

Macrophages/Microglie et formes progressives dans la sclérose en plaques Analyse histologique et moléculaire

Marie Chanal

► **To cite this version:**

Marie Chanal. Macrophages/Microglie et formes progressives dans la sclérose en plaques Analyse histologique et moléculaire. Biologie cellulaire. 2010. <hal-01461933>

HAL Id: hal-01461933

<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01461933>

Submitted on 8 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

Sciences de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE

présenté

par

Marie CHANAL

Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

**Macrophages/Microglie et formes progressives
dans la sclérose en plaques
Analyse histologique et moléculaire**

Soutenu le 1^{er} octobre 2010 devant le jury suivant :

Pr Françoise TROUSSE - Président du jury

Dr Marie-Thérèse ZABOT - Rapporteur

Dr Pascale GIRAUDON - Examineur

Dr Serge NATAF - Examineur

Dr Mireille ROSSEL - Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Dr Serge NATAF (serge.nataf@inserm.fr)

Laboratoire de Neuro-oncologie et Neuro-inflammation, faculté de médecine Laennec

INSERM U842 LYON

Directeur : Pr Jérôme HONNORAT

Et de

Dr Mireille ROSSEL (Mireille.Rossel@univ-montp2.fr)

Laboratoire de Biologie Cellulaire Quantitative EPHE MONTPELLIER

Directeur : Pr Norbert KOENING

RÉSUMÉ

La sclérose en plaques (SEP) est une pathologie inflammatoire chronique du système nerveux central (SNC) impliquant des interactions neuro-immunologiques de nature et d'intensité variées. Chez les patients atteints d'une forme progressive de SEP, la perte axonale diffuse est actuellement considérée comme l'élément majeur du handicap neurologique irréversible. L'implication de l'inflammation diffuse dans le développement de cette perte axonale est fortement suspectée. Néanmoins la responsabilité respective des différentes composantes de l'immunité n'est pas clairement établie. Dans ce contexte, nous avons émis l'hypothèse que chez les patients SEP, une altération globale du lignage myéloïde est responsable de modifications quantitatives et qualitatives des cellules macrophagiques/microgliales et de leurs précurseurs sanguins. Cette hypothèse a été testée en analysant par techniques immunohistologiques des coupes de moelle épinière dérivant de patients SEP puis en étudiant le profil ARN de macrophages dérivés du sang de patients SEP. Nos résultats sont les suivants :

- i) la perte axonale diffuse dans la substance blanche d'apparence normale est corrélée à la densité de cellules macrophagiques/microgliales exprimant le marqueur d'activation MHC classe II dans la substance blanche d'apparence normale
- ii) l'étude du phénotype des cellules CD68+ (marqueur des macrophages/microglie) montre la co-expression fréquente de la molécule CD34 (marqueur de progéniteurs hématopoïétiques) chez les patients SEP.
- iii) l'analyse du transcriptome des macrophages dérivant du sang de patients SEP a permis d'identifier un profil ARN spécifique.

En conclusion, nos résultats suggèrent chez les patients présentant une forme chronique de SEP un dysfonctionnement global du lignage myéloïde accompagne le développement d'une perte axonale diffuse. L'origine et les conséquences de ce dysfonctionnement restent à déterminer.

MOTS-CLES : Sclérose en plaques, macrophages/microglie, moelle épinière, neuro-inflammation, progéniteurs myéloïdes, CD34.

Sommaire

Abréviations	p. 3
Introduction	p. 5
Rappels bibliographiques	p. 8
I. Les cellules du système nerveux central	p. 9
1. Les neurones	p. 9
a) Classification structurale des neurones	p. 9
b) Transmission de l'influx nerveux	p. 10
2. Les cellules gliales	p. 11
a) Caractéristiques générales	p. 11
b) Les astrocytes	p. 11
c) Les oligodendrocytes	p. 13
3. La microglie	p. 15
a) Origine de la microglie	p. 15
b) Caractéristiques morphologiques et phénotypiques	p. 18
c) Fonctions de la microglie	p. 21
II. Les phagocytes mononucléés	p. 23
1. Les macrophages tissulaires résidents	p. 23
a) Origine	p. 24
b) Fonctions	p. 25
c) Activation des macrophages	p. 25
2. Les macrophages du système nerveux central	p. 26
a) Les cellules périvasculaires	p. 26
b) Les macrophages et les cellules dendritiques associés aux plexus choroïdes et méninges	p. 26
III. La sclérose en plaques	p. 29
1. Clinique	p. 29
a) Les symptômes neurologiques	p. 29
b) L'évolution de la SEP	p. 30
2. Épidémiologie	p. 31
3. Diagnostic	p. 32
4. Neuropathologie	p. 32
a) Les lésions démyélinisantes focales	p. 33
b) La remyélinisation	p. 34
5. Hypothèses étiologiques	p. 34
a) Rappels sur le statut immunitaire du SNC	p. 35
b) Hypothèse virale	p. 37
c) Hypothèse immune	p. 37
IV. Objectifs de travail	p. 39

Matériel et Méthodes	p. 41
I. Neuropathologie sur tissu humain	p. 42
1. Histochimie	p. 42
2. Immunohistochimie	p. 42
3. Analyse quantitative	p. 44
II. Analyse du transcriptome de macrophages dérivés de patients SEP	p. 45
1. Culture de macrophages	p. 45
2. Analyse moléculaire	p. 45
a) Extraction ARN	p. 46
b) Vérification par RT et Q-PCR	p. 47
Résultats	p. 51
I. Analyse de l'infiltrat macrophagique/microglial dans la moelle épinière de patients SEP	p. 52
1. Relation entre la densité axonale et la réponse macrophagique/microgliale	p. 52
2. Accumulation de macrophages/microglie dans le tissu nerveux de patients SEP	p. 55
II. Analyse du transcriptome à partir de macrophages dérivés de patients SEP sous forme progressive	p. 57
Discussion et Perspectives	p. 65
Références bibliographiques	p. 68
Annexes	

Abréviations

ADN	Acide DésoxyRiboNucléique
ABC	Avidine Biotin Complex
ARN	Acide RiboNucléique
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BSA	Bovine Serum Albumin
Ca ²⁺	Calcium
CCL2	Chemokine Ligand 2
CDs	Cellules Dendritiques
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CNP	2',3'-Nucleotide Cyclique 3' Phosphodiesterase
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigènes
CX(3)CR1	Récepteur de la chémokine CX(3)CR1
CX(3)CR1	Fractalkine
DAB	3,3' DiAminoBenzidine
DAPI	4', 6'-DiAmino-2-PhénylIndole
DTT	DiThioTréitol
DMSO	DiMéthylSulfOxyde
EAE	Encéphalomyélite Auto-immune Expérimentale
EDSS	Expanded Disability Status Scale
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FS	Functional System
GalCer	GalactoCéramide
GDNF	Glia-Derived Neurotrophic Growth Factor
GFAP	GlioFibrillaire Acide Protein
GFP	Green Fluorescent Protein
HLA-DR	Human Leucocyte Antigen – class II
IFN	Interferon
IL	Interleukine
IGF-1	Insulin like Growth Factor
IgG	Immunoglobuline G
iNOS	inductible Nitric Oxide Synthase
IRM	Imagerie Résonance Magnétique
LCR	Liquide Céphalo Rachidien
LFB	Luxol Fast Blue
LIF	Leukaemia Inhibitory Factor
LPS	LipoPolySaccharide
MAG	Myelin Associated Glycoprotein
MAP 2	Microtubule Associated Protein 2
MBP	Myelin Basic Protein
M-CSF	Macrophage Colony Stimulating Factor
MOG	Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein
Na	Sodium
NAWM	Substance Blanche d'Apparence Normale
NAGM	Substance Grise d'Apparence Normale
NF	NeuroFilament
NGF	Nerve Growth Factor

NGS	Normal Goat Serum
NO	Nitric Oxyde
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCs	Plexus Choroïdes
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PFA	ParaFormaldéhyde
PGF	ProstaGlandine F
PLP	ProteoLipid Protein
PP	Primitivement Progressive
Q-PCR	Quantitative – Polymerase Chain Reaction
RANKL	Receptor Activator for Nuclear Factor B Ligand
RT-PCR	Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction
SEP	Sclérose en Plaques
SI	Système Immunitaire
SNC	Système Nerveux Central
SNP	Système Nerveux Périphérique
SP	Secondairement Progressive
TCR	Lymphocyte T Récepteur
TLR	Toll Like Receptor
TNF	Tumor Necrosis Factor
TGF- α / β	Transforming Growth Factor - Alpha / Beta
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

INTRODUCTION

La sclérose en plaques (SEP) est une pathologie inflammatoire chronique du système nerveux central (SNC) qui touche près de 80 000 personnes en France. Environ 2000 nouveaux cas sont recensés chaque année en France, dont 70% sont de jeunes adultes (entre 20 et 40 ans) et près de deux tiers des femmes. La SEP est ainsi l'une des principales causes de handicap neurologique chez l'adulte jeune.

Il existe différentes formes de SEP : les formes rémittentes, les formes primitivement progressives et les formes secondairement progressives. Actuellement, seules les formes rémittentes sont véritablement sensibles aux différents traitements immunomodulateurs et immunosuppresseurs. La relative efficacité de ces traitements paraît liée au caractère circonscrit des lésions tissulaires au sein de plaques démyélinisantes. Les formes progressives s'accompagnent généralement d'un handicap neurologique irréversible d'aggravation croissante dont la physiopathologie est encore imparfaitement comprise. Les études neuropathologiques indiquent toutefois qu'une des caractéristiques principales des formes progressives de SEP est l'existence d'un processus neurodégénératif diffus observable dans les zones démyélinisées mais également dans la substance blanche d'apparence normale (NAWM). Ce processus dégénératif se traduit par une atrophie de l'encéphale et de la moelle, une perte axonale focale (dans les plaques) et diffuse (dans le tissu non démyélinisé) ainsi qu'une perte neuronale. Le lien entre neuroinflammation et neurodégénérescence est admis par la plupart des auteurs, mais n'est pas encore clairement défini. Ainsi, on considère que les axones et les neurones sont progressivement altérés par un processus inflammatoire impliquant la plupart des acteurs de l'immunité : anticorps et lymphocytes B, lymphocytes T, cellules dendritiques ainsi que macrophages et cellules microgliales (les macrophages résidents du système nerveux central). Toutefois, la responsabilité prépondérante de l'une ou l'autre de ces composantes de la réponse immune n'est pas établie.

Par ailleurs, l'une des principales difficultés dans la prise en charge des SEP progressives est l'absence de marqueur biologique sanguin permettant d'apprécier l'évolution de la maladie. Un tel marqueur permettrait de discriminer des sous-groupes de patients et de tester relativement rapidement l'efficacité biologique des traitements sans avoir recours à des études radio-cliniques longues et onéreuses. L'identification d'un marqueur biologique sanguin permettrait également d'approfondir nos connaissances physiopathologiques et d'orienter la recherche thérapeutique.

Dans ce contexte, notre travail visait à mieux caractériser les liens entre neuroinflammation et neurodégénérescence dans les formes progressives de SEP en étudiant plus spécifiquement les cellules du lignage macrophagique/microglial dans le tissu nerveux et dans le sang des patients SEP.

I. Les cellules du système nerveux central

Il existe deux grandes catégories de cellules au sein du système nerveux : Les neurones et les cellules gliales.

1. Les neurones

Le SNC est composé de cellules neurales hautement spécialisées appelées neurones. Le neurone est responsable de l'émission et de la propagation d'informations nerveuses et, à ce titre, est considéré comme l'élément structural et fonctionnel le plus important du système nerveux. C'est une cellule « excitable », qui transmet et propage, en fonction des informations qu'elle reçoit des signaux électriques. Cette propriété est due à la présence, dans la membrane plasmique, de protéines spécifiques, qui permettent le passage sélectif d'ions : les canaux ioniques. Il s'agit également d'une cellule « sécrétrice » très particulière dont le produit de sécrétion est le neurotransmetteur. La sécrétion très focalisée et dirigée uniquement vers les cellules avec lesquelles le neurone est connecté se fait au niveau des synapses.

Le corps cellulaire du neurone, nommé soma, contient un noyau volumineux et envoie des prolongements nommés neurites. Le soma est le site d'intégration et d'émission de l'information nerveuse. La forte activité de synthèse protéique du neurone se traduit par une chromatine condensée et un réticulum endoplasmique granulaire développé. Le neurone comporte deux types de prolongements : i) l'axone, unique, permet la transmission d'informations nerveuses sous forme de potentiels d'action ii) les dendrites, multiples, permettent la réception d'informations nerveuses. Le diamètre de l'axone est compris entre 1 et 15 μm et sa longueur peut atteindre plus d'un mètre. Les dendrites sont nombreuses, courtes et très ramifiées. Elles sont soutenues par un cytosquelette de microtubules et de protéines MAP2 (Microtubule Associated Protein).

a) Classification structurale des neurones

Les neurones sont classés en fonction du nombre de neurites :

- Les neurones multipolaires possèdent habituellement plusieurs dendrites et un axone.

C'est la structure la plus fréquente.

- Les neurones bipolaires sont dotés d'une dendrite principale et d'un axone, on en trouve dans la rétine, dans l'oreille interne et dans l'aire olfactive du cerveau.

- Les neurones unipolaires sont des neurones sensitifs qui apparaissent sous forme de neurone bipolaire, puis au cours du développement, l'axone et la dendrite fusionnent en un seul prolongement. Les deux branches peuvent être myélinisées : c'est le seul cas où une dendrite peut être myélinisée.

b) Transmission de l'influx nerveux

La synapse est la clé de la transmission de l'influx nerveux. Elle comprend trois éléments : Un élément présynaptique qui libère le neuromédiateur, la fente synaptique qui est l'espace dans lequel le neuromédiateur diffuse et l'élément post-synaptique sur lequel se trouve les récepteurs aux neuromédiateurs. Les synapses s'établissent entre un neurone et une cellule effectrice (cellules musculaires, cellules glandulaires) ou entre deux neurones (on parle alors de synapse interneuronale). L'élément pré-synaptique est toujours localisé au niveau d'une terminaison axonale alors que l'élément post-synaptique est localisé le plus souvent sur une dendrite ou plus rarement sur le corps cellulaire du neurone.

L'élément pré-synaptique se présente sous la forme d'un renflement de l'axone (bouton synaptique), rempli de petites vésicules de formes variées (les vésicules synaptiques) contenant le neurotransmetteur. Lorsque l'influx nerveux atteint la terminaison axonale, une dépolarisation de la membrane du bouton synaptique se produit, ce qui provoque l'ouverture de canaux tensiodépendants à Ca^{2+} et entrée de Ca^{2+} . Les vésicules synaptiques fusionnent à la membrane et libèrent par exocytose le neurotransmetteur. Le neuromédiateur va se fixer sur son récepteur situé sur l'élément post-synaptique. Pour certains récepteurs, la fixation du neuromédiateur va provoquer l'ouverture transitoire d'un canal permettant l'entrée d'ions en fonction de leurs gradients électrochimiques : ce sont des récepteurs ionotropiques. Pour d'autres récepteurs, les récepteurs métabotropiques (ou à protéine G), l'ouverture des canaux ioniques est contrôlée par une série d'étapes intermédiaires impliquant l'activation des protéines G.

2. *Les cellules gliales*

a) Caractéristiques générales

Ces cellules sont étroitement liées aux neurones et assurent principalement un rôle de soutien structural et métabolique. Bien que plus petites que les neurones, elles occupent environ la moitié du volume total du SNC. Contrairement aux neurones, la plupart de ces cellules présentent un potentiel de prolifération. Les cellules gliales sont formées de trois différents types cellulaires : les astrocytes, les oligodendrocytes et la microglie.

b) Les astrocytes

Les astrocytes sont de petites cellules en forme d'étoile avec des prolongements cellulaires rayonnants plus ou moins allongés et un petit volume cytoplasmique. Les prolongements sont le plus souvent en contact avec les capillaires sanguins, la pie-mère ou les neurones et participent au contrôle des échanges moléculaires et/ou cellulaires entre le sang, le LCR et les neurones. Les astrocytes sont reliés par des jonctions gap qui permettent un couplage fonctionnel au sein de réseaux astrocytaires appelés « syncytium » astrocytaires (Giaume and McCarthy, 1996).

Le contact entre les astrocytes et les synapses est une structure dynamique (Hirrlinger et al., 2004; Haber et al., 2006) et l'extension des prolongements ainsi que la zone de recouvrement de l'astrocyte sur les terminaisons axonales dépendent de l'activité neuronale (Genoud et al., 2006).

- *Classification*

Classification morphologique :

Elle conduit à distinguer 2 principales catégories d'astrocytes :

- Les astrocytes fibrillaires (ou fibreux) présentent de longs prolongements radiaires. Ils sont riches en gliofilaments et sont localisés préférentiellement au niveau de la substance blanche (zones riches en axones myélinisés).

- Les astrocytes protoplasmiques présentent des prolongements courts, contiennent peu de gliofilaments, et sont localisés préférentiellement au niveau de la substance grise (zones riches en corps cellulaires neuronaux).

Sur le plan cytotologique, les astrocytes se caractérisent par l'expression d'une protéine gliofibrillaire acide (GFAP) qui constitue leurs filaments intermédiaires.

Classification morpho-fonctionnelle :

Elle ne recoupe pas nécessairement la classification morphologique et permet de distinguer :

- Les astrocytes de type 1 : ils jouent un rôle de barrière et leurs pieds astrocytaires établissent des contacts soit avec la paroi des capillaires, soit avec les méninges.
- Les astrocytes de type 2 : ils jouent un rôle de soutien métabolique et trophique vis-à-vis des neurones et des oligodendrocytes. Leurs pieds astrocytaires établissent des contacts soit avec la synapse, soit avec l'axone, soit avec le corps cellulaire neuronal.

- *Fonctions*

- Fonction de barrière : les astrocytes de type 1 participent à la barrière hémato-encéphalique entre sang et SNC. Les pieds astrocytaires reliés par des jonctions gap entourent la lame basale des capillaires du SNC.
- Régulation de la transmission synaptique : les astrocytes recaptent les neurotransmetteurs au niveau synaptique, tel que le glutamate, par des transporteurs spécifiques.
- Fonctions trophiques : les astrocytes synthétisent un ensemble de molécules solubles ou membranaires qui conditionnent la survie et la plasticité des cellules environnantes. On citera le NGF (Nerve Growth Factor), le BDNF (Brain-Derived Growth Factor), et le GDNF (Glia-Derived Neurotrophic Growth Factor) (Nedergaard et al., 2003). Par ailleurs, ils expriment des récepteurs à de nombreux composés neuroactifs (neuropeptides, facteurs de croissance, cytokines, neurotoxines...) qui leur permettent d'élaborer une réponse cellulaire adaptée à toute situation d'altération de l'homéostasie tissulaire (Nedergaard et al., 2003 ; Barbeito et al., 2004). Ainsi, toute lésion tissulaire du SNC induit une activation astrocytaire nommée astrogliose, où les cellules s'hypertrophient, prolifèrent, et les prolongements s'allongent et s'interconnectent (Ridet et al., 1997).

- Fonctions immunologiques : les astrocytes activés expriment un ensemble de molécules immunes et en particulier des cytokines qui influent sur le développement de la réponse immune au sein du SNC.

c) Les oligodendrocytes

Les oligodendrocytes sont de petites cellules au corps cellulaire rond ou ovale. On les distingue des astrocytes grâce à leurs marqueurs de différenciation, tels que l'anhydrase carbonique type II ou le galactocérobroside. Il existe deux types d'oligodendrocytes : i) les oligodendrocytes satellites, localisés au pourtour des corps cellulaires neuronaux qui sont non myélinisants ; ii) les oligodendrocytes interfasciculaires localisés entre les faisceaux d'axones qui sont responsables de la myélinisation des axones.

Comme les astrocytes, les oligodendrocytes dérivent de cellules souches neurales qui dans l'encéphale sont localisées au niveau de la zone sous-ventriculaire. La différenciation dans le lignage oligodendrocytaire est caractérisée par l'acquisition successive de marqueurs qui sont d'abord communs aux astrocytes (NG2) puis spécifiques des oligodendrocytes immatures (A2B5 et GalCer : galactocéramide) puis des oligodendrocytes myélinisants (anhydrase carbonique type II).

- *Structure de la myéline centrale*

La myéline est une membrane enroulée autour de certains axones du SNC ou du SNP. L'oligodendrocyte est la cellule myélinisante du SNC (Baumann and Pham-Dinh, 2001). Un oligodendrocyte est capable de myéliniser plusieurs axones en même temps. La cellule de Schwann est la cellule myélinisante du SNP. Une cellule de Schwann est capable de myéliniser un seul axone. Dans le SNC, la myéline est constituée par l'apposition de deux feuilletts membranaires de l'oligodendrocyte qui s'enroulent en spirale autour d'un segment d'axone, appelé internœud d'environ 1 mm de long et qui est limité de chaque extrémité par les nœuds de Ranvier, longs de quelques microns. Les fibres myélinisées dont les axones sont les plus larges ont les gaines de myéline les plus épaisses, les distances internodales les plus longues et la vitesse de conduction la plus élevée. Le nombre de tours de membrane oligodendrocytaire autour des axones myélinisés est variable, allant de quelques-uns à une cinquantaine. Au cours du développement, le processus de myélinisation est en parti contrôlé

par l'activité de l'axone (communications paracrines entre l'axone et les cellules gliales qui le myélinisent).

Sur le plan moléculaire, la myéline possède des propriétés biochimiques particulières et spécifiques. Les membranes constituant les gaines de myéline répondent au modèle de la mosaïque fluide. Elles sont très riches en lipides (70%) avec notamment beaucoup de cholestérol et la présence de glycolipides sulfatés. Cette richesse en lipides explique l'imperméabilité de la gaine de myéline aux ions. La myéline est pauvre en protéines (30%) contrairement à la plupart des autres membranes cellulaires (Baumann and Pham-Dinh, 2001). Certaines protéines sont spécifiques de la myéline, mais la composition protéique de la myéline du système nerveux central est différente de celle du système nerveux périphérique. On a donc des protéines qui sont spécifiques de la myéline du SNC, des protéines spécifiques de la myéline du SNP et des protéines spécifiques de la myéline mais communes au SNC et au SNP. Certaines affections du système nerveux, comme la sclérose en plaque, sont caractérisées par une démyélinisation touchant exclusivement la myéline centrale. Les différences de composition entre myéline centrale et myéline périphérique expliquent la sélectivité des atteintes myélinisantes.

Deux protéines majeures de la myéline constituent 80 % des protéines totales de la myéline : i) la MBP (protéine basique de la myéline), présente aussi bien dans le SNC que dans le SNP, et qui joue un rôle de compaction de la myéline (Bates et al., 2003). ii) La PLP (protéine protéolipide), spécifique de la myéline du SNC et qui serait impliquée d'une part, dans la différenciation oligodendrocytaire, et d'autre part dans la compaction de la myéline (Martini and Schachner, 1997). Il existe d'autres protéines minoritaires telles que la MOG (Myelin oligodendrocyte glycoprotéine), MAG (Myelin associated glycoprotéine), CNP (2',3'-nucléotide cyclique 3'-phosphodiesterase)...(Quarles, 1997).

- *Fonctions de la myéline centrale*

La myélinisation des axones accélère la conduction de l'influx nerveux grâce à son caractère lipidique conférant des propriétés d'« isolant électrique ». Les nœuds de Ranvier situés entre les régions myélinisées constituent des zones de faible résistance électrique au niveau desquelles à peu près tous les canaux Na⁺ de l'axone sont concentrés. C'est donc à cet endroit que les potentiels d'action vont pouvoir se régénérer, après que les courants ioniques qui leur sont associés se soient propagés passivement le long de la gaine isolante entre deux nœuds. On parle alors de conduction saltatoire (qui " saute " d'un nœud à l'autre) par

opposition à la propagation continue beaucoup plus lente qui survient dans les axones non myélinisés (Scherer, 1999).

La myéline est également impliquée dans le contrôle de l'intégrité axonale. Il est admis que dans les zones démyélinisées du système nerveux central les axones dégèrent (Griffiths et al., 1998). Par ailleurs, lors de lésions axonales du système nerveux central, les axones ne se régèrent pas du fait de signaux moléculaires inhibiteurs dérivés des oligodendrocytes et des astrocytes réactifs (Baumann and Pham-Dinh, 2001).

3. *La microglie*

Ce dernier type de cellules gliales fut découvert en 1927 par Del Rio Hortega. Les cellules microgliales sont de petite taille en forme d'étoiles, elles représentent de 5 à 20 % de la population gliale totale.

a) Origine de la microglie

- *Origine embryonnaire et fœtale*

Comme indiqué dans le chapitre II, la microglie n'est pas constamment renouvelée par les précurseurs sanguins, elle est donc déjà présente dans les tissus nerveux. Elle se forme lors du développement. L'origine de ces cellules reste très controversée. On discerne trois hypothèses majeures de l'origine de la microglie : l'hypothèse mésodermique, l'hypothèse neurectodermique et l'hypothèse hématopoïétique.

- Origine mésodermique

Del Rio Hortega (1932) fut le premier à évoquer l'hypothèse mésodermique des cellules microgliales résidentes. La microglie serait issue de précurseurs du mésoderme s'installant au sein du cerveau embryonnaire, dans certaines zones préférentielles qu'il avait nommées « fontaines à microglie » et qui étaient visualisées à l'aide de colorations argentiques. Ces cellules de forme amiboïde colonisent l'ensemble du système nerveux central puis finissent par acquérir leur forme ramifiée définitive retrouvée chez l'adulte.

Il est établi que les progéniteurs de la microglie peuplent le SN au cours du développement embryonnaire et fœtal bien avant la naissance (Rezaie and Male, 1999).

Deux populations distinctes ont été mises en évidence lors du développement embryonnaire et fœtal. En effet, chez les rongeurs, une première progression de précurseurs microgliaux dérivant du sac vitellin infiltrent le SN suivi par une seconde progression de précurseurs dérivés du sang ou des monocytes. (Alliot et al., 1991 ; Kaur et al., 2001 ; Chan et al., 2007).

- Origine neuroectodermique

L'hypothèse d'une origine neuroectodermique de la microglie a également été avancée, selon laquelle des microglioblastes originaires du neuroectoderme seraient les précurseurs des cellules microgliales (Kaur et al., 2001), comme les autres cellules gliales. Certains auteurs ont d'ailleurs mis en évidence l'expression de marqueurs du lignage oligodendrocytaire (Wolswijk G, 1994) ou astrocytaire sur les cellules microgliales (Fedoroff et al., 1997).

L'hypothèse de l'origine neuroectodermique des cellules microgliales est confortée par des études montrant qu'une production de cellules macrophagiques/microgliales peut se faire à partir de neuroépithélium embryonnaire qui, prélevé avant sa vascularisation, en engendre *in vitro* (Hao et al., 1991).

Les cellules microgliales sont détectées dans le SNC chez les rongeurs au huitième jour de la vie embryonnaire (Alliot et al., 1999), alors que les monocytes sont présents à partir de E10-E11 (Takahashi et al., 1989).

Cette hypothèse reste donc d'actualité malgré la prédominance de l'hypothèse mésodermique.

- Origine hématopoïétique

Depuis plusieurs années, de nombreuses études ont permis d'aboutir à l'apparition d'une nouvelle hypothèse, le renouvellement partiel des cellules microgliales par des cellules hématopoïétiques. Cette idée a été forgée par l'intermédiaire des nouvelles technologies permettant la réalisation de greffes de moelle osseuse chez l'animal. Récemment, des études ont montré que l'utilisation de greffe de moelle osseuse d'animaux transgéniques exprimant le marqueur fluorescent GFP (« Green Fluorescent Protein ») sur des souris irradiées permettait

le renouvellement de cellules microgliales parenchymateuses (Priller et al., 2001 ; Simard and Rivest, 2004).

De plus, de récents travaux ont mis en évidence dans le cerveau de souris une population progénitrice myéloïde CD34⁺ B200⁺ CD11b⁺ capable de se différencier *in vitro* en cellules microgliales et montrent qu'en situation neuro-inflammatoire, il existe un dialogue entre le SNC lésé et la moelle osseuse, se traduisant par une mobilisation sanguine des progéniteurs myéloïdes CD34⁺ et une accumulation de cellules microgliales dérivant de la moelle osseuse (Davoust et al., 2006).

Finalement, l'ensemble de ces données nous permet de conclure que la microglie ne possède pas d'origine unique. Il est reconnu actuellement qu'elle dériverait de précurseurs mésodermiques colonisant précocement le parenchyme nerveux puis se différenciant en microglie amiboïde fœtale. Par la suite, ces cellules adopteraient une morphologie ramifiée, caractéristique de la microglie adulte et ne seraient que peu renouvelées. Les monocytes ne sont pas la seule catégorie de cellules sanguines à pouvoir générer des macrophages. D'autres précurseurs sanguins peuvent être des précurseurs des macrophages, comme les cellules souches hématopoïétiques, les progéniteurs myéloïdes et les granulocytes (Auffray et al., 2009).

- *Origine post-natale*

Chez la souris, l'infiltration des précurseurs microgliaux se poursuit au cours de la période post-natale. Parallèlement à cette infiltration, la prolifération des cellules microgliales amiboïdes va également participer à la forte augmentation du nombre de cellules microgliales au sein du SNC pré et post-natal. En effet, ces cellules amiboïdes colonisent massivement le télencéphale dorsal et s'accumulent transitoirement dans le SNC de P9 à P18, puis vont diminuer de manière considérable et arborer une morphologie très ramifiée, caractéristique des cellules microgliales quiescentes. Certaines de ces cellules auraient été détectées avant l'invasion du tissu nerveux par les vaisseaux sanguins, ce qui conduit à penser qu'elles pourraient intervenir dans la vascularisation du SNC (Fedoroff and Hao, 1991).

Chez l'homme, la colonisation et la différenciation des cellules microgliales sont achevées à la naissance.

- *Origine des cellules microgliales adultes*

La plupart des cellules adoptent une morphologie ramifiée (stade mature de la microglie au repos) et présentent de très nombreux prolongements cytoplasmiques qui s'alignent le long de faisceaux nerveux.

Les expériences de transfert de moelle osseuse ont démontré qu'en situation physiologique, une sous-population de cellules sanguines dérivant de la moelle osseuse est capable de franchir la BHE et de participer au renouvellement de la microglie (Hickey et al., 1992). Dans ce contexte, de nombreux travaux ont permis de mettre en évidence l'origine monocytaire des cellules microgliales (Ling, 1979 ; Perry VH, 1985). *In vitro*, de multiples études ont démontré que des monocytes matures, lorsqu'ils sont mis en coculture avec des astrocytes, pouvaient se différencier en cellules microgliales présentant la même morphologie ramifiée (Schmidt Mayer et al., 1994 ; Sievers et al., 1994 ; Leone et al., 2006).

b) Caractéristiques morphologiques et phénotypiques

- *Microglie quiescente*

Les cellules microgliales ramifiées sont dites quiescentes, mais ce terme semble finalement bien mal adapté dans le sens où cette population reste très active. En effet, des études ont montré que les prolongements cytoplasmiques de ces cellules sont en perpétuel mouvement ce qui leur permet d'analyser en permanence leur microenvironnement tandis que le corps cellulaire reste assez statique. Une telle activité est expliquée par l'unique capacité à étendre, rétracter et explorer leur environnement en quelques minutes (Davalos et al., 2005 ; Nimmerjahn et al., 2005 ; Raivich, 2005). La microglie quiescente est la cellule la plus active du SNC en ce qui concerne la mobilité.

Bien que les cellules microgliales soient présentes dans l'ensemble du SNC, il existe une distribution hétérogène de la microglie. En effet, on les retrouve en quantité plus abondante dans la substance grise où les prolongements cytoplasmiques s'étendent dans toutes les directions ; alors que dans la substance blanche elles sont moins abondantes, et leurs prolongements adoptent un comportement bipolaire.

Sur le plan phénotypique, la microglie quiescente se caractérise par une expression faible du CD11b, du marqueur leucocytaire CD45 et pratiquement pas d'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de class I ou II ainsi que la protéine Iba1 qui paradoxalement semble plus fortement exprimée par la microglie quiescente. Par contre, du fait de leurs origines monocytaires, elles expriment certaines molécules membranaires

présentent sur d'autres catégories de macrophages tissulaires ; comme les marqueurs F4/80 et CD68.

- *Microglie activée*

La microglie ramifiée est très rapidement activée à la moindre perturbation de son environnement (Ladeby et al., 2005). Une cellule microgliale ramifiée se transforme en microglie amiboïde dont la morphologie est indissociable de celle des macrophages. La microglie activée au sein de tissus lésés est identifiée par des changements morphologiques et immunophénotypiques qui les distinguent de leur phénotype. Cette transformation est cependant progressive et l'on peut distinguer différentes étapes sur le plan morphologique. Lors d'une lésion, la microglie va d'abord se transformer en microglie hyper ramifiée, caractérisée par une hypertrophie du corps cellulaire, un épaississement des prolongements proximaux et une réduction des ramifications distales. Ce type de microglie hyper ramifiée est également plus abondant dans le SNC de sujets âgés, l'activation des cellules microgliales augmentant progressivement avec l'âge (Streit et al., 1999). Dans la plupart des atteintes du SNC, la microglie ne reste pas au stade hyper ramifié, mais se transforme en microglie réactive. Si une dégénérescence neuronale survient, la microglie réactive continue sa transformation morphologique en microglie amiboïde présentant une réduction de taille, un aspect de cellule ronde, et une absence de ramifications cytoplasmiques (Streit et al., 1999). Parallèlement à cette transformation morphologique, l'activation des cellules microgliales s'accompagne d'une migration vers le site de lésion, de modifications phénotypiques et fonctionnelles ainsi que d'une expansion des cellules microgliales pouvant résulter de la microglie résidente, de la migration de cellules microgliales dérivant de zones intactes adjacentes à la lésion ainsi que de l'infiltration de précurseurs microgliaux issus de la moelle osseuse (Ladeby et al., 2005).

L'activation des cellules microgliales est un phénomène qui intervient très précocement en réponse à une atteinte du SNC. Selon le type de lésion, la microglie va s'activer en quelques minutes ou quelques heures, de même qu'elle va s'étendre sur un périmètre plus ou moins important selon le degré lésionnel. En cas de lésion aiguë, la réponse microgliale atteint généralement son maximum 5 à 7 jours après le début de la lésion (Ladeby et al., 2005), puis va ensuite progressivement disparaître. Les mécanismes de « désactivation » des cellules microgliales restent encore mal définis. Dans le cas d'une réaction inflammatoire d'intensité restreinte, un retour progressif de la microglie hyper ramifiée ou réactive en microglie

quiescente semble intervenir. Par contre, dans le cas d'une réaction inflammatoire intense et/ou prolongée et notamment lorsqu'il y a une perte neuronale étendue, la microglie amoiboïde ne semble pas pouvoir revenir à état quiescent et évolue vers un processus de mort cellulaire par apoptose (Liu et al., 2001).

Sur le plan phénotypique, lorsque la microglie activée exprime plus fortement les molécules CD11b et CD45 et induit l'expression de toutes les molécules nécessaires à une présentation antigénique efficace, le CMH I et II, ainsi que des molécules de costimulation comme CD86 et CD40.

c) Fonctions de la microglie

- *Présentation d'antigènes*

La présentation antigénique joue un rôle central dans le déclenchement et le maintien d'une réponse immunitaire appropriée. Les cellules T reconnaissent des fragments peptidiques qui ont été apprêtés et liés aux molécules de classe I ou II du CMH.

Les meilleures cellules capables de présenter l'antigène parmi les cellules gliales seraient les cellules microgliales car elles expriment les molécules du complément du CMH de classe II ainsi que les molécules d'adhésion.

Les molécules HLA de classe II présentent aux lymphocytes T CD4 des peptides dérivés de protéines d'origine exogène ou des protéines membranaires.

- *Phagocytose*

La phagocytose est un mécanisme important, nécessaire pour l'élimination des micro-organismes et des débris cellulaires issus de la réaction inflammatoire et pour l'élimination des cellules mortes en conditions physiologiques.

De nombreuses études *in vivo* ont démontré l'activité de phagocytose des cellules microgliales activées (Streit and Kreutzberg, 1988). L'activation des cellules microgliales entraîne l'augmentation d'expression des récepteurs au complément. Par exemple, le récepteur au complément CR3 est l'un des marqueurs les plus précocement augmenté lors de l'activation microgliale et son augmentation a été mise en évidence dans de nombreuses situations pathologiques. Notons également qu'une étude relève des différences de capacités

de phagocytose entre microglie et autres macrophages tissulaires : les cellules microgliales seraient capables de phagocyter des particules de taille élevée alors que les autres macrophages sont obligés de fragmenter préalablement ces mêmes particules avant de les internaliser (Smith, 2001).

- *Sécrétion de cytokines et autres facteurs*

Les cellules immunitaires utilisent des facteurs solubles tels que les cytokines pour communiquer entre elles et réguler les réponses inflammatoires. Les cellules microgliales sont ainsi capables de sécréter tout un éventail de cytokines aussi bien pro- que anti-inflammatoire. L'IL-1 et le TNF- α sont les principales cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules microgliales (Nadeau and Rivest, 2000). Elles sont impliquées dans le développement de l'inflammation du SNC notamment par leur capacité à induire l'expression de molécules d'adhésion et la synthèse de chimiokines par les cellules endothéliales et les astrocytes environnants, facilitant ainsi l'extravasation et le recrutement des leucocytes au sein du SNC (Kivisakk et al., 2002 ; Engelhardt and Ransohoff, 2005).

Elles sécrètent également du TGF- β , de l'IL10, de l'Il1 et de l'Il6, cytokines anti-inflammatoires qui jouent un rôle dans la modulation négative de l'inflammation (Jander et al., 1998).

Les cellules microgliales sont capables de sécréter d'autres facteurs comme des chimiokines (CXC, CC, C et CX3C), des prostanoïdes (prostaglandine et thromboxanes) ainsi que des molécules cytotoxiques (NO : Monoxyde d'azote).

II. Les phagocytes mononuclées

1. Les macrophages tissulaires résidents

a) Origine

L'hématopoïèse correspond à l'ensemble des mécanismes qui assure le remplacement contrôlé et continu des cellules sanguines. Elle a lieu dans la moelle osseuse et est constituée de 3 catégories cellulaires hiérarchisées : Les cellules souches multipotentes, les progéniteurs hématopoïétiques, les précurseurs hématopoïétiques. En situation physiologique, seules les cellules matures circulent dans le sang.

La régulation de l'hématopoïèse fait intervenir un véritable réseau de facteurs stimulants et inhibiteurs qui contrôle la progression de la cellule souche hématopoïétique dans les différentes voies de prolifération et de différenciation.

Les macrophages sont les seules cellules immunes qui résident dans les tissus et ne sont pas considérés comme des cellules immunes de passage. Ils proviennent de la différenciation d'une sous-population de cellules immunes sanguines : les monocytes. Les monocytes dérivent d'un progéniteur myéloïde commun aux neutrophiles, et ont une demi-vie sanguine limitée à quelques jours. Ils pénètrent ensuite dans les tissus pour renouveler les macrophages tissulaires résidents (Gordon and Taylor, 2005).

Les macrophages tissulaires adoptent des morphologies et des fonctions spécifiques de l'organe où ils ont « élu domicile ». Les principales catégories de macrophages tissulaires sont : les macrophages alvéolaires dans le poumon, les cellules de Kupffer dans le foie, les cellules mésangiales dans le rein, les ostéoclastes dans les os et les cellules microgliales dans le SNC.

A l'exception de la microglie, tous les macrophages résidents sont renouvelés constamment par une sous-population de monocytes appelés monocytes « homéostatiques ». Ces monocytes expriment à leur surface la molécule CX(3)CR1 (Récepteur de la chemokine CX(3)CL1, connu aussi sous le nom de fractalkine) (Auffray et al., 2009).

Les macrophages résidents sont à distinguer des macrophages dits « inflammatoires » qui s'accumulent dans les tissus inflammatoires et dérivent d'une sous-population de monocytes exprimant le récepteur CCR2 (récepteur de la chemokine CCL2).

Les monocytes ne sont pas les seules cellules circulantes du sang à générer des macrophages, les cellules souches hématopoïétiques, les progéniteurs myéloïdes et les granulocytes sont également des progéniteurs sanguins potentiels au renouvellement des macrophages (Auffray et al., 2009).

b) Fonctions

Les trois fonctions principales des macrophages sont la phagocytose, la présentation antigénique et l'immunomodulation via la production de cytokines et de facteurs de croissance (Fujiwara and Kobayashi, 2005).

- *Phagocytose*

Une des fonctions principales des macrophages est la phagocytose. Celle-ci permet l'ingestion et l'élimination de nombreux composés reconnus par le système immunitaire comme étrangers, toxiques et/ou inutiles. Il s'agit en particulier de débris cellulaires, de particules inertes, de pathogènes ou encore de cellules apoptotiques. La phagocytose des cellules apoptotiques par les macrophages est composée de quatre étapes majeures :

- reconnaissance d'une cellule apoptotique ; les récepteurs impliqués dans la reconnaissance des cellules apoptotiques sont redondants. Ils comprennent les récepteurs dits « éboueurs », le récepteur de la vitronectine, celui de la phosphatidylsérine, le récepteur au mannose ... (Aderem and Underhill, 1999).
- ingestion de la cellule cible par formation de pseudopodes et endocytose
- phagocytose de cette cellule grâce aux lysosomes
- rejet des produits de la dégradation et production de signaux pro- ou anti-inflammatoires.

- *Présentation de l'antigène aux lymphocytes T*

La fonction de présentation antigénique est rendue possible par la capacité des macrophages à endocyter des composés protéiques exogènes, à les digérer en peptides et à les exporter à la membrane dans une « poche à peptides » formée de molécules CMH de classe II. C'est l'ensemble peptide-molécules MHC qui est reconnu par les lymphocytes T helper.

- *Propriétés sécrétrices*

Les macrophages sont capables, lorsqu'ils sont activés de sécréter un impressionnant cocktail de cytokines et de facteurs mitogéniques, en réponse à des signaux de danger ; citons notamment l'IGF1, le TGF- α , le PDGF, le TGF- β (Rappolee and Werb, 1988), et beaucoup d'autres molécules diffusibles, telles que l'IL-1, l'IL-6, le TNF- α , le VEGF, le RANKL ou encore le LIF (Hume et al., 2002). Les macrophages du SNC (les cellules microgliales), sont par ailleurs considérés comme une source importante de facteurs de croissance nerveux au sein du SNC (Houlgatte et al., 1989 ; Mallat and Chamak, 1989).

c) Activation des macrophages

Les macrophages, qu'ils soient résidents ou inflammatoires, sont extrêmement réactifs à toute altération de l'homéostasie tissulaire qu'elle soit d'origine exogène ou endogène. Selon les signaux activateurs perçus par les macrophages (cytokines, interférons, agents microbiens, hormones...) ceux-ci engagent des programmes d'activation spécifiques et adaptés (Auffray et al., 2009).

- *Macrophages activés classiquement (M1)*

Les macrophages de type M1 sont appelés macrophages pro-inflammatoires ; ils sont impliqués dans le développement de l'inflammation en produisant de nombreuses cytokines inflammatoires et de puissants médiateurs de l'élimination des pathogènes intracellulaires. Ils produisent essentiellement de l'IL-1, de l'IL-6, de l'IL-12, de l'IL-23, du TNF et iNOS (inductible nitric oxide synthetase). *In vitro*, on peut les activer avec du LPS ou de l'IFN- γ (Mantovani et al., 2002 ; Mantovani et al., 2007).

- *Macrophages activés alternativement (M2)*

Les macrophages de type M2 sont connus pour jouer un rôle important dans la protection de l'hôte en diminuant l'inflammation et en favorisant la réparation des tissus. Ils sont dits macrophages anti-inflammatoires. Ils sont activés par l'intermédiaire des IL-10, IL-4, IL-13, hormones glucocorticoïdes et la vitamine D3. Néanmoins, l'activation alternative des

macrophages peut atténuer la protection de l'hôte contre certains agents pathogènes (Varin and Gordon, 2009).

2. *Les macrophages du SNC*

Les macrophages cérébraux représentent une population hétérogène comprenant les cellules microgliales (Cf. chapitre I), les cellules périvasculaires enclavées dans la barrière hémato-tissulaire puis les macrophages et les cellules dendritiques (DCs) qui sont associés aux méninges et aux plexus choroïdes.

a) Les cellules périvasculaires

Ces cellules représentent une minorité au sein du SNC et sont localisées dans un dédoublement de la lame basale des capillaires cérébraux. Les cellules périvasculaires appelées aussi macrophages périvasculaires proviennent de la moelle osseuse et sont continuellement renouvelées par les monocytes. Ces cellules ont la particularité d'exprimer constitutivement les molécules CMH II et de façon inductible, des molécules de co-stimulation (B7) et d'activation (CD40) qui leur donnent la capacité de présenter efficacement l'antigène en situation inflammatoire. Par ailleurs, les cellules périvasculaires sont douées à l'état basal d'une grande capacité de phagocytose vis-à-vis de particules et d'antigènes contenus dans le liquide interstitiel du parenchyme nerveux.

b) Les macrophages et les cellules dendritiques associés aux plexus choroïdes et méninges

Les cellules dendritiques (DCs) sont considérées comme les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) par excellence car seules capables d'induire la prolifération de lymphocytes T naïfs. Le parenchyme nerveux est l'un des seuls sites anatomiques où l'on ne détecte pas de DCs. Toutefois, des DCs sont détectables en immunohistochimie et sont localisées « stratégiquement » à l'extérieur du parenchyme nerveux, aux points d'entrée potentiels des pathogènes, c'est-à-dire les méninges et les PCs (McMenamin, 1999 ; Serot et al., 2000).

- *Macrophages et DCs associés aux plexus choroïdes*

Les PCs sont des structures d'aspect villositaires appendues à la paroi des ventricules cérébraux et dont un des rôles est de synthétiser le LCR. Les PCs sont constitués d'un stroma conjonctivo-vasculaire entouré d'un épithélium formé de cellules spécialisées et réunies par des jonctions serrées. Le stroma des PCs contient des vaisseaux fenestrés (à la différence des capillaires cérébraux qui sont non fenestrés), des fibroblastes et des phagocytes mononucléés qui expriment des marqueurs macrophagiques ou de cellules dendritiques. Par ailleurs, des macrophages dits épiplexuels, encore appelés cellules de Kolmer sont localisés sur le versant apical de l'épithélium des PCs au contact du LCR (Ling et al., 1998). Enfin, une dernière catégorie de macrophages associés aux PCs est constituée par les macrophages flottants (« free floating macrophages ») qui peuvent être observés dans le LCR des ventricules latéraux.

- *Macrophages et Dcs associés aux méninges*

Les méninges sont formées de trois tuniques de tissu conjonctif richement vascularisé entourant l'ensemble du névraxe. La pie-mère est la tunique méningée la plus interne adhérent au parenchyme nerveux, la dure-mère est la tunique méningée la plus externe adhérent au tissu osseux, et l'arachnoïde est la tunique méningée centrale, formée de travées entre lesquelles circule du LCR. Les trois tuniques méningées accueillent un riche réseau de macrophages et de cellules dendritiques qui sont le plus souvent au contact du LCR.

III. La sclérose en plaques

1. Clinique

a) Les symptômes neurologiques

La sclérose en plaques est une maladie chronique inflammatoire qui touche le système nerveux central (SNC). La dissémination des lésions dans le SNC est à l'origine de symptômes variés. La dissémination dans le temps des lésions du SNC est à l'origine du caractère le plus souvent régressif des symptômes, tout au moins aux phases initiales de la SEP.

Le début de la maladie est généralement marqué par des symptômes moteurs (40% des cas, déficit moteur partiel ou complet d'un ou plusieurs membres). Les autres modes d'entrée dans la maladie sont les troubles sensitifs, visuels, génito-sphinctériens, les troubles de l'équilibre et les altérations des fonctions supérieures (mémoire et raisonnement en particulier). Voici une rapide description de ces différents symptômes neurologiques

- Les troubles sensitifs : il s'agit le plus souvent de paresthésies (fourmillements et autres sensations sensibles à tonalité désagréable) ; on peut également observer un signe de Lhermitte (sensation de décharge électrique parcourant la moelle épinière ou l'intérieur du membre lors de la flexion de la nuque) et des déficits sensitifs de natures variées.
- La névrite optique rétro-bulbaire : très fréquente dans la SEP, la névrite optique se manifeste cliniquement par une baisse d'acuité visuelle unilatérale d'installation aiguë ou subaiguë et accompagnée d'une douleur oculaire unilatérale accentuée par les mouvements oculaires. La récupération de la fonction visuelle est complète dans 80% des cas en 6 mois. Le phénomène d'Uhthoff est caractérisé par une diminution de l'acuité visuelle après un effort physique ou une élévation de la température corporelle.
- Les troubles de l'équilibre se traduisent par une instabilité à la marche et par des vertiges. Ces troubles sont en rapport avec une atteinte cérébelleuse ou vestibulaire.
- Les troubles génito-sphinctériens : les symptômes les plus fréquents sont l'incontinence urinaire, la dysurie accompagnée parfois de rétention urinaire, la constipation et l'impuissance.

Cette liste de signes neurologiques est non limitative car la symptomatologie de la SEP est par définition très large du fait de la dissémination des lésions démyélinisantes dans le SNC.

b) L'évolution de la SEP

L'évolution globale de la SEP est polymorphe, reflet de l'intrication entre les poussées et la progression continue du handicap.

Une poussée se caractérise par l'apparition de nouveaux symptômes, la réapparition d'anciens ou l'aggravation de symptômes préexistants. Sa durée est au minimum de 24 heures. Une fatigue isolée ou des symptômes survenant dans un contexte de fièvre ne sont pas considérés

comme une poussée (l'élévation de la température corporelle entraîne une diminution de la conduction nerveuse dans les axones myélinisés).

L'entrée dans une phase progressive de la maladie est définie comme l'aggravation continue sur une période d'au moins 6 mois, de symptômes neurologiques. Une fois commencée, elle ne s'interrompt plus et est donc une cause majeure de handicap chez les patients atteints de SEP (Confavreux and Vukusic, 2006).

Selon les patients, ces deux événements de base (poussées - phase de progression continue) peuvent ou non se combiner, constituant les trois différentes formes évolutives de la maladie décrite par Lublin et Reingold en 1996.

- La forme rémittente est la plus fréquente (85% des cas de SEP au début), elle est caractérisée par des poussées bien individualisées, séparées par des périodes de rémission, complète ou partielle pouvant laisser des déficits résiduels. Elle débute vers 30 ans et peut évoluer vers une forme secondairement progressive (SP).
- La forme primitivement progressive touche environ 15 % des patients et se caractérise par une progression constante et lente du handicap dès le début de la maladie, avec ou sans poussées surajoutées.
- La forme secondairement progressive est caractérisée par un début rémittent mais évoluant secondairement vers l'installation progressive d'un tableau déficitaire où les poussées peuvent se rajouter (Confavreux and Vukusic, 2006).

2. Épidémiologie

La SEP est une maladie considérée comme fréquente du fait de sa prévalence relativement élevée (de 30 à 60 pour 100 000 habitants en France). Cette prévalence est variable en fonction de la répartition géographique. La distribution de la maladie se caractérise par l'existence d'un gradient Nord-Sud tant dans l'hémisphère Nord que dans l'hémisphère Sud. Ainsi, la SEP est une maladie commune en Europe du Nord, en Amérique du Nord, en Australie alors qu'elle est rare en Orient, dans les pays arabes, en Afrique, en Amérique du Sud ou aux Indes (Compston A, 2005).

Par ailleurs, les populations blanches sont plus touchées que les populations noires, indiennes ou asiatiques.

Les études sur les migrations de population entre des pays de prévalence différente montrent que les adolescents migrant avant l'âge de 15 ans conservent la prévalence du pays d'origine contrairement aux migrants adultes qui acquièrent la prévalence du pays d'accueil.

Les femmes sont plus touchées que les hommes avec un sex-ratio de 2,3 femmes contre 1,4 hommes atteints (Alonso and Hernan, 2008).

La maladie débute chez l'adulte jeune de 20 à 40 ans dans 70% des cas. Elle commence rarement avant 16 ans (5%) ou après 40 ans (10%).

□ Les formes familiales représentent 10 à 15% des cas. La prévalence de la maladie chez un apparenté d'un patient atteint de SEP est plus élevée entre frères et sœurs (4%), comparé aux parents (2,75%) ou aux autres apparentés (2%). Le degré de concordance est de 31 % chez les jumeaux monozygotes (Sadovnick et al., 1993). Ces données montrent que des facteurs génétiques contribuent de façon certaine à la pathogenèse de la SEP. Parmi les gènes identifiés comme facteurs de risque, citons le locus HLA-DRB1 dans les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité classe II (Ramagopalan et al., 2009) et des polymorphismes des gènes IIR2A et IIR7A (Svejgaard, 2008).

Donc, l'étiologie de la SEP implique des facteurs environnementaux et génétiques de façon non exclusive. Pourtant, aucun élément issu de l'environnement y compris viral n'est aujourd'hui formellement identifié et le criblage du génome n'a pas encore permis de mettre en évidence une région unique conférant une susceptibilité à la maladie.

3. Diagnostic

Le diagnostic de la SEP est basé sur la démonstration d'une dissémination dans le temps et dans l'espace des lésions neurologiques. Bien qu'un certain nombre de signes neurologiques soient particulièrement évocateurs (névrite optique rétrobulbaire, signe de Lhermitte...), c'est leur association ou leur succession dans le temps qui apporte un argument diagnostique important. La notion de dissémination spatiale des lésions est le plus souvent apportée par l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) qui permet de visualiser les lésions multiloculaires (à localisation multiple) dans la substance blanche du cerveau. En cas de plaques récentes actives, la « rupture » de la barrière hémato-encéphalique se traduit par une prise de contraste lors de l'injection de gadolinium (Arnold and Matthews, 2002). Le

diagnostic de SEP est également étayé par l'analyse du LCR qui montre typiquement l'existence d'une synthèse intrathécale d'immunoglobulines et d'un profil oligoclonal des immunoglobulines. Ces anomalies ne sont toutefois pas totalement spécifiques et le caractère relativement invasif d'une ponction lombaire ne permet pas d'utiliser l'analyse du LCR pour « monitorer » l'évolution biologique de la SEP. Il faut noter ici, qu'il n'existe pas de marqueur sanguin permettant de renforcer le diagnostic et/ou d'évaluer l'activité de la maladie. Ainsi, la progression de la maladie est essentiellement évaluée par la quantification clinique du handicap. Dans ce cadre, deux échelles de handicap sont fréquemment utilisées : l'EDSS (Expanded Disability Status Scale) et le FS (Functional Systems) (Kurtzke, 2008).

4. Neuropathologie

La sclérose en plaques est la plus fréquente des pathologies inflammatoires démyélinisantes du SNC. Le nom de sclérose en plaques fut donné initialement par le neurologue français Jean Martin Charcot qui décrit « la destruction et le durcissement » de la myéline (sclérose). Ces destructions sont bien localisées et appelées alors plaques. Par ailleurs, Charcot décrit la dissociation axono-myélinique (préservation des axones et atteinte sélective de la myéline) comme une caractéristique neuropathologique essentielle de la SEP. Depuis cette description, de nombreuses études sont venues enrichir notre connaissance de la neuropathologie de la SEP. En particulier, on sait depuis une dizaine d'année qu'une atteinte diffuse des axones se superpose à l'atteinte focalisée de la myéline. Il faut donc actuellement considérer deux aspects neuropathologiques de la SEP :

- i) la démyélinisation focale qui correspond aux classiques « plaques de démyélinisation » et
- ii) l'atteinte axonale diffuse, plus récemment décrite.

a) Les lésions démyélinisantes focales

Sur le plan anatomopathologique, la SEP se distingue d'autres atteintes neuroinflammatoires du SNC par la présence de plaques de démyélinisation plus ou moins étendues, disséminées au sein du SNC. Cette démyélinisation s'accompagne classiquement d'un infiltrat périvasculaire centré autour d'une veinule post-capillaire et composée de lymphocytes T et B et de macrophages contenant des débris de myéline (Kutzelnigg et al., 2005). Toutefois, les lésions démyélinisantes observées dans la SEP ne présentent pas toutes ces caractéristiques. L'hétérogénéité neuropathologique des lésions focales n'est pas

totalemment expliquée. Selon les auteurs, elle correspond à des mécanismes lésionnels différents ou à des stades évolutifs différents. Ainsi, selon Lucchinetti, l'hétérogénéité des mécanismes impliqués dans la démyélinisation se traduit par quatre différents modèles de lésions (Lucchinetti C, 2000) :

- Modèle 1 : lésions démyélinisantes associées à un infiltrat T et macrophagique
- Modèle 2 : lésions démyélinisantes associées à un dépôt d'immunoglobulines et de complexes d'attaques membranaires
- Modèle 3 : lésions démyélinisantes associées à des signes d'ischémie/hypoxie focale et caractérisées par une apoptose des oligodendrocytes ainsi que la perte des protéines de myéline, principalement la MAG.
- Modèle 4 : lésions démyélinisantes exclusivement observées dans un sous-groupe de patients atteints par la forme progressive d'emblée.

Cette classification est actuellement remise en cause par de nombreux auteurs.

Dans une autre classification, on distingue trois types de lésions focales démyélinisantes selon le degré d'activité des plaques : (Franklin and French-Constant, 2008)

- Les lésions comprenant des macrophages en abondance au centre et au pourtour des plaques sont appelées lésions pleinement actives (« fully active »)
- Les lésions comprenant des macrophages en abondance uniquement au pourtour des plaques sont appelées lésions chroniques actives (« chronic active ») ou lésions à expansion lente (« slowly expanding »)
- Les lésions comprenant peu ou pas de macrophages au centre et au pourtour des plaques sont appelées lésions chroniques silencieuses (« chronic silent »)

Cette classification est actuellement admise par la plupart des auteurs.

b) La remyélinisation

La remyélinisation est le processus qui permet à la gaine de myéline de se restaurer au niveau des axones démyélinisés et ainsi de rétablir la conduction saltatoire. La remyélinisation n'est jamais totale, mais elle contribue à l'amélioration des déficits fonctionnels engendrés par la démyélinisation.

5. Hypothèses étiologiques

L'étiologie de la SEP demeure inconnue. Néanmoins, de nombreux arguments sont en faveur d'une participation du système immunitaire et plus particulièrement d'une activation des lymphocytes T périphériques dans l'initiation des processus physiopathologiques. Il existe actuellement deux principales hypothèses pour expliquer l'activation lymphocytaire : immune et virale.

a) Rappels sur le statut immunitaire du SNC

Le fonctionnement du système immunitaire (SI) dans le système nerveux central (SNC) présente un certain nombre de spécificités. Le concept de site immuno-privilegié fut proposé par Medawar en 1948 sur la base de résultats montrant que des greffons d'origine cutanée étaient rejetés plus tardivement dans le cerveau que lorsqu'ils étaient implantés dans l'épiderme.

Les raisons de ce statut immunologique particulier sont actuellement mieux comprises et comprennent notamment la présence de barrières histologiques limitant et contrôlant les échanges entre le sang et le parenchyme nerveux (barrière hémato-encéphalique : BHE) d'une part, le sang et le liquide céphalorachidien (LCR) d'autre part la barrière sang/LCR formée par les plexus choroïdes. L'imperméabilité de cette barrière anatomique fut illustrée en 1967 par des expériences où une peroxydase était injectée dans le sang d'animaux, la révélation montre que le marqueur ne franchissait pas la paroi des capillaires cérébraux (Reese and Karnovsky, 1967). La BHE régule et limite considérablement les échanges moléculaires et cellulaires entre le sang et le parenchyme nerveux. Cette fonction est due principalement aux cellules endothéliales qui constituent la paroi des capillaires sanguins du SNC et qui présentent des caractéristiques propres (présence de systèmes de jonctions intercellulaires très développés, faible capacité de transport par transcytose, richesse en molécules d'efflux...). À cette paroi vasculaire s'ajoute la membrane basale de l'endothélium, les extensions cytoplasmiques des péricytes et la présence de nombreux astrocytes qui forment des feuilletts supplémentaires et renforcent l'imperméabilité de la BHE. Venant compléter l'interface sang/parenchyme, les plexus choroïdes sont les structures contrôlant les échanges entre le sang et le LCR. Les plexus choroïdes sont localisés dans les ventricules latéraux, le troisième et le quatrième ventricule. Ils sont formés par l'apposition de deux tissus : i) un tissu épithélial extérieur (où les cellules sont liées par des jonctions serrées) qui est en continuité avec l'épendyme tapissant les cavités ventriculaires, ii) un stroma conjonctif central vascularisé (cf. figure 5). Les capillaires contenus dans ce stroma conjonctif se différencient de l'endothélium

continu des capillaires de la BHE par la présence de fenestration. Tout comme la BHE, les plexus choroïdes participent à l'homéostasie cérébrale et à la protection du cerveau. Cependant, le rôle principal des plexus choroïdes est la sécrétion du liquide céphalo-rachidien (LCR). Les cellules de l'épithélium extraient les constituants du LCR à partir du sang, et le sécrètent en continu dans le système des cavités ventriculaires communicantes. Puis, le LCR circule hors du système ventriculaire dans les espaces sous-arachnoïdiens, les velums et les citernes du cerveau, avant d'être résorbé essentiellement dans le sang veineux au niveau des villosités arachnoïdiennes.

Le SNC est donc un organe dont les cellules et molécules sont en quelque sorte séquestrées et sans contact direct avec la circulation sanguine (Wekerle, 2007). En corollaire, on observe peu ou pas de lymphocytes T dans le LCR et le parenchyme du SNC à l'état normal. Par ailleurs l'absence de drainage lymphatique et un faible niveau basal d'expression des molécules d'histocompatibilité expliquent également la relative limitation de la réponse immune adaptative dépendant des lymphocytes T (Wekerle, 2007).

Dans le cas de maladies inflammatoires du SNC comme la SEP, on considère que les lymphocytes T sont stimulés en dehors du SNC, franchissent la BHE et sont de nouveau stimulés au sein du SNC (Noseworthy et al., 2000). On peut dire que dans cette pathologie, les LT jouent un rôle évident. Tout d'abord, des cellules T spécifiques d'auto-antigènes de myéline ont été trouvés au sein des lésions, puis le succès clinique des thérapies anti-lymphocytaires suggère fortement une pathogénie auto-immune (Hohlfeld and Wekerle, 2004). La question demeure toujours la même, comment les lymphocytes T auto-réactifs arrivent-ils à traverser la BHE imperméable à la plupart des cellules et molécules sanguines ? Des avancées ont été faites de ce côté là, Alexander Flügel et co ont réussi à filmer des lymphocytes T marqués à la GFP (Green Fluorescent Protein) traversant la BHE.

b) Hypothèse virale

L'implication d'une infection virale dans la physiopathologie de la sclérose en plaques a été proposée depuis plusieurs décennies, sans doute en raison de la capacité de certains virus à cibler le système nerveux central et induire une neuro-inflammation propice aux dysfonctions cellulaires, révélées notamment par une démyélinisation ou une mort neuronale.

À ce jour, aucun virus n'a été identifié comme agent étiologique de la SEP. L'absence de virus au sein du SNC chez les patients SEP ouvre toutefois la voie à une hypothèse virale alternative impliquant une infection initiale de cellules immunes et non de cellules du SNC.

Bien que l'hypothèse auto-immune soit largement privilégiée, la possibilité d'une induction de la maladie par une infection virale fait toujours débat.

c) Hypothèse immune

Plusieurs mécanismes auto-immuns ont été proposés et/ou démontrés chez les patients SEP sans que l'on puisse formellement établir leur rôle prépondérant dans le développement des lésions tissulaires. L'activation de lymphocytes T auto-réactifs dirigés contre un ou des antigènes myéliniques est l'une des hypothèses auto-immune la plus fréquemment avancée (Noseworthy et al., 2000 ; Frohman et al., 2006). Au moins trois mécanismes peuvent expliquer l'émergence de clones lymphocytaires T auto-réactifs : i) le phénomène de mimétisme (ou mimicrie) moléculaire, ii) l'altération fonctionnelle des lymphocytes T régulateurs, une sous-population lymphocytaire impliquée dans le maintien de la tolérance immunitaire, iii) l'activation non contrôlée des cellules présentatrices d'antigène via les récepteurs Toll-like.

- Mimétisme moléculaire

Il est actuellement établi que la spécificité du récepteur des lymphocytes T (TCR) pour un antigène donné ne semble pas aussi importante que celle initialement décrite (Mason, 1998). Un même récepteur peut interagir avec de nombreux complexes « CMH-peptides » car seuls quelques acides aminés du peptide antigénique sont liés avec le TCR. À l'occasion d'une infection par une bactérie, un virus ou un parasite qui exprime des peptides antigéniques communs avec les auto-antigènes du patient, l'organisme va déclencher une réponse immunitaire qui va détruire à la fois cet agent infectieux mais aussi ses propres cellules. Cette première infection aura permis la production de lymphocytes auto-réactifs qui vont alors réagir contre les cellules exprimant ces antigènes. Dans la physiopathologie de la SEP, l'auto-antigène potentiellement impliqué serait le peptide MBP (Myelin Basic Protein). Cette hypothèse implique que certains virus présentent des similitudes moléculaires avec les protéines de la myéline.

- Rôle des lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes T régulateurs (Treg) ou suppresseurs ont pour rôle le maintien de l'état d'anergie des lymphocytes présents en périphérie. Il y a une dizaine d'années, les lymphocytes Treg étaient caractérisés par l'expression de CD4+ et CD25+ ; plus récemment, un gène de transcription (Foxp3) a été découvert et est fortement exprimé par les lymphocytes Treg CD4+CD25+ (Fontenot et al., 2003).

Ces lymphocytes Treg sont anergiques et exercent des effets suppresseurs sur les lymphocytes conventionnels CD4+CD25-. Les mécanismes permettant aux lymphocytes Treg d'inhiber l'activation et la prolifération des lymphocytes T conventionnels reste encore mal connus. Ils semblent cependant faire intervenir un contact cellule-cellule et ne pas être médiés par des facteurs solubles (Randolph and Fathman, 2006). Dans le cadre de la SEP, certains auteurs considèrent actuellement que la rupture de tolérance vis-à-vis d'auto-antigène myélinique serait liée à une altération de fonction des Treg.

- Les récepteurs Toll-Like

Des récepteurs de l'immunité innée, les récepteurs Toll-Like (TLR), ont également été impliqués dans l'initiation de maladies auto-immunes telle que la SEP. Lors d'une infection, le premier contact entre l'agent pathogène et l'hôte a lieu très souvent via les TLRs exprimés à la surface des CPAs qui vont alors être activées. Une étude a permis de mettre en évidence qu'en absence de CPAs activées, l'activation des lymphocytes T autoréactifs et donc l'initiation d'une maladie auto-immune est retardée voire inhibée. Ainsi l'activation préalable des CPAs par un agent infectieux, via leurs TLRs serait un élément déterminant dans la balance entre tolérance et maladie auto-immune (Waldner et al., 2004)

Aderem A, Underhill DM (1999) Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* 17:593-623.

Alliot F, Godin I, Pessac B (1999) Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Brain Res Dev Brain Res* 117:145-152.

Alliot F, Lecain E, Grima B, Pessac B (1991) Microglial progenitors with a high proliferative potential in the embryonic and adult mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:1541-1545.

Alonso A, Hernan MA (2008) Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology* 71:129-135.

Arnold DL, Matthews PM (2002) MRI in the diagnosis and management of multiple sclerosis. *Neurology* 58:S23-31.

Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F (2009) Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 27:669-692.

Barbeito LH, Pehar M, Cassina P, Vargas MR, Peluffo H, Viera L, Estevez AG, Beckman JS (2004) A role for astrocytes in motor neuron loss in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res Brain Res Rev* 47:263-274.

Bates IR, Boggs JM, Feix JB, Harauz G (2003) Membrane-anchoring and charge effects in the interaction of myelin basic protein with lipid bilayers studied by site-directed spin labeling. *J Biol Chem* 278:29041-29047.

Baumann N, Pham-Dinh D (2001) Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 81:871-927.

Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P (2007) The origin and cell lineage of microglia: new concepts. *Brain Res Rev* 53:344-354.

Compston A CC (2005) *Mc Alpine's Multiple Sclerosis*.

Confavreux C, Vukusic S (2006) [The natural history of multiple sclerosis]. *Rev Prat* 56:1313-1320.

Davalos D, Grutzendler J, Yang G, Kim JV, Zuo Y, Jung S, Littman DR, Dustin ML, Gan WB (2005) ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci* 8:752-758.

Davoust N, Vuillat C, Cavillon G, Domenget C, Hatterer E, Bernard A, Dumontel C, Jurdic P, Malcus C, Confavreux C, Belin MF, Nataf S (2006) Bone marrow CD34⁺/B220⁺ progenitors target the inflamed brain and display in vitro differentiation potential toward microglia. *Faseb J* 20:2081-2092.

Engelhardt B, Ransohoff RM (2005) The ins and outs of T-lymphocyte trafficking to the CNS: anatomical sites and molecular mechanisms. *Trends Immunol* 26:485-495.

- Fedoroff S, Hao C (1991) Origin of microglia and their regulation by astroglia. *Adv Exp Med Biol* 296:135-142.
- Fedoroff S, Zhai R, Novak JP (1997) Microglia and astroglia have a common progenitor cell. *J Neurosci Res* 50:477-486.
- Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY (2003) Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat Immunol* 4:330-336.
- Franklin RJ, Ffrench-Constant C (2008) Remyelination in the CNS: from biology to therapy. *Nat Rev Neurosci* 9:839-855.
- Frohman EM, Racke MK, Raine CS (2006) Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 354:942-955.
- Fujiwara N, Kobayashi K (2005) Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4:281-286.
- Genoud C, Quairiaux C, Steiner P, Hirling H, Welker E, Knott GW (2006) Plasticity of astrocytic coverage and glutamate transporter expression in adult mouse cortex. *PLoS Biol* 4:e343.
- Giaume C, McCarthy KD (1996) Control of gap-junctional communication in astrocytic networks. *Trends Neurosci* 19:319-325.
- Gordon S, Taylor PR (2005) Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 5:953-964.
- Griffiths I, Klugmann M, Anderson T, Yool D, Thomson C, Schwab MH, Schneider A, Zimmermann F, McCulloch M, Nadon N, Nave KA (1998) Axonal swellings and degeneration in mice lacking the major proteolipid of myelin. *Science* 280:1610-1613.
- Haber M, Zhou L, Murai KK (2006) Cooperative astrocyte and dendritic spine dynamics at hippocampal excitatory synapses. *J Neurosci* 26:8881-8891.
- Hao C, Richardson A, Fedoroff S (1991) Macrophage-like cells originate from neuroepithelium in culture: characterization and properties of the macrophage-like cells. *Int J Dev Neurosci* 9:1-14.
- Hickey WF, Vass K, Lassmann H (1992) Bone marrow-derived elements in the central nervous system: an immunohistochemical and ultrastructural survey of rat chimeras. *J Neuropathol Exp Neurol* 51:246-256.
- Hirrlinger J, Hulsman S, Kirchhoff F (2004) Astroglial processes show spontaneous motility at active synaptic terminals in situ. *Eur J Neurosci* 20:2235-2239.
- Hohlfeld R, Wekerle H (2004) Autoimmune concepts of multiple sclerosis as a basis for selective immunotherapy: from pipe dreams to (therapeutic) pipelines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 Suppl 2:14599-14606.

- Houlgatte R, Mallat M, Brachet P, Prochiantz A (1989) Secretion of nerve growth factor in cultures of glial cells and neurons derived from different regions of the mouse brain. *J Neurosci Res* 24:143-152.
- Hume DA, Ross IL, Himes SR, Sasmono RT, Wells CA, Ravasi T (2002) The mononuclear phagocyte system revisited. *J Leukoc Biol* 72:621-627.
- Jander S, Pohl J, D'Urso D, Gillen C, Stoll G (1998) Time course and cellular localization of interleukin-10 mRNA and protein expression in autoimmune inflammation of the rat central nervous system. *Am J Pathol* 152:975-982.
- Kaur C, Hao AJ, Wu CH, Ling EA (2001) Origin of microglia. *Microsc Res Tech* 54:2-9.
- Kivisakk P, Trebst C, Liu Z, Tucky BH, Sorensen TL, Rudick RA, Mack M, Ransohoff RM (2002) T-cells in the cerebrospinal fluid express a similar repertoire of inflammatory chemokine receptors in the absence or presence of CNS inflammation: implications for CNS trafficking. *Clin Exp Immunol* 129:510-518.
- Kurtzke JF (2008) Historical and clinical perspectives of the expanded disability status scale. *Neuroepidemiology* 31:1-9.
- Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128:2705-2712.
- Ladeby R, Wirenfeldt M, Garcia-Ovejero D, Fenger C, Dissing-Olesen L, Dalmau I, Finsen B (2005) Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system. *Brain Res Brain Res Rev* 48:196-206.
- Leone C, Le Pavec G, Meme W, Porcheray F, Samah B, Dormont D, Gras G (2006) Characterization of human monocyte-derived microglia-like cells. *Glia* 54:183-192.
- Ling EA (1979) Transformation of monocytes into amoeboid microglia in the corpus callosum of postnatal rats, as shown by labelling monocytes by carbon particles. *J Anat* 128:847-858.
- Ling EA, Kaur C, Lu J (1998) Origin, nature, and some functional considerations of intraventricular macrophages, with special reference to the epiplexus cells. *Microsc Res Tech* 41:43-56.
- Liu B, Wang K, Gao HM, Mandavilli B, Wang JY, Hong JS (2001) Molecular consequences of activated microglia in the brain: overactivation induces apoptosis. *J Neurochem* 77:182-189.
- Lucchinetti C BW, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions : implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47:707-717.
- Mallat M, Chamak B (1989) Lineage relationship between oligodendrocytes and brain macrophages? *Neurosci Lett* 99:12-17.

- Mantovani A, Sica A, Locati M (2007) New vistas on macrophage differentiation and activation. *Eur J Immunol* 37:14-16.
- Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A (2002) Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 23:549-555.
- Martini R, Schachner M (1997) Molecular bases of myelin formation as revealed by investigations on mice deficient in glial cell surface molecules. *Glia* 19:298-310.
- Mason D (1998) A very high level of crossreactivity is an essential feature of the T-cell receptor. *Immunol Today* 19:395-404.
- McMenamin PG (1999) Distribution and phenotype of dendritic cells and resident tissue macrophages in the dura mater, leptomeninges, and choroid plexus of the rat brain as demonstrated in wholemount preparations. *J Comp Neurol* 405:553-562.
- Nadeau S, Rivest S (2000) Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. *J Neurosci* 20:3456-3468.
- Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA (2003) New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci* 26:523-530.
- Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F (2005) Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 308:1314-1318.
- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000) Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343:938-952.
- Perry VH, Gordon S (1985) Immunohistochemical localization of macrophages and microglia in the adult and developing mouse brain. *Neuroscience* 15:313-326.
- Poitras E, Houde A (2002) La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology* 2:2-11.
- Priller J, Flugel A, Wehner T, Boentert M, Haas CA, Prinz M, Fernandez-Klett F, Prass K, Bechmann I, de Boer BA, Frotscher M, Kreutzberg GW, Persons DA, Dirnagl U (2001) Targeting gene-modified hematopoietic cells to the central nervous system: use of green fluorescent protein uncovers microglial engraftment. *Nat Med* 7:1356-1361.
- Quarles RH (1997) Glycoproteins of myelin sheaths. *J Mol Neurosci* 8:1-12.
- Raivich G (2005) Like cops on the beat: the active role of resting microglia. *Trends Neurosci* 28:571-573.
- Ramagopalan SV, Knight JC, Ebers GC (2009) Multiple sclerosis and the major histocompatibility complex. *Curr Opin Neurol* 22:219-225.

Randolph DA, Fathman CG (2006) Cd4+Cd25+ regulatory T cells and their therapeutic potential. *Annu Rev Med* 57:381-402.

Rappolee DA, Werb Z (1988) Secretory products of phagocytes. *Curr Opin Immunol* 1:47-55.

Reese TS, Karnovsky MJ (1967) Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 34:207-217.

Rezaie P, Male D (1999) Colonisation of the developing human brain and spinal cord by microglia: a review. *Microsc Res Tech* 45:359-382.

Ridet JL, Malhotra SK, Privat A, Gage FH (1997) Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. *Trends Neurosci* 20:570-577.

Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, Bulman D, Hashimoto L, Paty DW, Hashimoto SA, Warren S, Hader W, Murray TJ, et al. (1993) A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 33:281-285.

Scherer SS (1999) Nodes, paranodes, and incisures: from form to function. *Ann N Y Acad Sci* 883:131-142.

Schmidtmer J, Jacobsen C, Miksch G, Sievers J (1994) Blood monocytes and spleen macrophages differentiate into microglia-like cells on monolayers of astrocytes: membrane currents. *Glia* 12:259-267.

Serot JM, Bene MC, Foliguet B, Faure GC (2000) Monocyte-derived IL-10-secreting dendritic cells in choroid plexus epithelium. *J Neuroimmunol* 105:115-119.

Sievers J, Schmidtmer J, Parwaresch R (1994) Blood monocytes and spleen macrophages differentiate into microglia-like cells when cultured on astrocytes. *Ann Anat* 176:45-51.

Simard AR, Rivest S (2004) Role of inflammation in the neurobiology of stem cells. *Neuroreport* 15:2305-2310.

Smith ME (2001) Phagocytic properties of microglia in vitro: implications for a role in multiple sclerosis and EAE. *Microsc Res Tech* 54:81-94.

Strazielle N, Ghersi-Egea JF (2000) Choroid plexus in the central nervous system: biology and physiopathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 59:561-574.

Streit WJ, Kreutzberg GW (1988) Response of endogenous glial cells to motor neuron degeneration induced by toxic ricin. *J Comp Neurol* 268:248-263.

Streit WJ, Walter SA, Pennell NA (1999) Reactive microgliosis. *Prog Neurobiol* 57:563-581.

Svejgaard A (2008) The immunogenetics of multiple sclerosis. *Immunogenetics* 60:275-286.

Takahashi K, Yamamura F, Naito M (1989) Differentiation, maturation, and proliferation of macrophages in the mouse yolk sac: a light-microscopic, enzyme-cytochemical, immunohistochemical, and ultrastructural study. *J Leukoc Biol* 45:87-96.

Varin A, Gordon S (2009) Alternative activation of macrophages: immune function and cellular biology. *Immunobiology* 214:630-641.

Vuillat C, Androdias G, Davoust N, Nataf S (2008) About multiple sclerosis, natalizumab, and CD34+ hematopoietic progenitors. *Blood* 112:208-209; author reply 209-210.

Waldner H, Collins M, Kuchroo VK (2004) Activation of antigen-presenting cells by microbial products breaks self tolerance and induces autoimmune disease. *J Clin Invest* 113:990-997.

Wekerle H (2007) [The enigma of arrival: [corrected] the entrance of auto-immune T lymphocytes in central nervous tissues and of their attack against the myelin structures]. *C R Biol* 330:1-12.

Wolswijk G (1994) GD3+ cells in the adult rat optic nerve are ramified microglia rather than O-2Aadult progenitor cells. *Glia* 10:244-249.