooper, H.M.; Morikawa, Y.; Bartlett, P.F. Oncostatin M Regulates Neural Precursor Activity in the Adult Brain. Dev. Neurobiol. 2011, 71, 619–633.

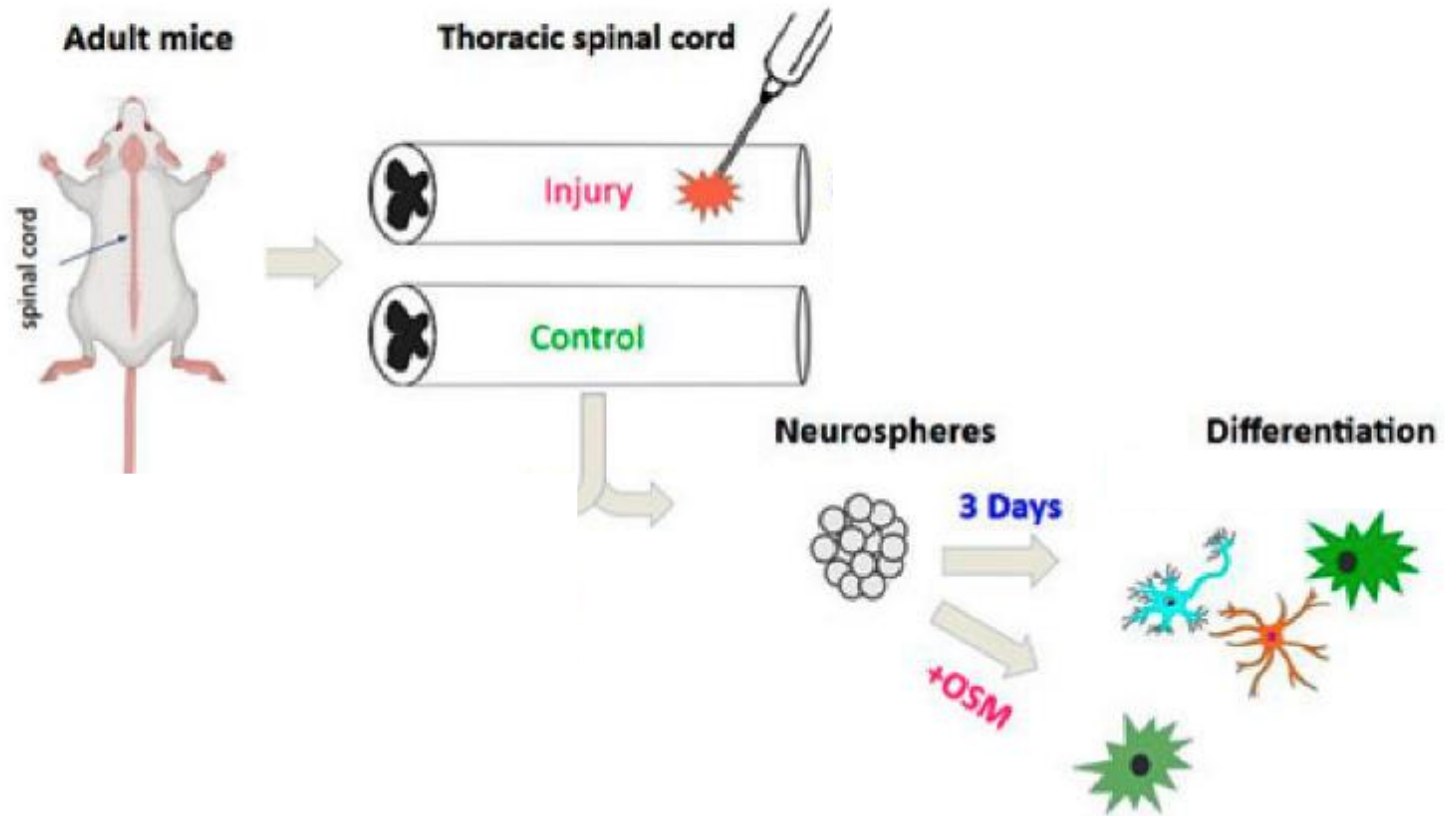
Pourquoi le gène OSMR est-il plus fortement exprimé dans les cellules épendymaires lors de lésions de la moelle?

Comment? Neurosphères



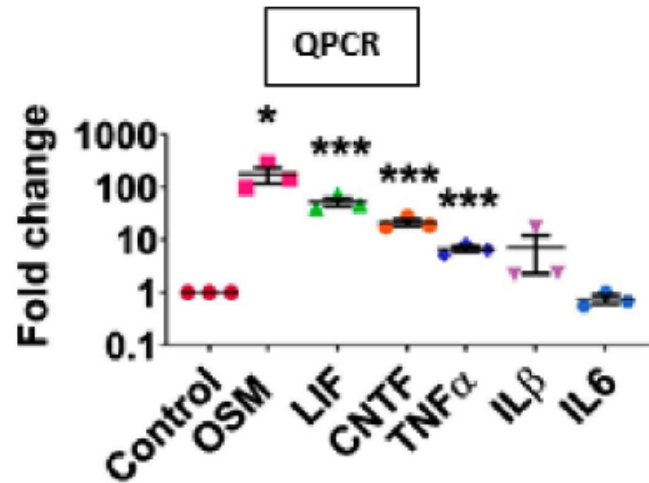
Exposer cellules épendymaires à des inducteurs connus du gène OSMR

Protocole de base:

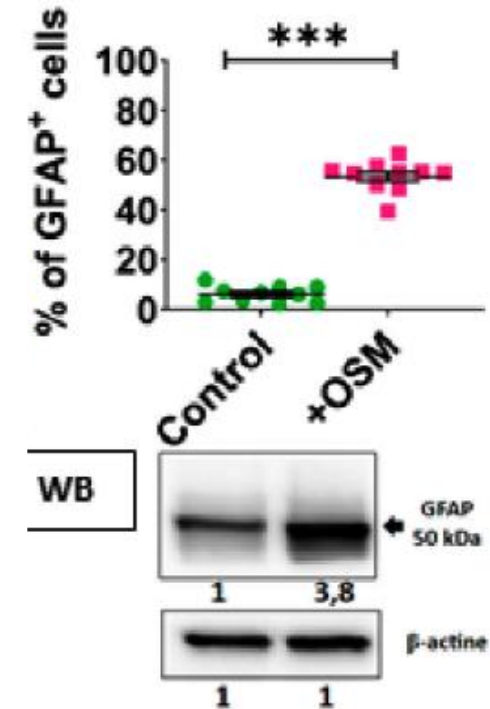


Effet d'OSM (oncostatine M) sur les neurosphères

C OSMR expression in spinal cord cells treated with cytokines



F Effect of OSM on GFAP expression



Résultat: l'exposition à l'oncostatine M induit:

- une augmentation de l'expression d'OSMR
- une augmentation de l'expression de GFAP (marqueur des astrocytes)
- une réduction de la prolifération cellulaire

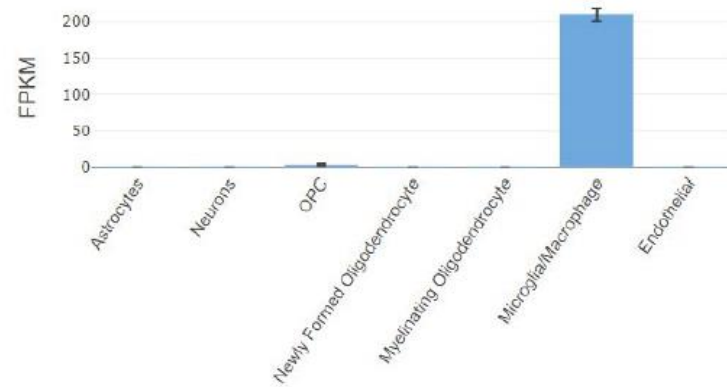
Résumé:

L'oncostatine inhibe la prolifération cellulaire

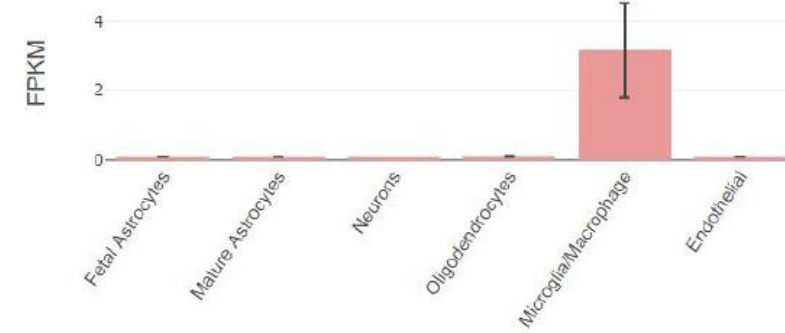
L'oncostatine promouvoit l'astrogénèse

D'où vient l'oncostatine?

Osm - Mus musculus

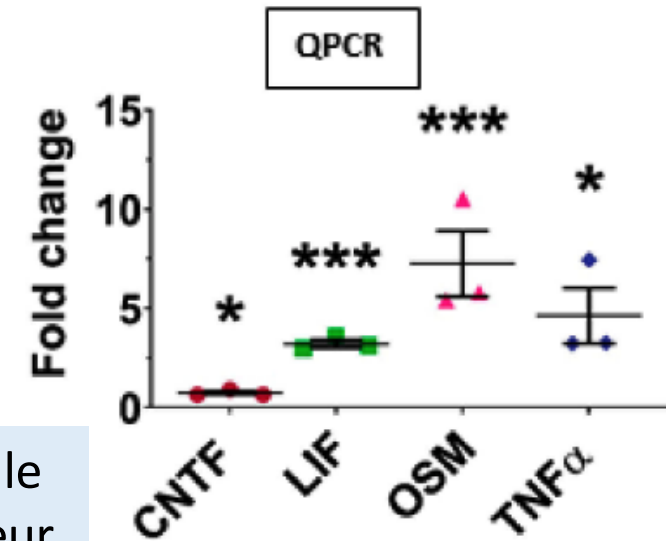


OSM - Homo sapiens



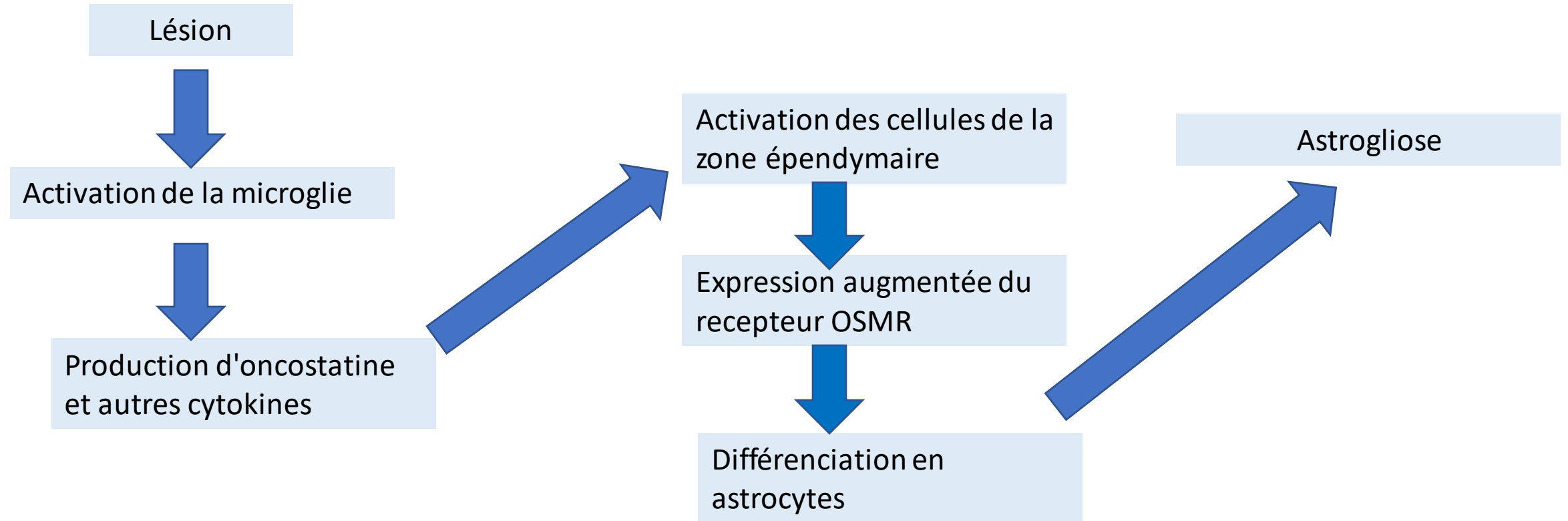
L'oncostatine serait quasi exclusivement exprimée par la microglie, notamment lors de leur activation

A Cytokines expression in the spinal cord after injury



Les lésions de la moelle seraient un déclencheur

Résumé:



Merci pour votre attention!